

## OCORRÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* EM ALIMENTOS PRONTOS PARA O CONSUMO COMERCIALIZADOS NO VAREJO DA CIDADE DE PELOTAS

CAROLINE KRAUSE BIERHALS<sup>1</sup>; PALOMA PEREIRA DE AVILA<sup>1</sup>; GIOVANA WINK FALEIRO<sup>1</sup>; LUIZ GUSTAVO BACH<sup>1</sup>; MARIA GIRÃO BERWALDT<sup>1</sup>; GRACIELA VÖLZ LOPES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – carolinekbierhals@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – palomaavila92@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – giovanawink@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – lugubach@hotmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – mariagber@icloud.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gracielaavlopes@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, encontrada na forma de bastonetes e causadora de listeriose, doença transmitida por alimentos que, apresenta um alto risco para pessoas imunocomprometidas, gestantes, crianças e idosos (TOMASELLO; CESARE; DIAZ, 2024). De acordo com a EFSA (2023), listeriose foi a quinta zoonose mais comum na União Europeia em 2022, responsável por 286 mortes.

A capacidade de multiplicação de *L. monocytogenes* em condições ambientais adversas, como uma ampla faixa de temperatura (incluindo temperatura de refrigeração), valores extremos de pH, condições de baixo teor de oxigênio e alto teor de sal, permite que este patógeno esteja amplamente distribuído na natureza e persista em ambientes de processamento de alimentos. Além disso, *L. monocytogenes* é capaz de formar biofilmes altamente resistentes aos desinfetantes e agentes antimicrobianos aplicados (WIKTORCZYK-KAPISCHKE et al., 2021). A contaminação cruzada dos alimentos através dos biofilmes representa uma preocupação, especialmente para produtos prontos para o consumo (*ready to eat* - RTE), pois são consumidos sem nenhum processamento adicional (TIRLONI et al. 2024).

O objetivo do presente estudo foi isolar e caracterizar, fenotipicamente e molecularmente, *L. monocytogenes* de queijo e mortadela fatiados obtidos no comércio local da cidade de Pelotas/RS.

### 2. METODOLOGIA

No período de fevereiro à abril de 2025, foram realizadas três coletas de alimentos RTE vendidos à granel em 10 mercados e supermercados da cidade de Pelotas/RS. Foram coletadas 30 amostras de queijo fatiado e 30 de mortadela tipo bologna, totalizando 60 amostras. As amostras foram envolvidas em embalagens de polietileno, mantidas em caixas isotérmicas com gelo e transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos (Universidade Federal de Pelotas) para a análise microbiológica.

O isolamento de *L. monocytogenes* foi realizado a partir de 10 g de amostra diluídos em 90 mL de caldo UVM (Biolog®, Brasil), seguido de incubação a 30 °C por 24 h. Posteriormente, 0,1 mL deste caldo foi transferido para 10 mL de caldo Half Fraser (Oxoid®, Brasil), com incubação a 30 °C por 48 h. Após este período, foi realizada a semeadura em ágar cromogênico (Sigma®, Brasil) e ágar Oxford (Himedia®, Brasil), com incubação a 37 °C por 48 h (ISO 11290-1). Colônias

características de *L. monocytogenes* foram selecionadas e semeadas em ágar Soja Triptona (Kasvi®, Brasil) enriquecido com 0,6% de extrato de levedura (TSA-YE) e incubadas a 37 °C por 24 h. Após, a identificação fenotípica dos isolados foi realizada através dos testes de coloração de Gram, catalase,  $\beta$ -hemólise e fermentação de carboidratos dextrose, ramnose, manitol e xilose. Para a caracterização molecular, o DNA genômico foi extraído seguindo protocolo descrito por SAMBROOK; RUSSELL (2001). A espécie foi confirmada através da amplificação por PCR de um fragmento de 800 pb do gene da internalina A (*inlA*), de acordo com LIU et al. (2007). *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 foi utilizada como controle positivo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das coletas realizadas, foi possível observar que dentre as 60 amostras analisadas, *L. monocytogenes* foi detectada em 12 amostras, resultando em uma prevalência de 20% (Tabela 1). Quanto ao tipo de alimento pronto para o consumo avaliado, *L. monocytogenes* foi detectada em 4 amostras de queijo fatiado e 8 amostras de mortadela fatiada. O microrganismo foi encontrado nos mercados A, C, D, G, I e J.

**Tabela 1.** Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo do varejo da cidade de Pelotas/RS.

| Mercado/<br>Supermercado | Nº de<br>amostras de<br>queijo<br>coletadas | Nº de<br>amostras de<br>queijo<br>positivas (%) | Nº de<br>amostras de<br>mortadela<br>coletadas | Nº de<br>amostras de<br>mortadela<br>positivas (%) |
|--------------------------|---|---|--|--|
| A                        | 3   | 1 (33,3%)                                       | 3  | 1 (33,3%)  |
| B                        | 3   | 0   | 3  | 0  |
| C                        | 3   | 1 (33,3%)                                       | 3  | 2 (66,7%)  |
| D                        | 3   | 1 (33,3%)                                       | 3  | 2 (66,7%)  |
| E                        | 3   | 0   | 3  | 0  |
| F                        | 3   | 0   | 3  | 0  |
| G                        | 3   | 0   | 3  | 1 (33,3%)  |
| H                        | 3   | 0   | 3  | 0  |
| I                        | 3   | 1 (33,3%)                                       | 3  | 0  |
| J                        | 3   | 0   | 3  | 2 (66,7%)  |
| Total                    | 30  | 4 (13,3%)                                       | 30   | 8 (26,7%)  |

No total, 131 colônias características foram obtidas no ágar cromogênico e ágar Oxford e caracterizadas fenotipicamente. Como resultado, 63 isolados

apresentaram características fenotípicas de *L. monocytogenes*. Esses isolados foram submetidos à análise molecular por PCR e 60 isolados confirmaram a espécie através da presença do gene internalina A (*inlA*), específico para *L. monocytogenes*.

A prevalência de *L. monocytogenes* de 20% observada em alimentos prontos para o consumo neste estudo, corrobora com os resultados obtidos por TIRLONI et al. (2024), que avaliaram a presença deste patógeno em alimentos *delicatessen* RTE e obtiveram uma prevalência de 17,4% em 132 amostras analisadas. Em contrapartida, DUMA et al. (2024) investigaram a prevalência de *L. monocytogenes* em alimentos RTE na Romênia durante o período de quatro anos (2019-2022) e obtiveram 26 isolados em um total de 8151 amostras analisadas, correspondendo à uma prevalência de 0,31%, um resultado cerca de 98,5% menor do que o encontrado neste estudo.

Alimentos RTE apresentam um grande risco de transmitir *L. monocytogenes*, principalmente para pessoas do grupo de risco como gestantes, bebês, idosos e indivíduos imunocomprometidos, pois são consumidos sem qualquer tipo de preparação ou tratamento térmico posterior. Estes alimentos, geralmente, são mantidos sob refrigeração por longos períodos, o que permite a multiplicação do patógeno até atingir a dose infecciosa mínima capaz de causar a doença denominada listeriose (OMS, 2018).

Ambientes de processamento de alimentos são favoráveis à multiplicação de *L. monocytogenes*, uma vez que equipamentos de difícil higienização e que requerem desmontagem diária, podem permitir a retenção de resíduos alimentares e facilitar sua persistência (TIRLONI et al., 2024). Além disso, muitas cepas de *L. monocytogenes* podem suportar tratamentos químicos devido à sua capacidade de formar biofilmes em diversas superfícies e sobreviver e se multiplicar em condições ambientais extremas, como baixas temperaturas, amplas faixas de pH e altas concentrações de sal (DUMA et al., 2024).

A presença de *L. monocytogenes* nos queijos e mortadelas fatiados demonstra a necessidade de realizar medidas preventivas para evitar a contaminação por esse patógeno, incluindo uma revisão dos procedimentos de limpeza de equipamentos e utensílios, a higiene dos manipuladores, bem como o controle de temperatura. Destaca-se também a importância da aplicação de diferentes estratégias e intervenções para inibir e remover biofilmes de *L. monocytogenes*, incluindo o uso de desinfetantes químicos, remoção mecânica, agentes de ruptura de biofilmes, tratamento térmico e radiação (FAGERLUND et al., 2020).

#### 4. CONCLUSÕES

A detecção de *L. monocytogenes* em amostras de queijo e mortadela fatiados evidencia a possibilidade de circulação e persistência desse patógeno em alimentos prontos para o consumo, comercializados no varejo da cidade de Pelotas. Esses resultados reforçam a importância da adoção rigorosa de procedimentos adequados de higienização e desinfecção de superfícies e equipamentos, além da implementação de práticas eficazes de controle, com o objetivo de prevenir a contaminação desses produtos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUMA, M.N.; CIUPESCU, L.M.; DAN, S.D.; CRISAN-REGET, O.L.; TABARAN, A. Virulence and Antimicrobial Resistance of *Listeria Monocytogenes* Isolated from Ready-To-Eat Food Products in Romania. **Microorganisms**, v. 12, n. 5, p. 954, 2024.

EFSA (European Food Safety Authority). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 21, n. 12, 2023.

FAGERLUND, A.; HEIR, E.; MORETRO, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes* Biofilm Removal Using Different Commercial Cleaning Agents. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 792, 2020.

LIU, D.; LAWRENCE, M.L.; AUSTIN, F.W.; AINSWORTH, A.J. A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 71, n. 2, p. 133–140, 2007.

OMS (Organização Mundial da Saúde). Listeriose. Folhas de dados. Fevereiro de 2018. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fafolhas-de-TC/detalhe/listeriose>.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. **Molecular cloning**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001.

TIRLONI, E.; CENTOROTOLA, G.; POMILIO, F.; TORRESI, M.; BERNARDI, C.; STELLA, S. *Listeria Monocytogenes* in Ready-To-Eat (RTE) Delicatessen Foods: Prevalence, Genomic Characterization of Isolates and Growth Potential. **International Journal of Food Microbiology**, v. 410, p. 110515–110515, 2024.

TOMASELLO, F.; CESARE, A.D.; DÍAZ, A.V. Training in Quantitative Microbial Risk Assessment of *Listeria Monocytogenes* in Processing Chains: Quantification of Biofilm-Cells Transfer Integrating Virulence and Persistence Factors. **EFSA Journal**, v. 22, 2024.

WIKTORCZYK-KAPISCHKE, N.; SKOWRON, K.; GRUDLEWSKA-BUDA, K.; WĄŻECKA-ZACHARSKA, E.; KORKUS, J.; GOSPODAREK-KOMKOWSKA, E. Adaptive Response of *Listeria monocytogenes* to the Stress Factors in the Food Processing Environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 710085, 2021.