

Listeria e *Listeria monocytogenes* em alimentos

Por: Teresa Letra Mateus^{1,2,3,4}, Humberto Rocha², Rui Leandro Maia⁵, Paula Teixeira^{6*}

¹ Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima

² Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra

³ Centro de Estudos em Ciência Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro, Vila Real

⁴ EPIunit, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, Porto

⁵ UFP Energy, Environment and Health Research Unit (FP-ENAS), Universidade Fernando Pessoa, Praça 9 de Abril, 349, 4249-004 Porto, Portugal

⁶ Universidade Católica Portuguesa, CBOF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Rua Arquitecto Lobão Vital, Apartado 2511, 4202-401 Porto, Portugal

*pcteixeira@porto.ucp.pt

Resumo

A listeriose é uma doença causada pelo consumo de alimentos contaminados por *Listeria monocytogenes* e que é particularmente grave em indivíduos imunodeprimidos. A listeriose tem adquirido uma posição muito relevante como infeção de origem alimentar, também considerando o carácter ubiqüitário do agente e a sua resiliência, motivo pelo qual dedicamos este artigo à ocorrência de *Listeria* em alimentos.

Palavras-chave: *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, toxi-infeção alimentar,

proveniente de vacas com listeriose (Vela, 1997). Durante a década de 80, a incidência de listeriose humana aumentou em vários países, mas ainda assim, manteve-se geralmente baixa quando comparada com outras toxi-infeções alimentares, como a salmonelose (Adams e Moss, 1996; FAO/WHO, 2004b). Todavia, a listeriose tem adquirido uma posição muito mais relevante como infeção de origem alimentar. Apesar da doença ter estado sempre presente no meio rural, aparece agora como

um problema urbano emergente (Vela, 1997), sendo observada sobretudo nos países industrializados, fruto dos atuais hábitos alimentares e das condições de armazenamento de alimentos que nestes se praticam. Não obstante a listeriose ser relativamente rara, a sua elevada taxa de mortalidade e o envolvimento frequente de alimentos industrialmente processados nos surtos, faz com que o impacto social e económico desta doença seja um dos maiores entre as toxi-infeções alimentares (FAO/WHO, 2004b).

Introdução

Apesar de em 1891, já haver descrições sobre o envolvimento de bacilos Gram positivo em doenças que poderiam ter sido listeriose (Doyle, 1989), Murray, Webb e Swann são reconhecidos como os descobridores do microrganismo descrito em 1926 como patogénico para animais de laboratório, após a ocorrência de listeriose em coelhos na cidade de Cambridge (Quinn, 2002). Como produzia monocitose, o microrganismo foi designado de *Bacterium monocytogenes*. Em 1940, Pirie sugeriu que o microrganismo fosse chamado de *Listeria monocytogenes*, o que foi mais tarde aceite (FAO/WHO, 2004a). Este nome provem do cientista que a isolou, Lister, e do facto de originar uma monocitose no sangue periférico (Exposto, 2000).

A primeira epidemia de listeriose em humanos foi em 1929, e esteve associada ao consumo de leite não pasteurizado





Caracterização do agente

O género *Listeria* é constituído por 19 espécies: *Listeria aquatic*, *Listeria booriae*, *Listeria cornellensis*, *Listeria denitrificans*, *Listeria fleischmannii*, *Listeria floridensis*, *Listeria grandensis*, *Listeria grayi*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria marthii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria murrayi*, *Listeria newyorkensis*, *Listeria riparia*, *Listeria rocourtia*, *Listeria seeligeri*, *Listeria weihenstephanensis*, *Listeria welshimeri* (Euzéby, 2015). *L. monocytogenes* é a principal espécie patogénica para o Homem (Quinn, 2002), embora ocasionalmente *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. ivanovii* tivessem sido associadas à ocorrência de doença no Homem (Fröder, 2005).

L. monocytogenes é um bacilo curto, Gram positivo, anaeróbio facultativo (Exposto, 2000; Quinn, 2002). Os bacilos apresentam-se isolados, aos pares ou em pequenas cadeias (Fröder, 2005) que podem ser confundidas com *Streptococcus pneumoniae* ou com o género *Enterococcus* (Murray *et al.*, 2002). Não são formadores de esporos (Exposto, 2000; Fröder, 2005). São levemente β – hemolíticos e catalase positivo (Murray *et al.*, 2002). São ainda bactérias oxidase negativo (Singleton, 1997). Produzem ácido, mas não gás, a partir de alguns carboidratos (Exposto, 2000).

As espécies de *Listeria* crescem na maioria dos meios de cultura convencionais, dando origem a pequenas colónias arredondadas ao fim de 1 ou 2 dias de incubação em agar (Fröder, 2005). A β – hemólise no agar sangue pode servir

para distinguir *Listeria* de bactérias morfológicamente semelhantes, contudo, a hemólise pode não ser observada inicialmente (Doyle, 1989; Murray *et al.*, 2002). A mobilidade do microrganismo num meio líquido ou em agar semi-sólido é útil para a identificação preliminar de *Listeria*, já que esta é móvel por flagelos peritricos a baixas temperaturas, mas não a 37°C (altas temperaturas suprimem o movimento), e apresenta uma motilidade característica (Adams e Moss, 1996; Murray *et al.*, 2002).

Para identificação definitiva, são usados testes serológicos e bioquímicos selectivos. Estão descritos 13 serótipos de *L. monocytogenes* (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e 7) (Wiedmann, 2003) baseados na caracterização dos antígenos somáticos (O) e flagelares (H) sendo que 1/2a, 1/2 b e 4b são responsáveis pela maioria das infecções em neonatos e adultos (Exposto, 2000; Murray *et al.*, 2002), segundo Jawetz *et al.* (1989) e Nobre (1996) cerca de 90% das mesmas. Contudo, Ueda *et al.* (2005), num estudo realizado no Japão, em 14 amostras de carne de porco e frango com *L. monocytogenes* verificou que 21% das amostras eram do serótipo 1/2a, 43% do 1/2b, 29% do 1/2c e apenas 7% do serótipo 4b. Também Théverot *et al.* (2005) num estudo realizado em produtos cárneos, isolou o serótipo 1/2a em 49,5% das amostras, o 1/2b em 13%, o 1/2c em 19,5% e o 4b apenas em 8% das amostras.

Para rápida detecção das espécies do género *Listeria* existem diversos métodos: métodos ELISA (usando anticorpos monoclonais), técnicas de hibridização de ácidos nucleicos e técnicas de PCR, entre outras (Exposto, 2000).

L. monocytogenes sobrevive em atmosferas de 30% de dióxido de carbono, mas não com 100% (Lake *et al.*, 2002). Cresce numa larga gama de temperaturas (1,5°C e 45°C) sendo a temperatura óptima entre 30°C – 35°C (Quinn, 2002; Lundén *et al.*, 2004).

O crescimento de todas as estirpes é inibido a pH abaixo de 5,5, mas o pH mínimo de crescimento está dependente da estirpe e do acidulante, podendo suportar valores de pH até 4,4 (Adams e Moss, 1996). Sobrevivem portanto, numa ampla gama de pH (Lundén *et al.*, 2004), entre

"(...) As espécies de *Listeria* crescem na maioria dos meios de cultura convencionais, dando origem a pequenas colónias arredondadas ao fim de 1 ou 2 dias de incubação em agar (Fröder, 2005)."

5,5 e 9,6 (Quinn, 2002; Fröder, 2005). *L. monocytogenes* é bastante tolerante ao sal, sendo capaz de crescer em meios com 10% de cloreto de sódio e sobreviver durante um ano em meios de 16% de cloreto de sódio a pH 6 (Adams e Moss, 1996; Wiedmann, 2003). Tolerância baixos valores de actividade da água (Fröder, 2005), o que lhe permite crescer em alimentos com alto teor de sal e de gordura, como é o caso dos queijos (Lundén *et al.*, 2004).

L. monocytogenes pode ser isolada do solo, água, vegetação e fezes de uma série de mamíferos, pássaros, peixes, crustáceos, insectos, carraças e outros animais (Gilmour e Rowe, 1990; Scalan, 1991; Schwab *et al.*, 2004). Assim, é fácil compreender a importância do controlo de roedores como vectores desta doença (Schwabe, 1984).

L. monocytogenes sobrevive no solo, assim como nas águas, durante longos períodos – meses a anos (Woolcock, 1991; Nobre, 1996). Segundo Doyle (1989), estudos realizados na Holanda, Alemanha e Inglaterra revelaram uma incidência de 21 a 100% em águas superficiais. A presença de elevado número de *L. monocytogenes* em águas provenientes de efluentes, assumido também pela FAO (1999), indica que o Homem poderá ser a principal fonte de microrganismos na natureza (Marinsšek e Grebenc, 2002).

L. monocytogenes é considerado um microrganismo patogénico oportunista no Homem (FAO/WHO, 2004b), sendo um

agente patogénico primário nos animais (Carter *et al.*, 1995; Ueda *et al.*, 2005). Estão descritos portadores assintomáticos, tanto nos animais como no Homem (ICMSF, 1988; Murray *et al.*, 2002). Um estudo feito por Ruegg (2003), concluiu que 51% de vacas leiteiras em lactação são portadoras entéricas assintomáticas de *L. monocytogenes*, podendo desta forma eventualmente transmitir a bactéria pelo leite (Nero, 2005). A eliminação de animais portadores, verdadeiros reservatórios da bactéria, seria uma medida preventiva importante, segundo Pelczar *et al.* (1993). Apesar de ser desconhecida qual a incidência de portadores intestinais humanos, estima-se que seja de 1 a 5%, e de forma transitória até 70% da população (Murray *et al.*, 2002). Contudo, a incidência da doença será muito maior em populações de alto risco – neonatos, idosos, grávidas, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), transplantados, doentes neoplásicos e toxicodependentes (Marinsšek e Grebenc, 2002; Murray *et al.*, 2002). Convém ressaltar que mulheres grávidas portadoras entéricas de *L. monocytogenes*, podem dar à luz bebés saudáveis (FAO/WHO, 2004a). Num estudo realizado em grupos específicos, *L. monocytogenes* foi isolada de 4,8% de trabalhadores saudáveis de matadouros, 1,2% de adultos hospitalizados, 1% de doentes com diarreia e 26% de pessoas que contactam com doentes com listeriose (Adams e Moss, 1996). Porque o microrganismo é ubiqüitário, a exposição

e colonização pode acontecer na maioria dos indivíduos (Adams e Moss, 1996; Murray *et al.*, 2002). A provar o seu carácter ubiqüitário, está o facto de já ter sido isolada na Nova Zelândia em escovas de dentes e outros objectos domésticos (Lake *et al.*, 2002).

Listeria monocytogenes em alimentos

A ocorrência de listeriose associada ao consumo de alimentos contaminados foi demonstrada convincentemente pela primeira vez num surto ocorrido em províncias marítimas do Canadá em 1981 e relacionado com o consumo de vegetais contaminados (Adams e Moss, 1996; Fröder, 2005). Assim, a listeriose é reconhecida como uma doença alimentar desde a década de 80 (Ueda *et al.*, 2005).

Os animais e as pessoas partilham a mesma fonte de contágio – o ambiente (Doyle, 1989). O carácter ubiqüitário da bactéria inevitavelmente resulta na contaminação de uma série de produtos alimentares (Yücel *et al.*, 2005). Mas os alimentos de origem animal devem ser considerados como uma importante fonte de *L. monocytogenes* para o Homem (Doyle, 1989).

Apesar de os casos de listeriose serem menos comuns do que outras doenças alimentares (i.e. as causadas por *E. coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* ou *Salmonella*), eles representam a principal causa de casos fatais de doenças alimentares (EFSA & ECDC, 2016).

"Um estudo feito por Ruegg (2003), concluiu que 51% de vacas leiteiras em lactação são portadoras entéricas assintomáticas de *L. monocytogenes*, podendo desta forma transmitir a bactéria pelo leite (Nero, 2005)."



L. monocytogenes já foi isolada de muitos alimentos: carne e produtos cárneos, queijos de pasta mole, gelados, vegetais, alimentos de origem marinha – peixe fresco, fumado e crustáceos - e refeições prontas a comer (ICMSF, 1988; FAO, 1999; Araújo *et al.*, 2002; Kwiatek, 2004). A possibilidade de ocorrência de listeriose através de alimentos prontos a consumir, aumenta com o grau de manipulação após o processamento e com o tempo de vida útil desse alimento (Nero, 2005; Sumner *et al.* 2005). *L. monocytogenes* cresce a baixas temperaturas, logo alimentos com poucos microrganismos podem-se tornar altamente contaminados durante uma refrigeração prolongada, sobretudo se os alimentos são crus ou inadequadamente cozinhados (Murray *et al.*, 2002).

Os alimentos descritos como sendo de elevado risco para a ocorrência de listeriose são:

- os que tem potencial para serem contaminados por *L. monocytogenes*;
- os que suportam o crescimento e multiplicação de *L. monocytogenes*;
- e os que são prontos a consumir
- os que requerem refrigeração e são armazenados durante um longo período de tempo (FAO/WHO, 2004a).

A Tabela 1 apresenta os surtos de listeriose ocorridos na Europa de acordo com o tipo de alimento (Lundén *et al.*, 2004).

O facto da doença ter um período de incubação longo dificulta ou impossibilita a identificação do alimento que veiculou a bactéria (Adams e Moss, 1996), mas provavelmente são os produtos lácteos os mais frequentemente implicados (Nobre, 1996; Nero, 2005).

Gilmour e Rowe (1990) e Muir (1990), afirmam que *L. monocytogenes* não sobrevive à pasteurização, todavia, esta não elimina o risco de contaminação posterior, podendo dar origem a surtos como o ocorrido na Finlândia com manteiga pasteurizada, em 1998 (Lundén *et al.*, 2004). O ICMSF (1988), relembra que as bactérias localizadas intracelularmente nos leucócitos polimorfonucleados, tem uma maior probabilidade de sobreviver a uma fraca pasteurização. Assim, devem ser estudadas outras temperaturas e tempos de pasteurização para matérias primas muito contaminadas (Matos e Flor, 1997) e os pasteurizadores devem ser higienizados após cada pasteurização (Lundén *et al.*, 2004). No próximo número vamos nos debruçar sobre *L. monocytogenes* em carne e produtos cárneos. ◀

TABELA 1: Surtos de listeriose na Europa de acordo com o tipo de alimento.

TIPO DE ALIMENTO	ANO	PAÍS	SERÓTIPO	REFERÊNCIA
LEITE E PRODUTOS LÁCTEOS	1949-1957	Alemanha	-	Seeliger, 1961
	1983-1987	Suíça	4b	Büla <i>et al.</i> , 1995
	1986	Austria	1/2a	Allenberger and Guggenbichler, 1989
	1989-1990	Dinamarca	4b	Jensen <i>et al.</i> , 1994
	1995	França	4b	Goulet <i>et al.</i> , 1995
	1997	França	4b	Jacquet <i>et al.</i> , 1998
	1998-1999	Finlândia	3a	Lyytikäinen <i>et al.</i> , 2000
	2001	Suécia	1/2a	Carique-Mas <i>et al.</i> , 2003
CARNE	1987-1989	Inglaterra	4b	McLauchlin <i>et al.</i> , 1991
	1992	França	4b	Goulet <i>et al.</i> , 1993 e Jacquet <i>et al.</i> , 1995
	1993	França	4b	Goulet <i>et al.</i> , 1998
	1999-2000	França	4b	De Valk <i>et al.</i> , 2001
PEIXE	1994-1995	Suécia	4b	Ericsson <i>et al.</i> , 1997
	1997	Finlândia	1/2a	Miettinen <i>et al.</i> , 1999b
VEGETAIS	1993	Itália	1/2b	Salamina <i>et al.</i> , 1996
	1997	Itália	4b	Aureli <i>et al.</i> , 2000

BIBLIOGRAFIA

Adams, M.R. e Moss, M.O. (1996). Food Microbiology. Pp: 186 – 191. The Royal Society of Chemistry.

Araújo, P.C.C., Franco, R.M., Oliveira, L.A.T. e Carvalho, J.C.A.P. (2002). Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói. Acta Scientiae Veterinariae. 30: 19-25.

Carter, G.R., Chengappa, M.M. e Roberts, A.W. (1995). Essentials of veterinary microbiology. 5ª Ed. Pp: 127 – 130. Williams & Wilkins.

Doyle, M.P. (1989). Foodborne bacterial pathogens. Pp: 284 – 299. Marcel Dekker, Inc.

EFSA e ECDC (2016). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015 (2016). EFSA Journal 14(12):4634, 1-231.

Euzéby, J.P., 2015. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. In: <http://www.bacterio.net/listeria.html>

Exposto, F. (2000). Bacilos Gram positivos não esporulados. In: Ferreira, W.F.G. e Sousa, J.C.E. Microbiologia. Cap. 4, Vol.2, Pp: 65-67. Lidel – edições técnicas, Lda.

FAO (1999). Report of the FAO expert consultation on the trade impact of *Listeria* in fish products. FAO fisheries report. 604. Pp: 1 – 40.

In: <http://www.fao.org/waicent/FAOINFO/FISHERY/FISHERY.HTM>

FAO/WHO (2004a). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Microbiological risk assessment series. 5. Pp: 1 – 98. In: <http://www.who.int/foodsafety>

FAO/WHO (2004b). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Microbiological risk assessment series. 4. Pp: 1 – 78. In: <http://www.who.int/foodsafety>

Fröder, H. (2005). Emprego de um método molecular para avaliar a presença de *Listeria monocytogenes* em saladas de hortaliças folhosas minimamente processadas. Pp: 1 – 59. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de S.Paulo. Brasil.

Gilmour, A. e Rowe, M.T. (1990). Microorganisms associated with milk. In: Robinson, R.K. Dairy microbiology. 2ª Ed. Vol. I, Pp: 65. Elsevier applied science.

ICMSF (1988). Microorganisms in foods I. 2ª Ed. Pp: 47-48. Ed Acribia.

Jawetz, E., Melnick, J.C., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Bertel, J.S. e Ornston, L.N. (1989). Medical microbiology. 8ª Ed. Pp: 184-185. Prentice-Hall Internacional Inc.

Kwiatek, K. (2004). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in selected food of animal origin. Bull Veterinary Institute Pulawy. 48: 269-272.

Lake, R., Hudson, A., Cressey, P. e Nortje, G. (2002). Risk profile: *Listeria monocytogenes* in processed ready-to-eat meats. A Crown research institute. New Zealand. Pp: 1 – 62.

Lundén, J., Tolvanen, R. E Korkeala, H. (2004). Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. Journal of Dairy Science. 87:E6 – E11.

Marinská, J. e Grebenc, S. (2002). *Listeria monocytogenes* in minced meat and thermally untreated meat products in Slovenia. Sloven Veterinary Res. 39: 131-136.

Matos, J.E.S. e Flor, L. (1997). Importância de *Listeria monocytogenes* nos laticínios. Revista o médico veterinário. 51: 12-18.

Muir, D.D. (1990). The microbiology of heat-treated fluid milk products. In: Robinson, R.K. Dairy microbiology. 2ª Ed. Vol. I, Pp: 227. Elsevier applied science.

Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Kobayashi, G.S., Pfaller, M.A. (2002). Medical microbiology. Pp: 245 – 247. Mosby.

Nero, L.A. (2005). *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras do Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção. Tese de doutoramento. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de S.Paulo. Brasil.

Nobre, G. (1996). Gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix*. In: Bettencourt, A. Microbiologia médica. 4ª Ed. Cap. 15, Vol 21. Pp: 117 – 122. Arquivos do instituto bacteriológico Câmara Pestana.

Pekczar, M.J., Chan, E.C.S. e Krieg, W.R. (1993). Microbiology – concepts and applications. Pp: 695. Mc Graw Hill, Inc.

Quinn, P.J. (2002). Veterinary microbiology and microbial disease. Blackwell science.

Ruegg, P.L. (2003). Practical food safety interventions for dairy production. Journal of dairy science. 86: E1 – E9.

Scalan, C.M. (1991). Introdução a la bacteriologia veterinaria. Pp: 131. Ed Acribia.

Schwab, J.P., Edelweiss, M.I.A. e Graça, D.L. (2004). Identificação de *Listeria monocytogenes* pela técnica de imunohistoquímica em tecido nervoso central de ruminantes. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. 99(549): 65 – 66.

Schwabe, C.W. (1984). Veterinary medicine and human health. 3ª Ed. Pp: 235, 385, 498. Williams & Wilkins.

Singlenton, P. (1997). Bacteria in biology, biotechnology and medicine. 4ª Ed. Pp: 276 – 277. Ed. Wiley.

Sofus, J.N. e Busta, F.F. (1993). Sorbic acid and sorbates. In: Davidson, P.M. e Branan, A.L. Antimicrobials in foods. 2ª Ed. Cap. 3. Pp: 55. Marcel Dekker, Inc.

Summer, J., Ross, T., Jerson, I. e Pointon, A. (2005). A risk microbiological profile of the Australian red meat industry: risk ratings of hazard-product pairings. International journal of food microbiology. 105 (2): 221-232.

Ueda, F., Anahara, R., Yamada, F., Mochizuki, M., Ochiai, Y. e Hondo, R. (2005). Discrimination of *Listeria monocytogenes* contaminated commercial Japanese meats. International Journal of Food Microbiology. 105 (3): 455 – 462.

Vela, G.R. (1997). Applied Food Microbiology. Pp: 151 – 152. Star Publishing Company.

Wiedmann, M. (2003). An integrated science – based approach to dairy food safety: *Listeria monocytogenes* as a model system. Journal of Dairy Science. 6 (86): 1865-1875.

Woolcock, J.B. (1991). Microbiology of animals and animal products. Pp: 214-215. Elsevier applied science.