

### LISTERIOSE E SUAS IMPLICAÇÕES NO CONTEXTO DA SAÚDE PÚBLICA

DIAS, Victor Hugo Cortez<sup>1</sup>, MALACRIDA, Amanda Milene<sup>2</sup>, KOVACS, Thais Akelli Sanchez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Discente de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, nível de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá. E-mail: victor\_vhcd@hotmail.com

<sup>2</sup> Discente de Pós-graduação em Ciências da Saúde, nível Mestrado, Universidade Estadual de Maringá. E-mail: amandamalacrida@gmail.com

<sup>3</sup> Médica Veterinária residente do setor de clínica médica e cirúrgica de grandes animais da Universidade Estadual de Maringá – UEM, campus Umuarama – PR. thais.ask@hotmail.com

#### Resumo

Devido ao processo de globalização houve mudanças no perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos (DTAs), visto que o consumo de alimentos processados passou a ser cada vez mais frequente. Estas mudanças predispõe os indivíduos a bacterioses transmitidas por alimentos, dentre elas a listeriose. A *Listeria monocytogenes* é o agente etiológico da listeriose, sendo que esse micro-organismo representa grande preocupação para a indústria de alimentos por resistir ao processo de refrigeração e congelamento, que são comumente empregados para o controle dos micro-organismos em alimentos. A listeriose humana, portanto, representa uma das mais preocupantes DTAs, uma vez que o agente etiológico é um dos mais patogênicos, apresentando diversos mecanismos de virulência, podendo acarretar diversas complicações tais como as ocorrências de meningites, e em gestantes é comum observar quadros abortivos, partos prematuros e natimortos. Diante do exposto, medidas profiláticas devem ser tomadas para prevenir a contaminação na indústria de alimentos, bem como, evitar possíveis surtos de DTAs envolvendo este micro-organismo.

**Palavras-chave:** *Listeria monocytogenes*, Zoonose bacteriana, Segurança de alimentos.

#### Introdução

Com o advento da globalização houve uma série de mudanças no perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos (DTAs), visto que o consumo de alimentos industrializados ou semi-industrializados passou a ser cada vez mais frequente pela população. Tais alterações nos hábitos alimentares predispõe os consumidores a infecções bacterianas vinculadas através dos alimentos. Dentre os agentes bacterianos mais patogênicos isolados em surtos alimentares encontra-se a *Listeria monocytogenes*, que pode estar presente em alimentos que foram contaminados a partir do solo, água ou de excrementos de animais (SHINOHARA *et al.*, 2008).

A listeriose resulta da ingestão de alimentos contendo a bactéria *L. monocytogenes*, sendo que geralmente os surtos estão relacionados ao consumo de alimentos processados, armazenados posteriormente sob longos períodos de refrigeração e consumidos sem aquecimento (MCLAUHLIN *et al.*, 1996; FAI *et al.*, 2011). Entretanto, este patógeno pode ser encontrado em alimentos “in natura”, de origem animal ou vegetal, visto que mamíferos, aves e peixes portadores são responsáveis por contaminar através do material fecal o solo, as hortaliças e a água, disseminando com isso o agente na natureza (RYSER e DONNELLY, 2001; BARANCELLI *et al.*, 2011).

Devido as mudanças evidenciadas nas últimas décadas em relacionadas ao hábito alimentar dos consumidores, a população do meio urbano passou a ser tão exposta ao agente da listeriose quanto a

população do meio rural, considerando que a ingestão de alimentos prontos para o consumo, nos quais o micro-organismo pode se multiplicar, vem se tornando uma prática cada vez mais frequente no ambiente urbano (BARANCELLI *et al.*, 2011)

### Desenvolvimento

#### *Características do agente etiológico*

A *Listeria monocytogenes* pertence a um gênero de bactérias que possui mais 15 espécies do gênero *Listeria*, dentre elas as primeiras a serem descritas foram a *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimerie* e *L. grayi*, sendo que apenas a *L. monocytogenes* é considerada patogênica para os seres humanos (SCHODER, 2016 *apud* COSTA, 2016). A *L. monocytogenes* é um micro-organismo bacilar, gram-positivo, pequeno, que apresenta extremidades arredondadas e é incapaz de produzir esporos. Em condições de cultivo entre 20 a 25°C apresenta-se móvel, entretanto torna-se imóvel ou apresenta baixa motilidade quando submetida a temperatura de 37°C. Formas características de “guarda-chuva” podem ser observadas em cultivos semissólidos, devido a característica microaerófila do micro-organismo (ROUCOURT, 2007). Tal agente é sensível ao processo de pasteurização, entretanto apresenta resistência a inúmeras condições ambientais, como baixo pH, altas concentrações de NaCl e baixas temperaturas, até mesmo a temperatura de congelamento (RYSER e DONELLY, 2001; BARANCELLI *et al.*, 2011).

Segundo descrito na literatura o patógeno em questão é catalase positiva, oxidase negativa e possui resultados positivos para Voges-Proskauer e vermelho de metila (HOLT, 1994 *apud* COSTA, 2016). A *L. monocytogenes* é representada por 13 sorotipos, sendo eles: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e três deles (1/2a, 1/2b, 4b) estão mais frequentemente relacionados ao acontecimento dos casos de listeriose humana (RYSER e MARTH *apud* BARANCELLI *et al.*, 2011; RODRIGUES, *et al.*, 2017). Segundo Tompkin (2002) a baixa incidência de listeriose pode ser explicada mesmo com frequentes exposições ao agente exatamente pelo fato de apenas três dos 13 sorotipos de *L. monocytogenes* estarem relacionados a ocorrência da doença em seres humanos.

Devido a característica psicrotrófica e a alta capacidade de formação de biofilmes do micro-organismo, uma vez presente em ambientes industriais tais como nas câmaras frigoríficas, o controle ambiental torna-se trabalhoso, pois como exposto anteriormente, mesmo em condições de refrigeração é passível ocorrer a multiplicação do agente (JEONG e FRANK, 1994). Dessa forma, para Mantilla *et al.* (2007) o controle da *L. monocytogenes* torna-se um desafio para indústria de alimentos e órgãos oficiais, visto que o congelamento e resfriamento empregados para controle da multiplicação de diversos micro-organismos não são tão eficientes quando empregados para este agente.

Algo que traz preocupação para indústria de alimentos é justamente a capacidade de formar biofilmes e a resistência do micro-organismo a diversas situações descritas anteriormente, inclusive a resistência a desinfetantes e sanitizantes comumente empregados nas instalações industriais (RODRIGUES *et al.*, 2017). Desta forma, segundo Andrade *et al.* (2010) a contaminação pela *L. monocytogenes* pode ocorrer durante todo o fluxograma de abate da unidade, sendo assim, a monitorização do agente deve ocorrer desde a obtenção da matéria prima até o processamento, conservação e consumo final do produto.

#### *Mecanismos de virulência do patógeno*

Para resistir a resposta imuni do hospedeiro este patógeno faz uso de uma variedade de mecanismos como forma de resistência, possuindo capacidade de driblar e sobreviver intracelularmente frente as ações das células de defesa. Ao ser ingerido junto aos alimentos, o processo infeccioso ocasionado por este patógeno inicia-se pela colonização do lúmen intestinal, ultrapassando as barreiras para posterior acesso a corrente sanguínea. Em seguida, a entrada da bactéria para o interior da célula pode ocorrer através de duas formas distintas, sendo a fagocitose e a interação direta entre moléculas da parede celular bacteriana com a parede da célula do hospedeiro. A segunda situação ocorre em células não fagocitárias, e as principais proteínas de superfície presentes na *L. monocytogenes* são as codificadas pelos genes *inIA* e *inIB*, sendo conhecidas por internalina A e B (*InIA* e *InIB*), respectivamente (JAY, 2009 *apud* COSTA, 2016; POSFAY-BARB e WALD, 2009 *apud* SOUZA, 2017). A adesão bactéria-célula mediada pelas internalinas A e B corresponde ao tipo de invasão direta do patógeno.

A listerisina O (LLO), foi o primeiro fator de resistência identificado em *L. monocytogenes* e corresponde ao principal mecanismo de evasão do patógeno quando este encontra-se no interior de macrófagos, visto que é uma proteína formadora de poros que possibilita a saída das células bacterianas após o rompimento das membranas dessas células de defesa (GEDDE *et al.*, 2000 *apud* COSTA, 2016). Estando no citoplasma da célula hospedeira, o presente micro-organismo executa inúmeras e sucessivas multiplicações chegando a um ponto em que ele se utiliza do citoesqueleto da célula onde está para poder formar uma projeção de filamentos de actina e assim ser fagocitado pela célula adjacente, dando início a um novo ciclo (TILNEY e PORTNOY, 1989 *apud* COSTA, 2016; MOSTOWY e COSSART, 2012)

#### *Listeriose humana*

Embora a listeriose apresente baixa incidência entre as DTAs, sua ocorrência na população é de grande preocupação, uma vez que na maioria dos casos o condicionamento clínico é de moderado a grave e a taxa de mortalidade é elevada, variando entre 15 a 30% dos casos. A porção da população mais susceptível são mulheres gestantes, neonatos, idosos e indivíduos imunossuprimidos, tais como diabéticos, pacientes oncológicos e HIV positivo. Neste contexto, há relatos de quadros com sinais clínicos neurológicos, como as ocorrências de meningites, e em gestantes é comum observar quadros abortivos, partos prematuros e natimortos. Os neonatos quando afetados pela infecção vertical são frequentemente acometidos por septicemia (MANTILLA *et al.*, 2007; BARANCELLI *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2017). Os casos de listeriose em indivíduos considerados susceptíveis representam cerca de 90% do total dos casos, no entanto, mesmo dentro da população susceptível, os pacientes oncológicos e HIV positivos apresentam respectivamente 1.364 e 865 vezes maior susceptibilidade para a doença, quando comparados a indivíduos com menos de 65 anos sem comprometimentos imunossupressores (BARANCELLI *et al.*, 2011; COSTA, 2016).

Devido a impossibilidade de realização de estudos com voluntários saudáveis, a dose infectante (DI) para humanos não está estabelecida, uma vez que a variação da susceptibilidade, bem como a variabilidade da virulência do patógeno interferem diretamente sobre a determinação da DI em humanos (BARANCELLI *et al.*, 2011). A maioria dos casos de listeriose humana parecem possuir os alimentos como principal veículo de transmissão, todavia há na literatura relatos de outras possíveis fontes de infecção, tais como tecidos de animais contaminados, excretas de indivíduos portadores, poeira e sangue contendo o micro-organismo. O curso da listeriose no organismo dos seres humanos e dos animais apresenta peculiaridades em relação a maior parte das enfermidades ocasionadas por patógenos vinculados por alimentos, podendo, portanto, o indivíduo desenvolver a forma invasiva ou a não-invasiva. Estas características distintas das demais DTAs deve-se principalmente à natureza intracelular do agente, que infecta a célula, causando-o rompimento e infectando novos tecidos considerados não-alvos normalmente, tais como o sistema nervoso central, a placenta e o útero gravídico (MANTILLA *et al.*, 2007).

A alta taxa de morbidade e mortalidade está associada a listeriose invasiva, visto que a listeriose-não invasiva em muitos casos não é notificada por apresentar sinais clínicos brandos e não patognômicos, como quadros de diarreia, neste contexto não há a assimilação do quadro clínico apresentado pelo enfermo com o possível agente etiológico (SCHLECH, 1996).

#### *Diagnóstico do micro-organismo*

Rodrigues *et al.* (2017) afirma que no Brasil, através da Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril de 2009 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), institui o controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal. Dessa forma, segundo o autor, para alimentos prontos para o consumo, que apresentem características favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, tais como pH > 4,4; Atividade de Água (Aa) superior à 0,92 e concentração de NaCl inferior a 10%, o critério adotado para o monitoramento do patógeno é a ausência do mesmo em 25g da amostra.

Para amostras ambientais e de alimentos, existe uma diversidade de caldos seletivos de enriquecimento e ágaros que podem ser empregados na microbiologia tradicional para a recuperação e cultivo do agente. Ágar PALCAM, ágar Oxford, ágar sangue, ágar sangue com telurito de potássio a 0,05%, ALOAgar e BMC *L. Monocytogenes* são os meios utilizados para a cultura do micro-organismo, sendo que

para a identificação dessa bactéria deve-se observar bacilo em célula única ou cadeia curta, Gram-positivo  $\beta$ -hemolítico na coloração, colônias brancas, lisa em ágar sangue e não há crescimento em meio sólido no ágar MacConkey (Norton *et al.*, 2000; ANDRADE *et al.*, 2010). Testes bioquímicos devem ser realizados, demonstrando resultados compatíveis com as características bioquímicas do agente.

O ISO 11290 (1996) é o método oficial mais empregado atualmente para caracterizar a presença ou ausência do micro-organismo em amostras de alimentos analisadas. Em primeira instância, a amostra é incubada em estufa a 30°C por 24 horas em caldo Half Fraser, no enriquecimento primário. Na sequência, a partir do enriquecimento primário realiza-se o secundário e a amostra é incubada em estufa a 30°C, durante 24 horas em caldo Fraser suplementado. Após plaqueamento seletivo, seguido por estriamento em tubos TSA-YE (*Trypticase Soy Agar- Yeast*), incubados a 30°C em estufa por 24 a 48 horas, ocorre a confirmação da formação das colônias típicas para o micro-organismo. De posse dos isolados as provas bioquímicas devem ser empregadas (SOUZA, 2017).

Apesar de eficientes, as técnicas de microbiologia tradicionais empregadas para a identificação do micro-organismo denotam tempo e apresentam etapas trabalhosas, sendo portanto, potencialmente pouco aplicáveis nos casos em que o diagnóstico epidemiológico do agente necessita de urgência. Deste modo, técnicas de biologia molecular podem ser empregadas, como a PCR que vem sendo utilizadas nas últimas décadas, demonstrando eficiência na detecção da *Listeria monocytogenes* (ANDRADE *et al.*, 2010).

### Conclusões

Com base no exposto, notas-se que a veiculação da *Listeria monocytogenes* através de alimentos representa um problema de saúde pública a nível mundial, visto que este micro-organismo pode ser eliminado por uma diversidade de animais portadores, contaminando o ambiente. Mesmo sendo pouco frequente entre as DTAs, a listeriose deve ser considerada uma doença grave devido a patogenicidade do agente relacionada aos seus mecanismos de virulência. Dessa forma, durante a produção alimentícia, medidas devem ser tomadas para reduzir o risco de contaminação dos produtos em todas as etapas do processo produtivo, bem como, a monitorização do agente nos ambientes produtores de alimentos necessita ser constante, evitando possíveis surtos de DTAs envolvendo este micro-organismo.

### Referências bibliográficas

- ANDRADE, R. B. et al. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. **Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 77, n. 4, p. 741-750, 2010.
- BARANCELLI, G. V. et al. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 155-168, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril de 2009. Institui os procedimentos de controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, 2009.
- COSTA, Daiane da Silva et al. Modelagem probabilística do crescimento de *Listeria monocytogenes* em função do efeito de pH, temperatura e tempo de estocagem. 2016.
- FAI, Ana Elizabeth Cavalcante et al. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, 2011.
- JEONG, Dong Kwan; FRANK, Joseph F. Growth of *Listeria monocytogenes* at 10 C in biofilms with microorganisms isolated from meat and dairy processing environments. **Journal of Food Protection**®, v. 57, n. 7, p. 576-586, 1994.
- MANTILLA, Samira Pirola Santos et al. Ocorrência de *Listeria* spp. em amostras de carne bovina moída comercializadas no município de Niterói, RJ, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1225-1230, 2007.

- MCLAUCHLIN, J. The relationship between *Listeria* and listeriosis. **Food Control**, v. 7, n. 4, p. 187-193, 1996.
- MOSTOWY, Serge; COSSART, Pascale. 3 Virulence Factors That Modulate the Cell Biology of *Listeria* Infection and the Host Response. **Advances in immunology**, v. 113, p. 19, 2012.
- NORTON, Dawn M. et al. Application of the BAX for screening/genus *Listeria* polymerase chain reaction system for monitoring *Listeria* species in cold-smoked fish and in the smoked fish processing environment. **Journal of food protection**, v. 63, n. 3, p. 343-346, 2000.
- ROCOURT, JOCELYNE; BUCHRIESER, Carmen. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-**, v. 161, p. 1, 2007.
- RODRIGUES, Carla Susana; SÁ, Cláudia Valéria Gonçalves Cordeiro de; MELO, Cristiano Barros de. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. **Ciência Rural**, v. 47, n. 2, 2017.
- RYSER, E.T.; DONNELLY, C.W. *Listeria*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K.(Ed.). Compendium of methods for the microbiological examination on foods. 4.ed. **Washington: American Public Health Association**, 2001. p.343-356. Chap. 36
- SCHLECH, Walter F. Overview of listeriosis. **Food Control**, v. 7, n. 4-5, p. 183-186, 1996
- SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.
- SOUZA, Vanessa Rodrigues de. Revisão sistemática e meta-análise de métodos de identificação de *Listeria monocytogenes* em alimentos. 2017
- TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal of food protection**, v. 65, n. 4, p. 709-725, 2002.