

Presença de *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em surto de toxinfecção alimentar ocorrido na região do Vale do Ribeira

Isolation of *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in a food-borne disease outbreak in Vale do Ribeira region

RIALA6/1525

Estevão de Camargo PASSOS^{1*}, Ataíde dos Santos de ALMEIDA², Ana Ruth Pereira de MELLO¹, Cícero Vagner de SOUSA¹, Ana Luiza Soares de FREITAS¹, Fernanda Garrido GONÇALVES¹, Maria Aparecida de OLIVEIRA³

*Endereço para correspondência: ¹Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Santos, Instituto Adolfo Lutz, Rua Silva Jardim, 90, Vila Nova, Santos, SP, Brasil, CEP: 11015-020. Tel./Fax: (13) 3232-5112. E-mail: estevaopqc@yahoo.com.br

²Departamento Municipal de Saúde, Prefeitura Municipal da Estância Turística de Eldorado

³Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas, Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto, Instituto Adolfo Lutz
Recebido: 14.08.2012 – Aceito para publicação: 04.12.2012

RESUMO

Este trabalho descreve um surto de toxinfecção alimentar em nove pessoas que participaram de um almoço de confraternização realizado no município de Eldorado/SP, em 11 de fevereiro de 2012. Os indivíduos acometidos procuraram os serviços ambulatoriais, apresentando sintomas compatíveis com Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), como colite, dor abdominal, vômitos, sudorese e náuseas. A Vigilância Sanitária de Eldorado encaminhou a amostra do alimento suspeito ao Laboratório de Microbiologia Alimentar, Centro de Laboratório Regional de Santos – Instituto Adolfo Lutz. As amostras de arroz cozido e panqueca de frango, servidos nesse almoço, foram coletadas na residência de um dos pacientes. O preparo da amostra para análises microbiológicas e as determinações analíticas foram realizadas de acordo com o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Dos alimentos analisados, foram isolados coliformes totais e *Escherichia coli* ($1,1 \times 10^5$ NMP/g), *Staphylococcus aureus* ($5,6 \times 10^9$ UFC/g), *Bacillus cereus* ($2,0 \times 10^7$ UFC/g) e *Clostridium perfringens* ($5,0 \times 10^4$ UFC/g). *Salmonella* spp não foi isolada. Os resultados laboratoriais associados aos casos de gastroenterites sugerem a ocorrência de surto de toxinfecção alimentar. Este relato evidencia a importância do trabalho do Laboratório de Saúde Pública e das Vigilâncias Sanitárias municipais na elucidação de DTA.

Palavras-chave. surto toxinfecção alimentar, Vigilância em Saúde, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*.

ABSTRACT

This study describes an outbreak of foodborne disease in nine persons who participated in a community lunch in Eldorado/SP, in February 2012. All of the patients presented the main symptoms of this disease as vomiting, sudoresis, abdominal pain, nausea, and colitis. The municipal health surveillance services of Eldorado sent the cooked rice and the chicken pancake to be analysed at Food Microbiology Laboratory, Centro de Laboratório Regional de Santos, Instituto Adolfo Lutz. Conventional methodologies were used, as recommended by the Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. Coliforms bacteria and *Escherichia coli* (1.1×10^5 MPN/g), *Staphylococcus aureus* (5.6×10^9 CFU/g), *Bacillus cereus* (2.0×10^7 CFU/g) and *Clostridium perfringens* (5.0×10^4 CFU/g) were isolated. No *Salmonella* spp was found. By correlating the detected laboratory results with the patients with gastroenteritis, it is suggested the occurrence of an outbreak of foodborne disease. This investigation shows the importance of the joint-work conducted by the municipal health surveillance services and the laboratory of public health for elucidating the foodborne diseases outbreaks.

Keywords. Outbreak of foodborne diseases, health surveillance, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*.

INTRODUÇÃO

Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) estão relacionados ao consumo de alimentos contendo toxinas bacterianas e/ou agentes patogênicos como bactérias e vírus, ocorrendo frequentemente, apesar da constante divulgação por diversos autores¹⁻³. As principais contaminações microbianas podem ocorrer devido a falhas no processamento ao longo da cadeia de produção, ou seja, matéria-prima contaminada, higienização inadequada dos equipamentos e utensílios utilizados no preparo dos alimentos, armazenamento incorreto e manipuladores com hábitos de higiene pessoal deficiente ou portadores de micro-organismos assintomáticos⁴⁻⁵.

Os indivíduos acometidos nos surtos de DTA podem apresentar diferentes sintomas de distúrbios gastrointestinais provocados pela ingestão de alimentos contaminados. Particularmente nesse surto de toxinfecção alimentar ocorrido em comensais em um almoço comunitário no município de Eldorado, região do Vale do Ribeira, os doentes procuram os serviços ambulatoriais apresentando sinais clínicos de colite, dor abdominal, vômitos, sudorese e náuseas. A ocorrência desses sinais e sintomas incluindo febre, diarreia, mal-estar, cefaleia, vômitos e tontura também estão associados a surtos de toxinfecção alimentar, sendo descritos por diversos autores, como os trabalhos de Bergamini et al.⁶, que relataram um surto de origem alimentar ocorrido após a ingestão de bolos e doces oferecidos em uma festa de aniversário, na região nordeste do Estado de São Paulo; Hernando et al.⁷, que observaram surto ocorrido em uma penitenciária da Espanha entre os internos após consumo de salpicão à base de mariscos contaminados; e Passos et al.⁸, que descreveram sobre funcionários de uma empreiteira da construção civil após a ingestão de alimento contaminado no surto ocorrido na cidade de Cubatão em 2007.

No Brasil, a divulgação da ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar tem sido realizada devido à obrigatoriedade de notificações dos mesmos e, também, devido à preocupação de diversos pesquisadores com esse sério problema de saúde pública, evidenciado em suas publicações, como os relatos por Van Amson et al.⁹, que descreveram, no Paraná, a ocorrência de 1195 (59,8%) surtos bacterianos dos 2000 surtos de toxinfecção alimentar analisados no período de 1978 a 2000. Os autores classificaram os diferentes agentes bacterianos, sendo os mais frequentes *Staphylococcus aureus*, responsável por 492 (41,2%) dos surtos, *Salmonella* spp,

presente em 404 (33,8%), *Clostridium perfringens* em 122 (10,2%), *Bacillus cereus* em 75 (6,3%), *Escherichia coli* em 66 (5,5%) e outros agentes 3%.

Marchi et al.¹⁰, em 2011, realizaram um levantamento dos surtos de DTA no município de Chapecó, no período de 1995 a 2007, onde ocorreram 61 casos de surtos. *Salmonella* spp foi a mais frequente em 54,0% (33) dos surtos, seguida por *S. aureus* com 13,1% (8) e *B. cereus* com 9,8% (6). Os alimentos implicados foram maionese 32,7% (20), carnes com 22,9% (14), doces em 19,6% (12) e massas em 11,4% (7).

A ocorrência de surtos de DTA em outros países, também tem sido descrita por diversos autores, como no trabalho de Barrabeig et al.¹, que estudaram em 2010 um surto de gastroenterite ocorrido em um acampamento de verão na Espanha, em 2005, onde identificaram a presença de norovírus nas fezes de um manipulador de alimento portador assintomático, responsável pela disseminação do vírus. Nos Estados Unidos, Scallan et al.¹¹ estimaram o número de casos de DTA, no período de 2000-2008, utilizando dados de modelos estatísticos para a população. Observaram que a cada ano, 9,4 milhões de pessoas foram acometidas e as bactérias foram responsáveis por 3,4 milhões dos indivíduos doentes. *Salmonella* spp apresentou a maior frequência (11%), seguida de *C. perfringens* (10%), *S. aureus* (2,6%) e *B. cereus* (0,6%).

No surto ocorrido em uma penitenciária do sistema prisional da Espanha, Hernando et al.⁷ isolaram *C. perfringens*, *B. cereus* e *E. coli* em salpicão à base de mariscos, com populações acima do estabelecido pela legislação espanhola. O surto ocorreu provavelmente devido ao armazenamento incorreto dos alimentos após o cozimento, uma vez que esses micro-organismos podem ser facilmente destruídos com aquecimento adequado antes de a refeição ser servida. A presença de *E. coli* e coliformes totais indicaram que não houve boas práticas de higiene na manipulação dos alimentos.

A investigação de surtos de toxinfecção alimentar representa um importante componente de epidemiologia e saúde pública. As medidas de prevenção da contaminação alimentar devem ser realizadas por meio de ações educativas sobre higiene e manipulação de alimentos, implementadas e/ou intensificadas não somente para profissionais da área de alimentos, mas também para a população em geral, incluindo toda a cadeia de produção, preparo dos alimentos até a distribuição ao consumidor⁴.

O objetivo do presente trabalho foi relatar a ocorrência de um surto de toxinfecção alimentar em

comensais em um almoço comunitário no município de Eldorado, região do Vale do Ribeira, São Paulo, em fevereiro de 2012.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra do prato pronto para consumo foi coletada pela Vigilância Sanitária de Eldorado, região do Vale do Ribeira, São Paulo, na residência de uma paciente e consistia de arroz branco cozido e panqueca de frango servidos durante o almoço de confraternização. A refeição foi encaminhada sob refrigeração para análise no laboratório de Microbiologia Alimentar do Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas do Centro de Laboratório Regional de Santos, Instituto Adolfo Lutz.

O preparo da amostra para análise microbiológica e as determinações analíticas foram realizados de acordo com os métodos recomendados por Downes e Ito¹², específicos para cada micro-organismo avaliado. Foram pesquisados os bioindicadores de contaminação ambiental e fecal, coliformes totais e *E. coli*, através da técnica do número mais provável (NMP), enumeração de *S. aureus*, clostrídios sulfito-redutores a 46 °C e *B. cereus* através diluição de 25 g de amostra em 225 mL de diluente, seguido de inoculação de 1 mL em tubos de ágar SPS (clostrídios), com plaqueamento de 0,1 ou 1 mL em placas de ágar Baird-Parker (*S. aureus*) e ágar BC (*B. cereus*), portanto, os resultados foram referidos a 1 g de amostra e expressos em UFC/g (Unidade Formadora de Colônia/grama do alimento); e *Salmonella* spp através do método de presença ou ausência em 25 gramas da amostra.

RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas realizadas na amostra de prato pronto para consumo (arroz cozido e panqueca de frango) encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados da análise microbiológica de alimento envolvido em surto de toxinfecção ocorrido após almoço de confraternização no município de Eldorado/SP, em fevereiro de 2012

Amostra	Micro-organismos	
Arroz cozido e panqueca de frango	Coliformes totais (NMP/g) ^a	1,1 × 10 ⁵
	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	1,1 × 10 ⁵
	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) ^b	5,6 × 10 ⁹
	<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	2,0 × 10 ⁷
	<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/g)	5,0 × 10 ⁴
	<i>Salmonella</i> spp (em 25g) ^c	ausência

^aNúmero mais Provável por grama; ^bUnidade formadora de colônias por grama; ^c*Salmonella* em 25g da amostra: ausência/presença.

DISCUSSÃO

Os surtos de DTA, geralmente, estão associados à presença de micro-organismos nas diferentes matérias-primas; contaminação na linha de produção, quando ocorre processamento inadequado; procedimentos da manipulação dos alimentos de origem animal e não inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal, ou alimentos sem a identificação adequada da sua procedência; formação de biofilmes nos equipamentos com limpeza e desinfecção deficientes; e presença de toxinas bacterianas presente nos alimentos¹⁻³. Saliente-se que os surtos podem ocorrer em residências, estabelecimentos comerciais, restaurantes, escolas, festas típicas e outras ocasiões^{4,6,8}.

A facilidade de distribuição de alimentos industrializados pelo mundo e a livre importação de produtos são alguns dos exemplos que podem contribuir para o aumento de riscos à saúde, em decorrência de uma maior possibilidade de contaminação desses alimentos. Outros fatores também podem ser responsáveis pela ocorrência de agravos à saúde, tais como: alterações nas práticas de produção, distribuição, armazenagem e preparo dos alimentos, sobrevivência e multiplicação de micro-organismos fastidiosos, falta de controle rigoroso quanto ao uso de antimicrobianos e mudanças nos hábitos alimentares dos consumidores¹³.

A presença de micro-organismos com populações em níveis acima dos padrões estabelecido pela legislação em vigor – Resolução RDC nº 12/2001, da ANVISA/Mistério da Saúde – em alimentos prontos para consumo devem ser considerados potencialmente perigosos na possível transmissão de DTA, como relataram os trabalhos de Chouman et al.¹⁴, que investigaram a microbiota presente em refeições prontas para o consumo, comercializadas em restaurantes self-service da cidade de Araçatuba/SP. Eles analisaram 20 amostras de refeições contendo carne, hortaliças, cereais e leguminosas, e observaram a presença de coliformes termotolerantes com valores acima de 1,1 x 10³/g em 55% das amostras e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva com valores iguais a 6 x 10³/g em 10%. A *Salmonella* spp e o *Bacillus cereus* não foram identificados. Bergamini et al.⁴, em 2011, analisaram oito amostras de alimentos e constataram a presença de *Bacillus cereus* com valores iguais a 2,5 x 10⁵ UFC/g em tapioca doce e coliformes termotolerantes com valores iguais a 1,1 x 10⁴/g em quibe cru/pão sírio, em uma festa típica da Região de Riberão

Preto. Cardoso et al.¹⁵ verificaram na Bahia a baixa qualidade microbiológica constatada nos alimentos servidos pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar; em 96 amostras de alimentos provenientes de 83 escolas, observaram em 20,4% das escolas amostras não conformes, sendo 2,4% das amostras positivas para *E. coli*, variaram de $< 0,47$ a $> 3,38$ log NMP/g ou mL (valor médio de 0,49 log NMP/g ou mL), e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva em 26,5% das escolas.

Ressalta-se ser extremamente difícil a obtenção de alimentos isentos de micro-organismos e a ocorrência de surtos de DTA também pode estar associada ao preparo dos alimentos nas residências, como observado por Bergamini et al.⁶ em 2009, que descreveram um surto de origem alimentar ocorrido em uma festa de aniversário, na região nordeste do Estado de São Paulo, após a ingestão de bolos de vários sabores preparados pelos próprios familiares e deixados em temperatura ambiente por 21 horas, quando então foram servidos.

Em razão da presença de tantas variáveis que podem comprometer a segurança do alimento chegando a causar quadros graves de surtos de toxinfecção alimentar, ações educativas sobre higiene e manipulação de alimentos devem ser implementadas e intensificadas não somente para profissionais da área de alimentos, mas também para a população em geral.

Em relação à ocorrência de DTA, a influência dos bioindicadores de contaminação ambiental e fecal, como os coliformes termotolerantes, também é discutida em relatos de DTA, como os artigos publicados por Passos et al.^{3,8}, divulgando surtos ocorridos no Guarujá/SP e em Cubatão/SP.

No presente surto relatado foi observada a presença de vários agentes patogênicos oriundos do alimento analisado. Destaca-se que o isolamento de mais de um agente etiológico em um surto de toxinfecção alimentar pode ocorrer quando as condições higiênicas do produto estão insatisfatórias, ou mesmo quando o alimento é manipulado por várias pessoas, como no surto descrito por Bergamini et al.⁶ ocorrido na região nordeste do Estado de São Paulo, onde isolaram *B. cereus*, *S. aureus* e coliformes termotolerantes em alimentos servidos em festa de aniversário.

A obrigatoriedade da notificação de surtos de DTA no Brasil é uma importante ferramenta de apoio às Vigilâncias Sanitária e Epidemiológica Municipais, subsidiando ações específicas, desde o acompanhamento dos casos clínicos até o diagnóstico laboratorial. Mesmo

sendo obrigatória a notificação no país, ainda existe subnotificação de surtos de DTA, resultando que muitos surtos passam despercebidos pelas autoridades sanitárias.

A origem do surto em estudo, segundo as informações da Vigilância Sanitária de Eldorado, região do Vale do Ribeira, São Paulo, provavelmente ocorreu durante a manipulação dos alimentos por diversas pessoas da comunidade, e os resultados encontrados no laboratório associados aos casos de gastroenterites dos comensais sugerem surto de toxinfecção alimentar. Este relato evidencia a importância do trabalho do Laboratório de Saúde Pública e da Vigilância Sanitária municipal na elucidação de DTA.

REFERÊNCIAS

1. Barrabeig I, Rovira A, Buesa J, Bartolomé R, Pintó R, Pallezo H, et al. Foodborne norovirus outbreak: the role of an asymptomatic food handler. *BMC Infect Dis*. 2010;10:269.
2. Gelli DS, Jakabi M, Souza A. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2002;44(6):321-4.
3. Passos EC, Mello ARP, Sousa CV, Silva CR, Alonso ACB, Gonzalez E, et al. Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(1):136-40.
4. Bergamini AMM, Reche SHR, Aquino CI, Oliveira MA. *Bacillus cereus* em alimento oferecido em festa típica popular no interior do Estado de São Paulo. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2011;21(1):35-6.
5. Rall VLM, Sforcin JM, Augustini VCM, Watanabe MT, Fernandes Jr A, Rall R, et al. Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Braz J Microbiol*. 2010;41:59-65.
6. Bergamini AMM, Ribeiro EGA, Oliveira SAV, Castro LF, Oliveira MA. Surto de toxinfecção alimentar de origem domiciliar, ocorrido na região nordeste do Estado de São Paulo. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2009;19(1):23-4.
7. Hernando V, Arranz LN, Catalán S, Gómez P, Hidalgo C, Barrasa A, et al. Investigación de una toxiinfección alimentaria en un centro penitenciario de alta ocupación. *Gac Sanit*. 2007;21(6):452-7.
8. Passos EC, Almeida CS, Rosa JP, Rozman LM, Mello ARP, Souza CV, et al. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo/Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2008;67(3):237-40.
9. Van Amson G, Haracemiv SMC, Masson ML. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. *Ciênc Agrotec*. 2006;30(6):1139-45.
10. Marchi DM, Baggio N, Teo CRPA, Busato MA. Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Município de Chapecó, Estado de Santa Catarina, Brasil, no período de 1995 a 2007. *Epidemiol Serv Saúde*. 2011;20(3):401-7.
11. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, et al. Foodborne Illness Acquired in the United States – Major Pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(1):7-15.

12. Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington: Edwards Brothers; 2001.
13. Potes ME. Segurança alimentar em produtos tradicionais. *Rev Ciênc Agrárias*. 2007;30(1):439-47.
14. Chouman K, Ponsano EHG, Michelin AF. Qualidade microbiológica de alimentos servidos em restaurantes self-service. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(2):261-6.
15. Cardoso RCV, Almeida RCC, Guimarães AG, Góes JAW, Santana AAC, Silva SA, et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(2):208-13.