

# Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigüi, São Paulo

## Food-borne staphylococcal intoxication outbreak in Birigüi municipality, São Paulo State

RIALA6/1061

Aparecida de Fátima MICHELIN<sup>1\*</sup>, Luiz Simeão do CARMO<sup>2</sup>, Iracilda Zeppone CARLOS<sup>3</sup>

\* Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Laboratório I DIR VI Araçatuba e Universidade Paulista – Campus Araçatuba, Rua Florêncio de Abreu, 185, 16.016-060 – Araçatuba/SP - igobi@uol.com.br

<sup>2</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

<sup>3</sup> Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP

Recebido: 18/08/2005 – Aceito para publicação: 29/06/2006

### RESUMO

O presente trabalho descreve um surto de intoxicação alimentar ocorrido na cidade de Birigüi, São Paulo em 1998, que envolveu aproximadamente 1800 pessoas, sendo que dessas, cerca de 1200 eram crianças em idade escolar. Esses indivíduos alimentaram-se com a merenda escolar, servida nas escolas públicas do município, composta de arroz, feijão e farofa, esta contendo farinha de milho, farinha de mandioca, ervilha, milho em conserva, lingüiça tipo toscana e mortadela. *Staphylococcus* coagulase positiva e produtor de enterotoxina tipo A foi isolado da farofa, em população superior a  $8,5 \times 10^7$  UFC/g. Esse achado indica que a farofa foi a fonte da contaminação bacteriana e responsável pela intoxicação alimentar.

**Palavras-Chave.** *S. aureus*, intoxicação alimentar, enterotoxina estafilocócica.

### ABSTRACT

The present study describes a food-borne intoxication outbreak occurred in the municipality of Birigüi, São Paulo in 1998, which involved approximately 1,800 people, and among them nearly 1,200 were school age-children. These individuals had consumed the scholar meal, served at public schools of that city. This meal was constituted by the following foods: rice, beans and farofa. Farofa is made of corn or cassava flours toasted in butter or oil; and that one at issue was mixed with, canned peas, canned corn grain, Toscana sausage, and mortadela (large Italian sausage). Positive-coagulase enterotoxin-A producer *Staphylococcus* was isolated from farofa, and the bacterial populations was at  $>8,5 \times 10^7$  CFU/g. This finding indicated that farofa was the source of food-borne staphylococcal intoxication.

**Key Words.** *S. aureus*, food-borne intoxication, staphylococcal enterotoxin.

### INTRODUÇÃO

Os alimentos comumente associados com intoxicação alimentar estafilocócica são carnes, produtos cárneos, saladas contendo presunto, queijo e batata e produtos de padaria recheados com creme e produtos lácteos. Muitos desses produtos são contaminados durante a preparação, tendo como fonte de microrganismo o homem, o animal e o meio ambiente. A capacidade de desenvolvimento de enterotoxinas é maior em alimentos que estão expostos a temperaturas que permitem o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicas<sup>1</sup>.

Nos alimentos processados, onde ocorre destruição de *S. aureus* durante a defumação, o cozimento, a fermentação e pasteurização, a sua ocorrência indica, geralmente,

contaminação pós-processamento, proveniente da pele, boca e nariz dos manipuladores. Quando um número elevado de *S. aureus* é encontrado em alimentos processados, pode-se considerar também que a sanitização e o controle da temperatura, ou ambos, foram inadequados. Em alimentos crus, principalmente de origem animal, a presença de *S. aureus* é comum, uma vez que a fonte de estafilococos pode ser a pele, o pelo ou a pena de animais<sup>2</sup>.

A quantidade de enterotoxinas estafilocócicas (SE) produzida, em alimentos ou culturas, difere em função do tipo que é secretado. A síntese de SEA, SED e SEE ocorre na fase logarítmica de crescimento, enquanto que SEB e SECs são produzidas no final da fase estacionária<sup>3</sup>.

As enterotoxinas estafilocócicas superantigênicas, consideradas protótipo dos superantígenos, são potentes

indutoras de citocinas e anticorpos, o que tem permitido uma compreensão dos eventos patológicos presentes na intoxicação de origem alimentar<sup>3</sup>. Spiekermann & Nagler-Anderson<sup>4</sup> mostraram que os sintomas observados nos episódios de toxinfecção alimentar são resultantes da ação da enterotoxina estafilocócica, disseminada por via sanguínea, sobre as células T dos tecidos linfóides periféricos encontrados no intestino.

As intoxicações alimentares de origem estafilocócica são causadas principalmente pelas linhagens produtoras de coagulase<sup>5</sup>. Dentre essas, a espécie *S. aureus* é a mais comumente envolvida, sendo que um surto causado por *Staphylococcus intermedius* foi reportado por Khambaty et al.<sup>6</sup>. Contudo, também na literatura são relatados surtos causados por espécies coagulase-negativas e que são produtoras de enterotoxinas<sup>7</sup>.

A potencial intoxicação estafilocócica não pode ser atribuída sem que se teste a enterotoxigenicidade da cepa de *S. aureus* isolada e/ou se demonstre a presença da enterotoxina estafilocócica pré-formada no alimento. A ausência de *S. aureus* e nem mesmo a sua presença em pequeno número é garantia de que o alimento é seguro, pois condições desfavoráveis para a sobrevivência desse microrganismo podem resultar em uma diminuição de sua população ou morte da célula microbiana, mas se quantidades suficientes de enterotoxina já tiverem sido formadas, elas permanecem para induzir um quadro de intoxicação alimentar estafilocócica<sup>2</sup>.

O presente estudo tem o objetivo de verificar a presença de estafilococos enterotoxigênicos nos alimentos envolvidos em um surto de intoxicação alimentar ocorrido no município de Birigüi, SP.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição do Surto

Em novembro de 1998, ocorreu um surto de intoxicação alimentar no município de Birigüi, Estado de São Paulo, envolvendo cerca de 1800 pessoas. Desse total, 1200 eram crianças em idade escolar, freqüentadoras das pré-escolas e escolas de ensino fundamental, no período vespertino. A alimentação servida, também denominada merenda escolar, foi preparada na cozinha piloto municipal e enviada para as escolas, sem refrigeração, através de peruas fechados. A merenda escolar servida era composta de arroz, feijão e farofa contendo farinha de mandioca e de milho, ervilha e milho verde em conserva e ainda embutidos como mortadela e lingüiça tipo toscana. A ingestão da referida merenda ocorreu por volta das quinze horas e os sintomas típicos de intoxicação alimentar, como náusea, vômito, cólica abdominal e diarreia se manifestaram entre 30 e 90 minutos após a ingestão dos alimentos.

Cerca de 90% dos indivíduos acometidos dirigiram-se aos três serviços de Pronto Atendimento existentes na cidade: Pronto Socorro Municipal, Pronto Atendimento da UNIMED e Pronto Socorro da Santa Casa de Misericórdia, sendo que cerca de 5% foram encaminhados para internação na Santa Casa de Misericórdia, onde permaneceram em observação até o dia seguinte quando receberam alta hospitalar.

### Composição das Amostras para a Análise

As equipes técnicas das vigilâncias sanitárias, estadual e municipal, conjuntamente, coletaram amostras dos alimentos preparados (arroz, feijão e farofa), presentes nas escolas onde foi servida a alimentação e também na cozinha piloto, sendo que nesta, foram coletados também os ingredientes da farofa (farinha de mandioca e milho, ervilha e milho em conserva, mortadela picada e lingüiça tipo toscana). As amostras coletadas foram encaminhadas em caixa térmica com gelo reciclável para o Laboratório de Saúde Pública da Direção Regional de Araçatuba, vinculado tecnicamente ao Instituto Adolfo Lutz, onde foram conservados sob refrigeração até o início das análises bacteriológicas.

### Análise Bacteriológica

#### Pesquisa de *Staphylococcus*<sup>2</sup>

Em frascos contendo 225 ml de água peptonada a 0,1% (Difco) tamponada, estéreis, foram adicionados 25g de cada um dos alimentos e ingredientes citados. Após homogeneização foram preparadas sucessivas diluições decimais e em seguida 0,1 ml de cada diluição foi semeado em placas de ágar Baird-Parker (Sanofi) que foram incubadas por 24 horas a 37°C em estufa bacteriológica (WTB Binder).

As colônias foram contadas e algumas dessas transferidas para tubos com agar nutriente (Difco) incubados por 24 horas a 37°C e após esse período reservados para futuros testes.

### Caracterização bioquímica das colônias isoladas

#### Pesquisa da enzima coagulase<sup>8</sup>

O conteúdo parcial do crescimento bacteriano de cada tubo com agar nutriente foi transferido para tubos contendo caldo BHI (Difco) e incubados por 24 horas a 37°C e após realizado o teste da coagulase utilizando plasma de coelho.

#### Pesquisa de enterotoxina estafilocócica

A pesquisa de enterotoxina estafilocócica A, B e C foi realizada no Instituto Adolfo Lutz Central, na cidade de São Paulo. As cepas isoladas foram enviadas em tubo contendo ágar nutriente. A técnica empregada foi a aglutinação do látex reversa e passiva (RPLA) (Oxoid).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as amostras de alimentos servidos na merenda escolar, bem como dos ingredientes que fizeram parte da composição da farofa, foi realizada a pesquisa de estafilococos. A amostra de farofa proveniente das escolas apresentou uma população de estafilococos de  $2,5 \times 10^8$  UFC/g e naquela proveniente da cozinha piloto a população foi de  $8,5 \times 10^7$  UFC/g. A análise de todos os ingredientes que entraram na composição da farofa, bem como do arroz e feijão cozidos também servidos na merenda escolar revelaram uma população de estafilococos inferior a  $10^2$  UFC/g.

As culturas de alimentos que apresentaram uma população bacteriana superior a  $10^2$  UFC/g, conforme portaria

Nº 451 de 19/09/1997 do Ministério da Saúde, em vigor no ano de 1998, tiveram colônias submetidas à pesquisa da enzima coagulase e à capacidade de produzir enterotoxina. Observou-se que tanto as colônias provenientes das amostras de farofa coletadas nas escolas, como daquelas coletadas na cozinha piloto, foram capazes de produzir coagulase e enterotoxina estafilocócica A.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva também foi verificada em outros surtos de intoxicação alimentar e em avaliações do perfil microbiológico de alguns alimentos. A investigação de um surto de intoxicação alimentar envolvendo queijo tipo Minas frescal, em Pará de Minas, no estado de Minas Gerais, mostrou que *S. aureus* coagulase positiva, juntamente com *Salmonella* e coliformes fecais, foram a causa do referido surto<sup>10</sup>. Também no estudo da qualidade microbiológica dos alimentos de restaurantes tipo self-service da cidade de Teresina, no estado do Piauí, foi verificado que 49,20% das amostras analisadas estavam contaminadas e, dentre estas, 1,78% apresentavam contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva<sup>11</sup>.

A presença de cepa de estafilococos produtora de enterotoxina A está de acordo com outros estudos realizados para a elucidação de surtos de intoxicação alimentar. A investigação de 18 surtos de intoxicação alimentar na cidade de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, apontou a presença de linhagens de *Staphylococcus* enterotoxigênicos em 14 dos isolamentos efetuados, sendo que as enterotoxinas A e B foram identificadas concomitantemente em 12 deles<sup>12</sup>. Posteriormente, a investigação de 8 surtos de intoxicação alimentar na mesma cidade, revelou que em todos os surtos onde se isolou *Staphylococcus*, estes eram produtores de enterotoxina estafilocócica A sendo que, alguns produziam também enterotoxina tipo B e outros, tipo C<sup>13</sup>. A enterotoxina estafilocócica A também foi detectada em alimentos lácteos em um surto de intoxicação alimentar ocorrido no Japão, envolvendo cerca 13.420 casos<sup>14</sup>.

A pesquisa de enterotoxina estafilocócica em cepas de estafilococos coagulase-positiva e *S. aureus*, foi realizado na Itália, envolvendo alimentos comercializados e amostras de superfícies utilizadas na preparação de alimentos industrializados. Esse estudo revelou que 17,3% das amostras foram positivas para estafilococos coagulase positiva e que a presença de enterotoxinas A estava presente em cerca de 50% das amostras identificadas como *S. aureus*<sup>15</sup>. Tais resultados mostram que as condições de preparo dos alimentos nem sempre são satisfatórias e que as superfícies envolvidas nesse processo podem constituir fonte de contaminação.

A frequência de *Staphylococcus* nos estudos elucidativos de surtos de intoxicação alimentar, bem como a presença desse microrganismo nas avaliações microbiológicas dos alimentos e das condições higiênicas e sanitárias dos estabelecimentos do setor alimentício, sugerem que os manipuladores de alimentos constituem uma potencial fonte de contaminação microbiana, em especial de *Staphylococcus* enterotoxigênicos<sup>16,17,18</sup>.

A presença de elevada população estafilocócica nas amostras de farofa supõe que as condições higiênicas do estabelecimento responsável pela preparação da merenda escolar são insatisfatórias e que as normas sanitárias para o preparo de alimentos foram negligenciadas. Também indicam que os estafilococos enterotoxigênicos sejam de origem humana, possivelmente dos manipuladores de alimentos, infectados e ou colonizados por *Staphylococcus* sp, uma vez que a análise de todos os ingredientes que entraram na composição da farofa apresentou níveis populacionais de estafilococos baixos (< 10<sup>2</sup> UFC/g). No tocante à temperatura, possivelmente, durante o preparo da farofa foi empregado aquecimento inferior a 60°C, temperatura mínima requerida para inviabilizar a célula de estafilococos<sup>2</sup>; já que o arroz e o feijão, que requerem temperaturas superiores para o seu preparo, apresentaram população bacteriana inferior a 10<sup>2</sup> UFC/g.

O aquecimento dos alimentos é uma medida capaz de diminuir a população estafilocócica presente, contudo deve-se considerar que para os alimentos preparados em grande quantidade o tratamento térmico pode não atingir todo o volume e permitir assim a sobrevivência de algumas células. Deve-se também levar em conta que as enterotoxinas estafilocócicas são termoestáveis e que uma vez presentes nos alimentos não serão inativadas nas temperaturas normalmente atingidas durante o aquecimento<sup>19</sup>.

A análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de intoxicação alimentar, juntamente com avaliações sanitárias e epidemiológicas, são ferramentas indispensáveis para elucidar a origem e as condições que possibilitaram a veiculação dos microrganismos e seus produtos. Desta forma o estudo do presente surto apresenta relevante importância para a saúde pública mostrando a necessidade da implantação de práticas que garantam a qualidade dos alimentos produzidos.

Assim, pode-se verificar que o surto de intoxicação alimentar foi causado pela ingestão da farofa contaminada por estafilococos coagulase positiva produtor de enterotoxina do tipo A, provavelmente proveniente de fonte humana, e que medidas corretivas e preventivas devem ser imediatamente implantadas na cozinha piloto visando garantir a qualidade sanitária dos alimentos produzidos e servidos para a população escolar.

## AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a Dr<sup>a</sup>. Miyoko Jakabi do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo pelo apoio técnico na identificação da enterotoxina estafilocócica.

## REFERÊNCIA

1. Bergdoll MS. *Staphylococcus aureus*. In: Doyle M P (Ed). *Foodborne Bacterial products*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA, 1989; 463-523.

2. Lancette GA, Tatini SR. *Staphylococcus aureus*. In: Vanderzant C, Splittstoesser DF. (Ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3<sup>th</sup> ed. Washington, D.C: American Public Health Association, 1992, p. 533-550.
3. Micusan VV, Thibodeau J. Superantigens of microbial origin. *Immunol* 1993; 5: 3-11.
4. Spiekermann GM, Nagler-Anderson C. Oral administration of the bacterial superantigen staphylococcal enterotoxin B induces activation and cytokine production by the T cells in murine gut-associated lymphoid tissue. *J Immunol* 1998; 161(11): 5825-31.
5. Bergdoll MS, Reiser R. Application of radio – immunoassay for detection of staphylococcal enterotoxins in foods. *J Food Prot* 1980; 43: 68-72.
6. Khambaty FM, Bennett, RW, Shah DB. Application of pulsed field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of *Staphylococcus intermedius* implicated in a food-related outbreak. *Epidemiol Infect* 1994; 113(1): 75-81.
7. Pereira KS, Pereira JL. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. *Rev Hig Aliment* 2005; 19: 32-4.
8. Sperber WH, Tatini SR. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol* 1992; 29: 502-5.
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos – DINAL. Padrões microbiológicos para produtos expostos à venda ou de alguma forma destinados ao consumo. Portaria n° 451 de 19 de setembro de 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, DF, Seção 1, 22 set 1997, p.21005-12.
10. Cerqueira MMOP, Souza MR, Fonseca LM, Rodrigues R, Rubinich J. Surto epidêmico de toxinfecção alimentar envolvendo queijo tipo Minas Frescal em Pará de Minas. *Arq Bras Med Vet Zootec* 1994; 46: 723-8.
11. Nunes IFS, Ferreira GP, Albuquerque WF. Perfil microbiológico dos microorganismos causadores de DTAs em restaurantes self-services na cidade de Teresina – PI. *Hig Aliment* 2002; 16: 59-62.
12. Carmo LS, Bergdoll MS. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brazil). *Microbiol Rev* 1990; 21: 320-3.
13. Carmo LS, Dias RS, Anunciação LLC, Bergdoll MS. Staphylococcal food poisoning in Minas Gerais State, Brazil. *Arc Bras Med Vet Zootec* 1995; 47: 113-22.
14. Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low fat milk in Japan: estimation of enterotoxin a in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect* 2003; 130: 33-40.
15. Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int J Food Microbiol* 2005; 98: 73-9.
16. Carmo LS, Dias RS, Linardi VR, Sena MJ, Santos DA. An outbreak of staphylococcal food poisoning in the Municipality of Passos, MG, Brazil. *Braz Arch Biol Technol* 2003; 46: 581-6.
17. Vanzo SP, Azevedo RVP. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos: perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. *Hig Aliment* 2003; 17: 114-23.
18. Ombui JN, Arimi SM, Kayihura M. Beef and dressed chickens as sources of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Nairobi. *East Afr Med J* 1992; 69: 606-8.
19. Bergdoll MS. Analytical Methods for staphylococcus aureus. *Int J F Microbiol* 1990; 10: 91-9.