

## Presença de *Listeria monocytogenes* em estabelecimentos de restauração coletiva, da região de Lisboa e Vale do Tejo

Carla Maia, Maria João Barreira, Anabela Coelho, Cristina Varela Flores, Rosália Furtado, Sílvia Marcos, Susana Santos, Cristina Belo Correia, Margarida Saraiva, Maria Antónia Calhau

[carla.maia@insa.min-saude.pt](mailto:carla.maia@insa.min-saude.pt)

Laboratório de Microbiologia da Unidade de Referência. Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

### Introdução

A listeriose humana é uma doença relativamente rara, causada pela bactéria *Listeria monocytogenes* (1). As manifestações clínicas incluem, nas formas mais graves, meningoencefalite e septicémia e a doença atinge principalmente certos grupos de risco, nomeadamente grávidas, recém-nascidos, idosos e indivíduos imunodeprimidos (1).

A principal via de transmissão é através da ingestão de alimentos (1). Esta bactéria é ubiqüitária, podendo estar presente em alimentos crus e em alimentos processados que tenham sido contaminados antes, durante e/ou após o processamento (2). A sua capacidade de se multiplicar a baixas temperaturas (+2/+4° C) em produtos derivados do pescado, produtos cárneos e certos tipos de queijo e os longos prazos de validade estabelecidos, torna estes géneros alimentícios fontes importantes de contaminação (2).

Em Portugal a listeriose só recentemente passou a ser uma doença de notificação obrigatória (3), pelo que os dados disponíveis sobre esta doença são escassos. Em 2003, na sequência de um estudo retrospectivo sobre listeriose em Portugal, foi estabelecida uma taxa de incidência de, pelo menos, 1,4 casos por milhão de habitantes, com uma taxa de mortalidade superior a 17% (4).

### Objetivos

Monitorizar a presença de *L.monocytogenes* em alimentos servidos em estabelecimentos de restauração coletiva e descrever o estudo efetuado, para identificação da origem de *L.monocytogenes*, num caso de contaminação de alimentos prontos para consumo numa cozinha hospitalar.

### Material e métodos

As amostras de alimentos prontos para consumo, foram colhidas no momento em que estavam a ser servidas em estabelecimentos de restauração coletiva, na região de Lisboa e Vale do Tejo (LVT), entre os anos 2009 e 2013.

Um total de 6035 amostras foram submetidas a ensaios de quantificação de acordo com a ISO 11290-2:1998, Amd.1:2004 (5) e a deteção de *L.monocytogenes* pelo método VIDAS LMO2 (6), sendo os casos positivos confirmados pela ISO 11290-1:1996, Amd.1:2004 (7).

Na sequência da deteção de *L.monocytogenes* em dois alimentos prontos para consumo provenientes da cozinha de um hospital "Massa gratinada com carne picada" (julho 2013) e "Vitela com fusilli e cenouras cozidas" (novembro de 2013), foram recolhidas em dezembro de 2013, 24 amostras de esfregaços de superfícies em vários pontos da área de produção e transformação da cozinha, de acordo com a ISO 18593:2004 (8). Em maio de 2014, voltou-se ao mesmo local e foram efetuados 9 esfregaços nas superfícies onde se tinha detetado *Listeria* sp. Nos esfregaços foi efetuada a pesquisa de *L.monocytogenes* e *Listeria* sp. de acordo com ISO 11290-1:1996, Amd.1:2004 (7).

Os isolados de *L.monocytogenes* obtidos foram caracterizados por Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) (9), utilizando as enzimas de restrição *Apal* e *Ascl*. Os perfis obtidos foram analisados com o software Bionumerics, versão 3.5 (Applied Maths, Belgium), o que permitiu o agrupamento dos isolados em *clusters*, num dendograma.

### Resultados

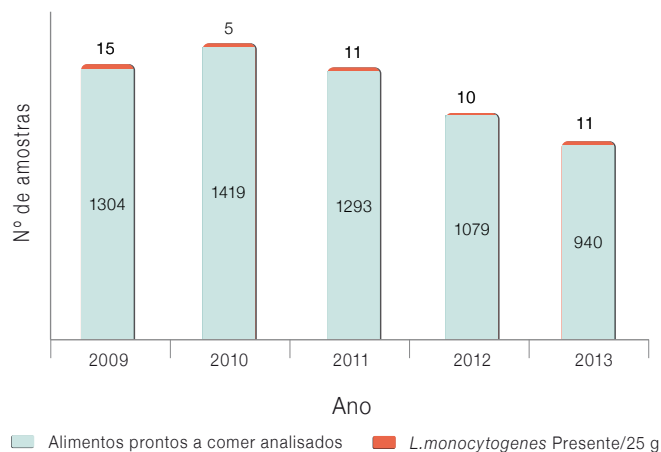
No gráfico 1 apresenta-se o número de amostras analisadas entre 2009 e 2013 e o número de amostras onde foi detetada a presença de *L.monocytogenes*.

Das 6035 amostras de alimentos analisadas, foi detetada *L.monocytogenes* em 52 (0,9%), todas apresentaram resultados de contagens inferiores a 100 ufc/g.

O número de amostras positivas ao longo dos anos variou entre 0,4 a 1,2% das amostras analisadas.

artigos breves\_ n. 5

Gráfico 1 : ▾ Presença de *L.monocytogenes* em alimentos prontos a comer provenientes de estabelecimentos de restauração coletiva em LVT (2009-2013).



Os estabelecimentos de restauração coletiva onde foi detetada *L.monocytogenes* em alimentos prontos para consumo, foram Hospitais, Instituições de apoio social, Escolas e Empresas/Serviços Públicos diversos.

Na **tabela 1** apresentam-se os resultados da análise das amostras de esfregaços de superfícies, efetuados em vários pontos da área de produção e transformação da cozinha hospitalar, recolhidos em dezembro de 2013 e maio de 2014.

Tabela 1: ▾ Presença de *Listeria* sp. na área de produção e transformação da cozinha hospitalar.

Zona da cozinha	Ponto analisado	Dezembro 2013		Maio 2014	
		<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.innocua</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.innocua</i>
Câmara de refrigeração de carnes	Prateleiras	ND	ND	—	—
	Tabuleiros de descongelação	ND	ND	—	—
	Paredes	ND	ND	—	—
	Ralo de escoamento	Presente	Presente	Presente	ND
Zona de preparação de carnes	Bancada	ND	ND	—	—
	Cubas das bancadas	ND	Presente	ND	ND
	Ralos das cubas	ND	ND	—	—
	Grelhas e ralo de escoamento	Presente	Presente	Presente	ND
	Serra de corte da carne*	ND	Presente	ND	ND
	Tábua de corte da carne vermelha (crua)*	ND	ND	—	—
Zona de preparação de vegetais	Cubas das bancadas	ND	ND	—	—
	Ralos das cubas	ND	ND	—	—
	Grelhas e ralo de escoamento	ND	ND	—	—
	Tábua de corte verde (vegetais)*	Presente	ND	ND	ND
Zona de confeção	Bancada e cuba de bancada	ND	ND	—	—
	Ralo da cuba	ND	ND	—	—
	Grelhas e ralo de escoamento (zona fogão)	Presente	ND	Presente	ND
	Grelhas e ralo de escoamento (zona grelhador)	Presente	Presente	ND	ND
	Caixote do lixo (junto ao lava-mãos)	Presente	Presente	ND	ND
	Escorredor das massas*	ND	ND	—	—
	Tábua de corte branca (cozinhados)*	Presente	ND	ND	ND
Zona de empratamento	Linha de empratamento 1	ND	ND	—	—
	Linha de empratamento 2	ND	ND	—	—
	Bancada para empratamento	ND	ND	—	—

ND - Não detetado

\* Superfícies que contactam com alimentos

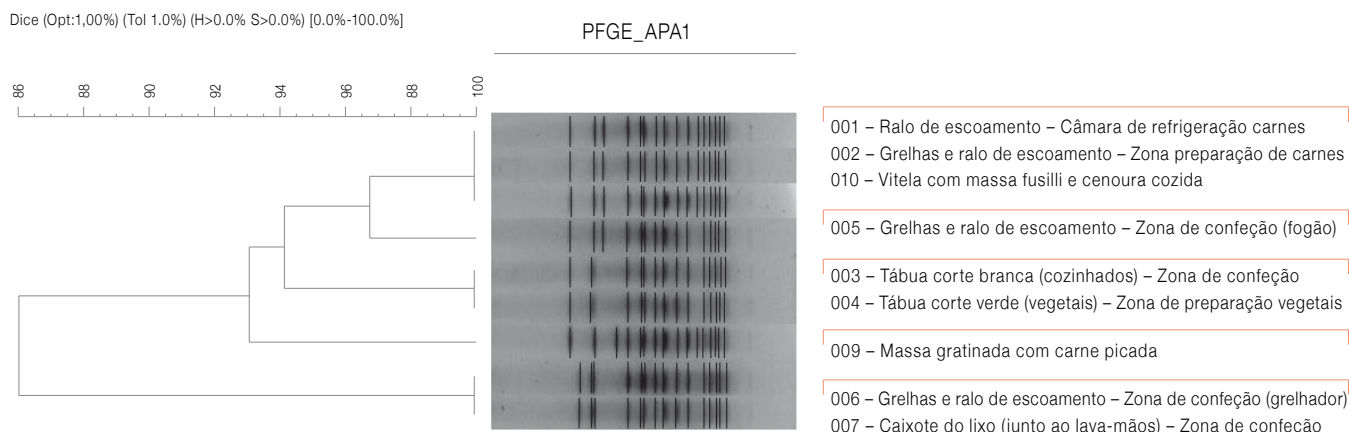
Nas superfícies analisadas foi detetada a presença de *Listeria* sp. em superfícies estruturais e em superfícies que entram em contacto com alimentos prontos para consumo, como é o caso das tábuas de corte utilizadas para vegetais e alimentos já confecionados (tabela 1).

Na primeira visita, para avaliar a presença de *Listeria* nas superfícies, verificou-se que 11 (37,5%) estavam contaminadas, 7 (29,2%) delas com *L.monocytogenes*. Todas as zonas da cozinha apresentavam superfícies contaminadas por *L.monocytogenes* com exceção da linha de empratamento. Na segunda visita, em maio, os resultados mostraram que a *L.monocytogenes* continuava presente em três superfícies estruturais (ralos e grelhas de escoamento) de diferentes áreas da cozinha.

A caracterização molecular dos isolados de *L.monocytogenes* por PFGE encontra-se apresentada na figura 1.

Por análise do dendograma, verifica-se que os isolados de *L.monocytogenes* se agrupam em 5 clusters. Foi identificado o mesmo perfil de PFGE das estirpes isoladas na refeição “Vitela com massa fusilli e cenoura cozida”, no ralo de escoamento da câmara de refrigeração de carnes e nas grelhas e ralo de escoamento da zona de preparação da carne. Os isolados das duas tábuas de corte têm o mesmo perfil entre si. As grelhas e ralo de escoamento (zona do grelhador) e o caixote de lixo da zona de confeção têm um perfil comum.

Figura 1: Dendograma resultante da análise por PFGE dos isolados de *L.monocytogenes* de alimentos e amostras ambientais de cozinha hospitalar.



## Conclusões

Verificou-se a presença de *L.monocytogenes* nos alimentos prontos a consumir, servidos em estabelecimentos de restauração coletiva, mas apenas em baixos números.

A avaliação da eficácia da higiene das superfícies é um ponto de controlo crítico, essencial na gestão do risco em estabelecimentos do ramo alimentar, que poderá ajudar a definir procedimentos e a avaliar a eficácia da sua implementação e vigiar/monitorizar o uso efetivo de Boas Práticas de Higiene.

A utilização de tipagem molecular por PFGE permitiu verificar a existência de diferentes estirpes na mesma unidade, relacioná-las e estabelecer a possível origem da contaminação de um dos alimentos.

## Referências bibliográficas:

- (1) European Food Safety Authority. European Centre for Disease Prevention and Control, The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. EFSA Journal 2014;12(2):3547. [LINK](#)
- (2) European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. EFSA Journal 2013;11(6):3241. [LINK](#)
- (3) Despacho n.º 5681-A/2014, 21 de abril. DR, 2ª Série (parte C), n.º 82, de 29 de abril de 2014:11374-(2)-(20). Notificação obrigatória de doenças transmissíveis e outros riscos em saúde pública. [LINK](#)
- (4) Almeida GN, Gibbs PA, Hogg TA, et al. Listeriosis in Portugal: an existing but under reported infection. BMC Infect Dis. 2006 Oct 20;6:153. [LINK](#)
- (5) ISO 11290-2:1998/Amd.1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 2: Enumeration method. Amendment 1: Modification of the enumeration medium. Geneva: International Organization for Standardization, International Electrotechnical Committee, 2004.



artigos breves\_ n. 5

- (6) VIDAS *Listeria monocytogenes* II (LMO2): Detecção de *Listeria monocytogenes* em produtos alimentares e ambientais. Validado pela AFNOR (BIO 12/11 – 03/04) para todas as amostras alimentares e ambientais. [Em linha]. [consult. 4/11/2014]. [LINK](#)
- (7) ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method. Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data. Geneva: International Organization for Standardization, International Electrotechnical Committee, 2004.
- (8) ISO 18593:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs. Geneva: International Organization for Standardization, International Electrotechnical Committee, 2004.
- (9) Centers for Disease Control and Prevention. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Listeria monocytogenes* (PNL04 Last Updated April 2013). Atlanta, GA: CDC, 2013. [LINK](#)