

AUSÊNCIA DE *YERSINIA ENTEROCOLITICA* EM ALIMENTOS, E RESERVATÓRIOS ANIMAIS, EM ÁREAS DO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

Tereza Cristina Arcanjo Leal, Nilma Cintra Leal
e Alzira Maria Paiva de Almeida

Através das análises efetuadas, em 96 amostras de hortaliças cruas, coletadas em 5 restaurantes da cidade do Recife, que servem almoço no peso, não foram encontradas Yersinia enterocolitica nem outras enterobactérias patogênicas. As análises realizadas a partir dos "swabs" orais e retais, obtidos em 15 suínos aparentemente saudáveis do município de Bonito, no Estado de Pernambuco, também não evidenciaram a presença de Y. enterocolitica. Foram obtidas amostras para análises em 22 roedores e um espécimen de marsupial, entre os quais também não foram encontrados nem Y. enterocolitica nem outros enteropatógenos.

Palavras-chaves: Yersinia enterocolitica. Alimentos refrigerados. Reservatórios animais.

Yersinia enterocolitica, bactéria Gram-negativa, da família Enterobacteriaceae, é um patógeno emergente, que está se disseminando ultimamente em todo o mundo. Sua incidência em alguns países, como agente de diarreia, é equivalente a de *Salmonella* e *Campylobacter*¹. A espécie é muito heterogênea do ponto de vista bioquímico, sorológico, níveis de patogenicidade e repartição geográfica. As cepas de *Y. enterocolitica* estão distribuídas em mais de 60 sorotipos; entretanto, apenas alguns são patogênicos³. Anteriormente, alguns sorotipos patogênicos (O:8; O:13; O:18; O:20; O:21), só eram encontrados nos USA e ficaram conhecidos como sorotipos "Americanos" enquanto os demais foram designados, "Não Americanos"¹⁷. Nos últimos anos, a prevalência de *Y. enterocolitica* tem aumentando e sua repartição geográfica está se modificando. Atualmente, a incidência do sorotipo O:3 está aumentando nos USA e o sorotipo O:8 vem gradualmente se dispersando pelo mundo^{11 12 17}. Os suínos são considerados reservatórios de *Y. enterocolitica* porque os sorotipos patogênicos

para o homem são freqüentemente encontrados na orofaringe e fezes desses animais. Também existem portadores humanos, sãos ou doentes⁴¹⁹.

Y. enterocolitica tem a propriedade de se desenvolver a 4°C, o que permite sua multiplicação nos alimentos refrigerados (vegetais crus, leite e derivados, carne e derivados) provocando surtos de diarreia¹⁸. Também pode se multiplicar em bolsas coletoras de sangue, a partir de doadores portadores-assintomáticos e acarretar acidentes sépticos pós-transfusionais¹⁹.

Na cidade do Recife, o número de restaurantes que serve refeições "no peso" está aumentando. Nesses estabelecimentos pode-se encontrar grande variedade de saladas frias, cruas, preparadas com antecedência e refrigeradas, para uso posterior. Considerando a possibilidade de multiplicação de *Y. enterocolitica* nesses alimentos, que passariam a constituir um meio de proliferação e conseqüentemente de transmissão da bactéria, realizamos uma investigação sobre a ocorrência de *Y. enterocolitica* em alimentos vegetais crus e nos possíveis reservatórios, no meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Pesquisa de Yersinia enterocolitica nos alimentos. Obtenção das amostras. As amostras (\pm 20g) foram coletadas em 5 restaurantes da cidade do Recife, que servem almoço no peso e transportadas para o laboratório, em copos descartáveis, envolvidos em filme de PVC. As

Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz/MS, Recife, PE.

Trabalho financiado pela FACEPE, Processo:APQ.0237-2.12/94.

Endereço para correspondência: Dr^a Alzira de Almeida.

CPqAM/FIOCRUZ/MS. Campus da UFPE. Caixa Postal 7472,

Cidade Universitária, 50670-420, Recife, PE, Brasil.

Fax: (081) 453 1911.

Recebido para publicação em 23/09/96.

amostras foram processadas com base nos métodos descritos mais recentemente^{7 8 13 16}.

Cultivo das amostras. As amostras foram trituradas com bastão de vidro estéril e suspensas em 20ml de água peptonada pH 7,6. Após agitação em vortex e decantação, 1 alça do sobrenadante foi plaqueada nos meios agar MacConkey e/ou agar *Salmonella-Shigella* (SSA) ou Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin agar (CIN), para isolamento direto. As placas foram incubadas a 28°C durante 24h. Os sobrenadantes de cada amostra foram conservados a +4°C para enriquecimento seletivo e submetidos a plaqueamentos sucessivos durante 3 semanas, ou mais, da maneira descrita.

Identificação das bactérias. De cada placa, 3 colônias com morfologia compatível foram submetidas à triagem preliminar pelo teste da oxidase e reações nos meios agar tríplice açúcar ferro (TSI) com Uréia e Indol (TSI/uréia/indol) e agar lisina ferro (LIA). Esta identificação presuntiva era complementada pela reação no meio agar citrato de Simmons e pela prova de triptofano desaminase (TDA). A identificação final foi realizada em galerias API 20E (bioMérieux).

Pesquisa de *Yersinia* e *Salmonella* em suínos e pequenos mamíferos. Obtenção e cultivo das amostras. As amostras para análise, dos suínos, foram coletadas imediatamente após o abate dos animais, no matadouro do município de Bonito no Estado de Pernambuco. De cada animal, foram realizados 2 “swabs”: um oral para pesquisa de *Y. enterocolitica* e outro retal para pesquisa de *Y. enterocolitica* e *Salmonella*. Os “swabs” foram inoculados no meio Cary & Blair para serem transportados ao laboratório onde foram imediatamente plaqueados em SSA, incubados a 28°C, para isolamento direto. Paralelamente, os “swabs” orais foram inoculados em água peptonada, para enriquecimento seletivo em *Y. enterocolitica* a +4°C, seguindo-se do plaqueamento sucessivo durante 3 semanas, da maneira já descrita, enquanto os “swabs” retais foram inoculados diretamente em caldo tetracionato, para pesquisa de *Salmonella*. Após incubação a 37°C por 24h, os caldos foram plaqueados em SSA, incubados a 37°C por 24h.

Nos pequenos mamíferos, as análises foram realizadas em material de vinte e dois animais capturados no município de Amaraji/PE e transportados ao laboratório onde foram

sacrificados e necropsiados. De cada animal, foi retirado um fragmento intestinal na região da junção íleo-cecal. Os fragmentos de intestino foram colocados em água peptonada e caldo tetracionato e processados como descrito, anteriormente.

Identificação das bactérias. A identificação das bactérias foi realizada como descrito acima. As culturas que apresentaram reações bioquímicas compatíveis de *Salmonella*, foram submetidas à prova de aglutinação com soro polivalente OH e analisadas em galeria API 20E. Para confirmação, as culturas foram enviadas ao Laboratório de Referência em *Salmonella* no IOC/FIOCRUZ (Rio de Janeiro/RJ).

RESULTADOS

Pesquisa de *Yersinia enterocolitica* em alimentos. No período de janeiro a agosto de 1995, foram coletadas 96 amostras de alimentos apresentados nos balcões, no horário do almoço, em 5 restaurantes da cidade do Recife, que servem refeições no peso. Foram obtidas amostras de alface, beterraba, cebola, cenoura, pepino, pimentão, repolho e tomate (cortados em tiras, fatias ou triturados) e em vários tipos de saladas cruas. Não foi encontrada *Y. enterocolitica* nem outra enterobactéria patogênica nas amostras analisadas.

Pesquisa de *Yersinia* e *Salmonella* em suínos e pequenos mamíferos. As análises realizadas a partir dos “swabs” orais e retais, obtidos em 15 suínos, não evidenciaram a presença de yersínias. Entretanto, foi encontrada, *Salmonella spp* no “swab” de garganta de um animal e nos “swabs” retais de outros dois animais.

Foram obtidas amostras para análises em roedores silvestres (8 *Bolomys lasiurus* e 3 *Nectomys squamipes*), roedores comensais (9 *Rattus rattus alexandrinus* e 1 *Rattus rattus frugivorus*), e em um marsupial (1 *Didelphis albiventris*) perfazendo um total de vinte e dois animais examinados. Não foi encontrada nenhuma yersínia ou outro enteropatógeno nas amostras examinadas.

DISCUSSÃO

Foi observada a ausência de *Yersinia enterocolitica* e outras enterobactérias patogênicas, em alimentos vegetais crus, servidos nos restaurantes que oferecem refeições no peso, na cidade do Recife.

Recentemente, nesta mesma cidade, Padilha e Fernandez²² também constataram a ausência de *Y. enterocolitica* em amostras de leite pasteurizado. Todavia, Padilha²¹ efetuou um isolamento de *Yersinia intermedia*, um de *Yersinia frederiksenii* e dois de *Salmonella spp*, nas mesmas amostras de leite. A identificação de *Y. enterocolitica*, em material de origem clínica, nos laboratórios de análise locais, é muito rara^{9 14}. Considerando que a metodologia empregada na rotina desses laboratórios não visa o isolamento de *Y. enterocolitica*, sua ocorrência poderia estar sendo subestimada. Entretanto, no sul do Brasil, *Y. enterocolitica* e espécies ambientais têm sido encontradas fortuitamente ou sempre que são pesquisadas^{9 10}. Numerosos isolamentos de *Y. enterocolitica* têm sido realizados em amostras clínicas na cidade de São Paulo sem emprego de nenhuma metodologia especial⁶. No Estado do Rio de Janeiro, esta bactéria também foi encontrada em suínos, no homem e em cães sadios^{15 20}, em diversos alimentos comercializados (leite, carnes e derivados, vegetais crus) e na água^{23 24}. No Rio Grande do Sul, *Y. enterocolitica* foi isolada de suínos diarreicos⁵.

Embora esporádicos, os registros do encontro de *Y. enterocolitica* na cidade do Recife^{9 14} sugerem a existência de uma fonte de infecção, a partir da qual, a bactéria poderia se disseminar em condições adequadas. Entretanto, apesar da expansão mundial da *Y. enterocolitica*, que vem ocorrendo nos últimos anos, das modificações da repartição geográfica de alguns sorotipos^{11 12 17}, e mesmo do que se observa no sul do Brasil onde espécies enteropatogênicas e ambientais de yersínia são frequentemente encontradas; no Estado de Pernambuco sua incidência ainda é discreta.

Pode-se atribuir esta desigualdade da distribuição geográfica da *Y. enterocolitica* no nordeste e sul do País às diferenças ecológicas existentes entre as duas regiões. No plano mundial, os maiores índices de isolamento de *Y. enterocolitica* têm sido registrados durante a estação invernal nos países de clima temperado, especialmente na Escandinávia e América do Norte¹⁸. Além disso, parece existir uma divisão territorial entre *Yersinia pestis* (agente da peste) e as yersínias enteropatogênicas¹⁸. Como as condições ecológicas no nordeste favorecem a permanência da *Y. pestis* nas populações de roedores em vários focos naturais², pode-se

supor que essas mesmas condições atuem como uma barreira na disseminação das outras yersínias.

Este levantamento preliminar que demonstra a ausência de *Y. enterocolitica* em alimentos e animais poderá servir de referência para detectar modificações ao longo do tempo, tais como, um eventual aumento da prevalência de *Y. enterocolitica* entre a população humana ou sua instalação em reservatórios animais.

SUMMARY

A search for the presence of enteropathogenic bacteria in fresh vegetables obtained in 5 restaurants from the city of Recife, revealed neither Yersinia enterocolitica nor other pathogenic bacteria in 96 samples analyzed. Furthermore, Y. enterocolitica was not found in the oral and rectal swabs taken from 15 apparently healthy pigs at an abattoir in the municipality of Bonito in the Pernambuco State. Another search in which twenty one rodents from four species and one marsupial specimen were examined did not detect the presence of Yersinia and other enteropathogenic bacteria.

Key-words: *Yersinia enterocolitica. Fresh vegetables. Animal reservoirs.*

AGRADECIMENTOS

Ao veterinário Rodolfo Amaral pela colaboração na coleta dos "swabs" nos suínos; ao Dr. Ernesto Hofer, pela confirmação sorológica dos isolados de *Salmonella*; à Sra. Yara Nakasawa, Técnica de Laboratório, pela assistência técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andersen JK, Saunders, NA. Epidemiological typing of *Yersinia enterocolitica* by analysis of restriction fragment length polymorphisms with a cloned ribosomal RNA gene. *Journal of Medical Microbiology* 32:179-187, 1990.
2. Baltazard M. Viagem de estudo ao Brasil para a organização de um projeto de pesquisas sobre a peste. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 20:335-367, 1968.
3. Bottone EJ. *Yersinia enterocolitica*: a panoramic view of a charismatic microorganism. *CRC. Critical Review in Microbiology* 5:211-241, 1977.
4. Carniel E, Mollaret HH. Yersiniosis. *Comparative Immunology and Microbiology of Infectious Diseases* 13:51-58, 1990.

Leal TCA, Leal NC, Almeida AMP. Ausência de *Yersinia enterocolitica* em alimentos, e reservatórios animais, em áreas do Estado de Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30:193-196, mai-jun, 1997.

5. Castro AFP, Ricci LC, Almeida ACP, Oliveira MS. Virulence factors of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs. *Revista de Microbiologia, São Paulo* 14:48-54, 1983.
6. Ceccarelli VRSM, Schmidt C, Trabulsi LR. Isolamento de *Yersinia enterocolitica* em um laboratório da cidade de São Paulo. *Revista de Microbiologia, São Paulo* 21:364-365, 1990.
7. De Ryck R, Struelens MJ, Serruys E. Rapid biochemical screening for *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, and *Aeromonas* isolates from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 32:1583-1585, 1994.
8. Devenish JA, Schieman DA. An abbreviated scheme for identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from food enrichments on CIN agar. *Canadian Journal of Microbiology* 27:937-941, 1981.
9. Falcão DP. Yersiniosis in Brazil. *Contribution Microbiology and Immunology* 9:68-75, 1989.
10. Falcão DP. Occurrence of *Yersinia* spp in foods in Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 14: 179-182, 1991.
11. Ichinohe H, Yoshioka M, Fukushima H, Kaneko S, Maruyama T. First isolation of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 29:846-847, 1991.
12. Iinuma Y, Hayashidani H, Kaneko K-I, Ogawa M, Hamasaki S-I. Isolation of *Yersinia enterocolitica* serovar O:8 from free-living small rodents in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 30:240-242, 1992.
13. Kontiainen S, Sivonen A, Renkonen O-V. Increased yields of pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains by cold enrichment. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 26:685-591, 1994.
14. Leal NC, Cavalcanti TIR, Silva MJB, Reis EMF, Solari CA, Hofer E. Frequência de enterobactérias patogênicas em processos diarréicos infantis na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 83:475-479, 1988.
15. Mendonça CL, Lázaro NS, Duque VM, Hofer E. Fatores de virulência em *Yersinia enterocolitica* O:3 isoladas de suínos sadios, Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 15:11-14, 1995.
16. Mendonça CL, Lázaro NS, Hofer E, Duque VM. Avaliação de técnicas de isolamento de *Yersinia enterocolitica* em espécimes de suínos. *Revista brasileira de Medicina Veterinária* 16:151-154, 1994.
17. Miller VL. *Yersinia* invasion genes and their products. *ASM News* 58:26-33, 1992.
18. Mollaret HH. Le monde des Yersinioses. *Médecine et Maladies Infectieuses* 12:658-663, 1982.
19. Mollaret HH, Wallet P, Gilton A, Carniel E, Duedari N. Le choc septique transfusionnel du a *Yersinia enterocolitica*: a propos de 19 cas. *Médecine et Maladies Infectieuses* 19:186-192, 1989.
20. Nunes PM, Ricciardi ID. *Yersinia enterocolitica*: isolamento concomitante de fezes de humanos e cão. *Revista de Microbiologia, São Paulo* 17:220-224, 1986.
21. Padilha MRF. Pesquisa de *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* em leite pasteurizado tipo "C". Tese de Mestrado, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 1996.
22. Padilha MRF, Fernandez ZF. Pesquisa de *Yersinia enterocolitica* em leites pasteurizados, comercializados na cidade de Recife: avaliação da qualidade microbiológica. I Encontro Norte e Nordeste da SBCTA. Fortaleza, CE: 17, 1995.
23. Tassinari AD, Franco BDGM, Landgraf M. Incidence of *Yersinia* spp. in food in São Paulo, Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 21:263-270, 1994.
24. Warnken MB, Nunes MB, Noletto ALS. Incidence of *Yersinia* in meat samples purchased in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista de Microbiologia, São Paulo* 50:578-579, 1987.