

DETECÇÃO DE *Listeria* spp. EM LEITE CRU, LEITE PASTEURIZADO TIPO "C", QUEIJO MINAS FRESCAL, REQUEIJÃO CREMOSO E REQUEIJÃO CASEIRO, COMERCIALIZADOS EM GOIÂNIA-GO*

Alvaro Bisol Serafini**; José Leonides Ribeiro**; Aristides José Barbosa**;
Enis Rodrigues Caixeta**; Alessandra Regina de Sousa*** & Rosane da
Silva Santos***

RESUMO

Estudou-se a presença do gênero *Listeria* em 200 amostras de leite e derivados, sendo 44 de leite pasteurizado tipo "C", 44 de leite cru, 73 de queijo minas frescal, 30 de requeijão cremoso e 16 de requeijão caseiro. Observou-se que em quatro (2%) amostras de leite cru e em duas (1%) de queijo minas frescal foi encontrada a mesma espécie de *Listeria*. Os resultados positivos confirmaram bioquímica e sorologicamente a presença de *Listeria innocua* 6a. Não se detectou a presença de *L. monocytogenes* nas amostras analisadas.

UNITERMOS: Leite, queijo, requeijão, detecção, *Listeria* spp.

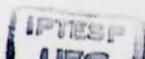
INTRODUÇÃO

O significado higiênico da presença de bactérias do gênero *Listeria* e mais especificamente de *L. monocytogenes*, em alimentos, tornou-se conhecido apenas há poucos anos. Razão pela qual, no passado, os alimentos não fossem pesquisados para listeriae. Não surpreende, então, em muitos alimentos, principalmente em leite e derivados, a presença de tais organismos.

* Projeto Financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq/processo 40.0240/90.

** Dept.º de Microbiologia/IPTSP/UFG.

*** Bolsistas Iniciação Científica/CNPq.



SERAFINI, A. B.; RIBEIRO, J. L.; BARBOSA, A. J.; CAIXETA, E. R.; SOUSA, A. R. de & SANTOS, R. S. Detecção de *Listeria* spp. em leite cru, leite pasteurizado... Rev. Pat. Trop. 22(1):9-15, jan./jun. 1993.

De acordo com as observações de WILKINS et alii (1972), DONNELLY & BRIGGS (1986) e WALKER et alii (1990), estes organismos preocupam sobremaneira, devido sua capacidade de multiplicação em alimentos mantidos ou estocados sob refrigeração.

Segundo BARZA (1985), algumas dúvidas e questionamentos que surgiram após os primeiros surtos de enfermidades por listeria, transmitidos por alimentos, começaram a ser elucidados.

DOMINGUEZ RODRIGUEZ et alii (1985), em Madri, preocuparam-se com o perigo que representava a característica ubiqüitária da *Listeria* e através de importante estudo epidemiológico em surto provocado por leite pasteurizado, desenvolvido por FLEMING et alii (1985), estudaram amostras de leite cru produzidas na capital espanhola.

LINNAN et alii (1988), alertaram a comunidade científica, órgãos de Saúde Pública e indústria de alimentos, para um grande surto ocorrido em uma comunidade hispânica, na Califórnia, EUA, contraído através do consumo de queijo fresco, estilo mexicano, produzido com a participação de leite cru contaminado por *Listeria*.

SLADE et alii (1989), afirmaram que pela característica ubiqüitária destes organismos, existem repetidas flutuações de isolamento de listerias em leite e derivados.

É muito importante identificar e promover estudos de vigilância para estas bactérias, que podem estar presentes e causar enfermidades ao homem. Esta pesquisa foi realizada para verificar a prevalência de *Listeria* spp. em leite e produtos lácteos comercializados na cidade de Goiânia. Praticamente inexistem relatos da presença destes organismos nesses produtos, e não existe a obrigatoriedade, por parte dos órgãos nacionais de Saúde Pública, de pesquisa rotineira no controle de qualidade das indústrias, bem como pelos laboratórios oficiais de controle.

MATERIAL E MÉTODOS

O período compreendido para a pesquisa foi entre agosto de 1990 a julho de 1991.

Procedimento de Enriquecimento

O procedimento de enriquecimento utilizado para a detecção de *Listeria* spp., foi o de LOVETT et alii (1987) modificado. Empregou-se nesta modificação, que compreendia um duplo estágio de enriquecimento, com o envolvimento do caldo

SERAFINI, A. B.; RIBEIRO, J. L.; BARBOSA, A. J.; CAIXETA, E. R.; SOUSA, A. R. de & SANTOS, R. S. Detecção de *Listeria* spp. em leite cru, leite pasteurizado... Rev. Pat. Trop. 22(1):9-15, jan./jun. 1993.

de soja triptona com extrato de levedura, como meio de pré-enriquecimento não seletivo para a ressuscitação de listerias (Van RENTERGHEM et alii, 1991) e o caldo de enriquecimento seletivo para *Listeria* (LEB)/*Listeria* Enrichment Broth - Merck (Num. 10.985).

Para as amostras sólidas (queijo e requeijão caseiro e cremoso) 10g eram suspensas em 90 ml de caldo não seletivo e homogeneizadas por 2 minutos. Para as mostras líquidas, 10ml foram adicionadas a 90ml do caldo. Após incubação a 30°C por 24 horas 1,0ml era adicionada a 10ml do LEB, com posterior incubação a 30°C, também por 24 horas.

Identificação da *Listeria* spp

Após o enriquecimento, promovia-se o plaqueamento em meio PALCAM/Merck (Nums. 12.755-12.122) (Van NETTEN et alii, 1989), de cada cultura enriquecida em caldo. Obtinha-se este meio pela adição do suplemento seletivo para *Listeria* ao ágar base seletivo para *Listeria*. Após incubação a 30°C por 48 horas, as colônias suspeitas eram plaqueadas em ágar soja triptona para separação e verificação de pureza. Seguiu-se uma incubação a 30°C por 24 horas. As colônias isoladas foram submetidas a seriação bioquímica de acordo com LOVETT et alii (1987), realizando-se as seguintes provas: microscopia, motilidade, vermelho de metila e Voges-Proskauer, uréia, catalase, redução do nitrato, hemólise, esculina, maltose, ramnose, xilose, glicose e manose.

O teste de soroglutinação rápida foi realizado segundo SEELIGER (1961), utilizando-se anti-soros polivalentes/CECON Ltda - São Paulo/SP.

Amostras

As seguintes amostras foram examinadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, para a presença de bactérias do gênero *Listeria*: 44 de leite pasteurizado tipo "C", 37 de leite cru, 73 de queijo minas fresco, 30 de requeijão cremoso e 16 de requeijão caseiro. Estas amostras foram colhidas aleatoriamente, no mercado varejista; supermercados, padarias e feiras populares de 4 bairros com maior densidade populacional da cidade. Durante o experimento, todas as amostras foram estocadas em temperaturas de refrigeração (4°C), pois segundo LOVETT (1988) favorece o desenvolvimento de listerias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta técnica adotada, para se observar o comportamento do meio PALCAM (VAN NETTEN et alii, 1989) em amostras de leite e alguns derivados, não houve detecção em 10ml ou 10g das amostras originais de *Listeria monocytogenes*.

Porém, em 6 (3%) amostras, sendo 4 (2%) de leite cru e 2 (1%) de queijo minas frescal, obteve-se o isolamento de *L. innocua* com sorotipo 6a.

Esta baixa percentagem explica-se pelo uso de material selecionado, como leite pasteurizado e requeijão cremoso, provenientes de indústrias com controle de qualidade e que utilizam, para fabricação do requeijão cremoso, leite pasteurizado, portanto matéria prima que sofre um processamento térmico, na faixa de temperatura sensível para *Listeria*.

As amostras de queijo minas frescal apresentaram pequeno percentual (3,6%) de resultados positivos para *L. innocua*. Provavelmente, as amostras positivas tenham sido produzidas a partir, ou com a adição, de leite cru. Pode, inclusive, ter ocorrido problemas de higiene na manipulação do leite empregado para este tipo de produto, pois segundo JUNG et alii (1989) é praticamente impossível eliminar *L. innocua* de um rebanho leiteiro. Como consequência de conhecimento anterior, realizou-se colheita de algumas amostras em feiras livres, onde a comercialização deste produto é considerável e sem fiscalização por parte das autoridades sanitárias do município.

DOMINGUEZ RODRIGUEZ et alii (1985), na Espanha, em 95 amostras de leite cru, isolaram *L. innocua* em 15,8%. Encontraram também *L. grayi*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. monocytogenes*.

Não se observou presença de bactérias do gênero *Listeria* nas amostras de leite pasteurizado e de requeijão cremoso analisadas no presente trabalho.

HAYES et alii (1986) e BECKERS et alii (1987) também não detectaram presença de *Listeria* em amostras de leite pasteurizado. Estes pesquisadores concluíram que a presença destes organismos, em produtos lácteos, está limitada a produtos que utilizam leite cru em sua fabricação.

LOVETT et alii (1987) detectaram 26% das amostras analisadas positivas para *Listeria*.

FARBER et alii (1988) encontraram em amostras de leite cru de Ontário, Canadá, *L. innocua* como a espécie do gênero mais frequente (9,7%).

LIEWEN & PLAUTZ (1988) observaram em amostras de leite cru uma frequência de 9% para *Listeria* e 5% de *L. innocua*.

SLADE & COLLINS-THOMPSON (1988) e FENLON & WILSON (1989), analisaram amostras de leite cru e relataram somente a baixa presença de *L. monocytogenes*.

Quanto à contaminação do queijo minas por *Listeria*, JUNG et alii (1989) acreditam na possibilidade de ocorrer contaminação cruzada.

MASSA et alii (1990) analisaram 54 amostras de queijos moles, detectando somente *L. innocua* em 3,7% das amostras positivas. Em 40 amostras de leite cru não observaram positividade.

CONCLUSÕES

1. Todas as informações disponíveis indicam, até o momento, que este problema na produção láctea, não é devido à termorresistência de *Listeria* ou a uma contaminação ocasional a partir do ambiente. Se tais mecanismos estão em ação, deveria acontecer contaminação por estes organismos com frequências diferentes em várias fazendas leiteiras;

2. *L. innocua* não deve, em amostras lácteas, ser utilizada como indicador de possível presença de *L. monocytogenes*;

3. Deve-se considerar a possibilidade de contaminação cruzada a partir do produto cru, com participação da fazenda leiteira;

4. O aumento do conhecimento sobre os mecanismos de contaminação de alimentos lácteos promoverá os meios para a prevenção desta situação. No Brasil, pelas informações obtidas através destes dados e da literatura científica, indicam que não há contaminação sistemática de *Listeria* em produtos lácteos;

5. As amostras de leite e produtos lácteos colhidas no mercado varejista de Goiânia, mostraram qualidade higiênica satisfatória para bactérias do gênero *Listeria*.

SUMMARY

Detection of *Listeria* spp. in raw milk, type "C" pasteurized milk, minas style soft cheese, cream cheese, and homemade cream cheese, vended in Goiânia, GO.

For hygienic and sanitary purposes, the presence of *Listeria* spp. in milk and products food was studied. We analysed 200 samples, 44 of type "C" pasteurized milk, 37 of raw milk, 73 of Minas style soft cheese, 30 of cream cheese, and 16 of home made cottage cheese. We observed four (2%) raw milk samples and two (1%)

SERAFINI, A. B.; RIBEIRO, J. L.; BARBOSA, A. J.; CAIXETA, E. R.; SOUSA, A. R. de & SANTOS, R. S. Detecção de *Listeria* spp. em leite cru, leite pasteurizado... Rev. Pat. Trop. 22(1):9-15, jan./jun. 1993.

of Minas style soft cheese the presence of same *Listeria* species. The positive results confirm biochemistry and serologically *Listeria innocua* 6a. In the analysed samples we didn't detect *L. monocytogenes*.

KEYWORDS: Milk, cheese, cream cheese, detection, *Listeria* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BARZA, M. Listeriosis and milk. *N. Engl. J. Med.*, 312:438-40, 1988.
02. BECKERS, H. J.; SOENTORO, P. S. & DELFGOU ASCH, E. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. *Int. J. Food Microbiol.*, 4:249-56, 1987.
03. DOMINGUEZ RODRIGUEZ, L.; FERNANDEZ GARAYZABAL, J. F.; VAZQUEZ BOLAND, J. A.; FERRI, E. R. & SUÁREZ FERNANDEZ, G. Isolation de microorganismes du genre *Listeria* à partir de lait cru destiné à la consommation humaine. *Can. J. Microbiol.*, 31:938-41, 1985.
04. DONNELLY, C. W. & BRIGGS, E. H. Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. *J. Food Prot.*, 49(12):994-98, 1986.
05. FARBER, J. M.; SANDERS, G. W. & MALCOM, S. A. The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. *Can. J. Microbiol.*, 34:95-100, 1988.
06. FENLON, D. R. & WILSON, J. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk from farm bulk tanks in North-East Scotland. *J. Appl. Bacteriol.*, 66:191-96, 1989.
07. FLEMING, D. W.; COCHI, S.; MacDONALD, K.; BRONDUM, J.; HAYES, P. S.; PLIKAYTIS, B. D.; HOLMES, M. B.; AUDURIER, A.; BROOME, C. V. & REINGOLD, A. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N. Engl. J. Med.*, 312(7):404-7, 1985.
08. HAYES, P. S.; PEELEY, J.; GRAVES, L. M.; AJELLO, G. W. & FLEMING, D. Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(2):438-40, 1986.
09. JUNG, W.; GÖTZ, H.; SULZER, G. & BUSSE, M. Distribution of *Listeria* in cheese and environment. In: *Modern Microbiological Methods for Dairy Product*. Proceedings of International Seminar, Spain, 153-8, 1989.
10. LIEWEN, M. B. & PLAUTZ, M. W. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk in Nebraska. *J. Food Prot.*, 51(11):840-41, 1988.

SERAFINI, A. B.; RIBEIRO, J. L.; BARBOSA, A. J.; CAIXETA, E. R.; SOUSA, A. R. de & SANTOS, R. S. Detecção de *Listeria* spp. em leite cru, leite pasteurizado... Rev. Pat. Trop. 22(1):9-15, jan./jun. 1993.

11. LINNAN, M. J.; MASCOLA, L.L DONG LOU, X.; GOULET, V.; MAY, S.; SALMINEN, C.; HIRD, D. W.; YONEJURA, L.; HAYES, P.; WEAVER, R.; AUDURIER, A.; PLIKAYTIS, B. D.; FANNIN, S. L.; KLEKS, A. & BROOME, C. V. Epidemic listeriosis associated with mexican-style cheese. *N. Engl. J. Med.*, 319(13):823-28, 1988.
12. LOVETT, J.; FRANCIS, D. W. & HUNT, J. M. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. *J. Food Prot.*, 50(3):188-92, 1987.
13. LOVETT, J. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* in dairy products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71(3):658-60, 1988.
14. MASSA, S.; CESARONI, D.; PODA, G. & TROVATELLI, L. D. The incidence of *Listeria* spp. in soft cheeses, butter and raw milk in the province of Bolonga. *J. Appl. Bacteriol.*, 68:153-56, 1990.
15. SEELIGER, H. P. R. *Listeriosis*. Barger, Basel Co. New York. 295p. 1961.
16. SLADE, P. J. & COLLINS-THOMPSON, D. L. Enumeration of *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Lett. Appl. Microbiol.*, 6:121-3, 1988.
17. SLADE, P. J.; FISTROVICI, E. C. & COLLINS-THOMPSON, D. L. Persistence at source of *Listeria* spp. in raw milk. *Int. J. Food Microbiol.*, 9:197-203, 1989.
18. VAN NETTEN, P.; PERALES, I.; VAN MOOSDIJK, A.; CURTIS, G. & MOSSEL, D. A. A. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. *Int. J. Food Microbiol.*, 9:299-316, 1989.
19. VAN RENTERGHEM, B.; HUYSMAN, F.; RYGOLE, R. & VERSTRAETE, W. Detection and prevalence of *Listeria monocytogenes* in the agricultural ecosystem. *J. Appl. Bacteriol.*, 71:211-17, 1991.
20. WALKER, S.; ARCHER, P. & BANKS, J. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J. Appl. Bacteriol.*, 68:157-62, 1990.
21. WILKINS, P. O.; BOURGEOIS, R. & MURRAY, R. G. E. Psychrotrophic properties of *Listeria monocytogenes*. *Can. J. Microbiol.*, 18:543, 1972.