

OBSERVAÇÕES LABORATORIAIS SOBRE SURTOS ALIMENTARES DE *Salmonella* sp,
OCORRIDOS NA GRANDE SÃO PAULO, NO PERÍODO DE 1994 A 1997.

Miyoko JAKABI*
Adriana Aparecida BUZZO*
Christiane Asturiano RISTORI*
Ana Terezinha TAVECHIO**
Harumi SAKUMA*
Ana Maria R. de PAULA*
Dilma Scala GELLI*

RIALA 6/850

JAKABI, M.; BUZZO, A.A.; RISTORI, C.A.; TAVECHIO, A.T.; SAKUMA, H.; PAULA, A.M.R.; GELLI, D.S. - OBSERVAÇÕES LABORATORIAIS SOBRE SURTOS ALIMENTARES DE *Salmonella* sp, OCORRIDOS NA GRANDE SÃO PAULO, NO PERÍODO DE 1994 A 1997. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 58 (1): 47-51, 1999.

RESUMO: As Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETAs) causadas por salmonela são consideradas um dos mais importantes problemas de Saúde Pública, tanto nos países em desenvolvimento como em países desenvolvidos. Significativo aumento no número de surtos por *S. Enteritidis* tem sido observado na Grande São Paulo desde 1994. Foram relatados no período de outubro de 1994 a junho de 1997, 18 surtos de ETAs causadas por salmonelas envolvendo 23 alimentos, sendo que em 13 (72,2%) surtos foram identificados *Salmonella* Enteritidis. Os alimentos envolvidos foram predominantemente de origem animal, em especial ovos e seus derivados. O método analítico empregado foi uma modificação do descrito no "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods", APHA. A relevância e a gravidade deste microrganismo como agente de ETA é discutido neste trabalho.

DESCRITORES: Enfermidades Transmitidas por Alimentos, *Salmonella*, ovos e derivados.

INTRODUÇÃO

As *Salmonella* sp são agentes frequentes de surtos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos. É um microrganismo entérico, podendo estar presente no intestino de animais de sangue quente e, mais raramente, também nos de sangue frio. Em função da capacidade de disseminação, no meio ambiente, esta bactéria pode ser isolada de locais variados e diferentes (águas doces superficiais, costa marítima, carnes de animais, pescados, verduras, ovos, etc.) e conseqüentemente, de diver-

sas matérias primas alimentares. Pode, ainda, ser veiculada pelo próprio homem, neste caso na condição de portador assintomático¹².

Já foram descritos mais de 2000 sorotipos de *Salmonella*. Porém, somente uma fração dos mesmos estão relacionados com doenças humanas. Em determinados períodos de tempo, considerando-se algumas décadas, ocorre a prevalência de 2-3 sorotipos nas infecções humanas^{9,12}.

Apesar de não ser formadora de esporos e portanto apresentar termo sensibilidade de células bacterianas

* Seção de Microbiologia Alimentar – Divisão de Bromatologia e Química – Instituto Adolfo Lutz – São Paulo.

** Setor de Enterobactérias – Divisão de Biologia Médica – Instituto Adolfo Lutz - São Paulo.

vegetativas, além de outras características como não sobrevivência em pH ácidos, a ocorrência de surtos por *Salmonella* sp é freqüente. As causas são várias, em especial a já citada capacidade de disseminação, relacionada com possibilidades de contaminação cruzada em ambiente de preparo de alimentos, com conseqüente multiplicação, associada ao tempo decorrido entre preparo e consumo de alimentos¹².

Desde a década de 80, o sorotipo Enteritidis tem sido considerado prevalente e associado ao consumo de aves e ovos. Este sorotipo consegue se manter em ovidutos de matrizes, o que leva à contaminação interna das gemas de ovos. Ainda, a sua recontaminação em alimentos já cozidos também está associada à ocorrência de surtos alimentares, tanto no Brasil como nos demais países.

Levantamentos realizados nos Estados Unidos, onde os surtos são notificados de forma mais sistematizada, revelam que, no período de 1988 a 1992, ocorreram 549 episódios por *Salmonella*, 69% do total de notificações. Destes, 60% foram pela *S. Enteritidis*, o que demonstra a importância deste sorotipo no período considerado. Outro dado importante, é a capacidade deste sorotipo causar infecções extra-intestinais, inclusive com casos fatais³. Nos países da Europa, os dados existentes revelam situação semelhante à descrita para os Estados Unidos^{3,4,5,12}. Apesar da existência de sistema para notificação de doenças alimentares, nos países citados incluindo o Japão e o Canadá, reconhece-se que os dados existentes não retratam a totalidade de surtos por esta etiologia⁸. No Brasil, onde tal sistema é incipiente, com exceção do Estado do Paraná, os relatos são ainda mais escassos^{2,7}.

Na legislação brasileira, os limites constantes para esta bactéria é de ausência em 25g. Entretanto, existe uma quantidade necessária para a ocorrência da doença humana. Esta quantidade, ou dose infectante, pode variar em função do sorotipo e da afinidade dos mesmos a determinadas espécies animais; por exemplo, menos de 10 células da *S. Typhi*, exclusivamente humana, é suficiente para desencadear doença no homem, enquanto são necessárias 10¹¹/g da *S. Pullorum*, adaptada às aves, para enfermar o homem¹². Para a elucidação de surtos por esta etiologia, não é suficiente verificar presença em 25g, assim como não são adequados resultados de presença de *Salmonella* em 25g. Entretanto, em algumas situações, é possível realizar a análise em alíquotas determinadas, quando se trata de amostras semi-elaboradas, não prontas para consumo, que terão resultados indicativos da presença do agente, e em ambiente hospitalares, para os quais, a presença sem a quantificação pode ser elucidativa de surtos, uma vez que se trata de consumidores sensíveis, seja por faixa etária extrema (bebes e idosos) ou por doenças concorrentes. No caso de análise de

águas, a alíquota deve ser maior, considerando o tempo de incubação da doença (acima de 6 horas) e a diluição "natural" dos reservatórios e poços.

O presente trabalho tem por objetivo o relato de observações laboratoriais obtidos da análise de alimentos envolvidos em surtos alimentares, efetivamente consumidos, ou semi elaborados e de amostras da mesma partida usada para o preparo de alimentos (ovos/maionese ou *mousse*), de surtos ocorridos por esta etiologia, no período de outubro de 1994 a junho de 1997, na cidade de São Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Das amostras enviadas para elucidação de surtos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos, no período de outubro de 1994 a junho de 1997, 23 foram positivas para *Salmonella*, assim distribuídas: 5 maioneses; 2 bolos; 2 *mousses*; 4 alimentos à base de carnes (destes, 1 coxinha ainda por fritar, 1 coxa de frango frita e 1 espeto de almôndega cru); 3 de águas; 1 de ovo liofilizado e 1 de ovos inteiros, da mesma partida dos usados para o preparo de alimento; 2 pratos à base de cereais (arroz cozido e salada de lentilha); 2 de leite reconstituído (mameadeiras) e 1 de alimento à base de legumes (batata cozida).

As amostras se referem a 18 surtos, sendo 7 em 1994 (de 2 dentre os 7, foram enviadas 2 amostras/surto); 5 em 1995 (de 1, foram entregues 3 amostras); 2 em 1996 e 3 de 1997 (de 1, foram enviadas 2 amostras).

As solicitações de análise continham poucas informações sobre número de expostos e de afetados, período de incubação e sintomas e sinais clínicos prevalentes. Dentre os acometidos; entretanto, todas as solicitações indicavam diarreia e febre, o que permitiu dirigir a análise para este agente etiológico.

Quando da análise de amostra de alimentos efetivamente consumidos, a metodologia analítica foi conforme descrito no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA)⁶, modificada no que se refere ao caldo de pré-enriquecimento (Água Peptonada a 1% - APT-1%), às diluições seriadas, quando aplicável, em APT-1% (até a diluição de 10⁻⁷), à utilização dos caldos de enriquecimento seletivo (Rappaport-Vassiliadis modificado e caldo selenito-cistina), incubados a 42° C por 24, 48hs e até 5 dias e plaqueamento nos meios *Salmonella-Shigella* (SS), Verde Brilhante (BG) e Sulfito de Bismuto ágar (BSA). O isolamento das colônias suspeitas foi feito em meio Instituto Adolfo Lutz (IAL), para a identificação presumtiva de enterobactérias. As colônias que apresentaram

reação característica de Salmonelas, neste meio, foram testadas frente aos antisoros polivalentes "O" e "H". Nas amostras cruas e em uma amostra de arroz cozido não foram realizadas as etapas de diluições seriadas. Na amostra de água um volume de 1000 ml foi filtrado em membrana de 0,45 µm de diâmetro. Após a filtragem, a membrana foi colocada em 225ml de APT-1%. Uma amostra composta de 6 ovos inteiros foi analisada conforme segue: os ovos foram quebrados em capela de fluxo laminar, separando-se as gemas e desprezando-se cascas e claras. As gemas foram homogeneizadas e acrescentou-se APT-1%, v/v. Após o enriquecimento não seletivo (18-24h a 35°C), procedeu-se às etapas analíticas conforme já descrito, tanto para as membranas filtrantes como para as gemas.

Uma vez caracterizada como *Salmonella*, as cepas foram enviadas para o Setor de Enterobactérias da Seção de Bacteriologia Médica do I. Adolfo Lutz Central, onde foram sorotipadas segundo metodologia descrita por Popoff & Le Minor⁹.

RESULTADOS

Os resultados obtidos, anualmente, por alimento, sorotipo e alíquotas positivas, estão expressos nas Tabelas 1 (outubro a dezembro de 1994), Tabela 2 (1995), Tabela 3 (1996) e Tabela 4 (Jan. a Jun. 1997).

Os dados constantes nas solicitações de análise foram: 10, sem referência ou histórico de expostos/afetados; 1, relatando 20 afetados; 1, assinalando 28 hospitalizados e 1 caso fatal (1994); 1, com 100 afetados por consumo de ovo liofilizado; 1, com 100 afetados por bolo; 1, com 18 afetados por maionese e 1 caso fatal (1995); 1 com cerca de 500 afetados por consumo de salada de lentilha (1996); 1, com cerca de 30 afetados por consumo de arroz cozido; 1, relatando 223 expostos, dentre os quais 10 afetados por consumo de coxa de frango (1997).

Nos surtos com relato de casos fatais, os alimentos envolvidos, o sorotipo e as maiores diluições positivas são: em 1994, uma amostra de carne assada com *S. Enteritidis* até a diluição 10⁻⁴ e uma maionese, do mesmo surto, também com até a diluição 10⁻⁴ de *S. Enteritidis*; em 1995, presença de *S. Enteritidis* até a diluição 10⁻⁵ em maionese.

Com relação aos resultados de mais de 1 amostra relacionada com o mesmo surto, observa-se, dos surtos de 1994, a presença de *S. Infantis* em batata cozida (até 10⁻³) e maionese (até 10⁻⁴) e em carne assada e maionese, ambas com até 10⁻⁴ *S. Enteritidis*/g; dos surtos de 1995, gemas de ovos crus (presença em 25g), *mousse* de chocolate (até 10⁻⁷) e *mousse* de limão (até 10⁻⁶) também com

positividade para a *S. Enteritidis* e, a partir de materiais de outro surto, presença em 5ml de *S. enterica* subespécie *Arizonae* 61:-:1,5 de 2 fórmulas diferentes de mameiras (leite reconstituído).

TABELA 1

Sorotipos e quantificação de salmonelas encontradas nos diferentes tipos de alimentos envolvidos nos surtos ocorridos na Grande São Paulo, no ano de 1994.

| TIPO DE ALIMENTO | SOROTIPO | QUANTIFICAÇÃO |
|------------------|-------------------------|---------------------------|
| Água | <i>S. I</i> 6,7: e,h:- | pres. em 1000 ml |
| Água | <i>S. IIIb</i> 50: r: z | pres. em 1000 ml |
| Água | <i>S. Panama</i> | pres. em 1000 ml |
| Salgadinho | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |
| Maionese | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁴ |
| Maionese | <i>S. Infantis</i> | até dil. 10 ⁻⁴ |
| Batata cozida | <i>S. Infantis</i> | até dil. 10 ⁻³ |
| Maionese | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |
| Carne assada | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |

TABELA 2

Sorotipos e quantificação de salmonelas encontradas nos diferentes tipos de alimentos envolvidos nos surtos ocorridos na Grande São Paulo, no ano de 1995.

| TIPO DE ALIMENTO | SOROTIPO | QUANTIFICAÇÃO |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------|
| Ovos | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 6 unidades |
| <i>Mousse</i> de chocolate | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁷ |
| <i>Mousse</i> de limão | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁶ |
| Espeto de almôndega | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |
| Ovo liofilizado | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁷ |
| Bolo | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁵ |
| Maionese | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁵ |
| Maionese | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁷ |

TABELA 3

Sorotipos e quantificação de salmonelas encontradas nos diferentes tipos de alimentos envolvidos nos surtos ocorridos na Grande São Paulo, no ano de 1996.

| TIPO DE ALIMENTO | SOROTIPO | QUANTIFICAÇÃO |
|------------------|-----------------------|---------------------------|
| Lentilha | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻⁴ |
| Bolo | <i>S. Enteritidis</i> | até dil. 10 ⁻³ |

TABELA 4

Sorotipos e quantificação de salmonelas encontradas nos diferentes tipos de alimentos envolvidos nos surtos ocorridos na Grande São Paulo, no ano de 1997.

| TIPO DE ALIMENTO | SOROTIPO | QUANTIFICAÇÃO |
|---------------------|--|---------------|
| Coxa de frango | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |
| Arroz cozido | <i>S. Enteritidis</i> | pres. em 25 g |
| Leite reconstituído | <i>S. enterica</i> , subespécie <i>Arizonae</i> 61:-:1,5 | pres. em 5 ml |
| Leite reconstituído | <i>S. enterica</i> , subespécie <i>Arizonae</i> 61:-:1,5 | pres. em 5 ml |

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, no presente trabalho, estão de acordo com os dados da literatura específica sobre a importância do gênero *Salmonella*, nas Enfermidades Transmitidas por Alimentos^{3,8,11,12} e a prevalência da *S. Enteritidis* internacionalmente ou na situação endêmica atual^{1,2,4,5,7,10}. É importante assinalar que a notificação de surtos por consumo de alimentos é incipiente em nosso meio. Desta forma a real ocorrência desta doença não pode ser fundamentada apenas nestes dados (de 23 cepas isoladas 16 pertencendo a este sorotipo).

Embora por análises laboratoriais não seja possível a completa explicação das causas que favoreceram os surtos, é interessante observar que amostras diferentes, relacionadas com o mesmo surto, apresentam o mesmo sorotipo, permitindo concluir que a contaminação cruzada não é rara, no preparo final de alimentos^{7,12}.

Considerando o número de células viáveis obtidas dos alimentos prontos para consumo, exceção das amostras de água, mamadeiras e arroz cozido, nas demais foram encontrados níveis a partir da diluição 10⁻³, até a diluição 10⁻⁷, tanto em surtos por sorotipo *Infantis* como *S. Enteritidis*. A indicação de hospitalizações e de casos fatais obtidos, se referem a surtos pela *S. Enteritidis*. Em ambos os casos fatais, mais do que um alimento consumido estava envolvido com a veiculação deste agente, o que pode ter potencializado o número necessário para causar a doença e sua conseqüente fatalidade.

No que se refere à amostra de ovo liofilizado, é possível concluir que os mesmos foram preparados a partir de ovos contendo a *Salmonella*, atingindo números altos antes da liofilização. Não havia informação sobre pasteurização prévia; porém, caso tenha sido realizada, o provável é que os ovos se recontaminaram e foram mantidos em temperatura e condições compatíveis com a multiplicação deste agente. Em qualquer das situações os resultados obtidos são preocupantes, revelando descuido e despreparo da indústria liofilizadora.

Ainda, observa-se que o consumo de alimentos à base de ovos contaminados e de aves pode ser considerado como veiculador prevalente de ETAs. Dos surtos relatados, 7 estão relacionados com o consumo destes alimentos; no caso de 1 dos bolos (1995), a cobertura era de clara crua batida em neve. Este achado confirma os dados de literatura^{2,3,4,5,12}.

O presente trabalho permite concluir que:

- as atividades de elucidação de agentes de ETAs devem ser sistematizadas, por notificação obrigatória destes eventos;

- as informações de expostos/afetados, período de incubação e sinais e sintomas prevalentes são de importância para que o laboratório possa conduzir as determinações analíticas de forma mais específica;

- embora seja possível a análise de matérias primas e de produtos semi-acabados, como indicativas da presença do agente, o diagnóstico deve ter por base os alimentos efetivamente consumidos pelos afetados;

- há necessidade de programas que possibilitem informações sobre higiene de alimentos e aplicação dos princípios do sistema de Análise de Perigos, Pontos Críticos de Controle (HACCP), tanto para a preparação final de alimentos, como para as indústrias.

- os laboratórios devem realizar quantificações a partir de amostras relacionadas com ETAs;

- a sorotipagem é de fundamental importância para o estudo epidemiológico e de aspectos de manipulação/preparo higiênico de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Seção de Meios de Cultura do Instituto Adolfo Lutz que todos esses anos vem con-

tribuindo com a preparação dos meios utilizados na realização desse levantamento.

RIALA 6/850

JAKABI, M.; BUZZO, A.A.; RISTORI, C.A.; TAVECHIO, A.T.; SAKUMA, H.; PAULA, A.M.R.; GELLI, D.S. - Laboratorial observation about foodborne Salmonellosis outbreaks in Great São Paulo city, from 1994 to 1997. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 58 (1): 47-51, 1999.

ABSTRACT: Foodborne diseases by *Salmonella* sp are one of the most important problems in Public Health. Since 1994 a significant increase of *S. Enteritidis* outbreaks have been notified in the Great São Paulo city. From October 1994 to June 1997, 18 foodborne disease outbreaks due to *Salmonella* were reported, involving 23 different kinds of foods. *S. Enteritidis* was responsible for 13 (72,2%) of the outbreaks.

Key words: Foodborne diseases, *Salmonella* sp, eggs and sub-products.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTEKRUSE, S.F.; COHEN, M.L. & SWERDLOW, D.L. Emerging Foodborne Diseases. **Emerg. Infect. Dis.** 3(3): 285-293.1997.
2. ARAÚJO, E.; PACHECO, M.A.S.R.; BONI, R.F.; FONSECA, Y.S.K.; GELLI, D.S.; FERNANDES, S.A. & TAVECHIO, A.T. Surtos alimentares por *Salmonella* Enteritidis associados ao consumo de alimentos à base de ovos, em Sorocaba, S.P. **Higiene Alimentar**, 9(40): 24-26, 1995.
3. BEAN, N.H.; GOULDING, J.S.; DANIELS, M.T. & ANGULO, F.J. Surveillance for foodborne disease outbreaks – United States, 1988-1992 (-review). **J. Food Prot.** 60(10): 1265-1286. 1997.
4. CAFFER, M.I. & EIGUER, T. *Salmonella* Enteritidis in Argentina. **Int. J. Food Microbiol.**, 21: 15-19.1994.
5. FANTASIA, M.R. & FILETICI, E. *Salmonella* Enteritidis in Italia. **Int. J. Food Microbiol.**, 21: 7-13.1994.
6. FLOWERS, R.S.; D'AOUST, J.Y.; ANDREWS, W.H. & BAILEY, J.S. "*Salmonella*". In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3rd ed., Washington, D.C., Vanderzant, C. & Splittstoesser, D.F., c.25, p.371- 422, 1992.
7. KAKU, M.; PARESI, J.T.; TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; BATISTA, A.B.; CASTANHEIRA, I.A.Z.; GARCIA, G.M.P.; IRINO, K. & GELLI, D.S. Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no nordeste do estado de S. Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, 29 (2): 127-131. 1995.
8. NOTERMANS, S. & BORGENDORFF, M. A Global Perspective of Foodborne Disease. **J. Food Prot.**, 60(11): 1395-1399. 1997.
9. POPOFF, M.Y. & MINOR L. Formule antigeniques des sérovars de *Salmonella*. Paris. Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherches pour les *Salmonella*, Institut Pasteur, p.151,1997.
10. RIDZON, R.; KLUDT, P.; PEPPE, J.; SHARIFZADEH, K. & LETT, S. Two outbreaks of *Salmonella* Enteritidis associated with Monte Cristo Sandwiches. **J. Food Prot.** 60(12): 1568-1570. 1997.
11. TAUXE, R.V. Emerging Foodborne Diseases: An Evolving Public Health Challenge. **Emerg. Infect. Dis.** 3(4): 425-434. 1997.
12. VARNAM, A.H. & EVANS, M. G. *Foodborne Pathogens*. Wolfe Publishing Ltd. 1991. c.4, p.51-85.

Recebido para publicação em 29/05/98

