

revista Higiene Alimentar

junho/fevereiro de 2005 volume 19 nº 128



ISSN 0101-9171

Indizada nas seguintes
bases de dados:
CAB ABSTRACTS
(Inglês)
LILACS-BREME (Brasil)
PERI-ESALD (Brasil)
AGRICASE-MAPA (Brasil)

Afiliação:
Associação Brasileira de
Editores Científicos e

ANATEC
Associação Nacional de
Técnicos em Alimentos

RESTAURANTE SELF-SERVICE: EXISTE SEGURANÇA PARA O CONSUMIDOR ?

NOS ÚLTIMOS ANOS, AS CONDIÇÕES DA VIDA MODERNA DETERMINARAM O CRESCIMENTO DO NÚMERO DE RESTAURANTES SELF-SERVICE, OS QUAIS APRESENTAM SIGNIFICATIVAS VANTAGENS MAS, TAMBÉM, ALGUNS FATORES QUE PREOCUPAM OS PROFISSIONAIS DA ÁREA.



LEIA TAMBÉM OUTROS TRABALHOS INÉDITOS.

ALIMENTOS FORTIFICADOS E DIETA INFANTIL ✦ INSPEÇÃO SANITÁRIA EM MERCADOS
INFECÇÕES POR SALMONELLA: DOSSIE EPIDEMIOLÓGICO ✦ MORTADELA: FATORES DE ESTABILIDADE
CAFÉS TORRADOS E MOÍDOS: AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA ✦ TEOR DE NITRITOS EM LINGUIÇAS CLANDESTINAS

PEQUENO DOSSIÊ EPIDEMIOLÓGICO DA *SALMONELLA*, COMO CAUSADORA DE INFECÇÕES ALIMENTARES.

Prof MSc Jorge Luiz Fortuna
UNEB Ciências Biológicas - Campus X
Mat. 74.436.529-5 / CRBio 21.646-02

Jorge Luiz Fortuna

Biólogo e Médico Veterinário autônomo.

Robson Maia Franco

Faculdade de Veterinária - Universidade Federal
Fluminense, Niterói, RJ.

RESUMO

A salmonelose é considerada um dos mais importantes problemas de saúde pública em todos os países. O gênero *Salmonella* é um dos principais agentes envolvidos nos surtos de toxinfecções alimentares. Grande parte dos surtos está associada ao consumo de alimentos de origem animal. Este artigo descreve a ação da *Salmonella* como agente causador de surtos de doenças transmitidas por alimentos, em diferentes partes do mundo. Além de apresentar as principais medidas de controle e prevenção.

Palavras-chave: *Salmonella*, infecção alimentar, epidemiologia.

SUMMARY

Salmonellosis is considered to be one of the most important public health problems in all countries. The Salmonella

gender is one of agent principal involved in food poisoning outbreak. Numerous outbreaks are associate to the consumption of the foods from animal origin. This article describes the Salmonella as the casual agent of foodborne disease in different parts of the world. Beyond present main measure of control and prevention.

Key-words: *Salmonella*, foodborne, epidemiology.

INTRODUÇÃO

Entre os bacilos Gram negativos que produzem gastroenterites de origem alimentar, os mais importantes são os representantes do gênero *Salmonella* (JAY, 1994).

A *Salmonella* ocorre em humanos, animais de sangue quente e animais de sangue frio, alimentos e no meio ambiente. Patogênico para humanos

e muitas espécies animais. Agente de febre tifóide, febres entéricas, gastroenterites e septicemia (HOLT et al., 1994). Segundo HAYES (1993), salmonelose é o nome genérico empregado para designar as infecções humanas e animais originadas por membros do gênero *Salmonella*. As pessoas e os animais são diretamente ou indiretamente a fonte de contaminação dos alimentos com salmonelas. Os microrganismos podem estar presentes em enfermos clínicos ou portadores (FRAZIER & WES-THOFF, 1993). Para SIQUEIRA (1995), as salmonelas são muito difundidas, podendo estar presentes no solo, no ar, na água, em águas residuais, nos animais, nos seres humanos, nos alimentos, nas fezes, nos equipamentos. Entretanto, o seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos e dos animais.

Segundo SILVA Jr. (1996), são considerados como fontes de *Salmonella* sp., intestino de animais e homem, matéria prima animal (carnes e aves), rações animais (farinha de ossos, farinha de sangue e farinha de peixe), gema de ovos (contaminação transovariana), hortaliças plantadas em ambiente com esterco animal ou humano. A contaminação pode ocorrer de forma cruzada entre a matéria-prima contaminada (carnes, ovos e aves) e hortaliças contaminadas, com alimentos cozidos ou desinfetados, através das mãos, equipamentos, utensílios e bancadas de manipulação. Cozimento inadequado de alimentos previamente contaminados. Gema de ovo contaminada na própria galinha. Água de poço ou de rede contaminada com esgoto. JAY (1994), descreve que o principal habitat das espécies de *Salmonella* é o trato intestinal de animais como aves, répteis, animais de granja, pessoas e, acidentalmente, insetos. Seu habitat principal é o trato intestinal, de vez em quando pode ser encontrado em outras partes do organismo. Como formas intestinais, os microrganismos são excretados nas fezes, poden-

do ser transmitidos por insetos e por outros seres vivos para vários lugares. Também como formas intestinais, podem ser encontrados na água, em especial na água contaminada. Já FRAZIER & WESTHOFF (1993), afirmam que as pessoas e os animais são direta ou indiretamente as fontes de contaminação dos alimentos com salmonelas. Os microrganismos podem proceder de enfermidades clínicas ou de portadores. Os sorovares achadas com maior frequência, como *S. typhimurium* e outras, produzem as gastroenterites humanas. As salmonelas também podem proceder dos gatos, dos cães, dos suínos, e dos bovinos, porém as fontes mais importantes de salmonelas dos alimentos são as aves e seus ovos e os roedores.

A febre tifóide, produzida por *Salmonella typhi*, é a enfermidade mais grave causada por um membro do gênero *Salmonella*. As infecções gastrointestinais por outros membros são menos graves e se denominam salmoneloses, sendo uma das enfermidades transmitidas por alimentos mais frequentes (TORTORA et al., 1993).

TAXONOMIA E CARACTERÍSTICAS

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis. A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi). Os antígenos O são designados por números arábicos (1, 2, 4, etc.). Os antígenos H são designados por letras minúsculas de nosso alfabeto e por números arábicos.

Só existe um tipo imunológico de antígeno Vi, encontrado somente em *S. typhi*, *S. dublin* e *S. hirschfeldii*. Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100°C por duas horas. Os antígenos H são termolábeis. Para determinação do sorotipo de uma *Salmonella*, os antígenos H que recobrem a célula precisam ser eliminados pelo aquecimento (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

O gênero *Salmonella* apresenta as seguintes características: bastonetes retos (0,7-1,5 x 2,5 mm); Gram negativos; geralmente móvel por flagelos peritríquios; anaeróbio facultativo; temperatura ótima 37°C; glicose e outros carboidratos são catabolizados com produção de ácido e geralmente gás; oxidase negativa; catalase positiva; indol negativo; Voges-Proskauer (VP) negativa; vermelho de metila (VM) positivo; citrato de Simmons positivo; produção de H₂S; não hidrolisa uréia; reduz nitrato; crescimento em KCN e utilização de malonato é inconstante; carboidratos geralmente fermentados são arabinose, maltose, manitol, manose, sorbitol e xilose. Sua temperatura ótima de crescimento, como a maioria das bactérias produtoras de toxinfecções alimentares, é aproximadamente de 38°C. São relativamente termossensíveis pois são destruídos a 60°C em 15-20 minutos; não crescem abaixo dos 5°C. Atividade de água mínima de 0,93 a 0,96; pH para crescimento entre 4,5 8,0 (ótimo entre 6,0 e 7,5) (HAYES, 1993; HOLT et al., 1994; SIQUEIRA, 1995).

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são bactericidas. Dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. O ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico são mais inibitórios do que o ácido clorídrico ou o ácido acético, para um mesmo pH. As salmonelas não toleram concentrações de sal su-

periores a 9%. O nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal para multiplicação de *Salmonella* é 35-37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima 47°C. Porém, valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

De acordo com SILVA Jr. (1996), a *Salmonella* sp. morre em um minuto a 66°C e multiplica-se entre 6°C e 46°C, sendo causadora de infecção intestinal. A *Salmonella typhi* causa infecção intestinal típica. Multiplica-se entre 6°C e 46°C e com pH entre 3,8 e 9,0. Morre em um minuto a 66°C e não necessita se multiplicar em alimentos.

CLASSIFICAÇÃO

Existem várias formas de classificação de *Salmonella*, o que torna bastante confusa a sua compreensão. O esquema de classificação proposto por Kauffman (TABELA 1), divide o gênero em tipos sorológicos em função dos antígenos O, H e Vi que apresentam. Este esquema abriga as salmonelas mais frequentemente associadas à infecção humana. O esquema de classificação proposto por Edwards e Ewing (TABELA 2), reconhece apenas três espécies: *S. typhi*, *S. choleraesuis* e *S. enteritidis*. Esta última abriga todas as demais salmonelas, que são consideradas sorotipos de uma mesma espécie. O esquema de Le Minor (TABELA 2) considera que o gênero *Salmonella* é formado por apenas uma espécie (*S. enterica*), com sete subespécies (*choleraesuis*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtanae*, *bongori* e *indica*). A subespécie *choleraesuis* contém todos os sorotipos da classificação de Edwards e Ewing. Desta forma, um exemplo de grafia correta de acordo com este esquema é: *Salmonella enterica subsp. choleraesuis* sorotipo *Typhimurium*, sendo, no entanto, comum observar que as salmonelas são grafadas de forma simplificada, citando-se apenas o gênero e o sorotipo (*Salmonella*

Typhimurium). Mais recentemente, Reeves e colaboradores propuseram que a subespécie *bongori* fosse também considerada uma espécie de *Salmonella* (FRANCO & LANDGRAF, 1996; TRABULSI, 1991).

Com finalidades epidemiológicas, as salmonelas podem ser classificadas em três grupos: (1) as que infectam somente as pessoas, incluem a *S. typhi*, a *S. paratyphi* A e a *S. paratyphi* C. Este grupo inclui os agentes das febres tifóide e paratífóide, que são as mais graves de todas as enfermidades produzidas por salmonelas; (2) as sorovariedades adaptadas aos hospedeiros, algumas das quais são patogênicas para o homem e podem ser contraídas a partir de alimentos. Estão incluídas *S. gallinarum* (aves), *S. dublin* (bovinos), *S. abortus-equi* (equinos), *S. abortus-ovis* (ovinos) e *S. choleraesuis* (suínos); e (3) sorovariedades inadaptadas (sem preferência de hospedeiro). São patogênicas para as pessoas e para outras espécies animais, e incluem a maioria das sorovariedades transmitidas por alimentos. Independente das classificações em espécies e subespécies, em base de 67 grupos de antígenos O e numerosos antígenos H, o gênero consta de uns 2.200 sorotipos ou sorovariedades (JAY, 1994).

DOENÇAS PROVOCADAS POR *SALMONELLA*

A febre tifóide, produzida por *S. typhi*, é a enfermidade mais grave causada por um membro do gênero *Salmonella*. As infecções gastrointestinais produzidas por outros membros são menos graves e se denominam salmoneloses, sendo uma das enfermidades transmitidas por alimentos mais frequentes (TORTORA, 1993).

SIQUEIRA (1995), divide em dois grupos: (1) as febres tifóide e paratífóide causadas por *S. typhi* e *S. paratyphi*; e (2) as infecções entéricas produzidas por outras salmonelas.

Segundo FRANCO & LANDGRAF (1996), as doenças causadas

por *Salmonella* podem ser subdivididas em três grupos: (1) a febre tifóide, causada por *S. typhi*; (2) as febres entéricas, causadas por *S. paratyphi* (A, B e C); e (3) as enterocolites (ou salmoneloses), causadas pelas demais salmonelas. A febre tifóide só acomete o homem, e normalmente é transmitida por água e alimentos contaminados com material fecal humano. As febres entéricas são bastante semelhantes à febre tifóide, mas os sintomas clínicos são mais brandos. As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos.

PATOGENIA

Para que ocorra uma infecção gastrointestinal de origem alimentar por *Salmonella*, são necessárias as seguintes condições: (1) o alimento deve conter, ou deve estar contaminado com, bactérias do gênero *Salmonella*; (2) estas bactérias devem se encontrar no alimento em número elevado, como consequência de que o alimento está muito contaminado, pois tem-se multiplicado nele, a presença de um elevado número destas bactérias no alimento supõe-se que este deve ser um bom meio de cultivo, que a temperatura deve ser apropriada, e que tenha transcorrido tempo suficiente para que se tenha uma abundante multiplicação; e (3) os microrganismos viáveis devem ser ingeridos (FRAZIER & WESTHOFF, 1993).

FRANCO & LANDGRAF (1996), estabelecem que os sintomas da salmonelose, bem como a sua gravidade, dependem do sorotipo de *Salmonella* envolvido, da competência dos sistemas de defesa inespecíficos e específicos do indivíduo afetado e das características do alimento envolvido. Em alimentos com elevado teor lipídico, as salmonelas ficam "protegidas" dentro dos glóbulos de gorduras, não sendo afetadas pelas enzimas digestivas ou pela acidez gástrica. Nestes casos, doses infectantes

de até 50 células por grama podem ser desencadeadoras de doença. Entre alimentos dessa natureza destaca-se o chocolate em barra, envolvido em diversos surtos.

Segundo SILVA Jr. (1996), o período de incubação da salmonelose é de oito a 22 horas, com diarreia, mal estar e cólicas. Com ou sem febre. Já na febre tifóide, o período de incubação varia de sete a 28 dias. Dose infectante baixa. Causa infecção intestinal com disenteria (fezes com muco, pus e sangue), febre, vômitos, mal estar, calafrios, hipotensão, septicemia, choque endotóxico e morte.

ROELS et al. (1997) descreveram sinais e sintomas predominantes entre 128 pacientes (91 confirmados e 37 prováveis), devido à infecção por *Salmonella typhimurium*, incluem diarreia (99%), câimbras abdominais (88%), calafrios (75%), dores no corpo (69%), febre (63%), náusea (59%), fezes com sangue (42%) e vômitos (32%). Já NG et al. (1997), detectaram os principais sintomas em 635 pacientes devido à infecção de *Salmonella enteritidis*, sendo diarreia (100%), câimbras abdominais (90,4%), febre (78,7%), vômitos (26,6%) e náuseas (48,4%). Tendo uma duração média da doença de três dias.

De acordo com SIQUEIRA (1995), a febre tifóide é a mais grave, caracterizada por septicemia, com febre contínua, cefaléia e diarreia. Tendo um período de incubação que varia de sete a 21 dias. A febre paratífóide é menos grave que a tifóide, podendo ocorrer septicemia e frequentemente desenvolver o quadro de gastroenterite. O período de incubação é bem mais curto, variando de seis a 48 horas. As salmoneloses desenvolvem um quadro de infecção gastrointestinal, tendo como sintomas dores abdominais, diarreia, febre, vômito, prostração. Raramente é fatal. Período de incubação varia de 12 a 24 horas, podendo ocorrer entre cinco a 72 horas.

Para FRANCO & LANDGRAF (1996), os sintomas da febre tifóide

são muito graves, e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômitos. A infecção se inicia com a penetração nas células epiteliais intestinais, invasão da lâmina própria, e entrada na corrente linfática. Os microrganismos são, então, fagocitados por células de defesa (macrófagos), dentro das quais multiplicam-se, causando a destruição dos macrófagos, com liberação de inúmeras bactérias na corrente circulatória, através da qual podem atingir diversos órgãos, como fígado, baço e vesícula biliar, até estabelecer uma infecção sistêmica. Enquanto está no interior dos macrófagos, *S. typhi* não é destruída por antibióticos, razão pela qual a antibioticoterapia nem sempre é eficiente em um único tratamento. Geralmente nas febres entéricas ocorrem septicemia, febre, vômitos e diarreia. Enquanto a febre tifóide pode durar de uma a oito semanas, as febres entéricas duram, no máximo, três semanas. Nas salmoneloses os sintomas aparecem, em média, 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, durando entre um e quatro dias. De modo geral, salmoneloses não necessitam de tratamento com antibióticos. A antibioticoterapia pode agravar o quadro clínico e prolongar o estado de portador. Nas crianças pequenas e recém-nascidos, a salmonelose pode ser bastante grave, já que a *Salmonella* pode atingir a corrente circulatória e provocar lesões em outros órgãos. No adulto, algumas patologias, quando presentes, podem agravar a doença. A salmonelose em um indivíduo com esquistossomose se caracteriza por bacteremia, febre de evolução prolongada, anemia e esplenomegalia. Indivíduos aidéticos ou com outras deficiências imunológicas podem ter salmoneloses muito graves. Existem relatos de meningites, osteomielites e problemas renais decorrentes de infecções por *Salmonella*. Nestes casos, a antibioticoterapia é indispensável.

JAY (1994), afirma que para que se produza a salmonelose geralmente é necessário um número de células entre 107 e 109 por grama. Em geral, o número mínimo de células necessário para que ocorra gastroenterite varia desde 105-106 para *S. bailey* e *S. newport* a 109-1010 para *S. pullorum*.

Referente aos mecanismos de patogenicidade, FRANCO & LANDGRAF (1996), comentam que as infecções começam na mucosa do intestino delgado e do cólon. As salmonelas atravessam a camada epitelial intestinal, alcançam a lâmina própria, onde proliferam. As salmonelas são fagocitadas pelos monócitos e macrófagos, resultando em resposta inflamatória. Ao contrário do que ocorre na febre tifóide e nas febres entéricas, nas enterocolites a penetração de *Salmonella* fica limitada à lâmina própria. Nestes casos, raramente se observa septicemia ou infecção sistêmica, ficando a infecção restrita à mucosa intestinal. A resposta inflamatória está relacionada também com a liberação de prostaglandinas, que são estimuladoras de adenilciclase, resultando em um aumento de secreção de água e eletrólitos, provocando diarreia aquosa. As endotoxinas correspondem à fração lipídica do lipopolissacarídeo que compõe a membrana celular da *Salmonella*, sendo responsáveis pelo efeito tóxico quando sofre lise celular. O papel das endotoxinas como agentes causadores de diarreia através do acúmulo de fluidos na luz intestinal tem sido bastante questionado. Acredita-se que o processo diarreico manifesta-se à custa de uma enterotoxina de natureza protéica, cuja produção é mediada por um plasmídeo de 25kDa. Esta enterotoxina é um polipeptídeo simples, que se associa a outras proteínas, formando complexos de peso molecular de cerca de 125kDa. A enterotoxina é semelhante à toxina colérica, pois é ativadora de adenilciclase e estimuladora

da liberação de prostaglandinas E2 de células eucarióticas. Uma citotoxina, inibidora de síntese protéica em células eucarióticas, parece também estar associada ao processo infeccioso. Nos animais, as manifestações clínicas são bastante semelhantes. No gado bovino, a doença é caracterizada por febre, fezes diarréicas, anorexia, depressão e redução na produção de leite. Animais infectados podem excretar elevados números de *Salmonella* nas fezes e também no leite e no sangue. Os suínos são particularmente susceptíveis às infecções por *S. choleraesuis* e *S. typhimurium*. Os sintomas clínicos não se limitam à enterocolite, mas frequentemente evoluem para septicemia, com elevados índices de mortalidade. Também as aves, principalmente jovens, são susceptíveis às infecções por *Salmonella*, sendo este microrganismo responsável por grande perda de animais em granjas.

Segundo TRABULSI (1991) a patogenicidade das salmonelas varia de acordo com o tipo sorológico, idade e condições de saúde do hospedeiro. As salmonelas são bactérias intracelulares facultativas. Os pacientes com febre tifóide, se não tratados no início da doença, desenvolvem anticorpos séricos contra os antígenos O e H da bactéria, bem como imunidade persistente. Os portadores crônicos de *S. typhi* geralmente apresentam níveis elevados de anticorpos contra o antígeno Vi.

EPIDEMIOLOGIA

Em 1980, segundo o anuário do Centro de Controle de Doenças (CDC) de Atlanta, foram notificados nos Estados Unidos, 612 surtos de toxinfecções alimentares, envolvendo 13.791 casos; destes, 221 (36%) tiveram sua etiologia confirmada. A contaminação microbiana foi responsável por 136 (60%) surtos com 6.891 casos. A bactéria patogênica mais frequentemente iso-

lada foi a *Salmonella* sp. (39 surtos), seguida do *Staphylococcus aureus* (24 surtos), e do *Clostridium perfringens* (25 surtos). Em 54% dos surtos, os alimentos foram servidos em restaurantes e o fator que mais comumente contribuiu para a ocorrência dos surtos foi a manutenção dos alimentos em temperatura inadequada (TANCREDI, 1990).

MOTA et al. (1983), relataram um surto ocorrido em Curitiba-PR, em julho de 1981, onde foi pesquisado enterobactérias através de coproculturas de material de 41 pessoas que estiveram expostas ao risco, das quais 11 doentes e 30 aparentemente saudáveis. Das 11 pessoas afetadas, isolou-se *Salmonella enteritidis* em dez e no grupo não doente, a *Salmonella enteritidis* foi isolada de apenas uma pessoa, cozinheira do restaurante.

Segundo COELHO et al. (1984), a presença de *Salmonella* em amostras de carne, armazenadas a 0°C e -18°C, por 90 dias, indica que estas bactérias sobrevivem a períodos longos de armazenamento, sob baixas temperaturas. O método de conservação da carne bovina moída a baixas temperaturas não garante a eliminação de microrganismos, provenientes da contaminação acidental de carcaças.

Em pesquisa desenvolvida por FRANCO et al. (1987), nenhuma das amostras de charque revelou presença de *Salmonella*.

A partir de 194 amostras de produtos cárneos, sendo 101 de carne moída de segunda qualidade e 93 de quibe cru, coletadas em quatro açougues, considerados de bom nível na região de Londrina-PR, foram isoladas 12 cepas de *Salmonella* pertencentes a três diferentes sorotipos: *Salmonella give* (1), *Salmonella london* (2) e *Salmonella infantis* (9) (PELAYO & SARIDAKIS, 1988).

MAFU et al. (1989), isolaram *Salmonella* spp. de 45 (10%) de 448 carcaças de suínos, sendo 36 (18%) de 200 amostras de fezes; três (1,5%)

de 200 diafragmas; quatro (25%) de 16 swabs do piso da sala de matança; duas (12,5%) de 16 swabs da câmara fria e nenhuma (0%) da água de escaldagem. A TABELA 3 mostra a distribuição de sorotipos de *Salmonella* de acordo com a sua origem.

SOUNIS (apud TANCREDI, 1990), em 1985, descreveu um surto de toxinfecção alimentar ocorrido em Curitiba-PR com 443 (82%) indivíduos afetados e 128 hospitalizados por apresentarem quadro grave de um total de 540 comensais. O agente etiológico confirmado foi a *Salmonella enteritidis* sorotipo *typhimurium*, e o alimento incriminado, foi o creme de maionese.

TANCREDI (1990), estudou a prevalência de 49 surtos de toxinfecções alimentares envolvendo alimentos de origem animal, ocorridos no município do Rio de Janeiro entre 1986 e 1988; apenas um (2,04%) surto foi causado por *Salmonella*, sendo que do total de pessoas acometidas durante este período de estudo (1.193 pessoas), apenas quatro (0,34%) foram vítimas deste surto de *Salmonella*. O alimento incriminado neste surto foi lingüiça de porco, preparada em uma residência.

Em pesquisa de presença de *Salmonella* em 744 amostras de produtos de origem animal, coletadas nas condições em que são entregues ao consumo público, foram isoladas 12 cepas de *Salmonella*, todas do sorotipo *Salmonella typhimurium*. A frequência de *Salmonella* foi mais alta nos produtos de origem suína, chegando a 13,31% em amostras de fígado e a 2% em lingüiça. Todo material oriundo de bovinos foi negativo. Em amostras de origem aviária a porcentagem de positividade ficou em 0,71%. Os resultados indicam que a fonte mais importante de *Salmonella* são os suínos, sendo secundário o papel de bovinos e aves (GALARDA et al., 1991).

De 60 amostras de lingüiça fresca provenientes de feiras livres mu-

nicipais em São Paulo, 52 (86,7%) foram positivas para a *Salmonella* (VASCONCELOS & IARIA, 1991).

PICCOLO et al. (1992), coletaram amostras de alimento envolvidos no surto de *Salmonella*, em uma cantina escolar no município de São Paulo. A análise do inquérito epidemiológico revelou os seguintes dados: 80 pessoas expostas; 61 (76,3%) pessoas entrevistadas; 50 (82%) pessoas doentes; 23 (46%) doentes que procuraram os recursos médicos. O período de incubação foi em média de 21 horas e 40 minutos. Os principais sintomas apresentados pelas pessoas doentes foram: diarreia (92%); febre (76%); cefaléia (74%); cólica (62%); tontura (42%); náuseas (38%); vômito (36%); dores musculares (26%); meteorismo (8%) e diarreia com sangue (4%). Os alimentos servidos na refeição, tiveram as seguintes taxas de ataque: salada de maionese (70,2%); macarronada com molho de tomate (22,4%); frango assado (7,0%) e filé de frango (8,8%), revelando que o alimento incriminado no surto foi a salada de maionese.

Estudo realizado com 50 amostras de carne bovina moída, obtidas na condição de consumidor, comercializados em mercados e açougues na cidade de Manaus-AM, quanto a contaminação por bactérias do gênero *Salmonella*, demonstrou positividade em 14 (28%) procedentes de mercados e 36 (72%) provenientes de açougues. Revelaram-se respectivamente positivas para o gênero *Salmonella*, oito (57,15%) e duas (5,55%), perfazendo um total de dez (20%) amostras positivas, identificadas sorologicamente como *Salmonella london*, *Salmonella anatum*, *Salmonella agona* e *Salmonella* I 3,10:-:1,6 com predominância da *Salmonella london* (AQUINO et al., 1992).

Atualmente, a *Salmonella* é um dos microrganismos mais frequentemente envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive Brasil. Na Inglaterra e países vizi-

nhos, 90% dos casos são causados por *Salmonella*. Dados recentes publicados nos Estados Unidos, Canadá e Japão indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a cada ano. Nesses países, e também no Brasil, *S. typhimurium* é o sorotipo mais comumente encontrado nos alimentos. Inúmeros surtos de toxinfecção alimentar causados por *Salmonella* são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos. Verifica-se que carne de aves e outros tipos de carne são os mais freqüentemente envolvidos. Salmonelose associada à laticínios é, quase sempre, causada por leite cru ou inadequadamente pasteurizado e também queijo. Quanto a produtos derivados de ovos, os mais envolvidos em surtos são as saladas à base de ovos, sorvetes e outras sobremesas de fabricação caseira. O sorotipo *S. enteritidis* tem a peculiaridade de colonizar o canal ovopositor das galinhas, causando contaminação da gema durante a formação do ovo (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Diferentes formulações de lingüiça de frango produzidas artesanalmente foram comparadas sob o ponto de vista microbiológico. A presença de *Salmonella* foi constatada e confirmada em todas as amostras analisadas (100%), tanto em t=0 dias como em t=15 dias, o que contraria o padrão estabelecido nas legislações estadual e federal (ausência em 25 g). De acordo com a legislação federal as amostras foram classificadas como "produtos potencialmente capazes de causar toxinfecções alimentares" e portanto "produtos impróprios para o consumo" (HOFFMANN et al., 1996).

HOFFMANN et al. (1997), pesquisaram em nove amostras de massas alimentícias secas e longas (espaguete) a presença ou não de *Salmonella*, encontrando apenas uma (11,1%) positiva, isto é, se encontrava em desacordo com o pa-

drão, de ausência em 25 g, sendo classificado como "produto potencialmente capaz de causar toxinfecção alimentar" e portanto, "impróprio para o consumo".

Também FLORENTINO et al. (1997), avaliaram a qualidade da carne moída em feiras livres e supermercados em Campina Grande-PB, revelando a presença de UFCs características de *Salmonella* em 100% das 90 amostras analisadas. Este fato pode ser atribuído às precárias condições higiênicas-sanitárias dos locais de abate, armazenamento, aos portadores dessas bactérias que manuseiam o referido produto.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as infecções por *Salmonella enteritidis* aumentaram em 24 dos 35 países que relataram a sua ocorrência entre 1979 e 1987. Nos Estados Unidos, entre 1980 e 1994 a freqüência deste sorotipo saltou de 6% para 26% de todos os casos envolvendo *Salmonella*. Tal fenômeno está relacionado ao aumento do consumo de ovos provenientes de aves com infecção no ovário que resulta na contaminação do ovo íntegro vendido ao consumidor (TÓRTORA, 1998).

ESCARTIN et al. (1999), estudaram 60 amostras de chouriço provenientes de açougues, mercados e mercearias em Guadalajara, sendo que destas amostras, 53 (88,3%) foram positivas para *Salmonella*. Em Queretaro, 78% de 40 amostras obtidas de açougues foram positivas, enquanto que somente 5% de amostras coletadas de mercearias (produzidas em estabelecimentos de processamento de carne), estavam contaminadas com *Salmonella*.

Duas (18,2%) das onze amostras de diferentes produtos cárneos analisadas, para a pesquisa de *Salmonella* sp., encontravam-se em desacordo com o padrão, de ausência em 25 g, estabelecido pela Portaria nº 451 de 1997, sendo então classificadas como "produtos potencial-

mente capazes de causar enfermidades transmitidas por alimentos" e, portanto, "produtos impróprios para o consumo" (HOFFMANN et al., 1999).

Já ALMEIDA et al. (2002), pesquisaram a *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído e descreveram os seguintes resultados: de um total de 40 (100%) amostras analisadas (inteiras e moídas), oito (20%) apresentaram resultado positivo na detecção de salmonelas, enquanto que em 32 (80%) não foram obtidos isolamentos destes germes. De um total de 20 (100%) amostras de corte (acém) inteiro analisadas, três (15%) apresentaram resultado positivo na detecção de salmonelas, enquanto que nas 17 (85%) restantes não foram detectados tais microrganismos. Em relação ao total de 20 (100%) amostras de corte moído analisadas, cinco (25%) apresentaram resultado positivo na detecção de salmonelas, enquanto que nas 15 (75%) restantes não se verificou a presença desses microrganismos.

Em exames realizados por TESSARI et al. (2003), para a pesquisa de salmonela nas carcaças de frango congeladas, processadas industrialmente, provenientes de abatedouros do Estado de São Paulo, durante o período de maio de 2001 a julho de 2002, mostraram a presença de *Salmonella enteritidis* em 19,1% das carcaças (13 amostras positivas entre as 68 analisadas).

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das infecções por *Salmonella* é feito pelo isolamento e identificação da bactéria. O material clínico a ser examinado depende do local da infecção, isto é, nas fezes nas enterocolites, sangue nas septicemias, líquido nas meningites e assim por diante. No diagnóstico das infecções intestinais, é importante realizar o enriquecimento das fezes e utilizar, para a cultura, o

Ágar Verde Brilhante (AVB), além do Ágar *Salmonella-Shigella* (ASS) e Ágar MacConkey. A identificação da *Salmonella* é feita por meio de provas bioquímicas e sorológicas. A identificação sorológica, dos diferentes sorotipos de *Salmonella*, somente pode ser feita em laboratórios de referência. Entretanto, seria útil que os laboratórios em geral e particularmente os hospitalares, dispusessem dos anti-soros para identificar os sorotipos de maior importância: *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B e *S. paratyphi* C, agentes das febres tifóides e paratifóides, *S. choleraesuis*, que frequentemente causa septicemia e *S. typhimurium*, que é o sorotipo mais freqüente nas infecções intestinais (TRABULSI, 1991).

TRATAMENTO

As enterocolites causadas por *Salmonella* não devem ser tratadas com antibióticos. Em alguns casos, a antibioticoterapia leva a uma piora do quadro clínico e, de modo geral, pode prolongar o estado do portador. A febre tifóide é tratada com cloranfenicol ou ampicilina, pois a *S. typhi* é usualmente sensível a estas drogas. As infecções sistêmicas também exigem antibioticoterapia, sendo que o antibiótico deve ser selecionado de acordo com a sensibilidade do germe e a localização da infecção (TRABULSI, 1991).

Segundo MOTA et al. (1983), um estudo da sensibilidade de oito amostras de *Salmonella enteritidis*, demonstrou que, in vitro, eram sensíveis ao Cloranfenicol, à Kanamicina, ao Colinstin, à Gentamicina, à Trobramicina, ao ácido Nalidixico e à Estreptomicina.

Estudos feito por PELAYO & SARIDAKIS (1988), quanto à sensibilidade ou resistência a 8 drogas: Gentamicina, Trimexazol, Cloranfenicol, Ampicilina, Tetraciclina, Sulfanilamida, Estreptomicina e Cefaloti-

na, demonstrou que as cepas isoladas apresentaram baixa resistência a drogas, com exceção da Sulfanilamida frente a qual, a resistência foi de 100%.

MEDIDAS DE CONTROLE & PREVENÇÃO

Segundo HAYES (1993), são consideradas medidas de controle e prevenção: (1) eliminar as salmonelas das granjas reprodutoras; (2) melhorar as condições higiênicas dos matadouros e das granjas avícolas; (3) evitar os riscos da contaminação cruzada, especialmente dos alimentos cozidos pelos crus, em fábricas e cozinhas; (4) assegurar um aquecimento suficiente dos alimentos, seguido de uma refrigeração rápida quando forem armazenados; (5) refrigerar os alimentos quando possível e evitar deixá-los muito tempo a temperatura ambiente; (6) comprovar que os manipuladores de alimentos não são portadores de salmonelas; (7) controlar os roedores, pássaros e insetos nas fábricas e terrenos adjacentes; e (8) incrementar a vigilância e detecção de salmonelas sobre todos os alimentos cozidos.

TORTORA et al. (1993), enfatizam que a prevenção de salmoneloses depende das práticas sanitárias corretas para se evitar a contaminação e da refrigeração adequada para prevenir o crescimento do número de bactérias. O microrganismo só pode ser destruído pela cocção normal, sendo uma temperatura de 68°C suficiente para eliminar os microrganismos.

Também FRAZIER & WESTHOFF (1993), apresentam princípios fundamentais para se prevenir dos surtos de *Salmonella*: (1) evitar a contaminação dos alimentos com salmonelas procedentes de fontes tais como pessoas e animais, tanto se tratando de enfermos como de portadores, e dos ingredientes, como ovos contaminados; (2) destruição, sempre que possível, dos microrganismos dos alimentos mediante o calor ou outros

procedimentos (cocção, pasteurização); e (3) impedir a multiplicação de *Salmonella* nos alimentos mediante refrigeração adequada ou mediante outros procedimentos. Para se evitar a contaminação são importantes o cuidado e a limpeza na manipulação e preparação dos alimentos. Os manipuladores dos alimentos devem ser sãos e não portadores. Deve-se manter afastados dos alimentos os roedores e demais animais nocivos e os insetos.

FRANCO & LANDGRAF (1996), demonstram uma forma interessante para o controle de *Salmonella* em produtos à base de carne de aves, é a chamada exclusão competitiva. Neste processo, impede-se que *Salmonella* colonize o trato gastrintestinal das aves ainda na fase inicial de suas vidas. Os animais recém-nascidos são submetidos a um tratamento com culturas microbianas mistas contendo bactérias inócuas, que vão ocupar os sítios de adesão das salmonelas, excluindo-as da flora intestinal dos animais. Desta forma, reduz-se consideravelmente a presença de salmonelas em uma granja, resultando em menor índice de contaminação nos animais ali produzidos.

Segundo HAZELWOOD & McLEAN (1994), evita-se a intoxicação pela *Salmonella*, através do: (1) cozimento adequado dos alimentos, certificando-se que sua parte central esteja a uma temperatura alta o bastante para eliminar todas as bactérias, através do uso de um termômetro interno; (2) descongelamento de alimentos por completo, antes de levá-los ao fogo, especialmente as carnes de aves; sempre descongelar as carnes de aves no refrigerador, e não debaixo de água corrente; (3) uso de tábuas de carne e facas separadas para a preparação dos alimentos crus e cozidos, para evitar o risco de contaminação cruzada a partir da superfície dos alimentos; (4) sempre limpar e desinfetar bem o equipamento após o uso e antes de

começar um novo processo; (5) uso de refrigeradores separados para armazenamento de alimentos crus e cozidos (especialmente as carnes). Não sendo isto possível, deve-se sempre guardar as carnes cruas na prateleira de baixo da geladeira, de modo que o sangue não derrame sobre os alimentos cozidos, contaminando-os. Nunca armazenar derivados de leite, tortas doces, pudins, etc., no mesmo compartimento onde guarda carnes cruas, peixes ou aves; (6) lavar muito bem as mãos toda vez que manipular alimentos crus e cozidos, em especial as carnes de aves; (7) manter os produtos alimentícios fora da zona de perigo para evitar a multiplicação das bactérias, e prestar atenção especial à temperatura dos cozidos, molhos, etc., que devem ser mantidos quentes até o momento de servir; e (8) nunca consumir alimentos não tratados, como o leite, sem ferver.

Apesar de mensagens quanto aos perigos associados com carne crua ou produto animal cozido insuficientemente, um número substancial de pessoas cientes destas mensagens continua comendo carne crua ou mal passada, tornando-se vítimas de surtos de infecção alimentar. Isto mostra o importante papel das atividades educacionais ao consumidor, prevenindo surtos de infecção alimentar. Embora o comportamento humano às vezes seja difícil para mudá-lo, repetidas mensagens de educação em saúde constituem melhores estratégias para alcançar sucessos. Reportagens de surtos pela mídia e introdução de segurança alimentar no currículo de escolas para jovens, são estratégias em potencial (ROELS et al., 1997).

ISOLAMENTO

Segundo a Resolução nº 12, que aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimen-

tos (BRASIL, 2001), a metodologia para amostragem, coleta, condições de acondicionamento, de transporte e de análise, obedece o disposto pelo Codex Alimentarius, pelo International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), pelo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (American Public Health Association) e pelo Bacteriological Analytical Manual (AOAC/FDA), últimas edições, bem como outras referências internacionais reconhecidas.

Os limites e tolerâncias para as diferentes classes de produtos alimentícios, devem obedecer os critérios e padrões específicos. Os critérios e respectivos limites para salmonelas é ausência em 25 g ou mL da amostra de alimentos (ibid.).

De acordo com SILVA et al. (1997) e SIQUEIRA (1995), a metodologia recomendada para a detecção de *Salmonella*, embora apresente algumas variações na seleção dos meios de cultura e forma de preparação das amostras, segue basicamente a qualquer tipo de alimento:

Pré-enriquecimento em caldo não seletivo: objetivo de recuperar células injuriadas. Transfere-se 25 g ou 25 mL da amostra para um frasco de homogeneização contendo 225 mL de caldo de pré-enriquecimento. Incubar os frascos a 35-37°C/ 18-24 horas. O meio para o pré-enriquecimento pode variar dependendo do tipo da amostra, podendo ser Caldo Lactosado (uso geral); Água Destilada Verde Brilhante (leite em pó e misturas lácteas); Leite em Pó Desnatado Verde Brilhante (chocolates, balas e confeitos); Caldo Trypticase de Soja (condimentos e levedura seca) e Caldo Nutriente (glacês e coberturas similares).

Enriquecimento em caldo seletivo: objetivo de inibir a multiplicação da microbiota acompanhan-

te e promover o crescimento de células de *Salmonella*. Os meios utilizados geralmente são o Caldo Tetrationato (TT) e o Caldo Selenito Cistina (SC), é também recomendado o Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) modificado. Homogeneizar o frasco com o caldo de pré-enriquecimento e transferir 1,0 mL para 10,0 mL de TT e 1,0 mL para 10,0 mL de SC. Incubá-los por 18 a 24 horas, em temperatura 35-37°C.

Plaqueamento seletivo diferencial: objetivo de promover o desenvolvimento preferencial de UFCs de *Salmonella*, com características típicas, para posterior confirmação sorológica e bioquímica. Recomenda-se o plaqueamento com diferentes meios, no mínimo três. Os meios mais utilizados para o plaqueamento são o Ágar Bismuto Sulfito (ABS), o Ágar Entérico de Hektoen (HE), o Ágar Verde Brilhante (AVB), o Ágar *Salmonella-Shigella* (ASS) e o Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Homogeneizar os tubos de enriquecimento e estriar uma alça do caldo TT em placas de HE, ABS e XLD. Repetir este procedimento com o caldo SC. Incuba-se as placas em temperatura de 35-37°C/ 24 horas, e verifica-se se há desenvolvimento de UFCs típicas de *Salmonella*. No Ágar HE as UFCs são transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro negro. UFCs de fermentadores de lactose ou sacarose são de cor salmão e não transparentes. O Ágar BS apresenta UFCs marrons ou pretas sem brilho metálico. Ágar XLD apresenta UFCs transparentes, cor de rosa escuro, com ou sem centro preto, cepas de fermentadores de lactose ou sacarose produzem colônias amarelas com ou sem centro preto.

Confirmação (testes preliminares - triagem): objetivo de verificar se as colônias típicas obtidas nas placas são realmente colônias de *Salmonella*. Na triagem, as colônias são submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, fermentação da lactose

TABELA 1 Esquema abreviado de Kauffmann-White.

Sorotipo	Fórmula Antigênica			
	Grupo	Antígeno O	Antígeno H	
			Fase 1	Fase 2
<i>S. paratyphi A</i>	A	1, 2, 12	a	---
<i>S. paratyphi B</i>	B	1, 4, 5, 12	b	1, 2
<i>S. typhimurium</i>		1, 4, 5, 12	i	1, 2
<i>S. agona</i>		4, 12	f, g, s	---
<i>S. derby</i>		1, 4, 5, 12	f, g	1, 2*
<i>S. choleraesuis</i>		6, 7	c	1, 5
<i>S. oranienburg</i>	C ₁	6, 7	m, t	---
<i>S. infantis</i>		6, 7	r	1, 5
<i>S. newport</i>	C ₂	6, 8	e, h	1, 2
<i>S. typhi</i>	D ₁	9, 12, Vi	d	---
<i>S. anatum</i>	E ₁	3, 10	e, h	1, 6

* Pode ou não ocorrer.

Fonte: Trabulsi, 1991, p. 159.

TABELA 2 Relações entre as classificações das salmonelas.

Le Minor & Manual Bergey's (1 espécie – <i>S. choleraesuis</i> com 6 subespécies)	Kauffmann (1 gênero com 4 subgêneros)	Edwards & Ewing (1 gênero com 3 espécies)
<i>Choleraesuis</i>	I	<i>S. choleraesuis</i> , <i>S. typhi</i> e <i>S. enteritidis</i> (maioria dos sorotipos)
<i>Salamae</i>	II	<i>S. enteritidis</i> (parte dos sorotipos)
<i>Arizonae</i>	III (sorotipos monofásicos)	Gênero Arizona
<i>Diarizonae</i>	III (sorotipos difásicos)	<i>S. enteritidis</i> (alguns sorotipos)
<i>Houtenae</i>	IV	<i>S. enteritidis</i> (alguns sorotipos)
<i>Bongori</i>	---	<i>S. enteritidis</i> (alguns sorotipos)

Fonte: Trabulsi, 1991, p. 158.

e/ou sacarose e produção de H₂S, no Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Tríplíce Açúcar Ferro (TSI), que permitem eliminar das etapas subsequentes boa parte das UFCs de não *Salmonella*. Com o auxílio de uma agulha de inoculação, remover uma porção da UFC típica e inocular em tubos inclinados de TSI e LIA. Incubase os tubos a 35-37°C/ 18-24 horas e

observa-se se há ocorrência de reação típica de *Salmonella*: TSI com rampa alcalina (vermelha), pois aerobicamente desdobra a peptona, gerando compostos aminados alcalinos, e fundo ácido (amarelo), pois desdobra a glicose por via fermentativa, ocorrendo produção de ácido, com ou sem produção de H₂S provindo de aminoácidos sulfurados, os sais de

metais pesados capturam o H₂S dando uma coloração negra. LIA com fundo e rampa alcalinos (púrpura, sem alteração da cor do meio), com ou sem produção de H₂S. Reação atípica em LIA, que não deve ser descartada se as demais reações em TSI se apresentarem típicas: fundo amarelo com rampa alcalina, com ou sem produção de H₂S.

TABELA 3 Distribuição de sorotipos de *Salmonella* spp.

Sorotipos	Número de <i>Salmonella</i> spp. Isoladas			
	Fezes	Diafragma	Sala de matança	Câmara fria
<i>S. brandenburg</i>	24	--	2	--
<i>S. bredeny</i>	1	--	--	--
<i>S. derby</i>	4	3	--	1
<i>S. hadar</i>	1	--	--	--
<i>S. heidelberg</i>	1	--	--	--
<i>S. infantis</i>	2	--	2	--
<i>S. london</i>	2	--	--	--
<i>S. saint-paul</i>	1	--	--	--
<i>S. thompson</i>	--	--	--	1
Total	36	3	4	2

Fonte: Mafu et al., 1989, p. 643.

TABELA 4 Principais provas bioquímicas para *Salmonella* spp.

Provas Bioquímicas	Resultados
Citrato de Simmons	+
Lisina Descarboxilase	+
Fenilalanina Desaminase	-
Malonato	-
Vermelho de Metila	+
Voges-Proskauer	-
Indol	-
Hidrólise da Gelatina	-
KCN	-
Lactose	-
Glicose	+
Dulcitol	+
Motilidade	+
Urease	-

Fonte: Siqueira, 1995, p. 100.

Confirmação (testes adicionais - bioquímica e sorologia): objetiva identificar UFCs de *Salmonella*, através de provas bioquímicas. UFCs características nesses meios devem

ser submetidas ao teste sorológico somático polivalente, para a confirmação. Alguns meios para os testes são o Caldo Uréia de Christensen; Caldo Vermelho de Fenol 0,5%

Dulcitol; Caldo vermelho de Fenol 1,0% Lactose; Caldo Vermelho de Fenol 1,0% Sacarose; Caldo Tripton 1%; Caldo Malonato Modificado; Caldo VM-VP; Ágar Citrato de Simmons; Caldo Descarboxilase de Moeller 1% Lisina; Reagente de Kovacs para teste de indol; Solução de Vermelho de Metila para teste de VM; Reagentes de Barrit para teste de VP (Solução de a-naftol 5%, Solução de KOH 40%, Creatina em cristais); Solução Salina Formalizada (Formalina); Anti-soro somático polivalente (Poli O) e Anti-soro flagelar polivalente (Poli H). No teste da Urease observar viragem alcalina do indicador, com alteração da cor do meio de pêssego para cor de rosa escuro (teste positivo) pois alguns microrganismos produzem urease com produção de amônia que eleva o pH, ou permanência do meio na cor original (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* é urease negativa. No teste de fermentação do Dulcitol observar a ocorrência de viragem ácida do indicador, alterando a cor do meio de avermelhada para amarela (teste positivo). A viragem alcalina do indicador (de avermelhado para rosa

escuro) ou não alteração da cor do meio indica teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* fermenta o dulcitol. No teste do Indol observar o aparecimento de um anel vermelho na superfície do meio após a adição do Reagente de Kovacs (teste positivo), pois os microrganismos degradam a molécula de triptofano em indol; ou se o anel permanece amarelado (teste negativo). As cepas de *Salmonella* são indol negativas. No teste do Malonato observar viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul (teste positivo) ou permanência da cor verde do meio inalterada (teste negativo). Eventualmente pode ocorrer viragem ácida do indicador, alterando a cor do meio para amarelo, devido à fermentação da glicose (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* é malonato negativa. No teste da Fermentação da Lactose e Sacarose observar o mesmo descrito para fermentação do dulcitol. A maioria das cepas de *Salmonella* não fermenta a lactose e a sacarose. No teste de Vermelho de Metila (VM) adiciona-se 5 gotas de Vermelho de Metila e observa-se imediatamente se o meio adquire uma coloração vermelha (teste positivo), pois alguns microrganismos produzem e mantêm estáveis produtos ácidos finais da fermentação da glicose; ou amarela (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* são VM positivas. Para o teste de Voges-Proskauer (VP) adiciona-se 0,6 mL de solução de α -naftol 5% e agita-se. Adiciona-se em seguida 0,2 mL de solução de KOH 40%, agitar e adicionar uma pitada de cristais de creatina, para acelerar a reação. Deixar descansar e observar a reação até 1 hora. O desenvolvimento de uma cor vermelha ou rósea no meio de cultura mostra teste positivo, pois certos microrganismos produzem acetilmetilcarbinol durante a fermentação da glicose, a permanência do meio na cor do re-

agente (amarelada ou ligeiramente esverdeada) indica teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* é VP negativa. Para o teste de Citrato deve-se observar se há crescimento com viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul (teste positivo), pois os microrganismos são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono, provocando a elevação do pH devido a metabolização de íon citrato. A não ocorrência de crescimento, mantendo a cor do meio inalterada, indica teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* é citrato positiva. No teste de Fenilalanina, após a incubação a 35-37°C/24 horas, adiciona-se Cloreto Férrico e observa-se o aparecimento da cor verde se o ácido fenil pirúvico tiver sido formado (teste positivo), ou a cor do meio não muda (teste negativo). As cepas de *Salmonella* são fenilalanina desaminase negativas. No teste da Motilidade (SIM) observa-se a migração de microrganismos da linha de inoculação, difundindo-se por todo o meio (teste positivo), ou não ocorre a migração de microrganismos (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* é motilidade positiva.

Após as provas bioquímicas (ou durante), recomenda-se fazer a técnica de coloração em lâminas pelo método de Gram, para identificar e confirmar o crescimento de bastonetes Gram negativos.

O teste sorológico somático polivalente é feito para uma confirmação definitiva. Utiliza-se UFCs a partir do TSI, divide-se uma lâmina de vidro com lápis de marcar; transfere-se uma alçada para um lado da lâmina de vidro e adiciona-se uma gota de solução salina fisiológica estéril e emulsiona-se a cultura. ao lado, adiciona-se uma gota do soro somático ou flagelar polivalente anti-*Salmonella* e emulsiona-se bem. Observa-se se ocorre aglutinação no lado em que foi colocado o soro. Compara-se com a apa-

rência da emulsão com solução salina (SILVA Jr., 1996).

Resumindo, segundo SIQUEIRA (1995), as culturas de *Salmonella* spp. apresentam comportamento bioquímico descrito na TABELA 4.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. S.; GONÇALVES, P. M. R. & FRANCO, R. M. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. *Higiene Alimentar*. Vol. 16, nº 96. Maio. 2002, p. 77-81.
- AQUINO, J. S.; VASCONCELOS, J. C. & SILVA, M. S. B. Ocorrência de bactérias do gênero *Salmonella* em carne moída comercializada na cidade de Manaus (AM). *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. Vol. 10, nº 2. Julho/Dezembro. 1992, p. 194-200.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I e II. *Diário Oficial*. Brasília. 10 de janeiro de 2001, p. 45-53.
- COELHO, M. S. L.; GUIMARÃES, W. V.; BORGES, A. C.; SILVA, D. O. & ARAÚJO, E. F. Sobrevivência de *Salmonella* em carne bovina moída armazenada em baixas temperaturas. *Revista de Microbiologia*. Vol. 15, nº 1. Janeiro/Março. 1984, p. 17-23.
- ESCARTIN, E. F.; CASTILLO, A.; HINOJOSA-PUGA, A. & SALDAÑA-LOZANO, J. Prevalence of *Salmonella* in chorizo and survival under different storage temperatures. *Food Microbiology*. Nº 16. 1999, p. 479-486.
- FLORENTINO, E. R.; LEITE Jr., A. F.; SÁ, S. N.; et al. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande-PB. *Higiene Alimentar*.

- Vol. 11, no 47. Janeiro/Fevereiro. 1997, p. 38-41.
- FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. Atheneu: São Paulo. 1996, 182 p.
- FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M.; SHIMOKOMAKI, M. & AZEVEDO, C. H. M. Condições higiênicas-sanitárias do charque comercializado em São Paulo, Brasil. *Revista de Microbiologia*. Vol. 18, nº 1. Janeiro/Março. 1987, p. 98-102.
- FRAZIER, W. C. & WESTHOFF, D. C. *Microbiología de los Alimentos*. 4a edición. Editorial Acribia: Zaragoza. 1993, 681 p.
- GALARDA, I.; LIMA, M. L. P. S.; MIKOSZEWSKA, I. & ELIAS, A. Pesquisa de *Salmonella* em produtos alimentares de origem animal. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. Vol. 9, nº 2. Julho/Dezembro. 1991, p. 170-177.
- HAYES, P. R. *Microbiología y Higiene de los Alimentos*. Editorial Acribia: Zaragoza. 1993, 369 p.
- HAZELWOOD, D. & McLEAN, A. C. *Manual de Higiene Para Manipuladores de Alimentos*. Varela: São Paulo. 1994, 140 p.
- HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; FILHO, J. H. G. & VINTURIM, T. M. Análise microbiológica e sensorial de lingüiça de frango produzida artesanalmente. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. Vol. 14, nº 1. Janeiro/Junho. 1996, p. 49-58.
- HOFFMAN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H. & VINTURIM, T. M. Estudo higiênico-sanitário de amostras de diferentes produtos cárneos. *Higiene Alimentar*. Vol. 13, nº 63. Julho/Agosto. 1999, p. 43-47.
- HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M.; et al. Determinação da qualidade microbiológica de diferentes marcas comerciais de massas alimentícias. *Higiene Alimentar*. Vol. 11, no 49. Maio/Junho. 1997, p. 27-30.
- HOLT, G. J.; KRIEG, R. N.; SNEATH, P. H. A. et al. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. Williams & Wilkins: Baltimore. 1994, 787 p.
- JAY, J. M. *Microbiología Moderna de los Alimentos*. 3a edición. Editorial Acribia: Zaragoza. 1994, 804 p.
- MAFLA, A. A.; HIGGINS, R.; NADEAU, M.; et al. The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *Journal of Food Protection*. Vol. 52, no 9. September. 1989, p. 642-645.
- MOTA, C. C. S.; VIEIRA, H. R. A.; PUZYNA, I. P.; et al. Toxinfecção alimentar por *Salmonella enteritidis*. Relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/Julho de 1981. *Higiene Alimentar*. Vol. 2, no 3. Setembro. 1983, p. 123-131.
- NG, D. P. K.; GOH, K. T.; YEO, M. G. C. & POH, C. L. An institutional outbreak of *Salmonella enteritidis* in Singapore. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. Vol. 28, nº 1. March. 1997, p. 85-90.
- PELAYO, J. S. & SARIDAKIS, H. O. Sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos cárneos em Londrina - Paraná. *Revista de Microbiologia*. Vol. 19, nº 1. Janeiro/Março. 1988, p. 17-21.
- PICCOLO, R. C.; PIMENTEL, E. P.; FÁVERO, L. M. et al. Surto de salmonelose ocorrido em cantina escolar, no município de São Paulo, em 1991. *Higiene Alimentar*. Vol. 06, no 23. Setembro. 1992, p. 28-30.
- ROELS, T. H.; FRAZAK, P. A.; KAZMIERCZAK, J. J.; MACKENZIE, W. R.; PROCTOR, M. E.; KURZYNSKI, T. A. & DAVIS, J. P. Incomplete sanitation of a meat grinder and ingestion of raw ground beef: contributing factors to a large outbreak of *Salmonella typhimurium* infection. *Epidemiology and Infection*. nº 119. 1997, p. 127-134.
- SILVA Jr., E. A. *Manual de Controle Higiênico-sanitário em Alimentos*. 2a edição. Varela: São Paulo. 1996, 385 p.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. & SILVEIRA, N. F. A. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. Varela: São Paulo. 1997, 295 p.
- SIQUEIRA, R. S. *Manual de Microbiologia de Alimentos*. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agro-industrial de Alimentos (Rio de Janeiro-RJ). Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA. 1995, p.159.
- TANCREDI, R. C. P. Prevalência de surtos de toxinfecções alimentares envolvendo alimentos de origem animal, ocorridos no município do Rio de Janeiro durante o período de 1986 a 1988. Niterói, 1990. p.135. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense.
- TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M. & ZANATTA, G. F. Prevalência de *Salmonella enteritidis* em carcaças de frango industrialmente processadas. *Higiene Alimentar*. Vol. 17, no 107. Abril. 2003, p. 52-55.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, R. B. & CASE, C. L. *Introducción a la Microbiología*. Editorial Acribia: Zaragoza. 1993, 792 p.
- TÓRTORA, J. C. O. Epidemiologia das doenças microbianas transmitidas por alimentos. *Germinis - Boletim Informativo do Conselho Federal de Biologia*. Ano 1, no 5. Janeiro/Fevereiro. 1998, p. 08.
- TRABULSI, L. R. *Microbiologia*. 2a edição. Atheneu: Rio de Janeiro. 1991, 398 p.
- VASCONCELOS, J. C. & IARIA, S. T. Condições microbiológicas (higiênico-sanitárias) das lingüiças frescas comercializadas em feiras livres no município de São Paulo-SP. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. Vol. 9, nº 2. Julho/Dezembro. 1991, p. 106-121. ♦