



“ISOLATION AND CHARACTERIZATION
OF *Listeria monocytogenes* FROM
A BAKERY PRODUCTION PLANT”



UNIVERSIDADE
CATÓLICA
PORTUGUESA
Escola Superior
de Biotecnologia

Gonçalo Almeida
Biotec'2003
Lisboa, 6-8 Dezembro



Listeria monocytogenes



Bactéria patogénica de distribuição ubiqüitária:
matérias primas
ambiente
produto final



UNIVERSIDADE
CATÓLICA
PORTUGUESA
Escola Superior
de Biotecnologia



Listeria monocytogenes & Listeriose

1980 – reconhecimento de *L. monocytogenes* como patógeno para humanos

Exemplos de surtos reconhecidos de listeriose

Ano	País	Casos	(mortes)	Alimento
1987-89	UK	>350	(>90)	Patê
1992	França	279	(63)	“Aspic” de porco
1995	França	20	(4)	Queijo de leite cru
2002	USA	46	(7)	Peru fatiado





Listeria monocytogenes & Listeriose

Baixa incidência

Severidade elevada (mortalidade >30%)

- Fetos de grávidas saudáveis
- Recém-nascidos
- Idosos (>65 anos)
- Imunodeprimidos

Dose mínima infecciosa desconhecida

(> 10^3 /g)





Objectivo

Identificar a via de contaminação de produtos de panificação congelados com *L. monocytogenes*





Metodologia

Pesquisa de *L. monocytogenes* em
Matérias primas (21 amostras)
Produto final (87 amostras)
Ambiente (357 amostras)



Três períodos de amostragem:

Julho 2002 - Outubro 2002

Abril - Maio 2003

Junho - Agosto 2003



UNIVERSIDADE
CATÓLICA
PORTUGUESA
Escola Superior
de Biotecnologia



Metodologia

Tipagem dos isolados de *L. monocytogenes*

Serologia

Sensibilidade/Resistência a

- Cádmio (75 $\mu\text{g/ml}$)
- Arsénio (500 $\mu\text{g/ml}$)
- Tetraciclina (8 $\mu\text{g/ml}$)





Resultados

Incidência de *L. monocytogenes* em diferentes amostras

Amostra	Nº Amostras	Amostras positivas	Incidência (%)
Matéria Prima	7/11/3	0/0/1	0/0/33.3
Produto final	41/25/21	5/10/2	12.2/40/9.5
Ambiente	88/59/210	8/7/10	9.1/11.9/4.8
Total	136/95/234	13/17/13	9.6/17.9/5.6





Resultados

Caracterização dos isolados de *L. monocytogenes*

Tipo	Serogrupo; serovar	Biotipo
1	1; 1/2b	6
2	1; 1/2b	8
3	1; 1/2c	4
4	1; 1/2c	6
5	4; 4b	4
6	4; 4b	6
7	4; 4b	8
8	4; não 4b	2
9	4; não 4b	6
10	4; não 4b	8

Biotipo: 2-sens. T; 4-sens. C/T; 6-sens. A/T; 8-sens. A/C/T



UNIVERSIDADE
CATÓLICA
PORTUGUESA
Escola Superior
de Biotecnologia



Resultados

Tipos de *L. monocytogenes* isolados

Fonte	Amostra	Tipo (Nº Amostras)
Produto Final	Pão	5 (2); 6 (2); 9 (1)
Ambiente	Dreno 1	9 (1)
	Dreno 2	6 (1); 8 (1); 9 (1)
	Dreno 4	6 (1)
	Escorredor de salsichas	7 (1); 10 (1)
	B. fatiar	10 (1)



Tipos de *L. monocytogenes* isolados

Fonte	Amostra	Tipo (Nº Amostras)
Produto Final	Pão Pão Q/F	6 (1); 7 (4) ; 8(3); 9(1) 1 (1)
Ambiente	Dreno 3 Dreno 4 B. Fatiar B. barrar manteiga Maq. Barrar manteiga Carro Embalagem queijo	6 (1) 6 (1) 4 (1) 9 (1) 6 (1) 6 (1) 1 (1); 8 (1)

Abril-Maio 2003

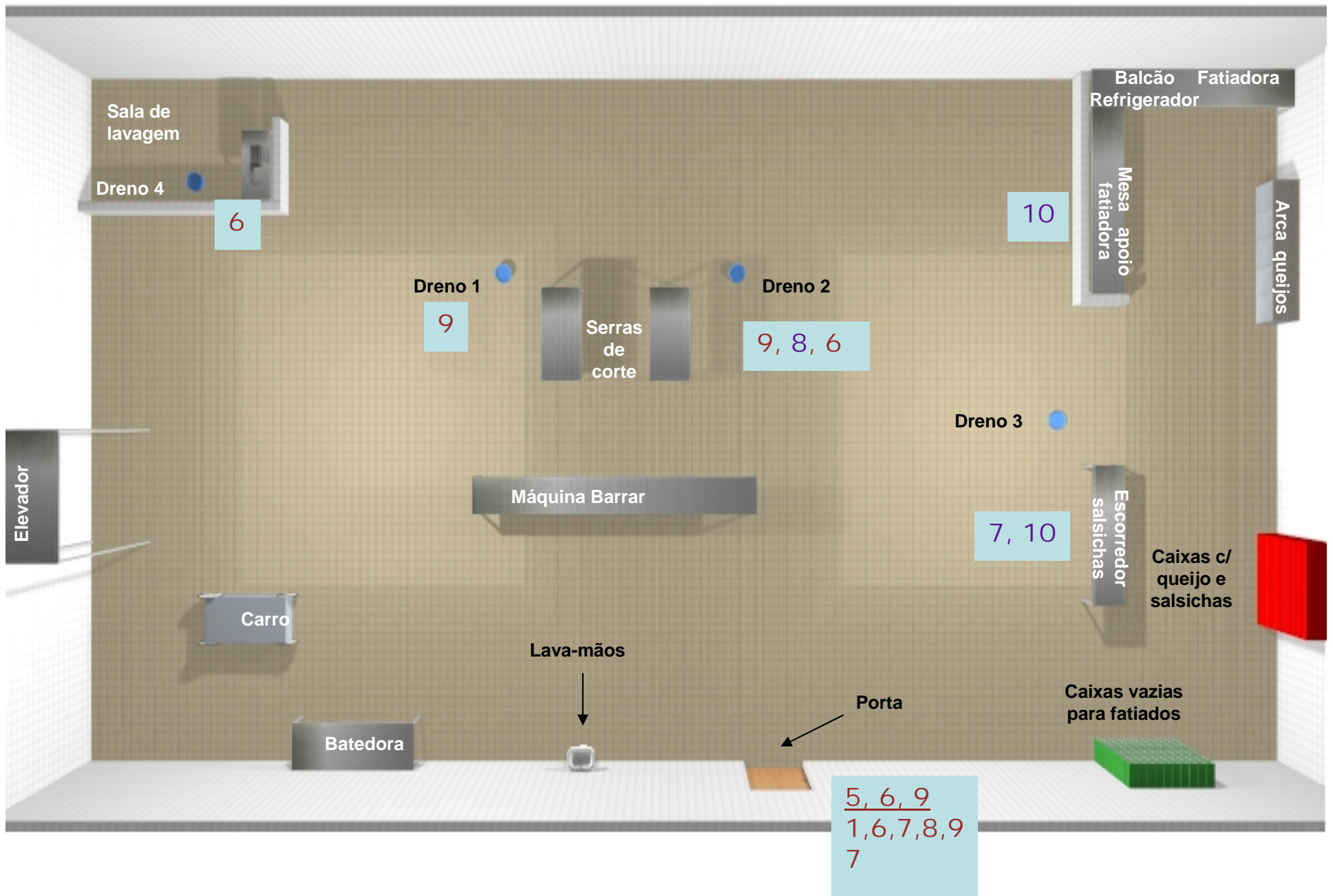


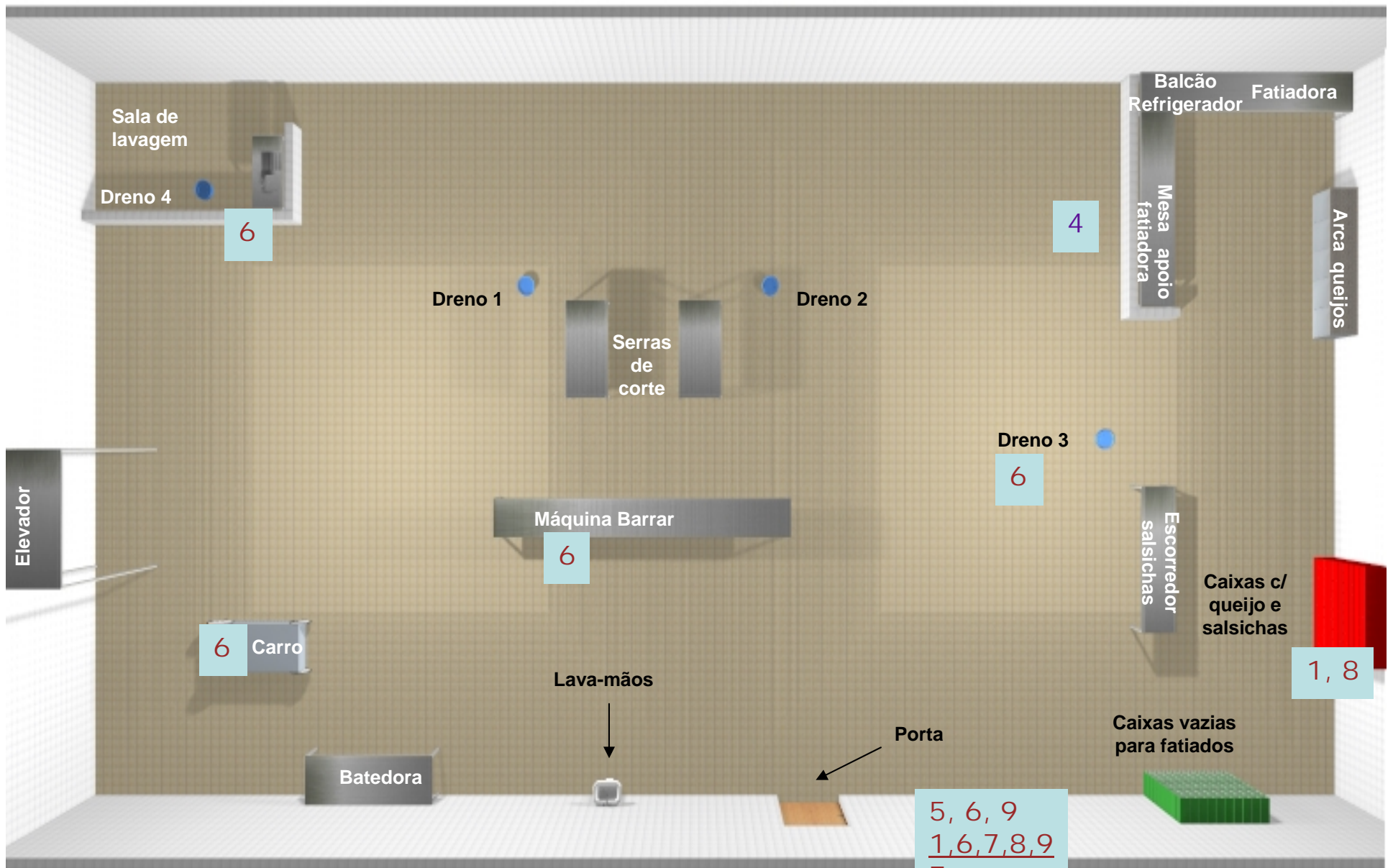
Resultados

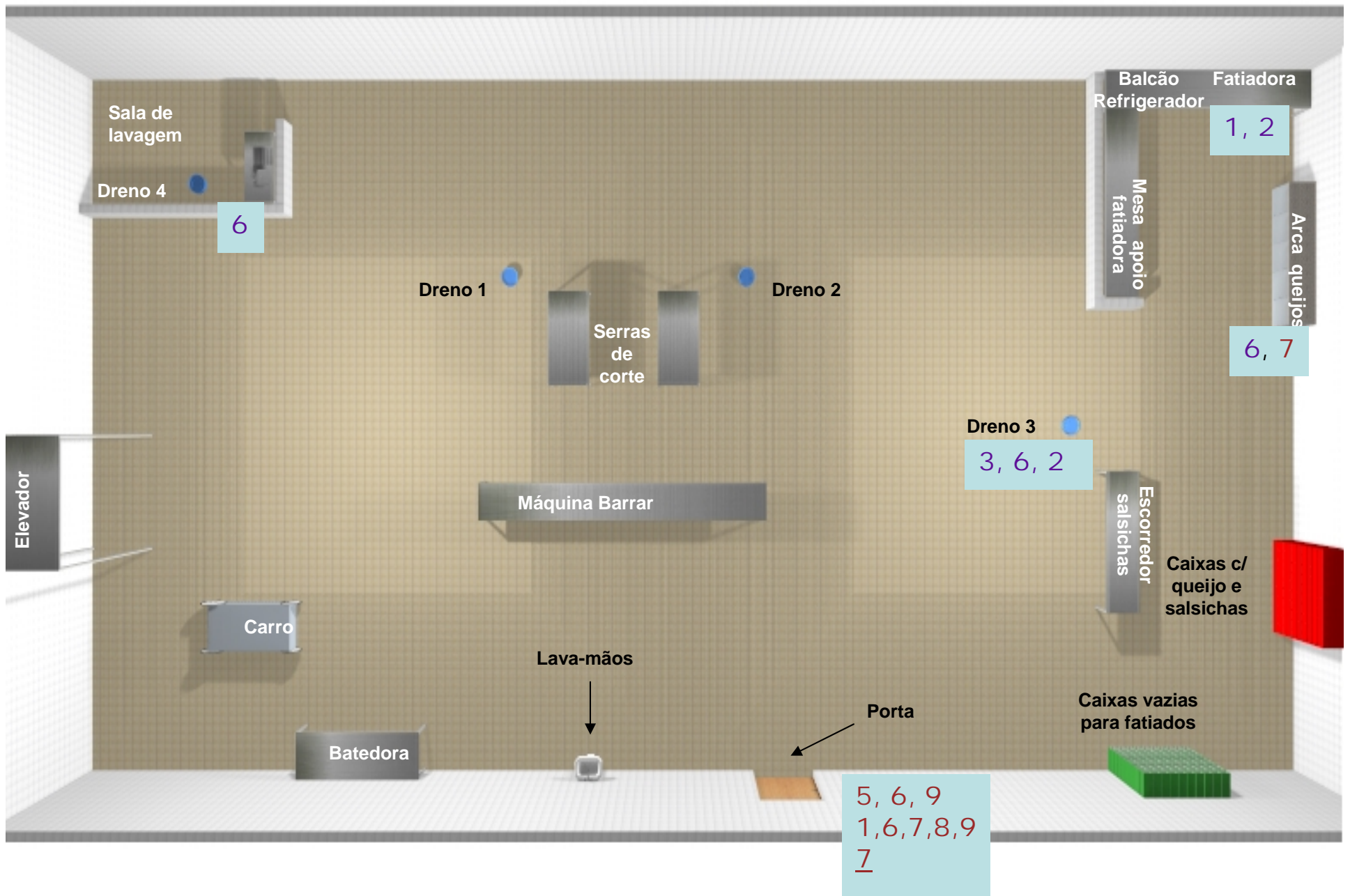
Tipos de *L. monocytogenes* isolados

Fonte	Amostra	Tipo (N° Amostras)
Produto Final	Pão	7 (2)
Matérias Primas	Queijo	3 (1)
Ambiente	Dreno 3 Dreno 4 B. fatiar Arca Fiambre	3 (1); 6 (2); 7 (1) 6 (2) 1 (1) ; 2 (1) 6 (1); 7 (2)











Conclusões

O ambiente de processamento parece ser a fonte de contaminação do produto final

-Contaminação das matérias primas pouco frequente, e de Tipo diferente, da observada no produto final

-Algumas estirpes são sistematicamente isoladas do ambiente (residentes?) e de produto final





Trabalho em curso

Alteração dos planos de higiene na fábrica

Alteração do lay-out

Recolha de novas amostras

Tipagem dos isolados por RAPD-PCR





Segurança Alimentar e Saúde Pública:
definição dos riscos apresentados por
Listeria monocytogenes e *Salmonella* spp.

Projecto financiado pela fundação Calouste Gulbenkian

Cláudia Barreiro
Susana Carneiro
Vânia Ferreira
Luísa Carneiro
Cristina Mena
Gabriela Duarte
Gonçalo Almeida
Paula Teixeira



UNIVERSIDADE
CATÓLICA
PORTUGUESA
Escola Superior
de Biotecnologia