

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

**A SEGURANÇA ALIMENTAR E RELATOS DE SURTOS  
ALIMENTARES POR *Staphylococcus* spp.**

**Elisia Gomes da Silva**

**Belo Horizonte**  
**2014**

**Elisia Gomes da Silva**

**A SEGURANÇA ALIMENTAR E RELATOS DE SURTOS  
ALIMENTARES POR *Staphylococcus* spp.**

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia aplicada a Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ary Corrêa Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Simeão do Carmo

**Belo Horizonte**

**2014**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Microbiologia

**A SEGURANÇA ALIMENTAR E RELATOS DE SURTOS  
ALIMENTARES POR *Staphylococcus* spp.**

ELISIA GOMES DA SILVA

Belo Horizonte, 03 de Fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Ary Corrêa Júnior  
(ORIENTADOR)

---

Prof. Dr. Luiz Simeão do Carmo  
(CO-ORIENTADOR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Gonçalves dos Santos  
(MEMBRO)

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela saúde, inteligência, ousadia e coragem, por me olhar devagar, quando muitos às vezes me olham depressa demais.

A Minha família, por me ajudarem em cada segundo que eu precisei respirar além do que merecia... especialmente “Cabo Lili”, por me acolher tão bem.

Ao Prof. Ary Corrêa, por aceitar participar em um dos meus sonhos.

Ao Prof. Luiz Simeão, pelos ensinamentos e conselhos tão valiosos.

À Prof.<sup>a</sup> Simone, pelo seu infindável conhecimento, o qual absorvi o quanto pude.

Aos Professores ao longo da especialização pela dedicação e conhecimento nas disciplinas, de maneira especial a Prof.<sup>a</sup> Edel pelas aulas de Virologia, foram sensacionais...

Aos meus colegas da especialização por fazerem parte de mais uma de minhas vitórias.

*Se os seus sonhos estão nas nuvens,  
Eles estão no lugar certo.  
Agora construa os alicerces...*

## RESUMO

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae* e possui atualmente, 47 espécies e 24 subespécies, sendo que três delas aparecem com frequência como agentes importantes em bacteriologia médica, *S.aureus*, *S.epidermidis* e *S.saprophyticus*. *S. aureus*, é um dos agentes mais comuns responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, devido à produção de enterotoxinas, normalmente transmitidos aos alimentos através de manipuladores. Estudos têm demonstrado que algumas linhagens de espécies coagulase negativas são potencialmente produtoras de enterotoxinas *in vitro* e há registros de surtos de intoxicação alimentar, inclusive no Brasil, associados a espécies não produtoras da enzima. É comprovado que a maioria dos casos de toxinfecções alimentares ocorre devido à contaminação dos alimentos através de manipuladores, os quais podem estar eliminando microrganismos patogênicos, comprometendo os alimentos por hábitos inadequados de higiene pessoal ou até mesmo por desconhecimento das práticas sanitárias. Mesmo os manipuladores sadios abrigam bactérias que podem contaminar os alimentos pela boca, nariz, garganta e trato intestinal. Assim, um ambiente onde se manipula alimentos precisa ser sempre vistoriado a fim de incentivar o uso de técnicas apropriadas de lavagem das mãos, medidas profiláticas e treinamento dos profissionais envolvidos no preparo, armazenamento e distribuição de alimentos; com o intuito de quebrar o elo da cadeia de contaminação e oferecer uma alimentação mais saudável aos seus usuários, diminuindo os riscos de incidência e prevalência acentuada de *Staphylococcus* spp. na população.

Palavras-chave: Manipuladores de alimentos, surtos alimentares, medidas profiláticas.

## ABSTRACT

*Staphylococcus* genus belongs to the family and Staphylococcaceae currently has for 47 species and 24 subspecies, three of which appear frequently as important in medical bacteriology agents, *S. aureus*, *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* isolates *S. aureus*, coagulase positive, is one of the most common agents responsible for outbreaks of food poisoning by production of enterotoxins, usually transmitted to food by handlers. Studies have shown that some strains of coagulase-negative species are potentially producing enterotoxins in vitro and there are records of outbreaks of food poisoning, including Brazil, associated with non-producing species of the enzyme. It is proven that most cases of food poisoning due to contamination occurs through food handlers, which may be eliminating pathogens, compromising food by inadequate personal hygiene habits or even lack of sanitary practices . Even healthy handlers harbor bacteria that can contaminate food by mout, nose, throat and intestinal tract. An environment where food handling must always be surveyed in order to encourage the use of proper techniques for washing hands, prophylactic measures and training of professionals involved in the preparation, storage and distribution of food, in order to break the link in the chain contamination and provide healthier food to its users, reducing the risks of incidence and prevalence of severe *Staphylococcus* spp. in population.

Keywords: Food handlers, food outbreaks, prophylactic measures

## LISTA DE TABELA

TABELA 1 – Os gêneros dos <i>Staphylococcus</i> .....	19
---	----

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Impetigo: lesão cutânea localizada. ....	25
FIGURA 2 - Furúnculo estafilocócico. . ....	25
FIGURA 3 - Síndrome Estafilocócica da Pele Escaldada em Recém-Nascido. ....	26
FIGURA 4 - Contaminação dos alimentos na cadeia alimentar 28/12/2005. ....	33
FIGURA 5 - Teste da coagulase Tubo 1 (positivo) e Tubo 2 (negativo). ....	52
FIGURA 6 - Teste de Termonuclease: Formação de halo róseo ao redor do inóculo. ..	52
FIGURA 7 - Microrganismos pertencentes ao gênero <i>Staphylococcus</i> spp. característica morfológica pela técnica de coloração de Gram.....	53
FIGURA 8 - Representação da prova da catalase com cultura de <i>S. aureus</i> .....	54
FIGURA 9 - Representação da prova da catalase em cultura de <i>S. aureus</i> .....	54
FIGURA 10- Meio ágar sais-manitol semeado com <i>S. aureus</i> . ....	55
FIGURA 11 - Colônias <i>Staphylococcus</i> spp. em ágar Baird-Parker.....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Proporção dos surtos de DTA por região no Brasil, 2000 – 2013.....	42
GRÁFICO 2 - Surtos de DVA no Brasil entre os anos de 2000 e 2011.....	43
GRÁFICO 3 - principais locais de ocorrência dos surtos de DTAs, no Brasil .....	43
GRÁFICO 4 - Agentes mais freqüentes nos surtos no Brasil no período de 2000 a 2011 .....	44
GRÁFICO 5 - *Other, include the categories; Other (5,5%), Camp/Picnic (0,6%), take- away/fast-food outlet (0,5%), Mobile retailer/market/street vendor (0,3%), Temporary mass catering (0,3%), Aircraft/Ship/Train (0,1%). .....	48
GRÁFICO 6 - Resultados encontrados quanto ao agente etiológico do surto. Brasil. 2000-2011.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABERC</b>	ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVAS
<b>AGAR BP</b>	AGAR BAIRD PARKER
<b>AIDS</b>	SINDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA AGUDA
<b>ANVISA</b>	AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA
<b>APPC</b>	ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE
<b>BHI CALDO GC</b>	CALDO DE INFUSÃO CÉREBRO-CORAÇÃO
<b>CGDT</b>	CALDO GIOLITTI E CANTONI
<b>DEVEP</b>	DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA
<b>DNA</b>	ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO
<b>DNASE</b>	DESOXIRRIBONUCLEASE
<b>DTA</b>	DOENCAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS
<b>ECN</b>	ESTAFILOCOCOS COAGULASE NEGATIVA
<b>ECP</b>	ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA
<b>EE</b>	ENTEROTOXINA
<b>EEA</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA A
<b>EEB</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA B
<b>EEC</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA C
<b>EED</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA D
<b>EEE</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA E
<b>EEF</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA F
<b>EEG</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA G
<b>EEI</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA C
<b>EELM</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA “LIKE” M
<b>EELN</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA “LIKE” N
<b>EEO</b>	GENE CODIFICADOR DA ENTEROTOXINA “LIKE” O
<b>ELISA</b>	ENZYME LINKED IMMUNO SORBENT ASSAY
<b>IN</b>	INSTRUÇÃO NORMATIVA
<b>MAPA</b>	MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
<b>MBP</b>	MANUAL DE BOAS PRÁTICAS
<b>NACL</b>	CLORETO DE SÓDIO

<b>NMP</b>	METODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL
<b>OMS</b>	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
<b>PCR</b>	REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE
<b>PH</b>	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO
<b>POP</b>	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
<b>RDC</b>	RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA
<b>SaPIS</b>	ILHAS DE PATOGENICIDADE
<b>SE</b>	ENTEROTOXINA ESTAFILOCÓCICA
<b>SIH</b>	SISTEMA DE INFORMAÇÕES HOSPITALARES
<b>SINAN</b>	SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO
<b>SISAN</b>	SISTEMA NACIONAL DE SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL
<b>SVS/MS</b>	SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE
<b>TNASE</b>	TERMONUCLEASE
<b>TSB-NP</b>	CALDO SOJA TRIPTONA COM SAL - PIRUVATO DE SÓDIO CPS
<b>TSS</b>	DO INGLÊS, TOXIC SHOCK SYNDROME
<b>TSST-1</b>	TOXINA DA SÍNDROME DO CHOQUE TÓXICO 1
<b>UFC</b>	UNIDADES FORMADAS DE COLÔNIAS
<b>UHA</b>	UNIDADE DE DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HIDRICA E ALIMENTAR
<b>UTI</b>	UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. HIPÓTESES.....	16
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo geral .....	17
3.2 Objetivos específicos .....	17
4. JUSTIFICATIVA.....	18
5. REFERENCIAL TEÓRICO .....	19
5.1 O GÊNERO <i>Staphylococcus</i> spp. ....	19
5.2 FATORES DE VIRULÊNCIA E MECANISMOS DE PATOGENICIDADE ...	23
5.3 AS CONDIÇÕES DE HIGIENE SANITÁRIA .....	29
5.4 O PONTO CRITICO DOS ALIMENTOS .....	32
5.5 MEDIDAS DE PROFILAXIA .....	35
5.6 RELATOS DE SURTOS.....	41
5.7. IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE <i>Staphylococcus</i> spp. ....	51
5.7.1 TESTE DA COAGULASE .....	51
5.7.2 TERMONUCLEASES .....	52
5.7.3 COLORACAO DE GRAM .....	53
5.7.4 PRODUÇÃO DE CATALASE .....	53
5.7.5 MANITOL.....	54
5.7.6 BAIRD-PARKER.....	55
5.7.7 ENRIQUECIMENTO EM CALDO BHI.....	57
5.7.8 METODO DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL .....	57
5.7.9 MÉTODO ELISA .....	58
5.7.10 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE.....	58
6. CONCLUSÃO .....	59
REFERÊNCIAS .....	61

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae* e possui atualmente 47 espécies e 24 subespécies, sendo que três delas aparecem com frequência como agentes importantes em bacteriologia médica, *S.aureus*, *S.epidermidis* e *S.saprophyticus* (TAPONEN et al. 2012; HAUSCHILD et al. 2012).

*S. aureus* é um dos agentes mais comuns responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, por produção de enterotoxinas, normalmente transmitidos aos alimentos através de manipuladores, portadores assintomáticos, uma vez que este faz parte da microbiota transitória e residente do homem, e de animais como o gado leiteiro portador de mastite (STAMFORD et al., 2006). No entanto, outras espécies de estafilococos também se mostram potenciais produtores de enterotoxinas, como *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri* e *S. warneri* (VALLE et al., 1990).

Em 1878, Robert Kock, descreveu pela primeira vez o encontro *Staphylococcus* spp a partir de material purulento humano. Em 1880, o cirurgião escocês, Alexander Ogston, em suas publicações, relatou que *coccus* em formato de cacho de uva, eram a causa de um grande número de doenças piogênicas no homem. Subseqüentemente, em 1882, ele chamou este organismo de *Staphylococcus*, nome derivado da palavra grega *staphylé*, que tem o significado de cacho de uva (BAIRD-PARKER, 1990).

O gênero *Staphylococcus* apresenta-se em forma de cocos Gram positivos, com 0,5 a 1,5 mm de diâmetro, formando cachos devido à sua divisão ocorrer de maneira aleatória e em vários planos. São imóveis, não esporuladas e suas colônias são relativamente grandes, com 1 a 2 mm de diâmetro. As colônias são opacas, convexas, cremosas e suas cores variam do branco a vários tons de amarelo, dependendo da espécie (KLOSS; LAMBE, 1991).

As bactérias pertencentes a este gênero são catalase e termonuclease positivas, coagulase positivas ou negativas dependendo da espécie. Somente as espécies *S. aureus*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. schleiferi coagulans* e algumas cepas de *S. hyicus* são coagulase positiva. A maioria das espécies de *Staphylococcus* é coagulase negativa (BAIRD-PARKER, 1990).

A temperatura de crescimento para *Staphylococcus* spp é na faixa de 7°C a 47,8°C, no entanto, as enterotoxinas estafilocócicas são produzidas entre 10°C e 46°C, com um ótimo entre 40°C e 45°C, sendo que os extremos de temperatura estão na dependência dos demais parâmetros que deve encontrar-se em condições ótimas. As bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para as mesmas. Em relação ao pH, *Staphylococcus* crescem na faixa de 4° a 9,8°, com um ótimo entre 6° 15,7°. Em relação à atividade de água, o valor mínimo necessário para o microrganismo se desenvolver é 0,86, embora sob condições ideais, esta bactéria já tenha se desenvolvido em atividade de água de 0,83 (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

As células bacterianas dos *Staphylococcus* spp. são destruídas por tratamento térmico, mas suas enterotoxinas permanecem ativas nos alimentos, por isso consideradas termoestáveis, sendo um risco em potencial para a saúde pública (CARMO, 1997).

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) preconiza apenas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, relacionando o fator de virulência – produção de coagulase – com o risco de síntese de enterotoxinas estafilocócicas. Contudo, já foi comprovado que a relação entre esses dois fatores não é absoluta. Além disso, estudos têm demonstrado que algumas linhagens de espécies coagulase negativas são potencialmente produtoras de enterotoxinas *in vitro* e há registros de surtos de intoxicação alimentar, inclusive no Brasil, associados a espécies não produtoras da enzima (ANDRADE et al 2011).

Os estafilococos coagulase-negativa (ECN) podem ser divididos em dois grupos de acordo com a sensibilidade ou resistência a novobiocina; os estafilococos sensíveis incluem: *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* e *S. lugdunensis*; entre os resistentes: *S. saprophyticus* e *S. xylosus* (HEILMANN; PETERS, 2000; von EIFF et al., 2002).

Os ECN constituem um dos maiores grupos componentes da microbiota anfibiótica de mucosas e pele humana (SILVA et al., 2000). Portanto, a pele pode constituir um reservatório para estas bactérias, inclusive àquelas resistentes aos antimicrobianos (ARCHER, 1991; ARCHER & CLIMO, 1994).

Algumas linhagens de *Staphylococcus* spp. foram implicadas como agentes causadores da Síndrome do Choque Tóxico (TSS, do inglês, *Toxic Shock Syndrome*). Os sintomas incluem febre, diarreia, vômitos, choque sistêmico e, ocasionalmente, morte. O choque tóxico resulta indiretamente da ação de uma exotoxina denominada Toxina da Síndrome do Choque Tóxico 1 (TSST-1), correspondendo a um superantígeno liberado pelos estafilococos durante a multiplicação e que estimula um grande número de linfócitos T, culminando em respostas inflamatórias sistêmicas (MADIGAN et al., 2010).

É comprovado que a maioria dos casos de toxinfecções alimentares ocorre devido à contaminação dos alimentos através de manipuladores, os quais podem estar eliminando microrganismos patogênicos, comprometendo os alimentos por hábitos inadequados de higiene pessoal ou até mesmo por desconhecimento das práticas sanitárias (GÓES et al., 2001). Segundo GOLDMANN (1992) os resultados de cultura permitem detectar até 80% de portadores, a maioria de forma intermitente, e 20% a 40% permanecem colonizados por meses ou anos, freqüentemente com a mesma estirpe.

Um alimento inoculado com células de *Staphylococcus* spp. oriundas de um manipulador infectado pode ocorrer o rápido crescimento bacteriano e a produção de enterotoxinas. Mesmo que os alimentos contendo toxinas sejam submetidos ao reaquecimento antes do consumo, a toxina permanecerá ativa, visto ser relativamente termoestável (SANTOS, 2003). Mesmo os manipuladores sadios abrigam bactérias que podem contaminar os alimentos pela boca, nariz, garganta e trato intestinal. O desconhecimento de princípios de higiene pessoal e de cuidados na preparação dos alimentos facilita a infecção e predispõe a reinfecção em áreas endêmicas (ANDRADE et al., 2010).

Diante disto, é correto afirmar que alguns aspectos, referentes aos manipuladores, devem ser observados e controlados para que os manipuladores não constituam um fator de contaminação alimentar, como controle de saúde dos manipuladores, grau de instrução, hábitos pessoais de higiene corporal, utilização de procedimentos operacionais padronizados, utilização de boas práticas de fabricação e hábitos pessoais dos manipuladores (REIS; CARNEIRO, 2007).

## 2. HIPÓTESES

Os alimentos são passíveis de contaminação por diferentes agentes etiológicos, podendo levar a doenças, manifestadas por ação de microrganismos patogênicos ou por suas toxinas. Todos os alimentos deveriam ser objeto de exames microbiológicos, que refletiriam as condições higiênicas relacionadas com a produção, armazenamento, transporte e manuseio, a fim de elucidar a ocorrência de enfermidades transmitidas por meio deles.

Podem se constatar maiores índices de intoxicação alimentar por *Staphylococcus* spp. associados às condições higiênicas sanitárias.

A frequência de *Staphylococcus* spp. pode, inclusive, ser considerada como parâmetro de precariedade de higienização e está bem estabelecido que ele seja considerado a mais silenciosa, senão, a mais preocupante fonte de microrganismos responsáveis por infecções.

O controle das enterotoxicoses só será possível desde que se observem as boas práticas sanitárias de higiene nos estágios de obtenção, produção, estocagem e manuseio de alimentos, pois a proteção contra esta enfermidade é considerada uma obrigação dos profissionais da área de alimentos e de saúde.

A falta de controle higiênico dos alimentos por meio de pessoas que os manipulam, constitui uma das principais fontes de disseminação de microrganismos. Contudo esses manipuladores de alimentos necessitam estar cientes da adequada educação sanitárias e submetidos a exames microbiológicos periódicos, principalmente àqueles com sintomas clínicos inespecíficos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Relatar a prevalência de *Staphylococcus* spp. em manipuladores de alimentos.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Conhecer os fatores de virulência dos *Staphylococcus* spp.
- Conhecer os mecanismos de patogenicidade associados à *Staphylococcus* spp.
- Demonstrar a importância dos manipuladores na disseminação de microrganismos nos alimentos.
- Verificar falhas nas condições de higiene sanitária.
- Propor medidas de profilaxia.
- Apresentar relatos de surtos com *Staphylococcus* spp.
- Definir isolamento e identificação do microrganismo.

#### 4. JUSTIFICATIVA

É sobejamente conhecido o envolvimento do *Staphylococcus* spp. nos casos ou surtos de intoxicação, ocasionados pela ingestão de alimentos contendo enterotoxinas produzidas por essa bactéria, haja vista o grande número de indivíduos afetados (principalmente crianças, idosos e pessoas debilitadas), as várias alterações orgânicas que podem provocar e o percentual expressivo de linhagens multirresistentes.

A contaminação com *Staphylococcus* spp. pode ocorrer durante os estágios de produção ou estocagem do alimento, por estirpes de origem ambiental ou humana. Em condições favoráveis de temperatura, o microrganismo cresce, produzindo toxinas.

O *S. aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. As peculiaridades do seu habitat tornam sua presença largamente distribuída na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos. Podem causar ainda uma série de infecções superficiais e profundas em humanos e animais, como furúnculos, impetigo, abscessos, celulite, osteomielites, artrites, pneumonias, empiemas, meningites, bacteremia, septicemias, endocardites e síndrome da pele escaldada (KLOOS; JORGENSEN, 1985).

Ainda que o risco de um manipulador contaminar os alimentos dependa do grau de contato com estes produtos é necessário considerar a importância desses manipuladores como potenciais transmissores de microrganismos.

Um ambiente onde se manipula alimentos precisa ser sempre vistoriado a fim de incentivar o uso de técnicas apropriadas de lavagem das mãos, medidas profiláticas e treinamento dos profissionais envolvidos no preparo, armazenamento e distribuição de alimentos; com o intuito de quebrar o elo da cadeia de contaminação e oferecer uma alimentação mais saudável aos seus usuários, diminuindo os riscos de incidência e prevalência acentuada de *Staphylococcus* spp. na população.

## 5. REFERENCIAL TEÓRICO

### 5.1 O GÊNERO *STAPHYLOCOCCUS*

Os *Staphylococcus* são cocos GRAM positivos e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves. O principal reservatório, no homem, são as fossas nasais e a incidência nesta área é tamanha, que parece ser impossível sua eliminação. Os fatores que mais predisõem à contaminação vêm da inadequada manipulação dos produtos, resultando em contaminação cruzada na exposição dos produtos a temperaturas adequadas ao crescimento bacteriano (MACHADO et al, 2009).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são habitantes usuais da pele, mucosas, trato respiratório e intestino do homem, destacando-se, dentre elas, o *S. aureus*, o de maior patogenicidade e responsável por considerável proporção de infecções humanas, notadamente no âmbito hospitalar, sendo que, sua presença em alimentos é interpretada como indicativo de contaminação (MARTINEZ et al, 2001).

O gênero *Staphylococcus* possui atualmente de 47 espécies e 24 subespécies (Tabela 1) e a maioria delas nunca foram associadas a qualquer tipo de infecção, contudo, algumas espécies causam uma variedade de doenças através da produção de enzimas e toxinas, da invasão de células e tecidos do hospedeiro, e da habilidade de escapar do sistema imunológico (TAPONEN et al., 2012), (HAUSCHILD et al., 2012). A principal função destas proteínas pode ser a de converter os tecidos locais do hospedeiro em nutrientes necessários para o crescimento bacteriano (ZELL et al., 2008).

**TABELA 1**

<i>S. arlettae</i>	
<i>S. aureus S. aureus subsp aureus</i>	<i>S. aureus subsp anaerobius</i>
<i>S. auricularis</i>	<i>S. capitis</i>
<i>S. capitis subsp capitis</i>	<i>S. capitis subsp urealyticus</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. carnosus</i>
<i>S. carnosus subsp carnosus</i>	<i>S. carnosus subsp utilis</i>

<i>S. caseolyticus</i>	<i>S. chromogenes</i>
<i>S. cohnii</i>	<i>S. cohnii subsp cohnii</i>
<i>S. condimenti</i>	<i>S. delphini</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. equorum</i>
<i>S. equorum subsp equorum</i>	<i>S. equorum subsp linens</i>
<i>S. felis</i>	<i>S. fleurettii</i>
<i>S. gallinarum</i>	<i>S. haemolyticus</i>
<i>S. hominis</i>	<i>S. hominis subsp hominis</i>
<i>S. hominis subsp novobiosepticus</i>	<i>S. hyicus</i>
<i>S. hyicus subsp chromogenes</i>	<i>S. hyicus subsp hyicus</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>S. kloosii</i>
<i>S. lentus</i>	<i>S. lugdunensis</i>
<i>S. lutrae</i>	<i>S. microti</i>
<i>S. muscae</i>	<i>S. nepalensis</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. pettenkoferi</i>
<i>S. piscifermentans</i>	<i>S. pseudintermedius</i>
<i>S. pulvereri</i>	<i>S. saccharolyticus</i>
<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. saprophyticus subsp bovis</i>
<i>S. saprophyticus subsp saprophyticus</i>	<i>S. schleiferi</i>
<i>S. schleiferi subsp coagulans</i>	<i>S. schleiferi subsp schleiferi</i>
<i>S. sciuri</i>	<i>S. sciuri subsp carnaticus</i>
<i>S. sciuri subsp lentus</i> ----->	<i>S. lentus</i>
<i>S. sciuri subsp rodentium</i>	<i>S. sciuri subsp sciuri</i>
<i>S. simiae</i>	<i>S. simulans</i>
<i>S. succinus</i>	<i>S. succinus subsp casei</i>
<i>S. succinus subsp succinus</i>	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. xylosus</i>

**FONTE:** TAPONEN et al. 2012; HAUSCHILD et al. 2012.

Quase todas as estirpes produzem enzimas e citotoxinas que incluem hemolisinas, nucleases, proteases, lipases e hialuronidase. A principal função destas proteínas pode ser a de converter os tecidos locais do hospedeiro em nutrientes necessários para o crescimento bacteriano (DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000).

As hemolisinas, por exemplo, são exotoxinas que provocam a lise dos eritrócitos de algumas espécies animais (ZELL et al., 2008). As nucleases, proteases e lipases degradam, respectivamente, os ácidos nucleicos, as proteínas e os lipídeos do hospedeiro (MADIGAN et al., 2010). A enzima hialuronidase provoca a degradação do ácido hialurônico que compõem a matriz extracelular do tecido conjuntivo, facilitando, assim, a disseminação dos microrganismos pelos tecidos. Já a catalase converte peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. O peróxido de hidrogênio é produzido pelo organismo como mecanismo de lise bacteriana (ROSSI; CECCON; KREBS, 2005).

Algumas espécies de *Staphylococcus* produzem a coagulase, uma enzima que estimula a conversão do fibrinogênio em fibrina, que resulta na formação de coágulos de fibrina no plasma de mamíferos (MCDEVITT; VAUDAUX; FOSTER, 1992). A coagulase é apontada como a primeira linha de defesa e principal responsável pela virulência dos estafilococos (MARTINEZ et al., 2001). Essa enzima promove a deposição de fibrina ao redor das células bacterianas, isolando a área infectada e dificultando a ação dos mecanismos de defesas do hospedeiro.

    Todavia, só uma espécie patogênica para os humanos é capaz de produzi-la, *Staphylococcus aureus*. Desta forma, esta enzima torna-se importante na identificação desta espécie (KLOOS; LAMBE, 1991).

A capacidade em produzir coagulase classifica as espécies em dois grupos: os estafilococos coagulase positivos (ECP), incluindo as espécies: *S. aureus* subsp *aureus*; *S. aureus* subsp *anaerobius*; *S. hyicus*; *S. lutrae*; *S. intermedius*; *S. pseudintermedius*; *S. schleiferi* subsp *coagulans* e *S. delphini* e os estafilococos coagulase negativos (ECN), incluindo todas as demais espécies (KLOOS; BANNERMAN, 1994; CUNHA et al., 2002; CHANG et al., 2003; ROSS et al., 2005; SINGHAL et al., 2006).

    É importante destacar *S. aureus* como a principal fonte de ocorrência de surtos de doenças veiculadas por alimentos no mundo, originária de manipuladores portadores de estirpes enterotoxigênicas, sendo as fossas nasais o principal reservatório desse microrganismo (BRYAN, 1998).

Os ECN eram considerados bactérias não patogênicas até a sua descoberta como agentes causadores de infecções alimentares e também nosocomiais (KLOOS; BANNERMAN, 1994; VERMONT et al., 1998). Recentemente, a emergência da multirresistência aos antimicrobianos em ECN exige que grande atenção seja

direcionada para estes microrganismos principalmente em ambiente hospitalar (NUNES, 2000; SINGHAL et al., 2006).

CORDEIRO em 2007, afirma que entre as espécies de ECN, *S. epidermidis* é a mais prevalente e persistente na pele e membranas mucosas. *S. hominis* é a segunda mais frequente, enquanto que *S. saccharolyticus* é a única espécie anaeróbia estrita residente da microbiota da pele. Outras espécies de ECN, menos frequentes e membros da população residente encontradas transitoriamente na pele são os *S. haemolyticus*, *S. xylosum*, *S. simulans*, *S. lugdunensis* e *S. cohnii*. Existem espécies localizadas em nichos específicos com o *S. capitis* (cabeça), *S. auricularis* (canal auditivo) e *S. saprophyticus* (geniturinário).

O *S. epidermidis* é o agente mais associado com as infecções, especialmente com as bacteremias, inclusive no Brasil (KLOOS; BANNERMAN, 1994; CUNHA et al., 2002; CHANG et al., 2003).

Por outro lado, as espécies *S. carnosus* e *S. equorum* desempenham um papel importante como componente natural da microbiota de humanos e outros animais, bem como de alimentos. Por esse motivo, são considerados importante nos processos de fabricação de vários produtos derivados de carnes, especialmente salames, onde são usados como culturas *starter* atuando como iniciadores de fermentação para garantir a qualidade e segurança do produto final (PLACE et al., 2003; CORBIÈRE et al., 2007; LEROY et al., 2010).

Considerados por longo tempo como contaminantes inofensivos, espécies do grupo dos ECN recentemente, emergiram como capazes de causar várias infecções humanas, que frequentemente conduzem a uma infecção persistente, principalmente após cirurgia de implantes; também, são responsáveis por doenças em pacientes imunocomprometidos (BERNARDI; PIZZOLITTO; PIZZOLITTO, 2007).

Existem alguns fatores de virulência dos estafilococos, associados à sua capacidade enterotoxigênica, importantes para o fechamento das conclusões de um processo de investigação epidemiológica. Entre estes fatores de virulência utiliza-se a pesquisa da coagulase e da termonuclease (Tnase) como os indicadores mais aceitos quanto à presuntiva evidência da sua propriedade enterotoxigênica (PEREIRA et al., 2000).

A termonuclease é uma fosfodiesterase globular que apresenta estabilidade térmica constituída de uma cadeia polipeptídica simples, sendo produzida pela maioria dos estafilococos coagulase positivo e negativo. O método mais utilizado para a detecção da produção de Tnase depende da mudança do indicador azul de toluidina para a cor vermelha pela partição do DNA realizada pela Tnase. A formação de anéis vermelhos em volta dos orifícios é considerada resultado positivo para a produção da Tnase (BERGDOLL, 1990).

Segundo BERGDOLL (1989), uma estirpe positiva para a produção das enzimas coagulase e termonuclease (Tnase) pode ser considerada como potencialmente produtora de enterotoxinas. No entanto, o fato de uma estirpe ser coagulase negativo não significa que ela não possa ser enterotoxigênica.

## **5.2 FATORES DE VIRULÊNCIA E MECANISMOS DE PATOGENICIDADE**

Os *Staphylococcus* spp. produzem diversos fatores de virulência, como várias toxinas, adesinas e componentes de evasão imunológica (GILL et al., 2005), podendo também ser equipadas por pequenas ilhas de patogenicidade denominadas SAPIs.

Em *S. aureus*, diversos genes codificadores de fatores de virulência estão presentes em elementos genéticos móveis, tais como ilhas de patogenicidade (SAPI), profagos e plasmídeos (JARRAUD et al., 2001).

Tais ilhas podem carrear superantígenos e outros genes de virulência que são responsáveis por algumas moléstias, entre as quais a síndrome do choque tóxico (UBEDA et al., 2007). A Síndrome do Choque Tóxico (TSS) é uma enfermidade aguda, severa e multi-sistêmica que acomete homens e animais colonizados por linhagens de *Staphylococcus* spp. capazes de produzir e liberar a toxina denominada TSST-1, responsável pelos sinais e sintomas característicos da doença.

A Síndrome do Choque Tóxico é uma doença aguda mediada pela Toxina 1 da Síndrome do Choque Tóxico, a TSST-1 (BERGDOLL et al., 1981). Seu quadro clínico

é caracterizado por febre, rachaduras cutâneas, descamação principalmente dos pés e das palmas das mãos, hipotensão e envolvimento multiorgânico (DINGES et al., 2000).

Algumas espécies produzem um muco ou *slime* (polissacarídeo extracelular) que permite a bactéria aderir às superfícies, sendo importante para a colonização. A produção de *slime* é considerada um fator de virulência (TENOVER et al., 1988; VEENSTRA et al., 1996; VUONG & OTTO, 2002). O *slime* pode reduzir também a resposta imune aos fagócitos, interferindo com os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Apesar de a produção de enterotoxinas por outras espécies coagulase positivas (*S. intermedius* e *S. hyicus*) e por espécies coagulase negativas já ter sido relatada, os surtos de intoxicação alimentar geralmente estão relacionados com a contaminação de alimentos por *S. aureus* enterotoxigênicos (ZOLI et al., 2002).

*S. aureus* é o patógeno humano mais importante entre os estafilococos. É encontrado no ambiente externo e em narinas anteriores de 20-40% dos adultos, enquanto que 60% dos humanos podem ser colonizados temporariamente (BANIA et al., 2006). É uma bactéria do grupo dos cocos gram-positivos que faz parte da microbiota humana, mas que pode provocar doenças que vão desde uma infecção simples, como espinhas e furúnculos, até as mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia, entre outras.

Essa bactéria foi uma das primeiras a serem controladas com a descoberta dos antibióticos, mas, devido a sua enorme capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância no quadro das infecções hospitalares e comunitárias (SANTOS et al.; 2007).

São patógenos oportunistas e a maioria das estirpes produzem hemolisinas, que são enzimas que lisam as hemácias. São desoxirribonuclease (DNAse) e nuclease termoestável positivos, novobiocina sensíveis e fermentam manitol. Comumente encontrados nas fossas nasais, garganta, intestino, pele humana e em mucosas, tais como bucal, nasal e auricular. As infecções estafilocócicas podem ser causadas por bactérias do próprio indivíduo, de outros doentes ou de portadores saudáveis; ocorre por contato direto ou indireto e pode ocasionar impetigo (Figura 1), foliculite, furunculose, carbunculose (Figura 2), quando na pele *S. aureus* pode produzir até 22 enterotoxinas

(EE), sendo considerado, por esse motivo, um potencial agente biológico capaz de causar enfermidades alimentares em humanos (SATO et al 2005).



**FIGURA 1:** Impetigo: lesão cutânea localizada.

**Fonte:** Santos-Filho (2003).



**FIGURA 2:** Furúnculo estafilocócico.

**Fonte:** Santos-Filho (2003).

Estirpes de *staphylococcus* produtoras de toxinas, podem causar a Síndrome Estafilocócica da Pele Escaldada, também conhecida como “doença de Ritter” e “doença de Lyell” ou necrose tóxica epidérmica em crianças, esta acontece esporadicamente e em surtos (MIMS et al., 1999), a qual foi descrita pela primeira vez por um médico alemão chamado Baron Gotfried Ritter von Rittershain, observando 297 casos da doença em crianças, em um período de 10 anos. Porém este, não conseguiu determinar a causa da enfermidade na época (LADHANI et al., 2001).

Atualmente, sabe-se que a doença é causada por determinadas linhagens de estafilococos produtoras de toxinas chamadas de esfoliativas A (ETA) e B (ETB, moléculas diferentes em termos bioquímicos e imunológicos, porém atividades biológicas similares (KONEMAN et al., 2001). A doença é caracterizada pela formação de bolhas em extensas áreas corpóreas, com posterior aparecimento de escaras, muito

observada em recém-nascidos e lactentes (figura 3), ou crianças com desenvolvimento incompleto de anticorpos, embora adultos com infecções latentes também sejam susceptíveis (BLYTH; ESTELA; YOUNG, 2007),



**FIGURA 3:** Síndrome Estafilocócica da Pele Escaldada em Recém-Nascido.

Fonte: Tortora, Funke e Case (2005).

As EE podem ser produzidas em grandes quantidades e são relativamente estáveis à inativação física e química, sendo que uma pequena quantidade ( $<1\mu\text{g}$ ) já é suficiente para causar os sintomas clínicos de intoxicação alimentar estafilocócica. Merecem destaque as EE clássicas, denominadas EEA, EEB, EEC, EED e EEE por serem responsáveis por até 95% dos casos e surtos de intoxicação alimentar, e as EE codificadas pelos genes pertencentes ao agrupamento *egc*, as quais são denominadas EEG, EEI, EEIM, EEIN e EEIO, por serem emergentes e cujo relacionamento com estirpes de *S. aureus* isoladas de alimentos de origem animal e participação em casos de surtos de intoxicação alimentar tem aumentado nos últimos anos. À medida que foram sendo descobertas, as EE foram sequencialmente denominadas com as letras do alfabeto, sendo descritas e purificadas (BALABAN & RASOOLY, 2000).

HENNEKINNE, J. A.; DE BUYSER, M. L.; DRAGACCI em 2012 verificaram que as enterotoxinas produzidas pelos estafilococos são proteínas resistentes ao calor, ao congelamento, ao pH baixo e à inativação por enzimas proteolíticas do trato intestinal humano, mantendo sua atividade no sistema digestório após ingestão.

Em 1981, BERGDOLL et al. identificaram uma toxina produzida por *Staphylococcus aureus*, causadora de síndrome do choque tóxico, a qual, pela ordem de descobrimento portaria a sigla “EEF”. No entanto, essa toxina foi renomeada com a sigla TSST-1 devido à ausência de atividade emética em macacos (SU e WONG, 1997; FUEYO, MENDOZA e MARTIN, 2005).

Apenas os superantígenos estafilocócicos que são capazes de induzir vômitos após administração oral em macacos-modelo são denominadas enterotoxinas, enquanto outras toxinas relacionadas são denominadas superantígenos *SE-like* (JAY, 2005).

Duas das características mais importantes das EE são: primeiro, a resistência à inativação por proteases gastrintestinais, bem como à ação da pepsina, o que explica sua capacidade de permanecer ativa após a ingestão, e a manutenção de sua atividade em certos alimentos; e, segundo, sua termoestabilidade, extremamente importante em termos de segurança de alimentos, uma vez que elas permanecerão ativas no alimento mesmo após seu processamento térmico (BALABAN e RASOOLY, 2000; ATANASSOVA, MEINDL e RING, 2001; SORIANO et al., 2002; BENNETT, 2005), como no caso de leite pasteurizado e leite tratado por ultra alta temperatura (UHT).

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas extracelulares de baixo peso molecular, hidrossolúveis e resistentes à ação de enzimas proteolíticas do sistema digestivo, permanecendo ativas após a ingestão. Outra característica importante é sua termoestabilidade, sendo capaz de resistir a tratamentos térmicos como a pasteurização e a ultrapasteurização (BORGES et al, 2007).

Muitos fatores de virulência dos estafilococos estão ligados à parede celular e são geralmente mencionados como fatores de superfície ou somáticos. Tais fatores são importantes, principalmente, na interação do microrganismo com o hospedeiro durante o processo inicial de colonização (adesão e invasão), nos mecanismos de evasão (fuga) das defesas do hospedeiro e na modulação da resposta imune. Além disso, esses microrganismos podem secretar uma ampla variedade de proteínas conhecidas como exoproteínas (SALYERS & WHITT, 2002).

Os principais sintomas da intoxicação estafilocócica são vômito e diarreia, podendo ocorrer náuseas, cólicas abdominais e sudorese, variando com o grau de susceptibilidade do indivíduo e com a concentração da enterotoxina ingerida, sendo necessária cerca de  $10^6$  de células por grama de alimento para que a toxina seja

acumulada em níveis capazes de provocar intoxicação alimentar (RODRIGUES et al., 2004).

Aproximadamente 10% dos doentes são internados para hidratação venosa e apoio eletrolítico, no entanto, a taxa de mortalidade é relativamente baixa em indivíduos saudáveis, ocorrendo normalmente em pessoas mais susceptíveis à desidratação, como crianças, idosos e pessoas acometidas de doenças crônicas imunossupressoras (CARMO et al., 2004; HENNEKINNE; DE BUYSER; DRAGACCI, 2012).

Geralmente, os idosos são mais susceptíveis à morbidade e mortalidade por gastroenterite de origem alimentar do que pessoas mais jovens (BALABAN; RASOOLY, 2000).

Em indivíduos debilitados por doenças crônicas, traumas físicos, queimaduras ou imunossupressão, esse microrganismo pode causar infecções de caráter mais grave. Entre as infecções profundas destacam-se a osteomielite, a bacteremia (frequentemente associada à abscessos metastáticos), a endocardite, a pneumonia e, ocasionalmente, a meningite e a artrite bacteriana. A osteomielite pode ser primária ou hematogênica, e secundária. No primeiro caso, a doença surge em consequência da disseminação do *S. aureus* a partir do foco de infecção, geralmente localizada na pele. A osteomielite secundária é decorrência de traumas penetrantes, processos cirúrgicos ou da presença de um foco de infecção contíguo. A bacteremia pode ter origem de qualquer infecção estafilocócica localizada, tais como abscesso, pneumonia e outros (SILVA et al.; 2007).

O período de incubação da intoxicação estafilocócica é curto, variando de 15 minutos a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado (CARMO, 2001). Os sintomas variam de acordo com a susceptibilidade individual, sendo mais graves em recém-nascidos, idosos e pessoas acometidas de doenças crônicas imunossupressoras (CLIVER, 1994). O restabelecimento ocorre geralmente em período de um a dois dias (BERGDOLL, 1989).

### 5.3 AS CONDIÇÕES DE HIGIENE SANITÁRIA

Existem relatos que no ano 2000 a.c, Moisés determinou algumas leis sobre os alimentos que poderiam, ou não, ser consumidos, bem como sugestões de preparo de alimentos e orientação de higienização das mãos antes das refeições (SVS/MS, 2005).

Os alimentos estão sujeitos a diversas fontes de contaminação ao longo do seu cultivo e processamento, nesse sentido, os que são consumidos crus como os vegetais apresentam grande potencial para atuarem como veículos de microrganismos causadores de toxinfecções alimentares, quando comparados a outros gêneros submetidos a processamento térmico (PALU et al, 2002).

OLIVEIRA et al em 2003 afirmam que a alimentação é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde, desde que a produção e a manipulação dos alimentos se dê dentro de padrões higiênico-sanitários satisfatórios. Afirmam ainda que a deficiência de controle desses padrões seja um dos fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos, pois os manipuladores podem ser portadores assintomáticos de várias enfermidades e contaminarem os mesmos, desencadeando surtos de toxinfecções alimentares.

Estudos indicam como uma das principais causas de surtos de doenças de origem alimentar o despreparo dos manipuladores de alimentos, relacionando-se diretamente com a contaminação dos alimentos, decorrente de doenças, de maus hábitos de higiene e de práticas inadequadas na operacionalização do sistema produtivo de refeições (CAVALLI; SALAY, 2007).

Todas as pessoas que trabalham com alimentação são consideradas “Manipuladores de Alimentos”, ou seja, quem produz, vende, transporta, recebe, prepara e serve o alimento.

Dentre as fontes de contaminação microbiológica, sítios anatômicos do manipulador de alimentos tais como axilas, cabeça, pernas e braços constituem-se em ambientes propícios à multiplicação microbiana. O manipulador representa, portanto, um

indiscutível elo na cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar (PEREIRA et al., 1999), o que o torna um elemento incisivo no processo de disseminação dos patógenos.

Esse profissional, como todo ser humano, é portador de microrganismos na parte externa do seu corpo (mãos, pele e cabelos), na parte interna (boca, garganta e nariz) e nas suas secreções (fezes, urina, saliva e suor) (VASCONCELOS et al 2008).

O microrganismo pode ser transmitido de pessoa para pessoa (infecção cruzada), através do contato indireto (via aérea) ou por contato direto, sempre na dependência da presença de uma fonte - doentes ou portadores (ROUQUAYROL; VERAS, 1994). Adicionalmente, grande parte das pessoas envolvidas em manipulação de alimentos carece de conhecimentos sobre medidas básicas de higiene a serem empregadas com produtos alimentícios, bem como desconhecem a possibilidade de serem portadores assintomáticos de microrganismos (GERMANO et al., 2000).

Desta forma, portadores assintomáticos de algum agente podem contaminar alimentos ou infectar outras pessoas que continuarão a participar de uma contaminação contínua em toda a cadeia alimentar (SILVA, 1999).

Um alimento tocado com as mãos está sujeito a uma contaminação bacteriana proporcional ao grau de saúde física e higiene pessoal daquele que o prepara, bem como ao grau de limpeza das cozinhas, equipamentos e utensílios. A expectativa de vida das diferentes classes sociais tende a variar em função de uma alimentação apropriada, ou pelo menos não deficitária, e está associada a boas condições de higiene pessoal, principalmente nas cozinhas (SORCINELLI, 1998).

*S. aureus* habita frequentemente a mucosa nasal, a partir das quais contaminam as mãos. Ele também é uma causa frequente de infecções cutâneas nas mãos. Destas fontes, pode facilmente penetrar o alimento (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

O portador não tem sido representado pelo indivíduo que alberga agentes infectantes, passíveis de invadirem o organismo de outro ser vivo, embora se apresente destituído de sintomatologia. Dentre os membros patogênicos da microbiota normal, distingue-se *Staphylococcus aureus*, responsável por infecções piogênicas como furúnculos, foliculites, osteomielites, endocardites, pneumonias, septicemias fatais e outros tipos de manifestações, podendo ser encontrado em várias partes do corpo, principalmente na

pele e nas mucosas, tais como fossas nasais, mãos, garganta, intestino (DARINI & COSTA, 2002).

A transmissão de *Staphylococcus aureus* ocorre principalmente pelo contato direto (mãos contaminadas dos profissionais ou pacientes) ou indireto (através de superfícies contaminadas). Neste contexto, enfatiza-se a importância da colonização, que se caracteriza pela presença do microrganismo no hospedeiro, porém sem evidências de infecção ou sem resposta clínica. Ou seja, o indivíduo atua como carreador do microrganismo (OLIVEIRA; PAULA, 2012).

A principal forma de contaminação dos alimentos são os manipuladores, pois a microbiota das mãos e roupas podem ser provenientes do solo, água, poeira e muitos outros ambientes (CAPUANO et al., 2002; CARNEIRO, 2007).

Os manipuladores de alimentos têm um importante papel na prevenção das toxinfecções e nas demais doenças de origem alimentar. A higiene alimentar está geralmente associada à higiene pessoal que, na maioria das vezes, é limitada aos cuidados com as mãos (BASTOS et al. 2002).

Um alimento isento de qualquer agente patogênico ou de suas toxinas caracteriza-se por uma atribuição primária de segurança na manipulação de alimentos. Dessa maneira, alimentos com qualidade microbiológica aceitável garantem produto seguro e sem risco ao consumidor. A higiene do ambiente e as condições do local da cozinha podem contribuir decisivamente para manutenção da qualidade original dos alimentos, podendo atuar como fonte de contaminantes e/ou condições ambientais que agem como coadjuvantes no processo de contaminação e deterioração dos alimentos (KOCHANOSKI et al.; 2009).

A alimentação é uma das condições básicas para promoção e manutenção da saúde, desde que a produção e a manipulação dos alimentos se deem dentro de padrões higiênico-sanitários satisfatórios. A deficiência no controle desses padrões é um dos responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos. Sendo assim, uma alimentação de qualidade pode ser assegurada com a educação e treinamento adequado dos manipuladores (MACHADO et al.; 2009).

A patente contaminação do extrato subungueal já foi comprovada como importante via de transmissão para inúmeros parasitas, fator favorecido pela ausência de frequente e adequada higienização por parte dos manipuladores de alimentos. O homem é, portanto,

um dos principais vetores ou reservatórios do processo de contaminação dos alimentos por microrganismos patogênicos, assim como por parasitas (JÚNIOR et al., 2001).

“O processo de higienização tem como objetivo eliminar ou reduzir a contaminação microbiológica, minimizando os riscos de transmissão de agentes causadores de doenças” (JÚNIOR, 2007).

MIRANDA; DAMASCENO E CARDONHA (2002) avaliaram também as condições higiênico sanitárias dos panos utilizados na secagem de utensílios de mesa e das mãos de manipuladores em restaurantes tipo *self-service* da cidade de Natal, RN, realizando ainda acompanhamentos visuais dos procedimentos dos manipuladores e análises microbiológicas das mãos dos mesmos e dos panos de prato. Dos resultados obtidos, constataram-se falhas consideradas de alto risco ao consumidor, sendo que 70,8% das amostras de panos apresentaram-se com valores insatisfatórios com alta contagem de bactérias aeróbicas mesófilas e 46,2% das amostras de mãos apresentaram *S.aureus*, evidenciando condições insatisfatórias de higiene.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 70% dos casos de enfermidades transmitidas pelos alimentos têm origem no seu manuseio inadequado (VENTURI et al 2004).

#### **5.4 O PONTO CRITICO DOS ALIMENTOS**

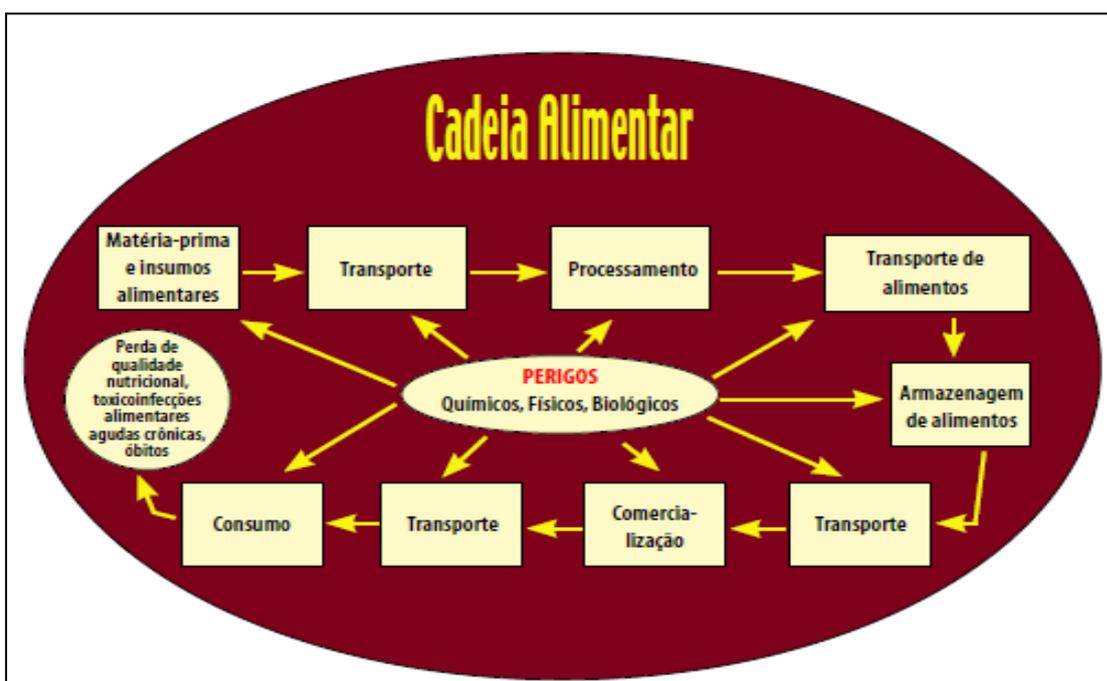
A partir da suspeita de ocorrência de um surto de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e do planejamento conjunto das ações da atividade de campo, a equipe de vigilância sanitária promove inspeções nas diversas etapas da cadeia alimentar. Essa ação tem como objetivo identificar os fatores de risco aos quais o alimento foi exposto, apontar pontos críticos, bem como avaliar as boas práticas de produção anteriormente adotadas, visando à sua reorientação.

No Brasil, foi criado o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (SISAN) em 15 de setembro de 2006 através da lei de Nº 11.346, o qual traz uma definição de segurança alimentar que abrange também a garantia da qualidade sanitária dos alimentos e o uso sustentável dos recursos naturais (BRASIL, 2006). O SISAN tem por objetivos formular e implementar políticas e planos de segurança alimentar e

nutricional, estimulando a integração dos esforços entre governo e sociedade civil, bem como promover o acompanhamento, o monitoramento e a avaliação da segurança alimentar e nutricional no país.

Devido à preocupação com a segurança alimentar, muitos produtores de alimentos optaram por aplicar um sistema mais lógico, prático, sistemático, dinâmico e compreensivo para controlar a segurança do produto, sendo o método denominado Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (DESTRO, 1998).

A APPCC é um sistema preventivo de controle de qualidade reconhecido mundialmente, utilizado na área de alimentos para o gerenciamento da segurança e da qualidade dos produtos alimentícios. O APPCC visa à obtenção de alimentos seguros com análise de pontos críticos de controle, constitui um método embasado na aplicação de princípios técnicos e científicos de caráter preventivo, aplicável em toda cadeia alimentar, sendo, portanto, realizadas análises de produção do campo à mesa, desde o plantio à colheita, processamento até comercialização e/ou uso de um determinado produto alimentício (ABERC, 2003).



**FIGURA 4:** Contaminação dos alimentos na cadeia alimentar.

**Fonte:** Boletim eletrônico epidemiológico. Ano: 5, nº6, 28/12/2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.

No início da década de sessenta, foi feita a primeira aplicação do sistema APPC pelos Estados Unidos, desenvolvendo alimentos para seu programa espacial. Eles objetivavam aproximar de 100% a garantia contra a contaminação por bactérias patogênicas e vírus,

toxinas e riscos químicos e físicos que poderiam causar doenças ou ferimentos para os astronautas. O APPCC restituiu o teste do produto final para promover garantia na segurança dos alimentos e promover um sistema preventivo para produção segura de alimentos o qual teve aplicação universal (CORLETT, 1993).

O sistema APPCC passou a ser exigido nas indústrias de alimentos nos diferentes continentes (Directiva 93/94/CEE), e inclusive em nosso país, através da Portaria n° 1428 do Ministério da Saúde, de 26/11/93 (TERRA, 1998). Em 1997, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), formalizou a adoção do sistema como mecanismo auxiliar do sistema clássico de inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal (CONTRERAS; BROMBERG, 2003).

É um sistema que se aplica a indústrias de alimentos, fornecedores de matérias-primas, insumos, produtos de limpeza/sanitização, serviços em geral, ou melhor, todas as áreas relacionadas ao produto em foco, ou seja, da origem da matéria-prima até o produto final na mesa do consumidor (HUSS, 1993).

A avaliação por análise de perigos em pontos críticos de controle é composta de sete etapas fundamentais, a primeira delas é a identificação dos perigos potenciais associados à produção do alimento em todos os seus estágios: produção da matéria-prima, manufatura, distribuição, entre outros. É importante reconhecer os pontos críticos que podem ser controlados para eliminar os perigos ou minimizar a possibilidade de sua ocorrência, são estes os chamados pontos críticos de controle, para que a fiscalização estabeleça os limites críticos, de contaminação aceitáveis para um determinado produto. As demais etapas são:

- Organizar um sistema para monitorar o controle dos pontos críticos por meio de testes ou observações pré-determinadas;
  - Elaborar ações corretivas a serem tomadas pela área de produção sempre que o monitoramento indicar pontos críticos fora de controle;
  - Criar procedimentos de verificação que abranjam testes suplementares e procedimentos para confirmar se o sistema está funcionando de maneira adequada;
- E, por fim, elaborar um histórico de produção por meio de documentação descritiva dos procedimentos executados na elaboração do produto (CONTRERAS, 1999).

SILLIKER (1986) afirma que o monitoramento dos APCCs, permite uma avaliação integral da eficácia do controle. Os procedimentos utilizados para o monitoramento

devem produzir resultados com rapidez para que as correções possam ser feitas antes do desenvolvimento de riscos microbiológicos mais sérios.

A monitoração pode ser classificada em cinco tipos: visual, química, física, sensorial e microbiológica. (BRYAN, 1998).

HUSS (1993) considera que a maior vantagem é a de que o APPCC constitui uma abordagem sistemática, estrutural, racional, multidisciplinar, adaptável e pouco custosa da garantia preventiva de qualidade que se for apropriadamente implantado, não existe outro sistema ou método que possa fornecer o mesmo grau de segurança da qualidade e o custo diário de aplicação.

Devido à necessidade de estabelecer critérios e padrões microbiológicos para alimentos, foi criada a Resolução – RDC N° 12 de Janeiro de 2001, essa RDC estabelece as análises que são necessárias para garantir a qualidade microbiológica do alimento de acordo com sua natureza. Essa RDC informa quais os microrganismos devem ser analisados em cada alimento, indicando a contagem limite de cada microrganismo e a amostragem que deve ser realizada (BRASIL, 2001).

## **5.5 MEDIDAS DE PROFILAXIA**

A incidência real das toxinfecções é desconhecida por diversas razões, incluindo respostas imprecisas das vítimas às entrevistas realizadas pelos serviços de saúde; erros de diagnóstico devido à similaridade dos sintomas em relação a outras doenças; coleta inadequada de amostras para análise laboratorial e exames laboratoriais impróprios (BENNETT, 2005, citado por NEWSOME, 1988). Devido às falhas ocorrentes nos serviços de vigilância epidemiológica e à falta de conscientização da população frente às doenças veiculadas por alimentos, apenas uma pequena porcentagem do número real de surtos de toxinfecções alimentares são confirmados.

Existe um número reduzido de pesquisas relacionadas aos conhecimentos e práticas dos manipuladores de alimentos frente à manipulação higiênica dos alimentos o que dificulta o planejamento adequado de medidas de intervenção, na educação destes profissionais (ÇAKIROGLU & UÇAR, 2008).

TABAI em 2002, afirma que problemas de toxinfecção alimentar observados na população brasileira ocorrem devido, em parte, à falta de prioridade dos órgãos públicos em defesa da saúde. A importância da conscientização dos funcionários é item fundamental, uma vez que a maioria deles tem pouco conhecimento sobre aspectos importantes do trabalho e não reconhecem seu papel como agentes transmissores de toxinfecções. Assim, uma das maneiras utilizadas para se garantir a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos são a realização de programas de educação continuada para os manipuladores, a realização periódica de exames microbiológicos desses indivíduos e o fortalecimento do sistema de vigilância sanitária para fiscalização de alimentos oferecidos à população, incluindo a elaboração de uma legislação que regulamente a ocupação destes profissionais.

Na cidade de Santos, SP, GONZALEZ et al (2009) investigaram o perfil socioeconômico e educacional de 59 manipuladores de alimentos, bem como de seus conhecimentos e percepções sobre higiene alimentar através de um questionário contendo 26 perguntas abertas e fechadas. Os resultados da análise do perfil destes manipuladores de alimentos mostraram que 51% eram do sexo masculino; 64% tinham entre 17 e 38 anos; 2,62% possuíam ensino médio completo; 7% ingressaram em curso nível superior e 2% eram analfabetos. Do total 46% nunca participaram de treinamento em Boas Práticas de Fabricação e 3% relataram que o receberam há menos de seis meses.

A manipulação dos alimentos mostra-se como um fator que, caso não seja gerenciado e controlado, pode provocar contaminações e comprometer a segurança dos alimentos. Ou seja, a manipulação inadequada dos alimentos pode provocar toxinfecções, comprometimento da imagem do estabelecimento, abertura de processos judiciais, multas e até o fechamento.

Práticas higiênicas eficientes são necessárias em todas as etapas da cadeia produtiva dos alimentos. A higienização inclui as etapas de limpeza e sanitização das superfícies de alimentos, ambientes de processamento, equipamentos, utensílios, manipuladores e ar de ambientes de processamento. A etapa de limpeza consiste na remoção de resíduos orgânicos e minerais aderidos às superfícies por meio do uso de agentes detergentes. A etapa de sanitização consiste da aplicação de agente químico ou físico, tendo como

objetivo eliminar microrganismos patogênicos e reduzir o número de microrganismos alteradores para níveis considerados seguros (CAMPDEPADRÓS et al., 2012).

Assim, a produção, preparação, distribuição, armazenamento e comercialização de alimentos, com segurança, são atividades que exigem cuidados especiais com o ambiente de trabalho, com equipamentos e utensílios, com os alimentos propriamente ditos, com as instalações sanitárias, com o controle de pragas e principalmente com os manipuladores de alimentos (SILVIA, 2002).

Independentemente da causa, a prevenção e o controle de DTA, são baseados nos mesmos princípios, tais como evitar a contaminação dos alimentos e a propagação ou multiplicação dos contaminantes. Finalmente, a prevenção depende da conscientização dos manipuladores sobre as práticas adequadas na cozinha, armazenamento de alimentos e higiene pessoal (HEYMANN, 2004).

Para evitar a contaminação dos alimentos, através da manipulação, um treinamento inicial do manipulador é indispensável. Existem regras básicas que o manipulador de alimentos deve seguir. Regras que devem ser colocadas em prática não só durante o trabalho, mas durante a rotina diária quando trabalhamos em casa, pois nela também preparamos a nossa alimentação e de toda a família.

O treinamento de manipuladores em segurança alimentar é uma exigência legal, devendo ser realizado periodicamente para possibilitar a mudança de comportamento dos manipuladores através de atitudes e práticas que não contribuam para o risco de DTA. Entretanto, estudos em diferentes estados do País indicam o despreparo dos manipuladores de alimentos relacionando-o diretamente com a contaminação dos alimentos, decorrentes de doenças, de maus hábitos de higiene e de práticas inadequadas no processo produtivo de refeições (SILVA, 2002; MARTINS et al., 2009).

Todo manipulador, consciente da responsabilidade que é preparar e oferecer um alimento com qualidade deve observar, diariamente, antes e durante seu trabalho, algumas regras importantes e fundamentais, para que o resultado seja sempre excelente.

#### **São princípios básicos de higiene:**

- Tirar barba ou bigode;

- Usar os cabelos presos ou cobertos por redes ou toucas;
- Evitar conversar, cantar, tossir ou espirrar sobre os alimentos, para que não caia saliva sobre os mesmos;
- Fumar apenas em locais permitidos;
- Manter roupas e aventais sempre limpos, trocando-os diariamente e sempre que necessário;
- Não manipular alimentos quando estiver doente (ex: resfriado) ou apresentar algum tipo de lesão nas mãos e unhas;
- Manter as unhas sempre curtas e limpas, sem esmalte e anéis;
- Não usar adornos (brincos, pulseiras, anéis, aliança, *piercing*, etc.)

#### **Lavar bem as mãos com água e sabão:**

- Ao sair do banheiro ou vestiário;
- Ao tocar o nariz, cabelo, sapatos, dinheiro e cigarro;
- Após tocar alimentos podres e estragados;
- Após carregar o lixo;
- Sempre e antes de tocar em qualquer utensílio e equipamento, ou seja, tudo que for entrar em contato com o alimento.

É necessário que todas as superfícies da cozinha e do local destinado à distribuição dos alimentos estejam perfeitamente limpas, pois os alimentos se contaminam com muita facilidade. Não adianta cuidar da higiene dos alimentos se forem colocados em utensílios e equipamentos mal lavados.

Todo manipulador de alimentos deve participar de treinamentos específicos para a sua área. É muito importante o contato com a teoria e a prática da função que desempenha ou desempenhará.

A mudança permanente de pessoal manipulador acarreta sempre novas necessidades de treinamento, implicando também em deslocamentos e esforços muitas vezes desnecessários.

O treinamento inicial deve ser obrigatório em todos os locais onde se produzem e distribuem as refeições, devendo ser atualizado sempre que necessário.

Lembrar sempre que é preocupação e responsabilidade de todos a segurança dos alimentos, desde seu adequado recebimento, preparo e distribuição para o consumo.

As Boas Práticas de manipulação estão fundamentadas em algumas normas, dentre elas é possível citar:

RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002 - Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

SVS/MS nº326, de 30 de julho de 1997 - Regulamento Técnico; "Condições Higiênicas-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos"

RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004 - Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.

Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988 - Determinar que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares anexas à presente.

Portaria nº 518, de 25 de março de 2004 - Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências.

Decreto-Lei nº 33/87 de 17 de Janeiro - Aprova o Regulamento do Exercício da Indústria de Panificação;

Portaria nº 329/75 de 28 de Maio - Estabelece medidas de higiene respeitantes ao consumo de produtos alimentares;

Portaria nº 425/98 de 25 de julho - Fixa as características a que devem obedecer os diferentes tipos de pão e de produtos afins do pão e regula alguns aspectos da sua comercialização.

A produção de alimentos está intimamente ligada à saúde pública, cabe ao responsável quer seja de uma escola ou restaurante, entre outros locais de manipulação de alimentos, implantar e manter um sistema que garanta a qualidade dos seus produtos. Para que ambos os requisitos sejam cumpridos, é indispensável a criação de um Manual de Boas Práticas (MBP), bem como um Procedimento Operacional Padronizado (POP).

O Manual de Boas Práticas é um documento que descreve o trabalho executado no estabelecimento e a forma correta de fazê-lo. Nele, podem-se ter informações gerais sobre como é feita a limpeza, o controle de pragas, da água utilizada, os procedimentos de higiene e controle de saúde dos funcionários, o treinamento de funcionários, o que fazer com o lixo e como garantir a produção de alimentos seguros e saudáveis.

O POP é um documento que descreve passo-a-passo como executar as tarefas no estabelecimento. O POP destaca as etapas da tarefa, os responsáveis por fazê-la, os materiais necessários e a frequência em que deve ser feita. Como os POP são documentos aprovados pelo estabelecimento, por meio do responsável, é dever de cada manipulador segui-los.

É imprescindível uma área com cartaz de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem e anti-sepsia das mãos e demais hábitos de higiene, afixados em locais de fácil visualização, inclusive nas instalações sanitárias e lavatórios (RDC ANVISA nº 216).

Quanto aos uniformes, estes devem estar completos, bem conservados, limpos e com troca diária, sua utilização deve ser feita somente nas dependências internas do estabelecimento; os sapatos devem ser fechados, antiderrapantes e devem estar em boas condições de higiene e conservação; uso de proteção na cabeça de forma a cobrir completamente os cabelos (SILVIA, 2002).

Uma higienização rigorosa das mãos é sempre a melhor solução. O uso de luvas descartáveis é recomendado em caso de lesão nas mãos ou até mesmo quando manipular alimentos prontos para consumo, mas sempre por períodos curtos.

O dinamismo da atualidade, a necessidade de refeições rápidas, a opção por refeições mais baratas promoveram nos centros urbanos o surgimento de uma grande quantidade de serviços de alimentação, porém, junto com esse contexto tem crescido o conceito de Segurança de Alimentos, que deixa grande parte da população em dúvida quanto a alimentação, pois não basta apenas alimentar-se e sim alimentar-se com qualidade.

É notório que o controle de qualidade dos alimentos tem sofrido profundas modificações nestes últimos anos para a melhoria da qualidade nutricional e para a garantia higiênico-sanitária não só dos produtos como para alimentos prontos para o consumo.

Assim, uma das maneiras utilizadas para se garantir a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos é a realização de programas de educação continuada para os manipuladores, à realização periódica de exames microbiológicos desses indivíduos e o fortalecimento do sistema de vigilância sanitária para fiscalização de alimentos oferecidos à população, incluindo a elaboração de uma legislação que regule a ocupação destes profissionais. Uma maior atenção na área da segurança alimentar é evidente (NOLLAI, CANTOS, 2005).

## **5.6 RELATOS DE SURTOS**

Um surto alimentar é definido como dois ou mais casos de doença similar resultante da ingestão de um alimento comum (DANIELS et al., 2002).

Surtos de intoxicação alimentar são frequentemente relatados e os causados por *Staphylococcus aureus* são os mais comuns, pois havendo no alimento condições favoráveis à sua multiplicação, em poucas horas, certas linhagens produzem uma toxina termoestável que é responsável pelo quadro clínico. Os sintomas, que aparecem dentro de 1-6 horas após a ingestão do alimento, são caracterizados por náusea, vômito, espasmo abdominal e diarreia (RADII; LEITE; MENDONÇA, 1988).

As doenças veiculadas por alimentos representam um importante problema de saúde pública, pois, estima-se que milhões de pessoas em todo o mundo sejam acometidas por estas (MAGALHÃES; CARVALHO; FREITAS, 2010).

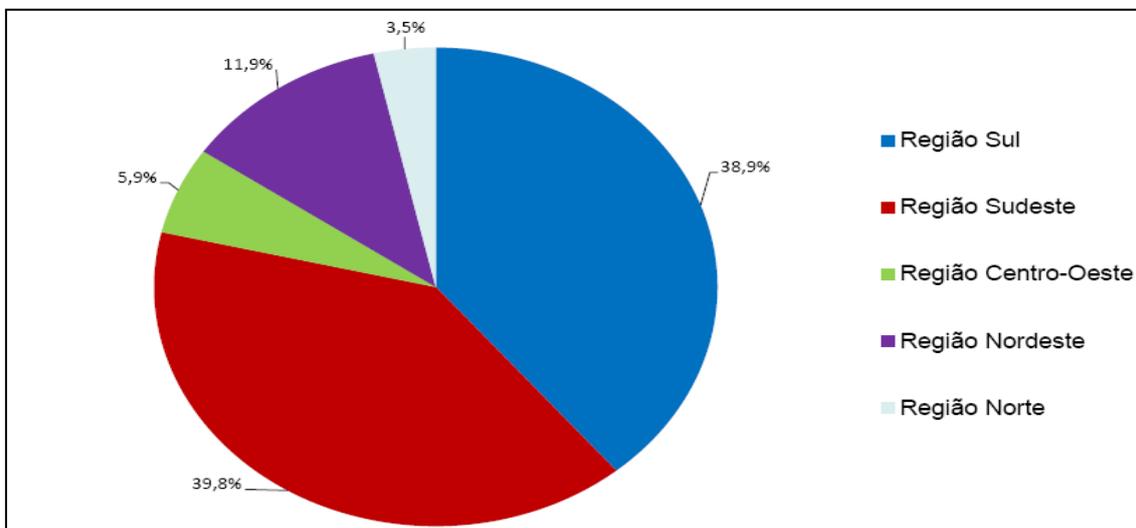
Doenças transmitidas por alimentos são todas as ocorrências clínicas decorrentes do consumo de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos (infecciosos ou toxinogênicos), toxinas ou substâncias químicas, tais como metais pesados e muitos compostos orgânicos. Usualmente, as causas de doenças alimentares são as toxinas

elaboradas durante o crescimento bacteriano no alimento (*Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*) e as infecções bacterianas, virais ou parasitárias (HEYMANN, 2004).

Doenças de origem alimentar é um problema de saúde pública generalizado, tanto nos países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento (SOWMYA; THAKUR; MANONMANI, 2012). Segundo relatório da Organização Mundial de Saúde (2007), só em 2005, mais de 1,8 milhões de pessoas em todo o mundo, a maioria das quais são crianças, são sucumbidas à morte por causa de contaminação microbiana dos alimentos e água.

Nos últimos anos, muita atenção tem sido dada à produção, processamento, embalagem, transporte e armazenamento de alimentos (CARMO et al., 2003).

De acordo com CARMO et al. (2005), os dados do Sistema de Informações Hospitalares (SIH) do Ministério da Saúde mostram a ocorrência de 3.410.048 internações por doenças transmitidas por alimentos (DTA's) de 1999 a 2004, com média de 568.341 casos/ano, sendo que as regiões Sul e Sudeste detêm as maiores taxas de incidência.

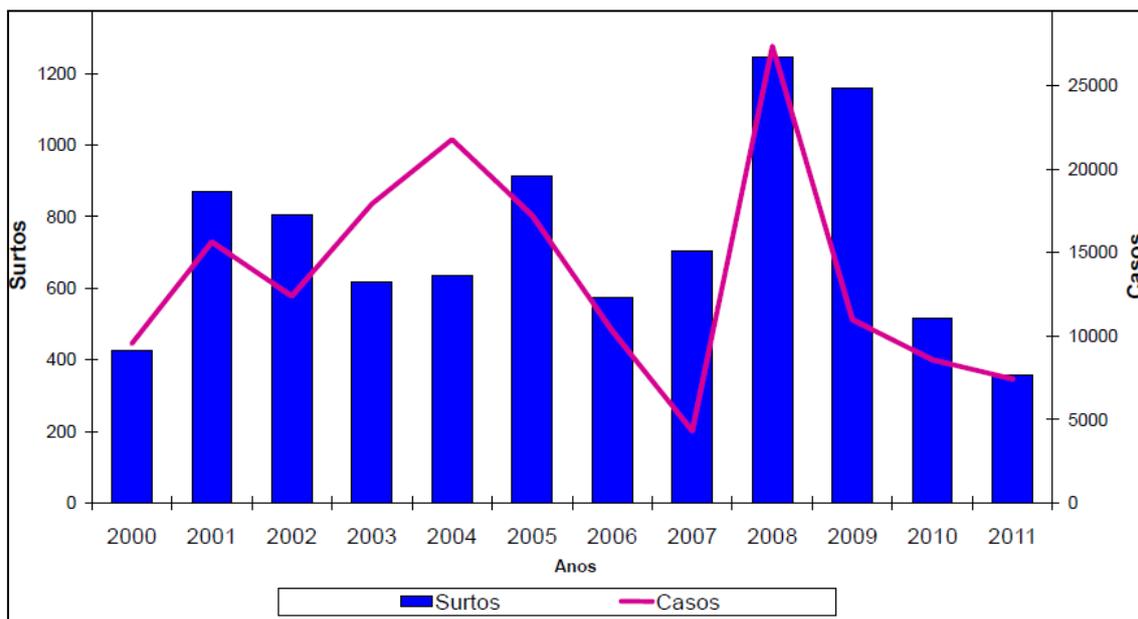


**GRÁFICO 1:** Proporção dos surtos de DTA por região no Brasil, 2000 – 2012.

**Fonte:** SINAN NET/SVS/MS \*Dados sujeitos a alteração

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2011 foram notificados 8.663 surtos de doenças veiculadas por alimentos (Figura 2) com 163.425 pessoas doentes e 112 óbitos (SVS/MS, 2012). Sabe-se que, no Brasil, não há o hábito consolidado de procura pelo centro de saúde em casos de diarreias, salvo em casos graves ou persistentes. Esse

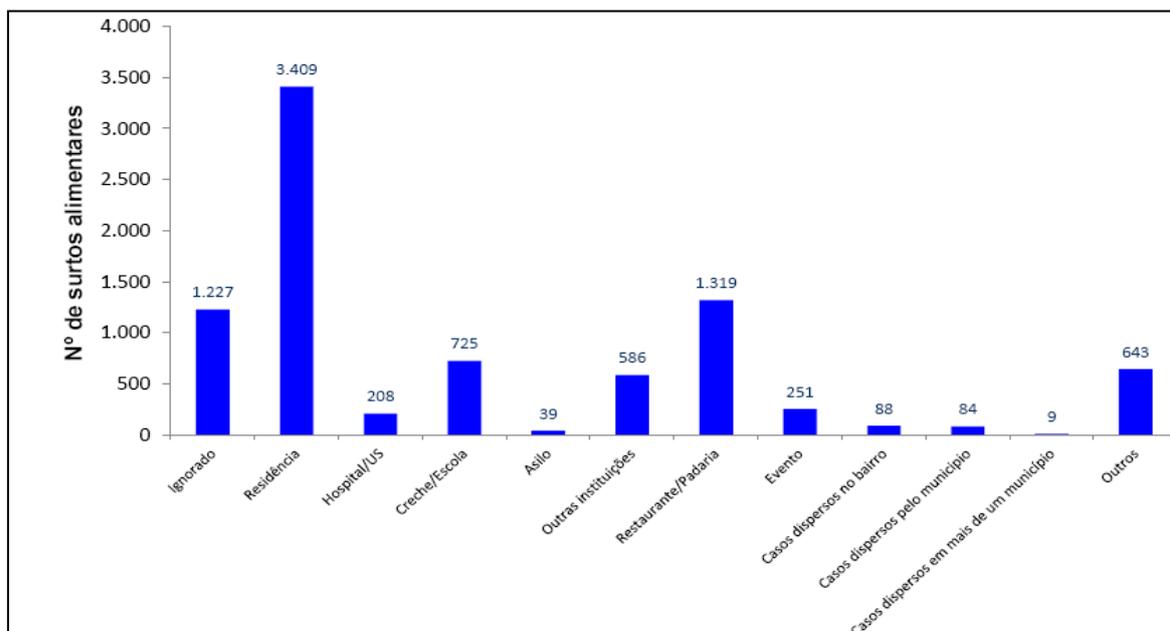
aspecto poderia explicar a aparente baixa prevalência de intoxicações alimentares envolvendo *S. aureus*.



**GRÁFICO 2 :** Surtos de DTA no Brasil entre os anos de 2000 e 2011.

Fonte: UHA/CGDT/DEVEP/SVS/MS, 2011.

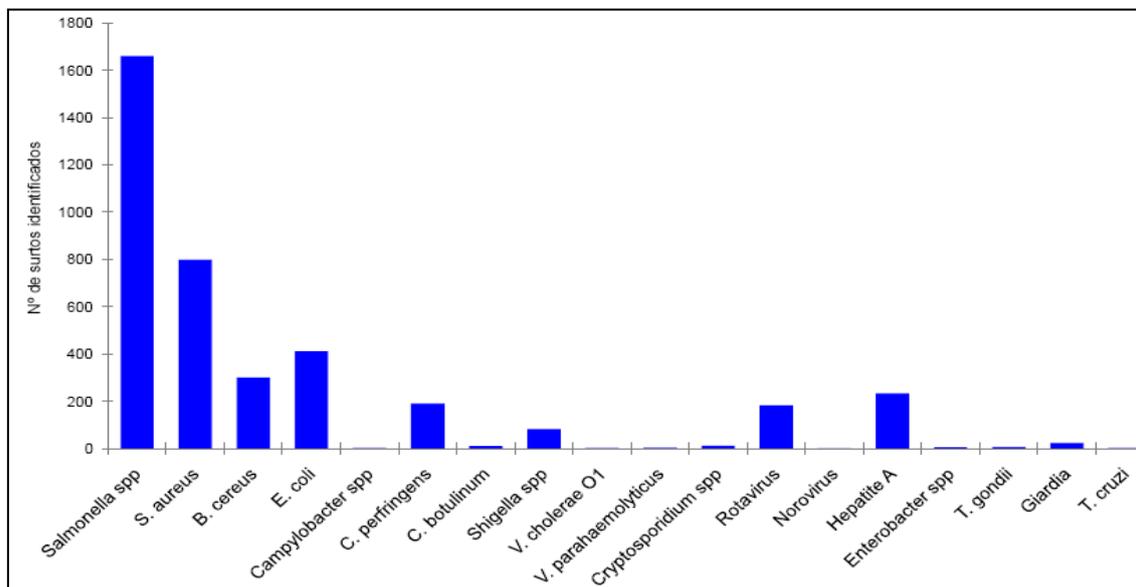
Entre os principais locais de ocorrência dos surtos de DTAs, no Brasil, estão as residências (3.409), restaurante (1.319) e instituições de ensino (725). Segundo conclusões de NESTI; GOLDBAUM (2007), crianças que freqüentam creches apresentam risco de duas a três vezes maior de contrair infecções.



**GRÁFICO 3:** Principais locais de ocorrência dos surtos de DTAs, no Brasil.

Fonte: SINAN NET/SVS/MS \*Dados sujeitos a alteração

Os agente mais frequentes nos surtos no Brasil no período de 2000 a 2011, foram: *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*.



**GRÁFICO 4:** Agente mais frequentes nos surtos no Brasil no período de 2000 a 2011

**Fonte:** Agentes etiológicos identificados por surto. Brasil, 2000-2011 UHA/CGDT/DEVEP/SVS/MS

No estado do Paraná, entre os anos de 1978 a 2000, foram notificados 1195 surtos de DTA's causadas por agentes bacterianos. O maior número de casos (492) foi originado por *S. aureus*. Os fatores que mais implicaram na ocorrência das DTA's foram a matéria prima contaminada, manipuladores contaminados, equipamentos contaminados e contaminação cruzada. O trabalho não fez referência ao número de pessoas doentes nestes surtos, nem citou os sintomas das mesmas (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Na década de 1980, uma epidemia de TSS (Toxic shock syndrome) ocorreu entre mulheres americanas e praticamente todos os casos foram associados à menstruação, ao uso de absorventes higiênicos internos e à presença de *S. aureus* na região cervical ou vaginal. A ausência de bacteremia nas pacientes sugeriu que a TSS resultou de intoxicação com produtos elaborados por *S. aureus*. Atualmente, TSST-1 é aceita como a causa de 100% dos casos de TSS associada à menstruação (DINGES; ORWIN; SCHLIEVERT, 2000).

FERNANDES et al. (1998) relataram um surto de intoxicação alimentar no município de Contagem, MG, onde a contaminação dos alimentos por *S. aureus* teve origem nos

manipuladores, pois o material coletado da orofaringe e sub-ungueal dos treze cozinheiros, mostrou que 84,6 % das amostras tinham enterotoxinas do tipo A, B, C e D.

No ano de 1999, CARMO et al (2002) verificaram 2 surtos relacionados a linhagens de *S. aureus* enterotoxigênicos em Manhuaçu e Passa-Quatro, MG, Brasil. No primeiro surto, 50 indivíduos ficaram doentes pelo consumo de queijo Minas e, no segundo 328 indivíduos foram afetados após consumirem leite cru. As enterotoxinas específicas encontradas em cada surto levaram a concluir que a contaminação do primeiro surto estava relacionada com os manipuladores de alimentos, e o segundo, com mastite bovina. Em 2003, os mesmos autores relataram outro surto de intoxicação alimentar relacionada ao *S. aureus*, envolvendo 42 pessoas que se alimentaram num restaurante em Passos, MG, Brasil. Os resultados dos estudos apontaram que os manipuladores de alimentos teriam sido os causadores da contaminação da comida, pois eram portadores desse microrganismo.

Em Brodowsky–SP, no ano de 1998, RIBEIRO et al (1999) afirmam que um surto atingiu 180 pessoas. Estas apresentaram náuseas, vômitos e diarreias, de uma a duas horas após a refeição. A investigação do caso determinou que a maionese de legumes, o frango e o macarrão servidos possuíam uma contagem de *S. aureus* superior a permitida por lei e, que foram isoladas estirpes deste microrganismo de 4 manipuladores. Este fato implica que o descuido dos manipuladores de alimentos, juntamente com a falta de refrigeração dos mesmos ocasionou o surto de DTA.

Rio de Janeiro ano 2000, VIANNA et al. (2003) analisaram a ocorrência de 53 surtos de DTA notificados na cidade. Segundo os autores, estes surtos acometeram 461 indivíduos, com ocorrência de óbito, sendo que a maioria dos surtos ocorreu em restaurantes e residências. O agente bacteriano mais prevalente nestes surtos foi *S. aureus*, sendo este o responsável por 13% dos casos, que envolveram 39 indivíduos.

Um surto de doença alimentar ocorrido em Pernambuco, na cidade de Paulista em 2001, também teve como principal causa à incorreta higiene e cuidados dos manipuladores de alimentos (FUNASA/MS, 2002).

WEI; CHIOUS (2002) identificaram que o surto causado por *Staphylococcus aureus*, que atingiu 10 estudantes de uma escola tailandesa, após a realização do desjejum, foi

proveniente de um manipulador de alimentos que apresentava lesão em uma das mãos. Esse resultado vem reforçar a importância desses profissionais na contaminação dos alimentos.

Um estudo realizado por LAGAGGIO et al (2002) pesquisou microrganismos patogênicos nas mãos dos manipuladores de alimentos do Restaurante da Universidade Federal de Santa Maria antes e após a orientação quanto ao procedimento correto de higienização das mãos. Antes da orientação, 100% das amostras estavam contaminadas e, depois, constatou-se a redução para 22,22% de mãos contaminadas. Os autores apontam que a capacitação quanto à forma correta de higienização das mãos foi uma medida eficaz na redução da contaminação dos alimentos servidos aos estudantes.

Ainda no mesmo ano, em uma escola municipal da cidade de Uberlândia em Minas Gerais aconteceu um surto de toxinfecção alimentar no ano de 2002, onde 129 indivíduos adoeceram, tiveram sintomas de cólicas, diarreia e vômito, 2 horas após o consumo de pavê. A análise microbiológica deste alimento confirmou a presença de *S. aureus* no mesmo (SÁ; BOTELHO, 2003).

Dois anos após RODRIGUES et al (2004) investigaram um surto de intoxicação alimentar envolvendo 58 pessoas em um restaurante institucional no Rio Grande do Sul. Após a ingestão de uma refeição que continha sanduíche de galinha, refresco de laranja e pudim de leite, as pessoas doentes apresentaram vômito, diarreia, dores abdominais, prostração, febre e cefaléia. As análises bacteriológicas revelaram a presença de *Staphylococcus aureus* produtor de enterotoxina SEA em quantidade igual a  $2 \times 10^8$  UFC/g no sanduíche de galinha.

CARMO et al no mesmo ano, relataram um surto de toxinfecção alimentar acontecido em 1998, numa festa na ordenação de um padre católico, com a presença de aproximadamente 8.000 pessoas no estado de Minas Gerais. Com o fim do almoço, 4.000 indivíduos apresentaram quadro de gastroenterite, dentre esses indivíduos cerca de 2.000 (50%) pessoas procuraram atendimento médico, 28 sendo que 396 (20%) necessitaram de hospitalização, onde 81 (20%) foram internados no UTI. Dos pacientes internados na UTI, 16 pessoas sofreram choque sistêmico irreversível e faleceram. As análises microbiológicas indicaram a presença de enterotoxinas de *S. aureus* nos alimentos e, foi constatado que essa contaminação ocorreu porque alguns

manipuladores de alimentos eram portadores de *S. aureus* e, o alimento contaminado que provocou o surto foi o feijão tropeiro.

No ano de 2005, ocorreu em Guarulhos, um surto de DTA envolvendo 12 pessoas em um evento. Após um período médio de incubação de 10 horas e 45 minutos, os indivíduos foram acometidos de sintomas como diarreia, vômito e empanzimento. Os cálculos do inquérito epidemiológico concluiu que as pessoas que ingeriram quiabo com angu tiveram uma maior probabilidade de desencadear a doença, no entanto foi constatada a presença de outros alimentos contendo *S. aureus*. Fato implicante, ao que a contaminação dos alimentos deve ter ocorrido por meio do manipulador (CARVALHO FILHO; TAKIMOTO; OLIVEIRA, 2006).

Em 2006, enquanto as doenças resultantes da infecção pelo vírus da AIDS mataram 14 mil pessoas, no mesmo ano, nos Estados Unidos, apenas uma bactéria resistente a antimicrobianos, *Staphylococcus aureus*, matou 18,9 mil americanos.

Portugal em 2006, quase metade dos surtos (46,4%) resultou do consumo de refeições preparadas em casa. Seguiram-se as refeições consumidas em restaurantes, cafés, bares, *pubs* (19,8%), em locais desconhecidos (12,0%), outros (*picnic, take away/fast food, transportes, catering temporário, etc.* - 7,3%), escolas e creches 6,2%, hospitais e centros de saúde (4,3%), instituições residenciais (2,3%), cantinas e cafeterias dos locais de trabalho (1,7%).

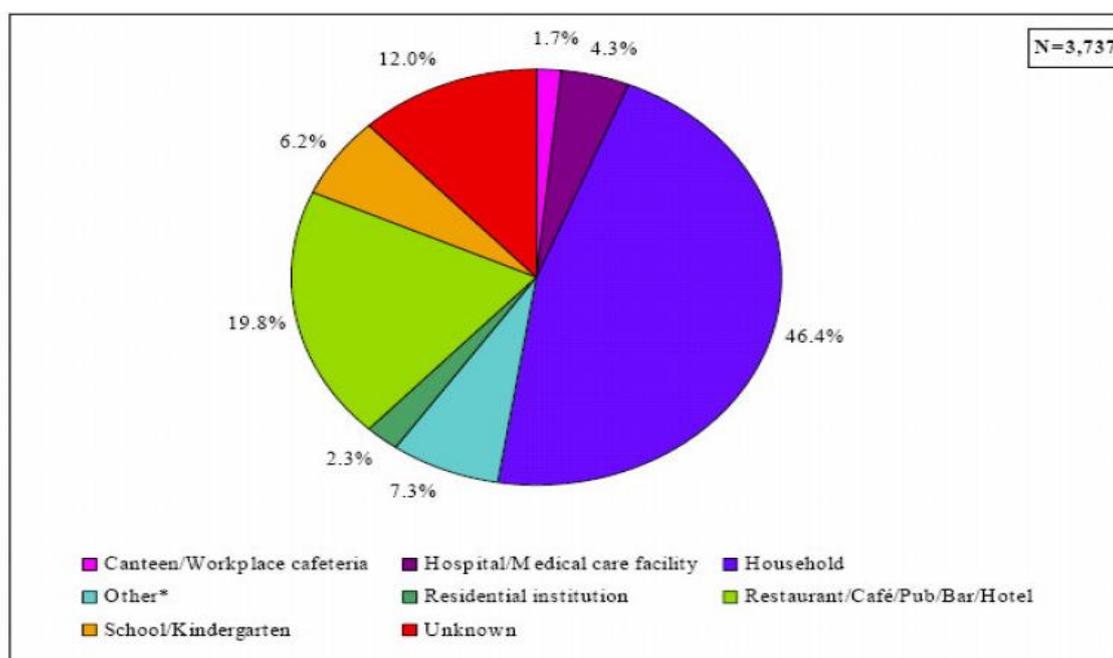


GRÁFICO 5: SURTOS ALIMENTARES, 2006.

**Fonte:** Relatório comunitário de síntese sobre as tendências e origens das zoonoses, dos agentes zoonóticos, resistência antimicrobiana e surtos de origem alimentar na União Européia em 2006, The EFSA Journal, 130.

Dados de XAVIER et al em 2007, em relação a colonização por *S. aureus*, em manipuladores de alimentos das creches da cidade de Natal RN, sugerem que os manipuladores de alimentos são importantes fontes de contaminação por *S. aureus*, sendo necessário adotar boas práticas de manipulação dos alimentos para prevenir contaminação e intoxicação alimentar. A presença de estafilococos coagulase negativa ou positiva foi pesquisada em 82 manipuladores de alimentos de 3 cozinhas industriais diferentes, de onde foram analisados os esfregaços de fossas nasais e das mãos, com isolamento e identificação de 62 cepas coagulase-negativa (75,6%) e 20 cepas coagulase positiva (24,4%). Essa diferença entre o número de isolamentos de ECN e ECP foi estatisticamente significativa.

Na Austrália, no período de 2001 a 2008, foram relatados um total de 55 surtos de toxinfecções por *Staphylococcus aureus* (KIRK; LALOR; RAUPACH, 2011).

Um estudo realizado nos Estados Unidos revelou que 80% dos casos de surtos de doenças veiculadas por alimentos, estavam relacionados ao consumo de alimentos prontos, seja ele em comércio de rua ou restaurantes (BRONER et al., 2010). Já Howes et al em 2006, em um estudo publicado e realizado no mesmo local, sugeriram que as práticas inadequadas dos manipuladores contribuíram para cerca de 97% das DTA em estabelecimentos de refeições coletivas e residências (HOWES et al., 1996).

Mais um caso de intoxicação estafilocócica foi o relatado por MUSTAFA; JAIN; AGRAWAL em 2009, onde após almoço em base militar 94 militares foram acometidos. As amostras de vômito e fezes dos pacientes apresentaram colônias de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva. Os *swabs* coletados dos manipuladores e ambientais (tomada da geladeira, chão, prateleiras da cozinha) mostraram presença de *S.aureus*.

Problemas na manipulação dos alimentos foram identificados também como sendo a principal causa para surtos de doenças veiculadas por alimentos em diversos relatos

(BRONER et al., 2010; GIRAUDON et al., 2009; CALCIATI et al., 2012; FARMER et al., 2012; LITTLE et al., 2012).

A colonização extensiva por *Staphylococcus aureus* vem sendo uma constante preocupação, devido ao aumento do número de indivíduos portadores ou colonizados, visto que o fato de estar colonizado pode causar infecções e resultar em indesejáveis complicações adicionais incluindo necessidade de terapia antimicrobiana (CARVALHO et al, 2005; CAVALCANTI et al, 2005) .

A pesquisa realizada por MELLO em 2009, que avaliou as condições higiênico-sanitárias de 10 Restaurantes Públicos Populares a partir da aplicação de um roteiro de inspeção sanitária, em que foram considerados os aspectos que estavam em conformidade com a legislação sanitária (RDC 216/2004), aponta inadequação das condições higiênico-sanitárias desses estabelecimentos, visto que 10% foram classificados como bom; 50% como regular e 40% como deficiente.

A convivência prolongada em um ambiente restrito, como ocorre em creches, pode ser um importante fator para a disseminação de microrganismos patogênicos, colocando em risco a saúde destas crianças. Rotineiramente estes indivíduos podem carrear microrganismos patogênicos sem apresentarem sintomas, caracterizando o portador assintomático. Porém, estes portadores podem se tornar fontes propagadoras de patógenos, constituindo um importante elo epidemiológico das doenças infecciosas (BRAOIOS et al 2009).

Em novembro de 2009, ocorreu um surto alimentar em uma escola municipal de Belo Horizonte, segundo o Inquérito de Surto Alimentar, 25 crianças apresentaram sinais e sintomas e duas foram internadas, estes foram: cólica, vômito, mal estar e diarreia, e iniciaram três horas após o consumo de uma torta de sardinha preparada e servida na escola (BASTOS, 2008). O Serviço de Fiscalização e Vigilância Sanitária foi até a escola para coletar amostra do alimento suspeito e solicitou que a torta de sardinha fosse armazenada sobre temperatura de congelamento até que o resultado da análise do produto ficasse pronto, uma vez que serviria como contraprova.

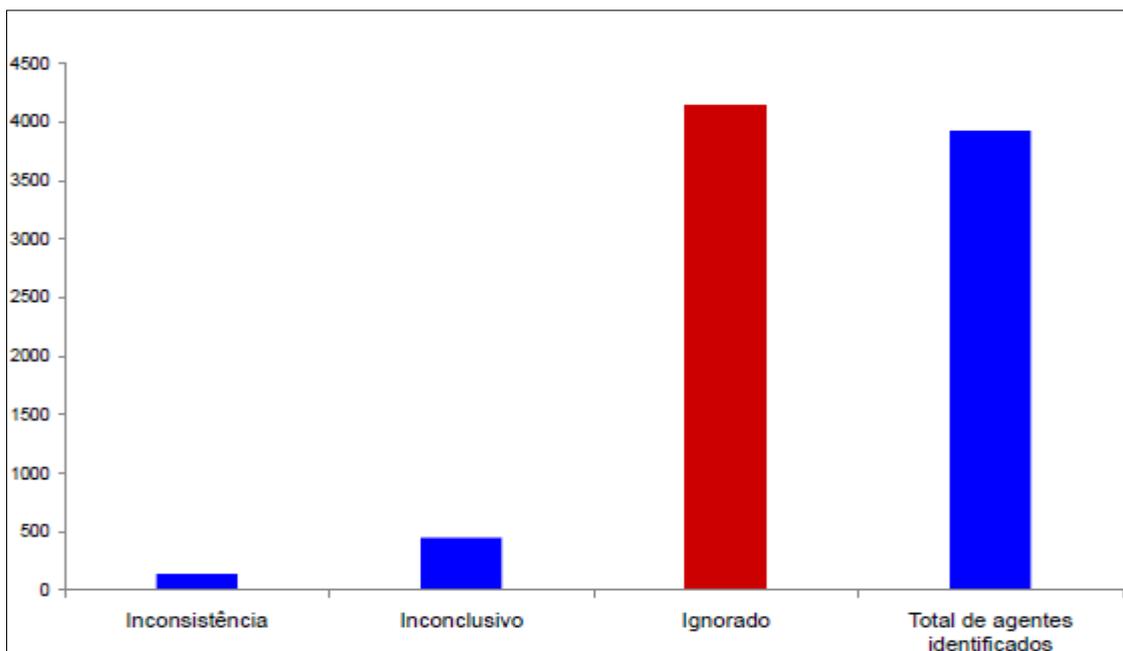
No dia 18 de novembro de 2009, foi apresentado o resultado da análise ao vice-diretor da escola, o resultado apontou que o produto estava impróprio para consumo, uma vez que apresentava *Staphylococcus* spp. coagulase positiva superior a  $2,1 \times 10^7$  UFC/g e

Coliformes a 45°C superior a  $1,1 \times 10^3$  NMP (número mais provável)/g, o produto foi classificado como impróprio para consumo segundo a Resolução nº12/01 da ANVISA (BASTOS, 2008).

Em âmbito geral é grande a necessidade de melhorar a qualidade dos produtos e serviços, assim como capacitar os manipuladores de alimentos para que adquiram hábitos higiênico-sanitários adequados e os apliquem no dia a dia. De acordo com a RDC 216/2004 (ANVISA, 2004), os responsáveis pelas atividades de manipulação dos alimentos devem ser comprovadamente submetidos a curso de capacitação, que deve abordar, no mínimo, assuntos como: contaminantes alimentares, doenças transmitidas por alimentos, manipulação higiênica dos alimentos e boas práticas de manipulação.

A ocorrência de surto de DTA é de notificação compulsória para todo o território nacional, sendo dever de todo cidadão comunicar à autoridade de saúde a ocorrência de surto. A notificação é obrigatória para médicos e profissionais de saúde no exercício da profissão, bem como, para os responsáveis por hospitais, laboratórios, consultórios e demais serviços de saúde públicos e privados.

No entanto, a inobservância da obrigatoriedade de notificação de surtos e a aceitação tanto de parte da população como de profissionais de saúde de que a ocorrência de diarreia é um fato corriqueiro têm contribuído para o insucesso no seu controle e para a instalação de surtos de grandes proporções como demonstra o gráfico 6 (PEREIRA, 2006).



**GRÁFICO 6:** Resultados encontrados quanto ao agente etiológico do surto. Brasil. 2000-2011.

**Fonte:** UHA/CGDT/DEVEP/SVS/MS \* Dados sujeitos a alterações

## 5.7. IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE *Staphylococcus* spp.

No Brasil, para a identificação de *S. aureus*, são recomendados os testes de produção de coagulase, termonuclease, coloração de Gram e catalase permitindo diferenciar o *S. aureus* de *S. intermedius* e *S. hycus*. Alguns autores relacionam testes bioquímicos, como a produção da coagulase, termonuclease, hemólise e fermentação de manitol com a capacidade das linhagens de *Staphylococcus* spp. e *S. aureus* em produzirem enterotoxinas.

### 5.7.1 TESTE DA COAGULASE

O primeiro relatório de coagulase atividade foi por LOEB em 1904. Ele relatou que os estafilococos eram capazes de influenciar no processo de coagulação do sangue. Em seus experimentos, ele inoculou pequenos volumes mistos de caldo de carne em caldo de culturas de bactérias. Depois de incubação, observou que *Staphylococcus aureus* foram capazes de causar a coagulação do sangue. Esta versão do teste de coagulase é agora feita em tubo de ensaio. Nove espécies de bactérias foram testadas *S. aureus* foi o que produziu uma resposta forte e rápida.

O teste de coagulase em tubo ainda é o ensaio mais tradicional utilizado na identificação de ECP, contudo, vários grupos têm empregado a análise molecular de coagulase como um teste preciso, utilizando iniciadores específicos direcionados a fragmentos com diferentes pesos moleculares (VIEIRA-DA-MOTTA; FOLLY; SAKYIAMA, 2001).



**FIGURA 5:** Teste da coagulase Tubo 1 (positivo) e Tubo 2 (negativo).

**Fonte:** Laborclin (2013).

### 5.7.2 TESTE DAS TERMONUCLEASES

Um método alternativo, o teste da termonuclease, detecta a produção de nucleases termoestáveis. Nucleases em geral têm a função de hidrolisar o DNA para produzir oligonucleotídeos e nucleotídeos (CHEESBROUGH, 2000). Em 1972, LACHICA, HOEPRICE E RIEMANN descreveram que *S. aureus* são capazes de produzir nucleases termorresistentes, uma propriedade, até então, não identificada em outros microrganismos. Estudos de MADISON, BASELSKI (1983) sugerem a produção desta enzima como uma importante característica para identificação de *S. aureus*.



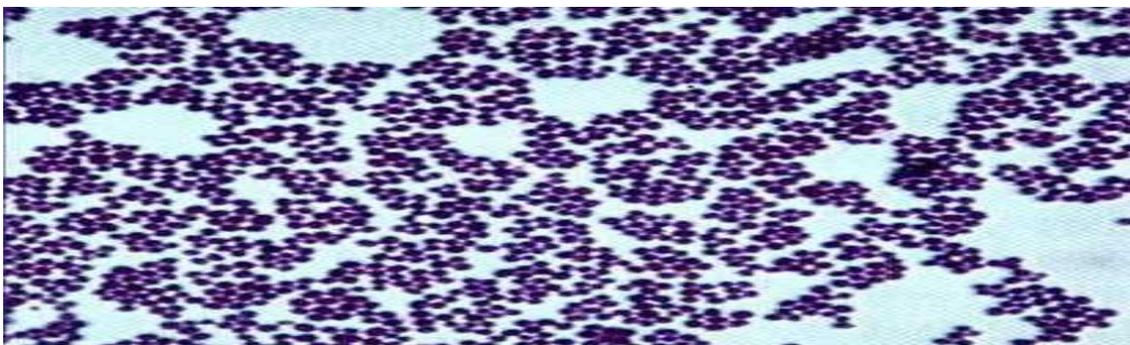
**FIGURA 6:** Teste de Termonuclease: Formação de halo róseo ao redor do inóculo.

**Fonte:** Circular Técnica Embrapa, Sobral, CE

### 5.7.3 COLORACAO DE GRAM

O método tintorial predominante utilizado em bacteriologia é o método de Gram. A coloração recebeu este nome em homenagem a seu descobridor, o médico dinamarquês Hans Cristian Joaquim Gram, ao observar em 1884, bactérias adquirindo cores diferentes quando tratadas com diferentes corantes, permitindo classificá-las em Gram positivas (as quais se coram de roxo) e as Gram negativas (coram-se em vermelho). Os *Staphylococcus*, como bactérias Gram positivas, coram-se em roxo conforme figura 7. (OPLUSTIL, 2004). O método utiliza os corantes cristal-violeta, lugol e safranina, além do álcool etílico (99,5° Gay Lussac) (MURRAY, 2006).

A bacterioscopia, após coloração pelo método de Gram com diagnóstico presuntivo, de triagem, ou até mesmo confirmatório em alguns casos, constitui peça importante e fundamental na erradicação de muitas doenças. É uma técnica simples, rápida e tem capacidade de resolução, permitindo o correto diagnóstico em cerca de 80% dos pacientes em caráter de pronto atendimento. Os custos com investimento e manutenção são consideravelmente baixos diante da eficácia alcançada com os resultados imediatos dos testes (REIMER; CARROL, 2003).



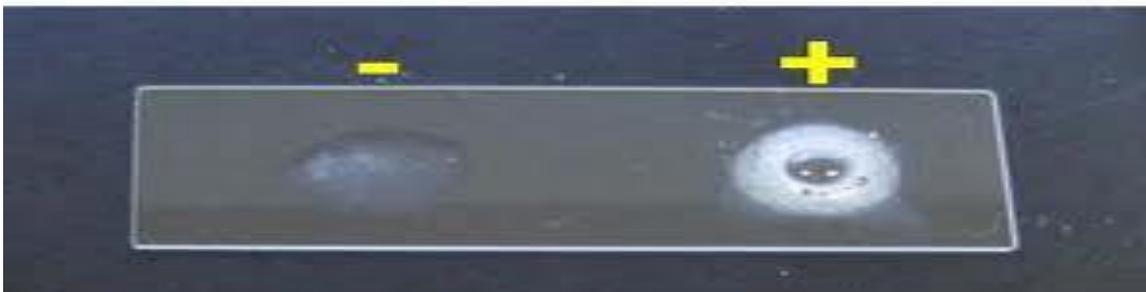
**FIGURA 7:** Microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. Característica morfotintorial pela técnica de coloração de Gram.

**Fonte:** Tortora, Funke e Case (2005).

### 5.7.4 PRODUÇÃO DE CATALASE

Esta enzima atua sobre a água oxigenada (peróxido de hidrogênio 3 a 5%) desdobrando-a em oxigênio e água. A prova é feita colocando uma gota de solução aquosa de peróxido de hidrogênio a 3-5% numa lâmina e, em seguida, com uma alça de

platina, colocar uma porção do crescimento bacteriano sobre a gota. Ou de outra forma, adicionando-se 0,5 ml da mesma solução a uma cultura em meio líquido ou em ágar inclinado (CUNHA et al., 2002). A prova é considerada positiva quando há borbulhamento ou efervescência devido à liberação do oxigênio. A catalase é produzida por muitos microrganismos e é usualmente empregada para diferenciar *Staphylococcus*, que são catalase positivos de *Streptococcus*, catalase negativos, ou os bacilos Gram positivos catalase negativos *Lactobacillus* e *Erysipelothrix* de *Listeria* e a maioria dos *Corynebacterium* catalase positivos (KONEMAN et al., 2008



**FIGURA 8:** Representação da prova da catalase com cultura de *S. aureus*.

Fonte: Santos-Filho (2003).



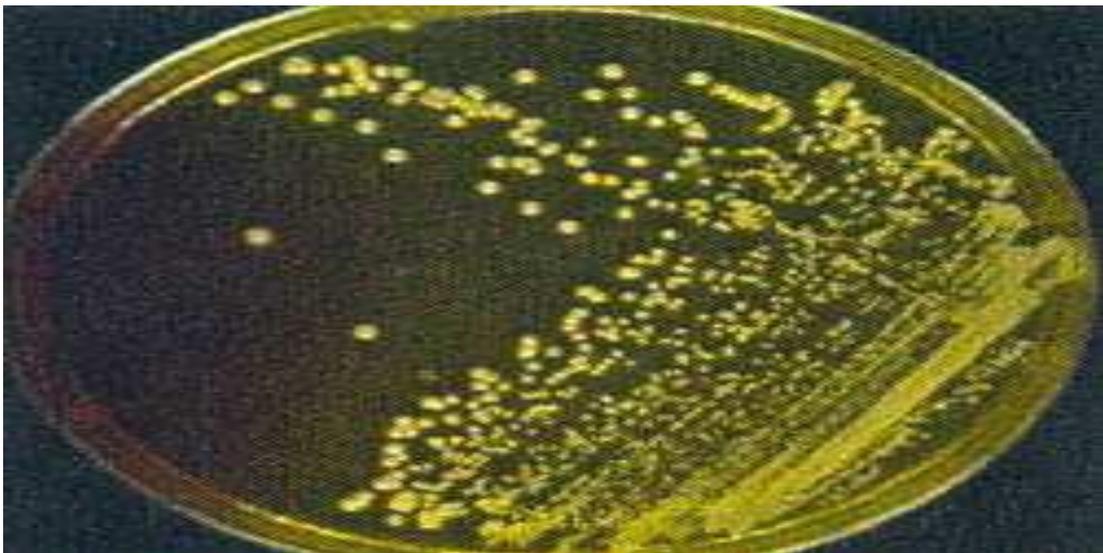
**FIGURA 9.** Representação da prova da catalase em cultura de *S. aureus*.

Fonte: Santos-Filho (2003).

### 5.7.5 CRESCIMENTO EM ÁGAR MANITOL

O ágar hipertônico manitol é um meio de cultura seletivo, no qual crescem apenas bactérias halófilas, ou seja, que suportam grande concentração de sal. Além disso, é um meio diferencial, pois possui indicador de pH vermelho de fenol, que se torna vermelho

em meio básico e amarelo em meio ácido. Dessa forma, é possível identificar espécies fermentadoras de manitol, que liberam no meio, produtos ácidos da fermentação, tornando o meio amarelo, como é o caso de algumas espécies de *Staphylococcus*. Portanto, a degradação do manitol é um indicativo da presença de *Staphylococcus aureus*. Cerca de 20 a 80% da população apresenta *Staphylococcus aureus* em sua microbiota normal da cavidade nasal como mostra a figura 9, o resultado positivo para o teste de manitol (OPLUSTIL, 2004); (ANVISA, 2013).



**FIGURA 10:** Meio agar sais-manitol semeado com *S. aureus*.

**Fonte:** Kent State University (2008).

### 5.7.6 ÁGAR BAIRD-PARKER

Para pesquisa de *Staphylococcus* spp. existem diversos meios de cultura, cada um com suas particularidades, desenvolvidos por diversos pesquisadores.

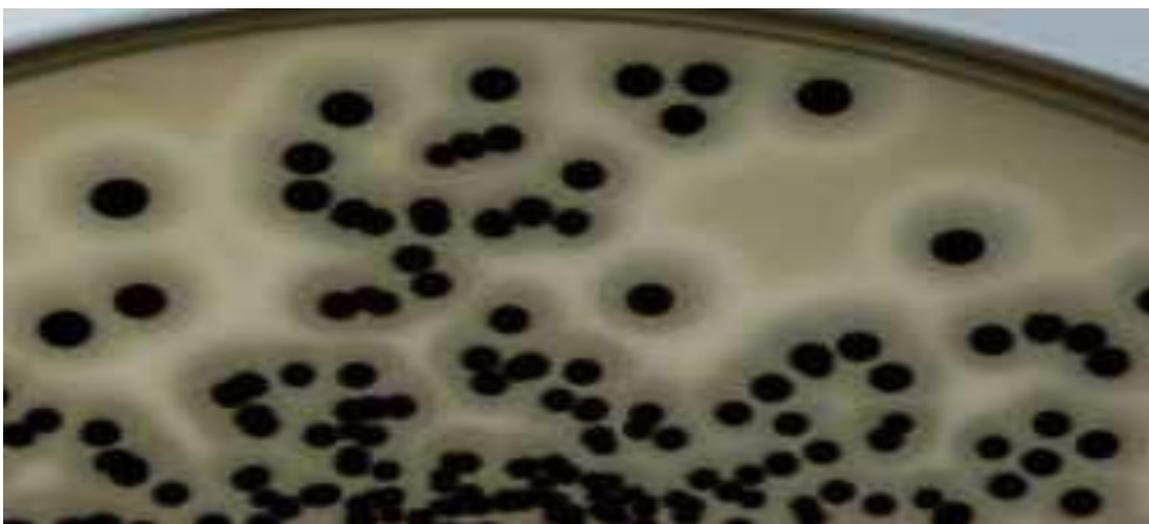
Inicialmente, o isolamento do micro-organismo a partir de alimentos incriminados em surtos de intoxicação alimentar era a única prova de seu envolvimento. Metodologias específicas também são utilizadas para a identificação das enterotoxinas produzidas pelos micro-organismos (CARMO et al., 2003). Entretanto, a metodologia mais utilizada pelos laboratórios emprega o ágar Baird-Parker, meio desenvolvido por um pesquisador de mesmo nome e que permite a recuperação de células injuriadas. Ao longo do tempo, foram desenvolvidos outros métodos que tomam como base o ágar

Baird-Parker, visando melhorar a sensibilidade e especificidade deste, bem como reduzir o tempo requerido para análise.

O ágar Baird-Parker foi desenvolvido pelo pesquisador Baird-Parker, a partir do meio de ZEBOVITZ, EVANS E NIVEN JR. em 1955, composto basicamente por telurito e glicina.

De acordo com a Instrução Normativa (IN) 62 (BRASIL, 2003), a enumeração de *Staphylococcus* spp. deve ser feita em Agar Baird-Parker, com realização subsequente da prova de coagulase e de testes complementares. Utilizando-se esta metodologia, são necessários quatro dias de análise para obtenção dos resultados, visto que a amostra permanece no Baird-Parker por dois dias, um dia no caldo BHI e outro no teste da coagulase.

A composição do meio mencionada por AIELLO; MAYS (2001) consiste de telurito de potássio e o cloreto de lítio que atuam como agentes seletivos, inibindo o crescimento da microbiota acompanhante, enquanto o piruvato e a glicina atuam estimulando o crescimento de *S. aureus*. A gema de ovo e o piruvato são responsáveis pela regeneração de células injuriadas e a redução do telurito pelo microrganismo confere às colônias características uma coloração negra, brilhante, rodeada por uma zona clara, resultante da hidrólise da lipovitelina, a proteína da gema de ovo.



**FIGURA 11:** Colônias *Staphylococcus* spp. em ágar Baird-Parker

**Fonte:** [http://www.revitec.com.br/meios\\_de\\_cultura.htm](http://www.revitec.com.br/meios_de_cultura.htm)

### 5.7.7 MEIO DE ENRIQUECIMENTO EM CALDO BHI

O caldo de infusão cérebro-coração (BHI) é um meio enriquecido dos nutrientes de cérebro e coração, além da peptona e glicose. As peptonas e as infusões são fontes de nitrogênio orgânico, carbono, enxofre, vitaminas e substâncias pequenas. A glicose é a fonte de hidratos de carbono que os microrganismos utilizam por ação fermentadora. O meio é tamponado através da utilização do fosfato dissódico. A infusão de cérebro-coração provou ser eficaz na cultura de uma grande variedade de microrganismos, incluindo diversos tipos de agente patogênicos. O caldo BHI é atualmente recomendado como meio universal para a bacteriologia aeróbia e para a recuperação primária de alguns fungos (BECTON, 2003).

As colônias selecionadas nas placas de Agar BP são transferidas para caldo BHI. Os tubos ficam incubados em estufa a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas para posterior realização da prova de coagulase (ANVISA, 2013).

### 5.7.8 METODO DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL

O método de Número Mais Provável (NMP) de *S. aureus* também é reconhecido como método oficial pela IN 62, o qual é aplicado em amostras de alimentos nas quais os limites de aceitação determinados pela legislação encontram-se abaixo de 100 UFC/g ou mL. Este método baseia-se na inoculação das diluições desejadas das amostras sob teste em caldo telurito manitol glicina segundo Giolitti e Cantoni (caldo GC), ou caldo soja triptona com sal 10%- piruvato de sódio 1% (TSB-NP), com posterior confirmação em ágar Baird Parker (ANVISA, 2013).

Métodos genéticos para a detecção e identificação de micro-organismos e suas enterotoxinas ganham cada vez mais importância na higiene alimentar. Quando comparados com técnicas clássicas de cultura, os métodos moleculares são mais rápidos, sensíveis e muitas vezes mais práticos, proporcionando melhores resultados em termos de 24 reprodutibilidade e discriminação de espécies (ATANASSOVA; MEINDL; RING, 2001; BONAÏTI, PARAYRE e IRLINGER, 2006).

### 5.7.9 MÉTODO ELISA

O ELISA vem sendo um método empregado nas pesquisas de detecção de toxinas de *S. aureus*, por ser um método rápido, sensível e que permite analisar um grande volume de amostras simultaneamente. Em contradição, existem limitações ao uso, como a necessidade de equipamentos especiais para a visualização dos resultados, relativamente caro para a análise de um pequeno número de amostras e além de alguns de seus componentes poderem reagir inapropriadamente de acordo com a composição da amostra utilizada (ZOCHE, 2005).

### 5.7.10 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

A introdução da PCR (reação em cadeia da polimerase) em diagnóstico microbiano veio potencializar métodos de análise baseados em seqüências de ácidos nucléicos, estabelecendo uma alternativa viável aos métodos tradicionais de cultura e testes imunológicos utilizados para a detecção e caracterização de *S. aureus* enterotoxigênicos. Embora esta técnica apresente algumas desvantagens, tais como equipamentos e insumos de alto custo, necessidade de mão de obra especializada e a presença de inibidores da reação oriundos de alimentos, apresenta, por outro lado, diversas vantagens em relação aos métodos convencionais, como maior poder de tipificação e discriminação, maior rapidez, bom limite de detecção, maior seletividade, especificidade e potencial para automação, para sua adequada execução, é necessário um DNA de qualidade, sem a presença de possíveis agentes que possam interferir na reação (ERTAS et al., 2010; PELISSER et al., 2009).

Exemplo da eficácia da PCR pode ser demonstrada no trabalho de Zoche et al 2005, eles objetivavam desenvolver duas PCR multiplex (PCRm) para a detecção dos genes das enterotoxinas estafilocócicas (EE) A (sea), B (seb), C (sec) e D (sed) em *Staphylococcus aureus* isolados de alimentos de origem animal, bem como relacionar a presença desses genes com a origem do microrganismo. As duas PCRm foram padronizadas utilizando-se cepas de *S. aureus* cuja capacidade toxigênica foi previamente confirmada através de ELISA indireto, com o uso de toxinas e soros antitoxinas de referência. Em seis (12%) dos 50 isolados de *S. aureus* foi possível detectar um ou mais genes de EE, sendo que um isolado albergava os genes sea e seb,

três isolados albergavam *seb* e dois albergavam *sed*. As duas PCRm desenvolvidas foram eficientes na detecção dos genes de EEA, EEB, EEC e EED de *Staphylococcus aureus* e permitiram verificar que a prevalência de *S. aureus* portadores dos genes *sea*, *seb*, *sec* e *sed* era baixa em alimentos de origem animal.

## 6. CONCLUSÃO

Analisando os relatos epidemiológicos neste estudo, percebe-se que grande parte dos surtos alimentares estão relacionados a erros de manipulação e estocagem dos alimentos, decorrentes do despreparo dos manipuladores, juntamente com o descuido da permanência dos alimentos em temperatura inviáveis. Com base nestes relatos torna-se necessário a importância de promover programas que qualifiquem e disseminem as boas práticas de manipulação, estocagem e preparação dos alimentos, e que estas práticas atinjam o ambiente domiciliar que também constitui um dos grandes focos de surtos. A divulgação dos resultados encontrados na investigação dos surtos, bem como a realização de levantamentos epidemiológicos auxiliarão na divulgação das medidas de controle e prevenção resultando na promoção de saúde da população.

*Staphylococcus* coagulase positiva, dentre os *S. aureus*, são os principais responsáveis pelos inúmeros relatos de surtos, como mostra o gráfico 4, sendo menor somente da *Salmonella* sp. No entanto, através de estudos recentes, constatou-se a presença de *Staphylococcus* coagulase negativa envolvidos em número considerável de surtos. Nota-se no gráfico 1, o quão envolvida está a Região Sudeste em relatos de surtos, estes confirmados pelo gráfico 3, ocorrendo efetivamente em residências.

O Sistema APPCC ligado a dados epidemiológicos desde a vigilância até a avaliação do risco de DTA, deve identificar as medidas preventivas e de controle em seus processos operacionais que são críticos para a segurança do alimento e assegurar que estes procedimentos estejam corretamente implementados, monitorados e periodicamente revistos.

As várias técnicas e ferramentas descritas para isolamento e identificação dos *Staphylococcus* spp., trazem vantagens e desvantagens. Os métodos biológicos apesar de serem técnicas empregadas nas primeiras investigações de EE, ainda são muito utilizados, entretanto são inutilizáveis quando se deseja determinar a classe da toxina

em questão e na detecção de enterotoxinas em um grande número de amostras. Na avaliação da melhor escola para a detecção de EE os métodos imunoquímicos como Elisa ou PCR, além de serem mais modernos, são mais sensíveis, embora necessitem de certos equipamentos e de padrões para resultados confiáveis.

Constitui um dos grandes desafios das equipes de vigilância de surtos de origem alimentar a criação de medidas padronizadas de relatos. Não menos importante, os centros de pesquisa e as Universidades têm papel fundamental e vital para a formulação de hipóteses e busca de respostas necessárias aos serviços de vigilância e saúde pública. Isto acarretaria em relatos epidemiológicos mais confiáveis e como consequência, as ações preventivas e de monitoramento impedirão a ocorrência de novos surtos e sendo mais eficazes.

Vários pesquisadores e especialistas da área de saúde argumentam que uma cadeia multidimensional de fatores pessoais, sociais e ambientais influenciam as práticas dos manipuladores de alimentos e que estes fatores devem ser abordados nos programas de formação dos manipuladores. Melhorias nos métodos de processamento dos alimentos e a conscientização a respeito da segurança alimentar de todos os envolvidos na cadeia de produção destes com certeza reduziriam a incidência de surtos, pois muitas práticas inadequadas que ocorrem durante o processamento permitem as contaminações, a sobrevivência e multiplicação de microrganismos patogênicos nos alimentos.

## REFERÊNCIAS

ABERC (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVAS). Manual de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividade. São Paulo, 2003.

AMSON, G., Y.; HARACEMIV, S., M., C.; MASSON, M., L. Levantamentos de dados epidemiológicos Relativos à ocorrência/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) no Estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Revista de Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.30, n.6, p.1139-1145, nov/dez, 2006.

ARCHER, G.L. Alteration of cutaneous staphylococcal flora as a consequence of antimicrobial prophylaxis. **Rev. Infect. Dis.**, [S.l.]v. 13, p. S805-S809, 1991.

ARCHER, G.L.; CLIMO, M.W. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci. **Antimicrob. Agents Chemother.**, [S.l.] v. 38, n. 10, p. 2231-2237, 1994.

AIELLO, S.E.; MAYS, A. (Eds.) **Manual Merck de veterinária**. 8. ed. São Paulo: Roca.p.1861.2001.

ANDRADE, E.C. et al., Parasitoses intestinais: Uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêutico. **Revista Atenção Primária a Saúde**, Juiz de Fora, v. 13, p. 231-240, 2010.

ANDRADE, A.P.C. et al. **Perfil de *Staphylococcus coagulase positiva e negativa* contaminantes de queijo de coalho** / – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

ATANASSOVA, V.; MEINDL, A.; RING, C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham – a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. **International Journal of Food Microbiology**, v.68, p.105-113, 2001.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.]v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.

BAIRD-PARKER, A. C. The Staphylococci: an introduction. **Journal of Appl. Bacteriol.** [S.l.] *Symposium Supplement*, 1S-8S.1990.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.]v. 61, p.1-10, 2000.

BANIA, J. et al. The profiles of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* from nasal carriers. **Lett. Appl. Microbiol.** [S.l.]n.42, p.315-320, 2006.

BASTOS, M. S. R., et al. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de polpa de frutas congelada. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.94, p.55-57. 2002.

BASTOS, C.C.B. **Condições higiênico-sanitárias no preparo de refeições em creches comunitárias de Belo Horizonte, Minas Gerais**, 2008. 112f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos. Disponível em: <[http://dspace.lcc.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/MBSA7NFNC3/1/tese\\_cd\\_\\_claudilene.pdf](http://dspace.lcc.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/MBSA7NFNC3/1/tese_cd__claudilene.pdf)>. Acesso em: 15 de Maio 2013.

BECTON et al. Section III Culture Medium and Ingredients Manual of Microbiological Culture Media. p.151-153, Maryland 2003.

BENNETT, R. W. Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology. **Journal of Food Protection**, [S.l.] v. 68, p. 1264-1270, 2005.

BERGDOLL, M. S. et al. New Staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic-shock-syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. **Lancet**, [S.l.] v. 2, p. 1017–1021, 1981.

BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker. p.463-523.1989.

BERGODOL, M.S. Analytical methods for *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.] v.10, p. 91-100, 1990.

BERNADI, A.C.A.; PIZZOLITTO, E.L.; PIZZOLITTO, ANTA.C. Detecção da produção de *slime* por estafilococos coagulase-negativa isolados de cateter venoso central. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**. Araraquara, ano 1, v. 28, p.57-66. 23 ago. 2007.

BLYTH, M.; ESTELA, C.; YOUNG, A. E. R. Severe staphylococcal scalded skin syndrome in children. **Burns**, Oxford, v. 34, p. 98-103, 2007.

BONAÏTI, C., PARAYRE, S., IRLINGER, F. Novel extraction strategy of ribosomal RNA and genomic DNA from cheese for PCR-based investigations. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 107, p. 171– 179, 2006.

BORGES, M.F. et al. Perfil de contaminação por staphylococcus e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Revista ciência rural**. Santa Maria, 28 nov. 2007.

BRAIOS, A. et al. **Crianças portadoras assintomáticas de patógenos: Portadores assintomáticos de *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus* entre crianças atendidas em uma creche**. Colloquium vitae,: Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. Presidente Prudente - SP, v. 1, 25 jan. 2009.

**BRASIL**. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12-01rda.htm>>. Acesso em: 7/08/ 2013.

**BRASIL**. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Investigação de casos suspeitos de botulismo associado ao consumo de carne suína em lata com preparo

caseiro. Mato grosso, 2002. Boletim eletrônico epidemiológico, ano 2,n. 4, p. 3-4, 2002.

**BRASIL.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 5 :Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa,v. 9,p.95 2013.

**BRASIL.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Instrução Normativa n. 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil.* Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.

**BRASIL.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Estabelece procedimentos de boas práticas para serviços de alimentação a fim de garantir as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 set. 2004.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. Boletim eletrônico epidemiológico, ano 05, n. 6, dezembro 2005.

**BRASIL,** Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Produtos Saneantes Domissanitários. Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988. Normas para Registro dos Saneantes Domissanitários com Ação Antimicrobiana.

**BRASIL,** Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os Procedimentos e as Responsabilidades relativos ao Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de Potabilidade.

**BRASIL.** Presidência da República. Casa Civil. Lei no 11.346, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN. Disponível em:<<http://www.planalto.gov.br/sedh/conanda>. Acesso em: 04/09/2013.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000-2011, 2012.

**BRASIL.** Decreto-Lei nº 33/87 de 17 de Janeiro de 1987 Aprova o Regulamento do Exercício da Indústria de Panificação. Revoga o Decreto-Lei n.º 42477, de 29 de Agosto de 1959.

BRONER, S. et al. Sociodemographic inequalities and outbreaks of foodborne diseases: An ecologic study. **Food Control** [online], [S.l.] v.21, p. 947-951, 2010.

BRYAN, F. L.. **Hazard analysis critical control point evaluations.** Geneva: World Health Organization, 1998.

CHANG, M.R. et al. Surveillance of pediatric infections in a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 7, n. 2, p. 149-160, 2003.

CAKIROGLU & UCAR. **Percepção dos empregados da higiene na indústria da restauração, em Ancara (Turquia)**. Elsevier: Controle de Alimentos, v.19, p.9-15,2008.

CALCIATI, E. et al. A *Campylobacter* outbreak in a Barcelona school. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica** [online], [S.l.] v. 30, n. 5, p. 243-245, 2012.

CAMPDEPADRÓS, M. et al. Effectiveness of two sanitation procedures for decreasing the microbial contamination levels (including *Listeria monocytogenes*) on food contact and non-food contact surfaces in a dessert-processing factory. **Food Control**, [S.l.] v. 23, n. 1, p. 26-31, 2012.

CHEESBROUGH, M. **District laboratory practice in tropical countries** - Part 2. Cambridge: Cambridge University, 2000.

CAPUANO, D.M. et al., Busca ativa de teníase e de outras enteroparasitoses em manipuladores de alimentos no município de Ribeirão Preto, SP, **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.61, n.1, p.33 - 38, jan. / mar. 2002.

CARMO, L.,S. **Produção e purificação de enterotoxinas estafilocócica a, b, c, e d**. dissertação (mestrado em microbiologia), instituto de ciências biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

CARMO, L.S. **Produção e purificação em grande escala das enterotoxinas estafilocócicas SEA, SEB, SEC2, SED e TSST-1 para uso em ensaios imunoenzimáticos**. 2001. 254f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARMO, L. S. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, [S.l.] v. 19, p. 9-14, 2002.

CARMO, L. S. et al. An outbreak of staphylococcal food poisoning in the municipality of Passos, MG, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S.l.]v. 46, n. 4, p. 581-586, 2003.

CARMO, L. S. et al. A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. **Foodborne Pathogens and Disease**, [S.l.]v. 1, n. 4, p. 241-246, 2004.

CARMO, G.M.I.; OLIVEIRA, A.A.; DIMECH, C.P. *et al.* **Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004**. Boletim Eletrônico Epidemiológico, v. 5, n. 6, p. 1 – 7, 2005.

CARNEIRO, L.C. Enteroparasitoses em manipuladores de alimentos de escolas públicas em Morrinhos - GO. **Revista Vita Et Sanitas**. Trindade/GO, v. 1, n.1, p. 49 - 57, jan. / jun. 2007.

CARVALHO, C et al. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. **Jornal. Pediatria**, Brasil, v. 81, n. 1, p. 29-33, 2005.

CARVALHO FILHO, R.A.; TAKIMOTO, C.; OLIVEIRA, H.C. **Surto de intoxicação Stafilocócica ocorrido no Município de Guarulhos. Prefeitura Municipal de Guarulhos.** Divisão Técnica de Higiene Sanitária DTVS- PMG, Guarulhos, 2006.

CAVALCANTI, S. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a university hospital. **Braz J Infect Dis**, Brazil, v. 9, n. 1, p. 56-63, 2005.

CAVALLI, S.B.; SALAY, E. Segurança do alimento e recursos humanos: estudo exploratório em restaurantes comerciais dos municípios de Campinas, SP e Porto Alegre, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, p. 29-35, 2007.

CHAPAVAL, L.. Cultura, Crescimento e Identificação de Bactérias do Gênero *Staphylococcus aureus* em Leite de Cabra. **Revista Circular Técnica Embrapa. Méd. Vet.,D.Sc.**;Sobral/CE [www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/005135001245.ct41.pdf](http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/005135001245.ct41.pdf)<acesso em: 24/07/2013>

CLIVER, D.O. **Foodborne disease handbook: diseases caused by bacteria.** New York: Marcel Dekker. 613p.1994.

CONTRERAS, C. Processamento de carne: e agora? **Revista Suinocultura Industrial**, n. 138, Ano 21, Abr/ Mai, 1999.

CONTRERAS, C.; BROMBERG, R., et al. **Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados.** Livraria Varela, 2003.

CORBIÈRE, M.B. et al. Monitoring of staphylococcal starters in two French processing plants manufacturing dry fermented sausages. **Journal Appl Microbiol**, England, v. 102. P. 238-244, 2007.

CORDEIRO, D.N.G. **Significância clínica da presença de *Staphylococcus coagulase negative* isolados de recém-nascidos de uma unidade de terapia intensiva neonatal em Brasília – DF.** Brasília: Universidade Federal de Brasília, 2007, p.142. Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina – Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

CORLETT Jr., Donald A.; PIERSON, Merle. HACCP Guidelines. 1993. **Food Code.**(Adaptado do "National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, Hazards Analysis and Critical Control Point System", adotado em 20 de março de 1992 e do "Overview of Biological, Chemical and Physical Hazards" em "HACCP Principles and Applications", 1992. p 8-28. Chapman and Hall, New York.).([http://www.agen.ufl.edu/~foodsaf/fs\\_018.html](http://www.agen.ufl.edu/~foodsaf/fs_018.html)).

CUNHA, M.L.R.S. et al. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates. **J. Pediatr.** Brazil, v. 78, n. 8, p. 279-288, 2002.

DARINI, B.M.O.S.; COSTA, A.L. **Colonização por *staphylococcus aureus* em portadores são relacionados de uma creche de hospital universitário.** Monografia (Graduação em ENFERMAGEM) - USP. Ribeirão Preto.2002.

DANIELS, N. A. et al. Foodborne disease outbreaks in United States schools. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.l.] v. 21, n. 7, p. 623-628, 2002.

DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Review**, [S.l.]v. 13, n. 1, p. 16-34, 2000.

DESTRO, M. T. Sistema HACCP e a segurança dos alimentos. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, nº 255, p. 24-28,1998.

ERTAS, N. et al. Detection of *staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. **Int J Food Microbol**, Netherlands, v. 12, p. 74-77, 2010.

FARMER, S.; KEENAN, A.; VIVANCOS, R. Food-borne Campylobacter outbreak in Liverpool associated with cross-contamination from chicken liver parfait: Implications for investigation of similar outbreaks. **Public Health** [online], [S.l.] v. 26, p. 657-659, 2012.

FERNANDES, S. H. et al. **Surtos de toxiiinfecção alimentar** – Estudo de Caso. In: V Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos. Águas de Lindóia - SP. Anais do Congresso, p.72, 1998.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. 2.ed. SãoPaulo: Atheneu, 184p, 2002.

FUEYO, J. M.; MENDOZA, M. C.; MARTÍN, M. C. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. **Microbes and Infection**, Paris, v.7, p.187-194, 2005.

GERMANO, M.I.S. et al. Manipuladores de alimentos: capacitar? È preciso. Regulamentar? Será preciso? **Revista de Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, 2000.

GILL S. R et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. **J. Bacteriol.**, [S.l.] v. 187, p. 2426-2438, Abr. 2005.

GIRAUDON, I. et al . Large outbreak of salmonella phage type 1 infection with high infection rate and severe illness associated with fast food premises. **Public Health** [online], [S.l.] v. 123, p. 444-447, 2009.

GOLDMANN,D.A. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* and Group-A streptococci. In: Bennett, J.V., Brachman, P.S., **Hospital infections**, Brown Little, Boston, p.767-87, 1992.

GOES, J.A.W. et al. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Revista de Higiene Alimentar, São Paulo**, v.15, n.82.p.20-22.2001.

GONZALEZ, C. D. et al. Knowledge and risk perception of food handlers about food hygiene in commercial restaurants. **Nutrire: rev.Soc. Bras. Alim. Nutr. = J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 34, n. 3, p. 45-56, dez. 2009.

[HTTP://www.revitec.com.br/meios\\_de\\_cultura.htm](http://www.revitec.com.br/meios_de_cultura.htm)<acesso em: 15/07/2013

HAUSCHILD, T. et al. "***Staphylococcus stepanovicii* nov, um romance novobiocina resistentes espécies estafilocócicas oxidase-positivos isolados de pequenos mamíferos silvestres...**" *Sistemática e Microbiologia Aplicada* 33 (4): 183-187. 2012.

HEILMANN C.; PETERS, G. **Biology and pathogenicity of *S. epidermidis***. In: Fischetti VA; Novick RP; Ferreti JJ; Portnoy DA; Rood JI *Gram-positive pathogens*. Washington, D.C.: ASM Press. p.442-9.2000.

HENNEKINNE, J. A.; DE BUYSER, M. L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and it food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 4, p. 815-836, 2012.

HEYMANN, D. L. **Control of Communicable Diseases Manual**. 18th ed. Washington: American Public Health Association, 2004.

HOWES, M. et al. Food handler certification by home study: Measuring changes in knowledge and behavior. **Dairy Food and Environmental Sanitation**, [S.l.] v.16: 737-744, 1996.

HUSS, H. H. **Assurance of seafood quality**. FAO Fisheries Technical Paper. Rome, FAO, n. 334, p.169.1993.

JARRAUD, S. et al. *egc*, highly prevalent operon of enterotoxina gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Immunology**, [S.l.] v.166, p.669-677, 2001. Nota de correção em: **Journal of Immunology**, v.166, p.4260, 2001. Disponível em: <[http:// www.jimmunol.org/cgi/content/full/166/1/669](http://www.jimmunol.org/cgi/content/full/166/1/669)>. Acesso em: 02 maio 2013.

JAY, J.M. **Microbiologia dos Alimentos**. Porto Alegre. Artmed. p.711, 2005.

JÚNIOR, E.M.M. et al., Como andam as mãos dos manipuladores de alimentos das unidades de alimentação e nutrição do campus I da UFPB ? In: **Congresso Brasileiro de Extensão Universitária**, 1. 2002, João Pessoa. *Anais ...* João Pessoa: UFPB. p. 1-7. 2001.

JÚNIOR, E.A.S. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 6.ed. São Paulo: Livraria Varela, p. 92-105 , 2007.

KENT STATE UNIVERSITY. **Microbiology: Learning Center**. Disponível em: <[dept.kent.edu/microbiology/images/manitol2.jpg](http://dept.kent.edu/microbiology/images/manitol2.jpg)>. Acesso: 10/09/2013.

KIRK, M.; LALOR, K.; RAUPACH, J. "**Alimentos e surtos de doenças transmitidas pela água australianos cuidados de longa duração Instalações, 2001-2008**", *Pathgens e Doenças Transmitidas por Alimentos*, v. 8, n. 1, pp 133-139.2011.

KOCHANSKI, S. et al. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Revista alimentos e nutrição**. Araraquara, ano 20, v. 4, 25 jan. 2009.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico, Texto e Atlas Colorido**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 6a ed. 2008.

KLOOS, WE.; JORGENSEN, JH. **Staphylococci in Lennette EH, Ballows A, Hausler WJ & Shadony**. Manual of Clinical Microbiology. 4ª edição. American Society for Microbiology, Washington DC.1985.

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. Update on clinical significance of coagulase negative staphylococci. **Clin. Microbiol. Rev.**, [S.l.]v. 7, n., p. 117-40, 1994.

KLOSS, W. E.; LAMBE, J. R. **Staphylococcus**. In: BALOWS, A. Manual of Clinical Microbiology. 5. ed. Washington: American Society for Microbiology. p.1500.1991.

KONEMAN, EW, et al. **Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e Microrganismos Relacionados**, p.551-588. In Koneman, EW, Allen, SD, Janda, WM, Schreckenberger, PC, Winn Jr., WC. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5º Edição. Medsi, Rio de Janeiro. P. 522-579, 2001.

LACHICA, R. V. F.; HOEPRICE, P. D.; RIEMANN, H. P. Tolerance of staphylococcal thermonuclease to stress. **Applied Microbiology**, Washington, v. 23, p. 994–997, 1972.

LADHANI, S., et al; 2001. **Development and evaluation of detection system for staphylococcal exfoliative toxin**. A responsible for scalded-skin syndrome. **J. Clin. Microbiol.** [S.l.] n.39, p. 2050-2054, 2001.

LAGAGGIO, V.R.A.; FLORES, M.L.; SEGABINAZI, S.D. Avaliação microbiológica da superfície das mãos dos funcionários do restaurante universitário da Universidade Federal de Santa Maria, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 100, p. 107-110, 2002.

LEROY, S. et AL. Biodiversity of indigenous staphylococci of naturally fermented dry sausages and manufacturing environments of small-scale processing units. **Food Microbiol**, Netherland, v.27, p. 294-301,2010.

LITTLE, C.L.; AMAR, C.F.L.; AWOFISAYO, A.; GRANT, K.A. Hospital-acquired listeriosis associated with sandwiches in the UK: a cause for concern. **Journal of Hospital Infection** [online], [S.l.]v. 82, p. 13-18, 2012.

LOEB, L. The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. **J. Med. Res.** [S.l.]v.10, 407.1904.

MACHADO, J. R. et al. Avaliação microbiológica das mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos da unidade de alimentação e nutrição de um hospital universitário. **Revista FMRP**. Ribeirao Preto, 11 set. 2009.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: ArtMed. 1160 p. 1160. 2010.

MADISON, B. M.; BASELSKI, V. S. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by thermonuclease testing. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 18, p. 722-724, 1983.

MARTINS, S.C.S. et al. **Perfil da resistência de cepas de Staphylococcus coagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos.** Boletim CEPPA, v. 27, n. 1, p. 43-52, 2009.

MCDEVITT, D.; VAUDAUX, P.; FOSTER, T. J. Genetic evidence that bound coagulase of *Staphylococcus aureus* is not clumping factor. **Infection and Immunity**, [S.l.]v. 60, n. 4, p. 1514-1523, 1992.

MAGALHÃES, V.M.; CARVALHO, A.G.; FREITAS, F.I.S. Inquérito parasitológico em manipuladores de alimentos em João Pessoa, PB, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. Goiânia, v. 39 (4): 335-342. out.-dez. 2010.

MARTINEZ, T. C. N. et al. Caracterização de *Staphylococcus* sp. isolados de processos infecciosos de caninos utilizando plasmas de diferentes espécies animais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 1, n. 2, p. 48-53, 2001.

MELLO, A. G. **Condições higiênico-sanitárias na produção de refeições em restaurantes públicos populares localizados no Estado do Rio de Janeiro.** 2009. 130 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

MIMS, C. A. et al. **Microbiologia Médica.** 2. ed., São Paulo: Manole Ltda, 1999.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE.** Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 326, de 30 de julho de 1997. Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Indústrias de Alimentos. Brasília, 1997.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE.** Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 329/75, de 28 de Maio Estabelece as regras de normalização das características dos produtos alimentares Brasília, 1975.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE.** Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n.º 425/98. DR 170/98. Fixa as características a que devem obedecer aos diferentes tipos de pão e de produtos afins do pão. Brasília, 1998.

**MINISTÉRIO DA SAÚDE.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº. 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Brasília, 2002.

MIRANDA, L. K.; DAMASCENO, K. S. F. S. C; CARDONHA, Â. M. S. Panos de prato e mãos de manipuladores: avaliação das condições higiênico-sanitárias. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, nº 102/103, p. 51-58, nov/dez/2002.

MOLINARO, E.M. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde:** volume 1 / Organização de Etelcia Moraes Molinaro, Luzia Fátima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. - Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009.

MURRAY, PR. et al. **Microbiologia Médica.** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.992, 2006.

MUSTAFA, M.M.S.; JAIN, L.C.S.; AGRAWAL, C.V.K. **Food Poisoning Outbreak in a Military Establishment. MJAFI** [online], [S.l.]v. 65, n. 3, p. 240-243, 2009.

NESTI, M.M.M; GOLDBAUM, M. As creches e pré-escolas e as doenças transmissíveis. **J. Pediatria**, v.83, n.4, p.299-312, 2007. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-7557\\_2007\\_0005\\_00004\\_&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-7557_2007_0005_00004_&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 03 de Maio de 2013.

NEWSOME, R.L. Staphylococcus aureus. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 194 – 195, 1988.

NOLLAI, A.C.; CANTOS, G.A. Prevalência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** vol.38 no.6 Uberaba Nov./Dec. 2005

NUNES, A.P.F. **Staphylococcus coagulase-negativos: diferenciação em espécies, diversidade genômica de espécies resistentes à oxacilina e determinação da susceptibilidade a glicopeptídeos**. Rio de Janeiro, RJ. Apresentada como dissertação de mestrado, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000.

OLIVEIRA, A. M. et al. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.17, n.114/115, p.12-19. 2003.

OLIVEIRA, A.C.; PAULA, A.O. Descolonização de portadores de staphylococcus aureus: indicações, vantagens e limitações. **Revista UFMG**. Florianópolis, 21 jun. 2012.

OPLUSTIL, C. P. et al. **Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, p.340, 2004.

PALU, A.P.; et al. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas em restaurantes self-sevice privados, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.16(100):67-74, 2002.

PELISSER, M.R. et al. Occurrence of *staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of Classic enterotoxin genes in cheese and meat products. **Braz J Microbiol**, Brazil, v. 40, p. 145-148, 2009.

PLACE, R.B. ET AL. Staphylococcus equorum subsp. Linens, subsp.nov., a starter culture component for surface ripened semihard cheeses. **Syst Appl Microbiol**, Germany, v.26, p.30-37, 2003.

PEREIRA, M.A. et al. Estafilococos: Até onde sua importância em alimentos? **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.14, n.68, p. 32-39, 2000.

PEREIRA, C.H.C. **Avaliação das unidades de alimentação e nutrição da cidade de Franca visando a promoção de saúde**. Dissertação (Mestrado Promoção de Saúde). Franca: Universidade de Franca, 2006.

RADDI, M.S.G.; LEITE, C.Q.F.; MENDONÇA, C.P. Staphylococcus aureus: portadores entre manipuladores de alimentos\*. **Revista de saúde pública de São Paulo**. São Paulo, 02 fev. 1988.

REIS, R.M.; CARNEIRO, L.C. Indicador Higiênico-parasitário em manipuladores de alimentos em Morrinhos, GO. **Revista Estudos de Biologia**. Curitiba, v. 29, n. 68-69, p. 313-317, 2007.

REIMER, L. G.; CARROL, K.C. Procedures for the storage of microorganisms. In: Murray, P. R. (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press, p. 67-73, 2003.

RIBEIRO, E. G. A. et al. Identificação do agente causal de um surto de toxinfecção alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 88-90, 1999.

RODRIGUES, K. L. et al. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 297-299, 2004.

ROUQUAYROL, M.Z.; VERAS, F.M.F. **Doenças transmissíveis e modos de transmissão**. In: Rouquayrol MZ (ed) *Epidemiologia e saúde*, 4ª edição, MEDSI-Editora Médica e Científica, Rio de Janeiro, p.217-268, 1994.

ROSSI, F. S.; CECCON, M. E. J. R.; KREBS, V. L. J. Infecções estafilocócicas adquiridas nas unidades de terapia intensiva neonatais. **Revista de Pediatria**, v. 27, n. 1, p. 38-47, 2005.

ROSS, T.L. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus caprae* in a neonatal intensive care unit. **J. Clin. Microbiol.**, [S.l.]v. 43, n. 1, p. 363-367, 2005.

SÁ, M. A. R. ; BOTELHO, A. O. B. Surto de toxinfecção alimentar em escola da rede municipal de ensino do município de Uberlândia – Minas Gerais em abril de 2002. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n.104/105, 2003.

SANTOS, D. A. **O papel do manipulador de alimentos em surtos de intoxicação alimentar causados por espécies de *Staphylococcus* ocorrido em quatro cidades do estado de Minas Gerais, Brasil. 2003**. Dissertação (Mestrado Microbiologia). Belo Horizonte. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. p.84.2003.

SANTOS, A. L., et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras Patol Med Lab**. [S.l.]v. 43. n. 6 . p. 413-423. dezembro 2007.

SANTOS-FILHO, L. **Manual de Microbiologia Clínica**. 3. ed. João Pessoa: Ed. Universitária, 2003.

SALYERS, A. A.; WHITT, D. D. Bacterial strategies for evading or surviving the defense systems of the human body. **ASM. Press**, Washington , 2002.

SATO, N. H. et al. Quality assurance of raw fish based on HACCP concept. **Food Control**, [S.l.]v.16, p. 301-307, 2005.

SILLIKER, John H.. **Principles and applications of the HACCP approach for the food processing industry**. Ch. 7. In "Proceedings of the 1986 Conference for Food Protection", Food Protection Technology, ed. C. W. Felix,. Lewis Pub., Inc., chelsea, Mich., p. 81 -89, 1986.

SILVA, J.A. As novas perspectivas para o controle sanitário dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.13, n.65, p.19-25, 1999.

SILVIA JR., E.A. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 5 Ed. 2005.

SILVA, H.L. et al. Nosocomial coagulase negative staphylococci bacteremia: five year prospective data collection. **Braz. J. Infect. Dis.**, [S.l.]v. 4, n. 6, p. 271-274, 2000.

SILVA, E.C.B.F. et al. **Staphylococcus aureus: aspectos biológicos e patogênicos**. In: Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, ISSN 0365-2416., 2007, Recife. Anais da faculdade de medicina do centro de ciências da saúde da universidade federal de pernambuco. Recife: Lilacs. p.168-172.2007.

SINGHAL, R. et al. Species distribution & antimicrobial susceptibility of coagulase negative *Staphylococci* in a tertiary care hospital. **Indian J. Med Res.**, [S.l.] v. 123, 569-570, 2006.

SORCINELLI, P. **Alimentação e Saúde**. In: FLANDRIN, J-L. MONTANARI, M. História da alimentação. São Paulo: Estação Liberdade. p. 792-805. 1998.

SORIANO, J. M. et al Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.] v.13, p.60-67, 2002.

STAMFORD, T.L.M. et al. Enterotoxidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite in natura. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas.v.26 n.1.Jan/mar. 2006.

SOWMYA, N.; THAKUR, M. S.; MANONMANI, H. K. Rapid and simple DNA extraction method for the detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* directly from food samples: comparison of PCR and LAMP methods. **Journal of Applied Microbiology**, [S.l.] v. 113, n. 1, p. 106-113, 2012.

SU, Y. C.; WONG, A. C. L. Current perspectives on detection of Staphylococcal enterotoxins. **Journal of Food Protection**, [S.l.]v.60, n.2, p.195-202, 1997.

TABAI, K.C. Análise do controle de alimentos no Brasil: da intervenção governamental à participação de consumidores e suas organizações. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo,. V.16, p. 22-25,2002.

TAPONEN, S. et al. *Staphylococcus agnetis* sp. nov., a coagulase-variable species from bovine subclinical and mild clinical mastitis. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 61-65.2012.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8° ed. Artmed. 920 p.920.2005

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, p.216,1998.

TENOVER, F.C.; LANCASTER M.V.; HILL, B.C. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. **J Clin Microbiol**; [S.l.]p.36:1020-7.1988.

UBEDA, C. et al. A pathogenetic island replicon in *Staphylococcus aureus* replicates as an unstable plasmid. **PNAS**. [S.l.]v. 104, n. 36, p. 14182-14188, Jun. 2007

VASCONCELOS, M.A.A. et al. Qualidade higiênico sanitário de manipuladores de algumas indústrias de alimentos do município de João Pessoa – PB. In: **X Encontro de iniciação à docência, 2008**, João Pessoa. *X encontro de iniciação à docência*. Joao Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. p.1-2.2008.

VALLE, J. et al. Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.]v. 56, n. 5, p. 1323-1326, 1990.

VENTURI, I. et al. Treinamento para conservação e higiene dos alimentos: uma proposta para prática educativa. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 125, p. 32-35, out. 2004.

VEENSTRA, G.; et al. Ultrastructural organization and regulation of a biomaterial adhesion of *Staphylococcus epidermidis*. **J Bacteriol**. [S.l.] p.178,537-41.1996.

VIANNA, E. P. L. et al. Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos na cidade do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo,v. 17, n. 111, p. 58-63, 2003.

VIEIRA-DA-MOTTA, O.; FOLLY, M. M.; SAKYIAMA, C. C. H. Detection of different *Staphylococcus aureus* strains in bovine milk from subclinical mastitis using PCR and routine techniques. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.l.] v. 32, p. 27-31, 2001.

VUONG, C.; OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* infections. **Microb. Infect.** [S.l.] p. 4:481-9.2002.

VON EIFF, C.; PETERS, G.; HEILMANN, C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. **Lancet Infect Dis**. [S.l.] n.2, p. 677-85, 2002.

VERMONT, C. et al. Persistence of clones of coagulase-negative staphylococci among premature neonates in neonatal intensive care units: two-center study of bacterial genotyping and patient risk factors. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 9, p. 2485-2490, 1998.

XAVIER, C.A.C. et al Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal/ RN. **Revista da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas** ,v. 39, n. 3, p. 165-168, 2007.

WEI, H. L.; CHIOUS, C. S. Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* from an outbreak associated with a food handler. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 128, n. 1, p. 15-20, 2002.

ZELL, C. et al. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.] v. 127, n. 3, p. 246-251, 2008.

ZEBOVITZ, E.; EVANS, J.B.; NIVEN JR., C.F. Tellurite-glycine agar: a selective plating medium for the quantitative detection of coagulase-positive staphylococci. **Journal of Bacteriology**, [S.l.]v. 70, n. 6, p. 686 – 690, 1955.

ZOCHE, F. **Identificação de *Staphylococcus aureus* produtores de enterotoxinas A, B, C2 e D por Multiplex- PCR e Elisa Indireto.** 2005. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

ZOLI, J.A. et al.. Avaliação da contaminação por *S. aureus* e *Salmonella* spp. , de maionese de batata comercializada em Londrina, PR. **Revista Higiene Alimentar.** São Paulo, v.16, n.95, p.62- 70, abril 2002.