

ARTIGO

DOI: 10.3395/VD.V2I4.442

## *Escherichia coli* O157:H7 – patógeno alimentar emergente

### *Escherichia coli* O157:H7 – emerging food pathogen

Cheila Minéia Daniel de Paula<sup>1,II,\*</sup>Letícia Sopena Casarin<sup>I</sup>Eduardo Cesar Tondo<sup>I</sup>

#### RESUMO

Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 2,2 milhões de pessoas morrem anualmente em função de doenças hídras ou alimentares, a maioria dos quais são crianças. Estas doenças são causadas por patógenos já conhecidos, emergentes ou reemergentes, principalmente bactérias. A globalização tem contribuído na disseminação de patógenos de origem alimentar, aumentando o desafio relacionado à identificação da origem desses agentes e à elaboração de regulamentação e fiscalização adequadas. O cenário das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) muda constantemente e a prevalência de determinada doença varia de época para época, assim como os agentes etiológicos destas. Dentre os principais patógenos emergentes em nível mundial, *E. coli* O157:H7 tem ganhado grande destaque nos últimos 20 anos, devido à severidade de seus surtos. Até pouco tempo, o Brasil era considerado livre desse patógeno, porém a bibliografia científica e registros epidemiológicos demonstram o contrário. Em vista disso, o presente artigo objetiva realizar uma revisão integrativa da literatura, enfocando as características, os métodos de isolamento e detecção e os dados epidemiológicos da *E. coli* O157:H7 no Brasil e no mundo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *E. coli* O157:H7; Patógenos Emergentes; Doenças Transmitidas por Alimentos

#### ABSTRACT

According to the World Health Organization, about 2.2 million people, most of whom are children, die each year due to water and foodborne illnesses. These illnesses are caused by known, emerging, or reemerging pathogens, mainly bacteria. Globalization has contributed to the spread of foodborne pathogens, increasing the challenge of identifying the origin of these agents and of developing appropriate regulation and monitoring. The scenario of Foodborne Illnesses (FI) constantly changes and the prevalence of a particular illnesses as well as its etiological agents, vary from season to season. Among the major emerging pathogens at a global level, *E. coli* O157:H7 has gained great prominence in the last 20 years, due to the severity of its outbreaks. Until recently, Brazil was considered to be free of this pathogen, but the scientific literature and epidemiological records prove otherwise. This article thus aims to perform an integrative review of the literature, focusing on the characteristics, isolation, and detection methods, and the epidemiological data of *E. coli* O157:H7 in Brazil and the world.

**KEYWORDS:** *E. coli* O157:H7; Emerging Pathogens; Foodborne Illnesses

<sup>I</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>II</sup> Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil

\* E-mail: cheilap@ufcspa.edu.br

Recebido: 03 set 2014

Aprovado: 24 out 2014



## INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as doenças transmitidas por alimentos (DTA) são aquelas causadas pela ingestão de alimentos ou de água contaminados e podem ser de natureza infecciosa, quando provocadas por microrganismos, ou tóxica, quando provocadas por toxinas químicas<sup>1</sup>. As DTA podem ainda ser causadas por agentes físicos<sup>1</sup>. As informações disponíveis no Brasil apontam as bactérias patogênicas e/ou suas toxinas, seguidas por vírus, como responsáveis pela maior parte dos surtos de DTA<sup>2</sup>. O mesmo cenário tem sido observado nos países europeus. Segundo a European Food Safety Authority (EFSA)<sup>3</sup>, informações apresentadas por 27 países da União Europeia no ano de 2012 indicaram que a maioria dos surtos notificados foram causados por *Salmonella*, toxinas bacterianas, vírus e *Campylobacter*, respectivamente. O mesmo, no entanto, não tem ocorrido nos Estados Unidos onde, segundo Scallan et al. (2011)<sup>4</sup>, os vírus têm sido os responsáveis pela maior parte dos surtos, porém as maiores taxas de mortalidade são atribuídas às bactérias.

Entre os principais agentes causadores de DTA, destacam-se aqueles designados como clássicos, ou seja, microrganismos bem conhecidos, clínica e epidemiologicamente, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, entre outros<sup>5</sup>.

Todavia, um problema que vem sendo observado é a reemergência desses patógenos ditos “clássicos”, os quais estiveram controlados, mas que voltaram a causar surtos, pois adquiriram novas características e ressurgiram veiculados por diferentes alimentos, causando novos tipos de infecções ou aparecendo em regiões onde anteriormente não existiam. Como, por exemplo, pode-se ressaltar surtos causados por *Salmonella* Enteritidis, relatados nos Estados Unidos e em vários países da Europa, desde o final da década de 1970<sup>6</sup>. Apesar de ser uma doença causada por um microrganismo clássico, a salmonelose causada por *S. Enteritidis* passou a ser considerada uma DTA causada por um patógeno reemergente, devido à incidência crescente, nas duas últimas décadas, em muitos países, incluindo o Brasil<sup>7,8,9,10</sup>.

Segundo Machado<sup>11</sup> (2013), a reemergência de agentes patogênicos depende de vários fatores, entre eles: os fatores demográficos, o comportamento humano, a adaptação microbiana, o desenvolvimento de novas técnicas de isolamento e identificação microbiana, os avanços na ciência e tecnologia e os diversos fatores econômicos.

Um problema igualmente importante, ou até mais sério, é o surgimento de novos patógenos, os quais não tinham sido até então identificados como causadores de DTA e, por algum motivo, começam a ser responsáveis por essas doenças. Tais microrganismos são chamados de patógenos alimentares emergentes. Na maioria das vezes, a emergência destes agentes tem impacto em toda a cadeia de produção de alimentos, constituindo um desafio para a saúde pública e gerando demanda de novas medidas de prevenção, controle e fiscalização.

*Escherichias coli* constitui um grupo de bactérias clássicas que normalmente habitam a microbiota intestinal do homem, sendo

tipicamente não patogênicas<sup>12,13</sup>. Entretanto, subgrupos de *E. coli* apresentam fatores de virulência que os tornam capazes de causar doenças. *Escherichia coli* produtoras de toxinas Shiga (STEC) formam um grupo de bactérias patogênicas envolvidas em surtos de DTA, do qual a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) constitui um subtipo<sup>14</sup>.

As STEC se destacam como bactérias emergentes relacionadas com a ingestão de alimentos<sup>15</sup>, uma vez que estão ligadas a um amplo espectro de doenças humanas que variam desde uma diarreia leve até severas diarreias sanguinolentas (colites hemorrágicas - CH) que podem evoluir para complicações extra intestinais graves como a Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), cuja mais grave possível sequelas é a falência renal e a Púrpura Trombocitopênica (PTT)<sup>16,17</sup>.

O termo *E. coli* enterohemorrágica é utilizado para as cepas que provocam CH, SHU ou PTT<sup>12,18,19,20</sup> e, de acordo com essa definição, todas as cepas EHEC são patogênicas<sup>21,22</sup> e constituem um importante grupo de patógenos emergentes transmitidos por alimentos nos últimos anos principalmente o sorotipo *E. coli* O157:H7<sup>23, 24, 16, 25</sup>.

*Escherichia coli* O157:H7 é o sorotipo de *E. coli* pertencente ao grupo EHEC que melhor representa a categoria de patógenos emergentes, desde sua primeira associação com surto alimentar em 1982, nos Estados Unidos<sup>26</sup>, no entanto, apesar da severidade dos sintomas, os surtos não foram amplamente divulgados na época.

Foi somente depois de uma década, em 1992, que *E. coli* O157:H7 ganhou notoriedade, quando acometeu mais de 700 pessoas em um surto de colite hemorrágica que resultou na morte de quatro crianças<sup>27</sup>. Desde então, esse microrganismo vem sendo reconhecido como um importante patógeno alimentar emergente em nível mundial<sup>28, 23,29,30</sup>.

Além do sorotipo O157:H7, outros sorotipos de STEC também são identificados como problema de saúde pública devido a sua associação com CH e SHU<sup>31,32</sup>. Acredita-se que, embora não sejam ainda muito estudadas, STEC não-O157 estão propensas a seguir uma tendência semelhante às STEC-O157<sup>33</sup>.

Em 2011, a Alemanha apresentou o maior surto com *E. coli* (STEC) já registrado. Este surto envolveu mais de 3.000 casos de diarreia com sangue e síndrome urêmica hemolítica. A investigação epidemiológica apontou o consumo de broto de feijo grego contaminado como a causa da doença e a transmissão fecal-oral foi relatada. O agente causador foi identificado como *E. coli* O104:H4 e o estudo das sequências do genoma desse patógeno revelou genes característicos de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e enteroagregativa (EAEC)<sup>34,35</sup>.

Apesar de *E. coli* O157:H7 ainda ser considerado o principal sorotipo envolvido com surtos de enfermidades veiculadas por alimentos entre as *E. coli* produtoras de toxina de Shiga (STEC), outros sorogrupos estão ganhando importância, como O26, O45, O103, O111, O121 e O145, os quais estão sendo denominados de “Top Six STEC non O157”<sup>36,37,38,39,15</sup>.



Nos Estados Unidos, os sorotipos O26, O45, O103, O111, O121 e O145 são responsáveis por 70% dos casos de doença devido à *E. coli* não-O157<sup>31,36,37,38,39</sup>. Estima-se que 20-50% das infecções sejam causadas por sorotipos de STEC não-O157, o que equivale a 37.000 casos por ano, nos Estados Unidos<sup>31,32</sup>. Por outro lado, o índice de hospitalizações e mortes causadas por STEC permanece maior para o sorogrupo O157 do que para sorogrupos não-O157<sup>4</sup>.

O sorotipo O157 continua sendo o mais conhecido patógeno alimentar sendo, sozinho, responsável por cerca de 50% das doenças causadas por STEC na União Europeia. Além disso, esse sorotipo está associado com os casos mais graves de CH e potencialmente fatais como SHU<sup>21,22</sup>.

No Brasil, existem poucos dados epidemiológicos disponíveis que associam alimentos com a ocorrência de SHU, contudo, registros demonstram a ocorrência de casos de SHU, nos últimos anos<sup>40,41</sup>. Uma provável explicação para a falta de associação da doença com surtos alimentares seria a não obrigatoriedade de pesquisa da *E. coli* O157:H7 em alimentos envolvidos em surtos. Além disso, as técnicas microbiológicas convencionais para isolamento de *E. coli* não são capazes de detectar *E. coli* O157:H7 ou suas toxinas<sup>42,43</sup>, e os métodos capazes de detectá-la não estão implementados na maioria dos laboratórios Centrais (LACENs). Talvez por estes motivos e muitos outros, até recentemente, o Brasil era considerado livre da *E. coli* O157:H7, contudo há relatos do isolamento desse microrganismo em território nacional em diversas bibliografias científicas e registros epidemiológicos<sup>14,15,44,45</sup>.

Em vista disso, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão integrativa, a fim de demonstrar o panorama atual da *E. coli* O157:H7 como patógeno emergente no Brasil e no mundo.

## METODOLOGIA

O trabalho foi realizado através de uma revisão integrativa sobre *E. coli* O157:H7 no Brasil e no mundo, com a finalidade de reunir e sintetizar resultados de pesquisas sobre esse microrganismo, de forma sistemática e ordenada, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre o mesmo<sup>46,47</sup>.

As etapas para elaboração da revisão foram as seguintes: identificação da questão de pesquisa e objetivo do estudo, busca da literatura, estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão de artigos, avaliação e análise dos dados seguido da apresentação e discussão<sup>48</sup>. A seleção dos artigos científicos foi realizada através de acesso on-line às bases de dados como Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Sumários.org, Lilacs (Literatura Latino Americana em Ciências de Saúde), Medline (National Library of Medicine and National Institutes of Health), utilizando-se as seguintes palavras chaves: *E. coli* O157:H7, patógenos emergentes, doenças transmitidas por alimentos, food pathogens, emerging pathogens, foodborne outbreaks. Para a pesquisa, utilizou-se também a busca de informações em livros de assuntos afins, na legislação em vigor e em sites de institutos de pesquisas, órgãos governamentais e revistas indexadas. Em função do baixo número de artigos científicos brasileiros sobre o assunto,

incluiu-se também trabalhos publicados na forma de resumos, dissertações e teses. A busca em diversas fontes teve como finalidade ampliar o âmbito da pesquisa e minimizar, na medida do possível, os vieses que podem surgir neste tipo de pesquisa.

Os critérios estabelecidos para inclusão das referências foram: artigos completos, resumos, dissertações ou teses disponíveis eletronicamente que abordam temas relacionados à DTA, patógenos emergentes, *E. coli* produtoras de toxina Shiga (STEC *E. coli*), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC *E. coli*) e SHU, disponíveis nos idiomas português, inglês ou espanhol. A busca ocorreu nos meses de julho a outubro de 2014 e incluiu referências entre os anos de 1982 a 2014.

### ***E. coli* O157:H7: características gerais, reservatórios, fatores de virulência e doenças associadas**

As linhagens do sorotipo O157:H7 apresentam a maioria das características bioquímicas típicas da espécie *E. coli*<sup>49</sup>, no entanto a dificuldade encontrada no isolamento e identificação deste microrganismo está nas principais características bioquímicas que a distinguem das demais linhagens de *E. coli*.

Entre as principais características que diferenciam *E. coli* O157:H7 das demais bactérias da espécie e que possibilitam o seu isolamento estão: a incapacidade de fermentar o sorbitol, a incapacidade de produzir a enzima  $\beta$ -glicuronidase (enzima que quebra o 4-metilumbiferil-B-D-glicuronídeo -MUG, fornecendo um produto fluorescente, detectável sob luz UV) e a multiplicação pobre ou nula a 44 °C em caldo *E. coli*<sup>50,51,19</sup>.

Estas características bioquímicas são utilizadas no isolamento de *E. coli* O157:H7<sup>43</sup>, no entanto a confirmação da identificação baseia-se, sobretudo, na presença de genes de virulência como a produção de toxina Shiga utilizando, para tanto, métodos moleculares<sup>18</sup>.

Bovinos têm sido identificados como o principal reservatório de *E. coli* O157:H7, uma vez que podem excretar o patógeno pelas fezes e assim contaminar alimentos, água e ambiente<sup>52,53,54,55</sup>. A maioria dos surtos causados por *E. coli* O157:H7 tem sido relacionada, principalmente, ao consumo de carne moída mal cozida<sup>56,57,2</sup>. No entanto, atualmente, surtos envolvendo alimentos não cárneos como leite e seus derivados não pasteurizados; sucos de frutas não pasteurizados; alface; espinafre; legumes crus e brotos de semente também tem sido relatados<sup>58,12</sup>.

Uma característica importante da *E. coli* O157:H7 é a sua baixa dose infectante, tão baixa quanto a da *Shigella*, ou seja, inferior a 10 organismos<sup>59,60,61,62</sup>. As doenças causadas por este microrganismo vão desde enfermidades moderadas até doenças severas, podendo apresentar três manifestações diferentes: Colite hemorrágica (CH), Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) e Trombocitopenia Trombótica Púrpura (TTP)<sup>63,25</sup>.

A CH é a forma de infecção menos grave, caracterizada por dores abdominais severas e diarreia aguda, com período de incubação médio de 3 a 4 dias. A reclamação inicial das vítimas, normalmente, é diarreia precedida de dor abdominal e febre baixa. Um ou dois dias, após o aparecimento dos primeiros sintomas,



a diarreia passa a sanguinolenta e aumentam as dores abdominais. Esta dor abdominal é descrita como de igual intensidade da “dor do parto”, considerada por alguns, pior que as dores de apendicite. Esta fase dura, em média, de 4 a 10 dias. Nos casos mais sérios, amostras fecais são descritas como “*all blood and no stool*” (somente sangue, sem fezes). Pode ocorrer vômito e há pouca ou nenhuma febre<sup>64,20,40</sup>.

Na maioria dos pacientes, a diarreia sanguinolenta termina sem sequelas, mas, em aproximadamente 10% das infecções por *E. coli* O157:H7, a doença progride para SHU e complicações subsequentes<sup>65,40</sup>, especialmente em crianças menores de 5 anos e idosos.

Na SHU, o paciente sofre de diarreia sanguinolenta, anemia hemolítica e falha renal aguda que pode levar a insuficiência renal crônica<sup>66</sup>. Embora a SHU possa ser causada por outros patógenos, em 85% dos casos a doença ocorre depois de um episódio de gastroenterite causada por VTEC, sendo *E. coli* O157:H7 responsável por 70% dos casos.

Os mecanismos pelos quais *E. coli* O157:H7 causam CH e SHU ainda não estão totalmente esclarecidos, no entanto, acredita-se que a capacidade de produzir toxinas *Shiga like* (Stx) seja o principal fator de virulência da *E. coli* O157:H7 para o desenvolvimento de SHU<sup>20,18,67,68,69</sup>.

A toxina *Shiga* apresenta dois grupos imunologicamente distintos e não passíveis de reações cruzadas, chamados de Stx1 e Stx2<sup>66,67</sup>. Dados epidemiológicos sugerem que a Stx2 seja a mais importante no desenvolvimento de SHU<sup>68</sup>, visto que vários relatos indicam que cepas de *E. coli* O157:H7 que expressam apenas a Stx2 têm maior probabilidade de provocar SHU do que aquelas que expressam apenas a Stx1 ou ambas<sup>69</sup>.

A infecção por *E. coli* O157:H7 também pode desencadear PTT, onde os enfermos exibem características clínicas e patológicas semelhantes a de pacientes com SHU, porém na PTT há o envolvimento do sistema nervoso central. Além disso, esta síndrome geralmente acomete adultos, características esta que a distingue da SHU<sup>40</sup>.

#### Ocorrência de *E. coli* O157:H7 no Brasil e no mundo

Cepas de *E. coli* O157:H7 já foram isoladas em todos os continentes, abrangendo mais de 30 países<sup>70,71,72</sup>. O primeiro surto causado por *E. coli* O157:H7 em humanos foi relatado nos Estados Unidos, em 1982, quando esse microrganismo causou dois surtos de diarreia sanguinolenta severa, envolvendo pelo menos 47 pessoas, após a ingestão de sanduíches contendo hambúrgueres de carne bovina, molho de cebola e picles, distribuídos em uma rede de fast-food<sup>26</sup>.

Em 1991, outro surto causado por *E. coli* O157:H7, também nos Estados Unidos, atingiu 23 pessoas que consumiram cidra de maçã não pasteurizada, que aparentemente foi produzida com maçãs recolhidas do chão e contaminadas com esterco de ovinos<sup>71</sup>.

No entanto, foi somente em 1992 que *E. coli* O157:H7 foi reconhecido como patógeno alimentar emergente, quando acometeu

mais de 700 pessoas em um surto de colite hemorrágica que resultou na morte de quatro crianças<sup>27</sup>. Esse surto ocorreu após a ingestão de hambúrgueres preparados com carne moída mal tratada termicamente, em uma lanchonete de uma grande rede de fast-food nos Estados Unidos<sup>28, 23, 29,30</sup>.

Em 1995, 92 pessoas foram vítimas de um surto em Montana, EUA, provocado pelo consumo de alface contaminada com água de irrigação<sup>73</sup>.

Em 1996, Armstrong et al.<sup>23</sup>, após uma extensa revisão sobre o assunto, destacaram *E. coli* O157:H7 como patógeno emergente nos Estados Unidos e destacaram ainda que seria impossível conter sua disseminação no ambiente e rebanho do país.

O maior surto causado por *E. coli* O157:H7 registrado até hoje ocorreu no Japão, em Sakai, Osaka, em 1996, onde brotos de rabanete branco, servidos como parte do almoço de uma escola, foram identificados como o veículo mais provável da infecção. Neste surto, mais de 8.000 pessoas foram envolvidas, principalmente crianças. Um total de 106 crianças desenvolveu SHU e três delas morreram<sup>73</sup>.

Na China, em 1999, um surto causado por *E. coli* O157:H7 foi responsável por 177 mortes, devido a SHU. Pesquisadores investigaram características genotípicas e fenotípicas do agente etiológico desse surto e compararam com o genoma das cepas de *E. coli*, do surto de 1996, em Sakai, Japão, e concluíram que os isolados foram filogeneticamente relacionados<sup>74</sup>.

Recentemente, em maio de 2014, a *Wolverine Packing Company* informou o recolhimento de 1,8 milhões de quilos de carne moída que poderiam estar contaminados com STEC O157:H7. A empresa informou que a carne moída foi enviada para distribuidores, para uso no varejo e restaurantes de todo o país. Apesar dos esforços da empresa, parte dos lotes produzidos permaneceu no mercado e no, mês de junho, quatro estados americanos relataram casos de doença por *E. coli* O157:H7. Estudos epidemiológicos realizados pelas autoridades locais indicaram que carne moída contaminada produzida pela *Wolverine Packing Company* foi a provável fonte do surto. O surto envolveu 12 pessoas, destas, sete foram hospitalizadas. Nenhum dos envolvidos desenvolveu SHU e nenhuma morte foi relatada<sup>57</sup>.

Na Inglaterra e no País de Gales, *E. coli* O157:H7 é responsável por 1% dos casos de doenças transmitidas por alimentos notificadas, enquanto que na Escócia esta taxa sobe para 3%<sup>75</sup>.

A incidência anual de doenças relacionadas à *E. coli* O157 para cada 100.000 habitantes foi de 0,12 na Austrália, de 0,33 na Holanda, de 0,37 na União Europeia, de 0,81 na Suécia, de 0,87 no Japão, de 0,9 nos Estados Unidos, de 3,6 na Nova Zelândia e a maior incidência foi na Argentina com 13,9 casos<sup>72</sup>.

Na Argentina, a SHU causada por *E. coli* O157:H7 é considerada uma doença endêmica, tendo um dos índices globais mais altos<sup>76,25</sup>. Segundo Signorini e Tarabla (2010), aproximadamente 400 novos casos de SHU são anualmente notificados em unidades de nefrologia de hospitais argentinos<sup>77</sup>.



Apesar de sua incidência relativamente baixa em todo mundo se comparada com outros patógenos, ainda assim, *E. coli* O157:H7 constitui sério risco à saúde pois pode provocar doenças severas sendo, algumas vezes, fatal, particularmente para crianças e para idosos, e atualmente é reconhecida como patógeno emergente importante causador de DTA<sup>28,8</sup>.

No Brasil, somente casos esporádicos de diarreia e SHU associados com STEC têm sido relatados<sup>62,63,64,65,66</sup> e são poucos os registros de ocorrência de STEC em alimentos no Brasil<sup>83,85</sup>. Além disso, não há dados sistemáticos que possam indicar a situação da SHU e da PTT, sendo que a incidência dessas síndromes não é conhecida no país<sup>66,73,41</sup>. Apesar de escassos, estes dados são de extrema importância, pois, embora a SHU possa ser causada por outros patógenos, em 85% dos casos a doença ocorre depois de um episódio de gastroenterite causada por *E. coli* produtora de verotoxina<sup>85</sup>.

É possível que o primeiro relato de isolamento de uma cepa de *E. coli* O157:H7, no Brasil, tenha ocorrido em 1997, a partir de uma amostra de água de poço na cidade de São Paulo<sup>86</sup>, enquanto que o primeiro relato de isolamento de STEC de um paciente com SHU foi realizado em um hospital da cidade de São Paulo no ano de 2001<sup>79</sup>. Desde então, várias pesquisas têm sido realizadas, a fim de identificar a presença de *E. coli* O157:H7 no Brasil.

Na tentativa de isolar *E. coli* O157:H7 no Brasil, os pesquisadores têm analisado vários tipos de amostras, entre elas hambúrguer<sup>87</sup>, carne moída<sup>88</sup>, fezes de animais, água<sup>89,90,91</sup> e amostras clínicas de pacientes envolvidos em casos de diarreia sanguinolenta<sup>41,92</sup>, entre outras.

Em 1997, em um dos primeiros estudos realizados a fim de identificar a ocorrência de *E. coli* O157:H7 no Brasil, foram analisadas 886 amostras de hambúrgueres produzidos por oito fabricantes no sul e sudeste do país. Os resultados demonstraram que em 17 (1,9%) das amostras havia *E. coli* capazes de aglutinar o antisoro para O157. No entanto, testes confirmatórios realizados posteriormente não confirmaram este resultado<sup>87</sup>.

Em 1999, *E. coli* O157:H7 foi isolada de três amostras coletadas em um matadouro no estado do Rio de Janeiro/RJ. Das três amostras, uma foi de carne bovina e as outras duas de fezes de gado leiteiro. Este parece ter sido o primeiro relato de *E. coli* O157:H7 isolado de gado leiteiro no Brasil<sup>89</sup>.

Em 2003, outro estudo foi realizado a fim de investigar a presença de *E. coli* O157:H7 em vegetais normalmente consumidos crus no Brasil. Foram analisadas 869 amostras de vegetais, no entanto, não foi detectada a presença de *E. coli* O157:H7<sup>73</sup>.

Em 2005, pesquisadores analisaram 153 amostras de fezes bovinas e encontraram 202 cepas de STEC, dentre elas duas de *E. coli* O157:H7<sup>93</sup>.

Em outro estudo, foram analisadas 473 cepas de *E. coli* isoladas de leite, água e fezes de bovinos leiteiros, a fim de caracterizar os principais fatores de virulência dessas cepas. Entre as cepas, duas isoladas de fezes, foram positivas para *E. coli* O157:H7<sup>91</sup>.

Silveira (2010)<sup>81</sup> analisou 95 amostras de carne moída coletadas em diferentes municípios do Rio Grande do Sul (RS), próximos à fronteira com o Uruguai e a Argentina, a fim de investigar a presença de *E. coli* O157:H7. Dentre essas amostras, três isolados foram identificados como prováveis *E. coli* O157:H7, porém, após a caracterização genotípica por PCR-multiplex investigando genes de virulência (*rfbO157*, *stx1* e *stx2*), no Laboratório de Referência para a Vigilância Regional de SHU e Diarreias Sanguinolentas do Conesul, do Ministério da Saúde da Argentina (INEI-ANLIS), os resultados demonstraram que as amostras não eram *E. coli* O157:H7.

Também no Rio Grande do Sul, em 2012, foram isoladas 22 amostras de *E. coli* O157:H7, a partir de carcaças bovinas de um abatedouro frigorífico<sup>41</sup>. No mesmo período, outro estudo também isolou duas amostras de *E. coli* O157:H7 a partir de água de irrigação e água de lavagem de alfaces, de propriedades rurais do sul do Brasil<sup>45</sup>.

Neste mesmo ano, 248 amostras de carne moída foram coletadas em diferentes bairros da cidade de São Paulo a fim de identificar a presença de *E. coli* O157 e detecção dos sorogrupos O103, O111, O145 e O26. De acordo com os pesquisadores, diferentemente do estudo realizado em 2010 no RS<sup>81</sup>, dentre as amostras analisadas, uma (0,4%) foi positiva para a presença de *E. coli* O157:H7. A identificação genotípica e bioquímica caracterizou esse isolado como STEC O157:H7, portador de todos os fatores de virulência pesquisados: *stx1*, *stx2*, *eae* e *ehx*. Foi constatada, também, a expressão das proteínas *stx* em células Vero. Esse é possivelmente o primeiro relato da presença de *E. coli* O157:H7 produtora de toxina *Shiga* em carne moída no Brasil<sup>15</sup>.

Embora exista o registro desses e outros isolamentos, bem como diversos relatos de casos de SHU no Brasil, a única implicação de *E. coli* O157:H7 veiculada por alimento envolvido em surto alimentar, descrita na literatura, é o caso de um surto com dois casos de diarreia, sem SHU, ocorrido em Campinas, em 2001, supostamente causado por ingestão de carne mal cozida<sup>40</sup>.

Estes resultados demonstram que, embora a incidência de infecção por *E. coli* O157:H7 transmitidas por alimentos seja baixa, a severidade dos sintomas e a frequência de sequelas justificam a intensificação de sua pesquisa sistemática em laboratórios clínicos e de alimentos. Diversos fatores, no entanto, dificultam o isolamento e identificação de *E. coli* O157:H7 e consequentemente, o seu envolvimento como patógenos alimentares no Brasil, entre eles estão as suas características bioquímicas distintas, a capacidade deste microrganismo de causar surtos mesmo estando presente em baixas quantidades no alimento. Além destes fatores, contribui também o fato deste microrganismo não ser pesquisado de maneira adequada, ou mesmo sequer ser pesquisado, visto que a legislação brasileira<sup>94</sup> não exige a pesquisa rotineira desse patógeno em alimentos envolvidos em surtos alimentares.

#### Métodos de Detecção

Embora não existam limites microbiológicos estabelecidos para *E. coli* O157:H7 na legislação brasileira<sup>94</sup>, a presença de 1 a 10 UFC/g pode ser capaz de causar doença no homem e,



desse modo, não deve ser permitida a sua presença em nenhuma amostra de alimento (ausência em 25g ou 25ml). A sensibilidade e especificidade do método são particularmente importantes quando se analisam alimentos, principalmente para microrganismos como *E. coli* O157:H7, para o qual a dose infectante é bastante baixa<sup>23,95</sup>.

Em função das características de *E. coli* O157:H7, estas não são detectadas nas análises de Coliformes Termotolerantes, pelo método do Número Mais Provável (NMP), que utiliza a fermentação da lactose a 44,5°C como característica confirmativa, nem nas análises diretas de *E. coli*, utilizando substratos para a enzima B-glicuronidase<sup>43,43</sup>.

Os métodos convencionais para detecção de *E. coli* O157:H7 necessitam de um enriquecimento inicial para que os microrganismos recuperem-se e multipliquem-se até alcançar uma concentração mínima para a detecção. Em seguida, é realizado o isolamento a partir de meios seletivos, com base em diferenças fenotípicas como a incapacidade de fermentar o sorbitol em Ágar McConkey<sup>96</sup>. Após a obtenção das colônias típicas, uma série de testes bioquímicos e sorológicos são aplicados, a fim de identificar *E. coli* O157:H7<sup>97,19</sup>. Os métodos convencionais, embora confiáveis e eficientes, são bastante trabalhosos e demorados, levando de 5 a 7 dias para a obtenção dos resultados e, além disso, detectam apenas células viáveis<sup>98,19</sup>. Outra desvantagem do método clássico é a possibilidade de ocorrência de falsos positivos, em Ágar MacConkey Sorbitol, uma vez que *E. hermannii* é sorbitol negativa e aglutina em teste com anticorpo O157 de *E. coli* e pode ser isolada de fezes e alimentos, causando erros de diagnóstico<sup>99,100</sup>.

Franz et al. (2014)<sup>72</sup> destacam a necessidade de melhorar os métodos para detectar cepas de STEC potencialmente virulentas, a fim de facilitar a investigação das mesmas ao longo da cadeia de produção e distribuição de alimentos. Garcia et al. (2008) destacam ainda a importância da busca de novos métodos eficazes e que reduzam o tempo para o resultado final<sup>95</sup>.

A Separação Imunomagnética (IMS) é um exemplo de método sugerido para reduzir o tempo de análise e melhorar a sensibilidade da detecção de microrganismos patogênicos<sup>100,101</sup>. A IMS é descrita pela ISO 16654<sup>102</sup> e consiste na utilização de partículas superparamagnéticas revestidas com anticorpos contra o agente patogênico alvo, formando esferas imunomagnéticas (Imbs) que podem ligar-se às bactérias alvo. Os Imbs formam um complexo com a bactéria, esta é concentrada num volume menor e separada da matriz através da exposição a um campo magnético.

A IMS pode reduzir significativamente o tempo de detecção, melhorar a sensibilidade e eliminar a interferência de matrizes alimentares, melhorando, assim, estratégias de detecção de patógenos de origem alimentar<sup>103,104,105,106</sup>. Esta técnica é considerada o método principal na etapa inicial no de detecção de *E. coli* O157:H7 em amostras de alimentos, sendo utilizado tanto nos laboratórios onde a pesquisa de *E. coli* O157:H7 já é realizada como rotina, quanto nas pesquisas científicas realizadas no Brasil e em diversos países.

Numerosos métodos alternativos quantitativos e qualitativos estão disponíveis visando melhorar a eficiência na determinação de microrganismos patogênicos em alimentos<sup>95</sup>, incluindo a *E. coli* O157:H7. Um destes métodos é o Sistema VIDAS® BioMérieux S.A. que consiste em um ensaio automatizado qualitativo para detecção de patógenos em alimentos, baseado no método ELISA. O equipamento detecta por meio do uso do kit comercial VIDAS ECO O157®, a presença de *E. coli* O157, através de uma reação antígeno-anticorpo. Entretanto, para que esse resultado seja confirmado é necessário o isolamento do microrganismo, pelo método convencional<sup>107</sup>.

Nos últimos anos, métodos moleculares que compreendem um conjunto de técnicas e reagentes capazes de interagir quimicamente com as moléculas de DNA ou de RNA do genoma microbiano foram desenvolvidos a fim de complementar técnicas clássicas e permitir identificações mais rápidas, sensíveis e específicas que os ensaios microbiológicos ou imunológicos<sup>108,72</sup>. Estas técnicas estão adaptadas principalmente para a detecção dos sorotipos virulentos conhecidos por causar doenças humanas como a O157:H7. Neste caso, a maioria dos métodos tem como alvo específico o gene *rfb* O157 de O157<sup>108</sup>.

Um dos métodos moleculares utilizados é técnica da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR, a qual se baseia na polimerização de DNA em cadeia realizada *in vitro*. É um método de amplificação, onde são criadas múltiplas cópias de DNA, por replicação enzimática, sem necessitar de um organismo vivo<sup>110</sup>. Uma vantagem da PCR é a possibilidade de investigar simultaneamente vários genes e a possibilidade de diferenciar os diferentes tipos de Stx. A principal desvantagem da PCR é a incapacidade de distinguir entre o DNA a partir de células viáveis e não viáveis podendo, portanto, estimar valores superiores de células vivas em relação ao que realmente existe na amostra<sup>111,112</sup>.

A modernização dos métodos moleculares tem permitido uma combinação de técnicas, capazes de tornar os testes muito mais rápidos. Entre as alternativas de diagnósticos rápidos baseados em métodos moleculares, estão o Bax System®, o 3M Molecular Detection System® (MDS) e o GeneDiscPlates® - Food Pathogen Detection.

O Bax System® é um método capaz de detectar a presença/ausência de *E. coli* O157:H7 em 25g de amostra. Este método utiliza PCR em tempo real e, assim como o Sistema VIDAS® BioMérieux S.A., possui um tempo de processamento inferior a uma hora.

Outro sistema que utiliza o método molecular rápido é o 3M Molecular Detection System® (MDS), que consiste em uma combinação de tecnologias, envolvendo amplificação isotérmica de DNA com detecção por bioluminescência em tempo real. O 3M MDS® é um equipamento compacto capaz de identificar através do uso de kits específicos *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* e *E. coli* O157:H7, em um mesmo teste<sup>113</sup>. Cada kit de teste utiliza a mesma interface de software e o mesmo protocolo de extração de DNA. A análise ao todo dura cerca de 1,5h.

Outro equipamento que utiliza análise por PCR em tempo real é o GeneDiscPlates® - Food Pathogen Detection, da Pall.



O GeneDisc® é um sistema que permite detecção de EHEC, *E. coli* O157, *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*. O equipamento utiliza software e kit de extração próprio. O limite de detecção do aparelho é de 1 bactéria viável em 25g de amostra de alimento e a análise dura por volta de 60 minutos referentes ao tempo do ciclo de PCR<sup>114</sup>. De modo geral, o tempo gasto por estes equipamentos que utilizam métodos moleculares varia de uma a, no máximo, duas horas. No caso da *E. coli* O157:H7, no entanto, além desse tempo, há sempre a necessidade de incubação prévia da amostra por no mínimo 18h, tempo necessário para o enriquecimento da amostra. Reduzir ou eliminar esse tempo de incubação tem sido o desafio de muitos pesquisadores, pois, quanto mais rápida for a identificação desse patógeno, mais rapidamente ocorrerá a adoção de medidas preventivas e /ou de contenção.

## CONCLUSÃO

*E. coli* O157:H7 é um importante patógeno emergente em diversos países como Estados Unidos e Argentina. No Brasil, apesar de não existirem dados sistematizados sobre a investigação de *E. coli* O157:H7 nem sobre a SHU e de haver apenas uma referência de envolvimento deste microrganismo em surtos alimentares, deve-se aumentar a vigilância, uma vez que existem vários registros de casos clínicos de SHU e ocorrência cada vez mais frequente de isolamentos deste patógeno, a partir de amostras de alimentos e de reservatórios animais.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. WHO global strategy for food safety: safer food for better health. Geneva: World Health Organization, 2002.
2. Oliveira ABO, Paula CMD, Capalonga R, Cardoso MRI, Tondo EC. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. Rev HCPA. 2010;30(3):279-85.
3. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2012. EFSA J. 2014;12(2):3547. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3547>
4. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M, Roy SL, et al. Foodborne illness acquired in the United States: major pathogens. Emerg Infect Dis. 2011;17(1):7-15. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1701.091101p1>
5. Brown C. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance: an overview. Rev Sci Tech. 2004;23(2):435-42.
6. Peresi JTM, Almeida IAZC, Lima IS, Marques DF, Rodrigues ECA, Fernandes AS, et al. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causadas por *Salmonella* Enteritidis. Rev Saúde Pública. 1998 32(5):477-83. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101998000500011>
7. Oliveira FA, Geimba MP, Brandelli A, Silva WP, Pasquali G, Tondo EC. Clonal relationship among *Salmonella* enterica serovar Enteritidis involved in foodborne outbreaks in southern Brazil. Food Control. 2009;20(6):606-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.014>
8. Paula CMD, Ritter AC, Pieta L, Amaral PH, Tondo EC. Antimicrobial resistance in *Salmonella* enteritidis from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil from 2003 to 2006. J Microbiol Antimicrob. 2011;3:233-40.
9. Tondo EC, Ritter A. C. *Salmonella* and Salmonellosis in Southern Brazil: a review of the last decade. In: Monte AS, Santos, PE, organizators. Salmonella: classification, genetics and disease outbreaks. Nova York: Nova; 2012. p. 175-91.
10. Capalonga R, Ramos RC, Both JMC, Soeiro MLT, Longaray SM; Haas S et al. *Salmonella* serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. J Infect Dev Ctries 2014;8(7):811-7. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.3791>
11. Machado TF. Patógenos emergentes em alimentos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; 2013.
12. Feng P, Weagant SD, Jinneman K. Diarrheagenic *Escherichia coli*. 2011 [Acesso em: jun 2014]. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm>



13. Tchaptchet S, Hansen J. The Yin and Yang of host-commensal mutualism. *Gut Microbes*. 2011;2(6):347-52. <http://dx.doi.org/10.4161/gmic.19089>
14. Caldorin M, Almeida IAZC, Peresi JTM, Alves EC. Ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública. *Bol Epidemiol Paul*. 2013;10(110):4-20.
15. Lucatelli, A. *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga em carne moída comercializada na cidade de São Paulo, SP [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2012.
16. Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in Lugo, Spain, from 1992 through 1999. *J Clin Microbiol*, 2004;42(1):311-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.1.311-319.2004>
17. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uremic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9464):1073-86. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)71144-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)71144-2)
18. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(1):142-201.
19. Forsythe SJ. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed; 2013.
20. Bertão MAS, Saridakis HO. *Escherichia coli* produtora de toxina shiga (STEC): principais fatores de virulência e dados epidemiológicos. *Semina*. 2007;28(2):81-92. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2007v28n2p81>
21. European Food Safety Authority. Microbiological risk assessment in feedingstuffs for food-producing animals e scientific opinion of the panel on biological hazards. *EFSA J*. 2008;60:1-84. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2008.720>
22. European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA J*. 2013;11(4):3129. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3129>
23. Armstrong GL, Hollingsworth J, Morris JG Jr. Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rev*. 1996;18(1):29-51. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a017914>
24. Beutin L, Kaulfuss S, Cheasty T, Brandenburg B, Zimmermann S, Gleier K, et al. Characteristics and association with disease of two major subclones of Shiga toxin (Verocytotoxin)-producing strains of *Escherichia coli* (STEC) O157 that are present among isolates from patients in Germany. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002;44(4):337-46.
25. Pianciola L, Chinen I, Mazzeo M, Miliwebsky E, González G, Müller C, et al. Genotypic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains that cause diarrhea and hemolytic uremic syndrome in Neuquén, Argentina. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(3-4):499-504. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.02.011>
26. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*. 1983;308(12):681-5. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198303243081203>
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers--western United States, 1992-1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1993;42(14):258-63.
28. Goldwater PN, Bettelheim KA. Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS). *BMC Medicine* 2012;10:12 <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7015-10-12>
29. Benedict J. *Poisoned: the true story of the deadly E. Coli outbreak that changed the way Americans eat*. New York: February; 2013.
30. Paula CMD, Loiko, MR, Tondo EC. *Escherichia coli* O157:h7: local epidemiology and disease spectrum in Brazil. *Clin Biomed Res*. 2014;34(2):113-21.
31. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, et al. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983-2002. *J Infect Dis*. 2005;192:1422-9. <http://dx.doi.org/10.1086/466536>
32. Johnson KE, Thorpe CM, Sears CL. The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis*. 2006;43(12):1587-95. <http://dx.doi.org/10.1086/509573>
33. Menrath A, Wieler LH, Heidemanns K, Semmler T, Fruth A, Kemper N. Shiga toxin producing *Escherichia coli*: identification of non-O157:H7-Super-Shedding cows and related risk factors. *Gut Pathog*. 2010;2(1):7. <http://dx.doi.org/10.1186/1757-4749-2-7>
34. Aurass P, Prager R, Flierger A. EHEC/EAEC O104:H4 strain linked with the 2011 German outbreak of haemolytic uremic syndrome enters into the viable but non-culturable state in response to various stresses and resuscitates upon stress relief. *Environ Microbiol*. 2011;13(12):3139-48. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02604.x>
35. Rubino S, Cappuccinelli P, Kelvin DJ. *Escherichia coli* (STEC) serotype O104 outbreak causing haemolytic syndrome (HUS) in Germany and France. *J Infect Dev Ctries*. 2011;5(6):437-40. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.2172>
36. Bettelheim KA. The non-O157 shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens. *Crit Rev Microbiol*. 2007;33(1):67-87. <http://dx.doi.org/10.1080/10408410601172172>
37. European Food Safety Authority. Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food) on request of EFSA. *EFSA J*. 2009;7(11):1366. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1366>
38. Mathusa EC, Chen Y, Enache E, Hontz L. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. *J Food Prot*. 2010;73(9):1721-36.
39. Schaffzin JK, Coronado F, Dumas NB, Root TP, Halse TA, Schoonmaker-Bopp DJ, et al. Public health approach to detection of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: summary of two outbreaks and laboratory procedures. *Epidemiol Infect*. 2012;140(2):283-9. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268811000719>





40. Centro de Vigilância Epidemiológica. Casos confirmados e coeficientes de incidência de casos autóctones de doenças de notificação compulsória no estado de São Paulo, no período de 1998 a 2008. 2013 [acesso em: 19 jul. 2014]. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/sh\\_9802.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/sh_9802.htm)
41. Souza RL, Carvalhaes JTA, Nishimura LS, Andrade MC, Guth BEC. Hemolytic uremic syndrome in pediatric intensive care units in São Paulo, Brazil. *Open Microbiol J*. 2011;5(1):76-82. <http://dx.doi.org/10.2174/1874285801105010076>
42. Pigatto CP, Schocken-Iturrino RP, Fadel-Pichetch CMT, Chioda TP, Vittori J, Marin JM. Viabilidade de *Escherichia coli* produtora de toxina shiga (STEC) não-O157 em queijo tipo minas grescal. *Ciênc Anim Bras*. 2009;10(2):663-8.
43. Xiong Q, Cui X, Saini JK, Liu D, Shan S, Jin Y et al. Development of an immunomagnetic separation method for efficient enrichment of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Contr*. 2014;37:41-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.033>
44. Loiko MR. Quantificação de micro-organismos indicadores e caracterização de *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* O157:H7 em etapas do abate de bovinos no Rio Grande do Sul [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
45. Rodrigues RQ, Loiko MR, Paula CMD, Hessel CT, Jacxsens L, Uyttendaele M et al. Microbiological contamination linked to implementation of good agricultural practices in the production of organic lettuce in Southern Brazil. *Food Contr*. 2014;42:152-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.043>
46. Torracco RJ. Writing integrative literature reviews: guidelines and examples. *Hum Resour Dev Rev*. 2005;4(3):356-67. <http://dx.doi.org/10.1177/1534484305278283>
47. Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto Contexto Enferm*. 2008;17(4):758-64. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-07072008000400018>
48. Whittemore R. Combining evidence in nursing research: methods and implications. *Nurs Res*. 2005;54(1):56-62. <http://dx.doi.org/10.1097/00006199-200501000-00008>
49. Brenner DJ, Farmer III JJ. Enterobacteriaceae. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. 2 ed. New York: Springer Science+Business Media; 2005. v. 2, p.587-607.
50. Meng J, Doyle MP. Microbiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. In: Kaper JB, O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Washington, DC: ASM; 1998. p. 98.
51. Jay JM. *Microbiologia de alimentos*. 6a ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
52. Shere JA, Bartlett KJ, Kaspar CW. Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(4):1390-9.
53. Laegreid WW, Elder RO, Keen JE. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in range beef calves at weaning. *Epidemiol Infect*. 1999;123(2):291-8. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268899002757>
54. European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2010. *EFSA J*. 2012;10:2597. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2597>
55. Conrad CC, Stanford K, McAllister TA, Thomas J, Reuter T. Further development of sample preparation and detection methods for O157 and the top 6 non-O157 STEC serogroups in cattle feces. *J Microbiol Methods*. 2014;105:22-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2014.06.020>
56. Karmali MA, Gannon V, Sargean TJM. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol* 2009. doi:10.1016/j.vetmic.2009.04.011
57. Centers for Disease Control and Prevention. Multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to ground beef (final update). 2014 [acesso em: dia mês ano]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/2014/O157H7-05-14/index.html>
58. Lund BM, O'Brien SJ. Microbiological safety of food in hospitals and other healthcare settings. *J Hosp Infect*. 2009;73(2):109-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.05.017>
59. March SB, Ratnam S. Sorbitol MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*. 1986;23(5):869-72.
60. Okrend AJG, Rose BE, Matner R. An improved screening method for the detection and isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from meat, incorporating the 3M Petrifilm Test Kit HEC for hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Prot*. 1990;53:936-40.
61. Meng J, Doyle MP, Zhao T, Zhao S. Detection and control of *Escherichia coli* O157:H7 in foods. *Trends Food Sci Technol*. 1994;51(6):179-84. [http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244\(94\)90102-3](http://dx.doi.org/10.1016/0924-2244(94)90102-3)
62. Shuterland JP, Bayliss AJ, Braxton DS. Predictive modelling of growth of *Escherichia coli* O157:H7: the effects of temperature, pH and sodium chloride. *Int J Food Microbiol*. 1995;25(1):29-49. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00082-H](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(94)00082-H)
63. Rivas M, Sosa-Estani S, Rangel J, Caletti MG, Vallés P, Roldán CD, et al. Risk factors for sporadic Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections in children, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(5):763-71. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1405.071050>
64. Padhye NV, Doyle MP. *E. coli* O157:H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. *J Food Prot*. 1992;55(7):555-65.
65. Coppo P, Vernant J-P, Veyradier A, Frémeaux-Bacchi V, Mira J-P, Guidet B, et al. Purpura thrombotique thrombocytopenique et autres syndromes de microangiopathie thrombotique. *EMC-Hématologie*. 2005;2(1):14-34.
66. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Síndrome hemolítico urêmica: normas e instruções. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica; 2002 [acesso em 16 jul 2014]. Disponível em: [ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/shu.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/shu.pdf)



67. Bastos FC, Vaz TMI, Irino K, Guth BEC. Phenotypic characteristics, virulence profile and genetic relatedness of O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated in Brazil and other Latin American countries. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;265(1):89-97. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00472.x>
68. Azagra AM, Iglesias MI. Síndrome hemolítico urémico. *An Pediatr Contin.* 2009;7(2):79-88.
69. Fernandez-Brando RJ, Bentacor LV, Meijís MP, Panek AC, Cabrera GG, Exeni RA et al. Actualización en el tratamiento del síndrome urémico hemolítico endémico. Patoénesis y tratamiento de la complicación sistémica más grave de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Medicina (B Aires).* 2011;71(4):383-9.
70. Bustamante AV, Sanso AM, Lucchesi PMA, Parma AE. Genetic diversity of O157:H7 and non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* from Argentina inferred from multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). *Int J Med Microbiol.* 2010;300(4):212-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.020>
71. Oliveira M, Viñas I, Usall J, Anguera M, Abadias M. Presence and survival of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce leaves and in soil treated with contaminated compost and irrigation water. *Int J Food Microbiol.* 2012;156(2):133-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.014>
72. Franz E, Delaquis P, Morabito S, Beutin L, Gobius K, Rasko DA, et al. Exploiting the explosion of information associated with whole genome sequencing to tackle Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in global food production systems. *Int J Food Microbiol* 2014;187:57-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.002>. Epub 2014 Jul 11.
73. Silva N, Silveira NFA, Yokoya F, Okazaki MM. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2003;23(2):167-73. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612003000200011>
74. Xiong Y, Wang P, Lan R, Ye C, Wang H, Ren J et al. A novel *Escherichia coli* O157:H7 clone causing a major hemolytic uremic syndrome outbreak in China. *PLoS ONE.* 2012;7(4):e36144. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0036144>
75. Money P, Kelly A.F, Gould SWJ, Denholm-Price J, Threlfall EJ, Flelder MD. Cattle, weather and water: mapping *Escherichia coli* O157:H7 infections in humans in England and Scotland. *Environ. Microbiol.* 2010, 12(10):2633-2644.
76. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. *Medicina (B Aires).* 2006;66 Suppl 3:27-32.
77. Signorini ML, Tarabla HD. Interventions to reduce verocytotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef in Argentina: a simulation study. *Prev Vet Med.* 2010;94(1-2):36-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.11.016>
78. Cantarelli V, Nagayama K, Takahashi A, Honda T, Cuduro PF, Dias CAG, et al. Isolation of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) serotype O91:H21 from a child with diarrhea in Porto Alegre City, RS, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2000;31(4):266-70. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-8382200000400005>
79. Guth BECL, Souza RL, Vaz TMI, Irino K. First shiga toxin-producing *E. coli* isolate from a patient with hemolytic uremic syndrome in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(5):535-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0805.010419>
80. Irino K, Vaz TMI, Kato MAMF, Naves ZVF, Lara RR, Marco MEC, et al. O157:H7 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains associated with sporadic cases of diarrhea in São Paulo, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(4):446-7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0804.010490>
81. Vaz TMI, Irino K, Kato MA, Dias AM, Gomes TA, Medeiros MI, et al. Virulence properties and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in São Paulo, Brazil, from 1976 through 1999. *J Clin Microbiol.* 2004;42(2):903-5. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.2.903-905.2004>
82. Nishimura LS, Souza RL, Guth BEC. Identificação de um caso de síndrome hemolítica urêmica relacionado à infecção por *E. coli* produtora da toxina Shiga O157 no estado de São Paulo, Brasil. In: Anais do 23o Congresso Brasileiro de Microbiologia; 22-25 nov 2005; Santos, SP. Santos: Sociedade Brasileira de Microbiologia; 2005.
83. Cerqueira AMF, GuthBEC, Farage S, Correa EA, Joaquim RM et al. High occurrence of *Escherichia coli* Shiga toxin (Stx) gene sequence in healthy cattle at Rio de Janeiro, Brazil, using PCR. [abstract]. In: Proceedings of the 3rd International Symposium and Workshop on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections; 1997 Mês dia; Baltimore, United States. p. 28.
84. Bergamini AMM, Oliveira MA, Ribeiro EGA, Pisani B, Simões M, Prandi MGA, et al. *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) em amostras de carne coletadas nas regiões de Ribeirão Preto e Campinas, SP. *Bol Inst Adolfo Lutz.* 2004;14;30.
85. Geary DF. Hemolytic uremic syndrome and streptococcus pneumoniae: improving our understanding. *J Pediatr.* 2007;151(2):113-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2007.04.057>
86. Katsuya EM, Lerner LH, Costa R, Jakabi M, Dias AMG, Tavechioet AT et al. *Escherichia coli* O157:H7, um enteropatógeno emergente. *Rev CIP.* 1998;1:7-8.
87. Silveira NF, Silva N, Contreras C, Miyagusku L, Baccin ML, Koono E et al. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers produced in Brazil. *J Food Prot.* 1999;62(11):1333-5.
88. Silveira JB. Investigação de *Escherichia coli* O157:H7 em carne moída no estado do Rio Grande do Sul, Brasil [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010
89. Cerqueira AM, Guth BE, Joaquim RM, Andrade JR. High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil. *Vet Microbiol.* 1999;70(1-2):111-21. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135\(99\)00123-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135(99)00123-6)
90. Sandrini CNM, Pereira MA, Brod CS, Carvalho JB, Aleixo JAG. *Escherichia coli* verotoxigênica: isolamento e prevalência em 60 propriedades de bovinos de leite da região de Pelotas, RS, Brasil. *Ciênc Rural.* 2007;37(1):175-82. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000100028>



91. Stella AE. Fatores de virulência em isolados de *Escherichia coli* provenientes de amostras de Água, leite e fezes de bovinos leiteiros da Região de Ribeirão Preto-SP, Brasil [tese]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 2009.
92. Bonetti V, Mangia CMF, Zuza JMF, Barcelos MO, Fonseca MMS, Nery SP, et al. Hemolytic-uremic syndrome in Uberlândia, MG, Brazil. ISRN Pediatr. 2011;2011:6517-49.. <http://dx.doi.org/10.5402/2011/651749>
93. Irino K, Kato MA, Vaz TM, Ramos II, Souza MA, Cruz As et al. Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in São Paulo State, Brazil. Vet Microbiol, 2005;105(1):29-36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.08.007>
94. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. 10 jan 2001.
95. Garcia PM, Arcuri EF, Brito MAVP, Lange CC, Brito JRF, Cerqueira MMOP. Detecção de *Escherichia coli* O157:H7 inoculada experimentalmente em amostras de leite cru por método convencional e PCR multiplex. Arq Bras Med Vet Zoo. 2008;60(5):1241-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000500029>
96. Adams MR, Moss MO. Food Microbiol. 3 ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008. 490 p.
97. Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. Int J Food Microbiol. 1991;12(4):289-301. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605\(91\)90143-D](http://dx.doi.org/10.1016/0168-1605(91)90143-D)
98. Silva MP, Cavalli DR, Oliveira TCRM. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. Ciênc Tecnol Aliment 2006;26(2):352-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000200018>
99. Silva ND, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 4a ed. São Paulo: Varela; 2010.
100. Borczyk AA, Karmali MA, Lior H, et al. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. Lancet. 1987;1(8524):98. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)91928-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(87)91928-3)
101. International Organization for Standardization. ISO 16654 - Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
102. Wright DJ, Chapman PA, Siddons CA. Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating *Escherichia coli* O157 from food samples. Epidemiol Infect. 1994;113(1):31-9. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268800051438>
103. Weagant SD, Bound A J. Evaluation of techniques for enrichment and isolation of *Escherichia coli* O157: H7 from artificially contaminated sprouts. Int J Food Microbiol. 2001;71(1):87-92. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00558-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00558-X)
104. Islam MA, Heuvelink AE, Talukder KA, Zwietering MH, de Boer E. Evaluation of immunomagnetic separation and PCR for the detection of *Escherichia coli* O157 in animal feces and meats. J Food Prot. 2006;69(12): 2865-9.
105. Sarimehmetoglu B, Aksoy MH, Ayaz ND, Ayaz Y, Kuplulu O, Kaplan YZ. Detection of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef using immunomagnetic separation and multiplex PCR. Food Contr. 2009;20(4):357-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.06.002>
106. Wang H, Li Y, Wang A, Slavik M. Rapid, sensitive, and simultaneous detection of three foodborne pathogens using magnetic nanobead-based immunoseparation and quantum dot-based multiplex immunoassay. J Food Prot. 2011;74(12):2039-47. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-144>
107. Zhu P, Shelton DR, Li S, Adams DL, Karns JS, Amstutz P, et al. Detection of *E. coli* O157:H7 by immunomagnetic separation coupled with fluorescence immunoassay. Biosens Bioelectron. 2011;30(1):337-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2011.09.029>
108. Carvalho RN. Emprego Das Técnicas De Pcr e Vidas® Na Determinação Da *Escherichia Coli* O157:H7 em Queijos Minas Frescal em Feiras Livres e Estabelecimentos Sob Inspeção Federal [dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2009.
109. Rosseti ML, Silva CMD, Rodrigues JJS. Doenças infecciosas: Diagnóstico Molecular. São Paulo: Guanabara Koogan, 2006.
110. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections. Clin Microbiol Rev. 1998;11(3):450-79.
111. Versalovick J, Schneider M, De Bruijn FJ, Lupski JR. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence based polymerase chain reaction. Method Cell Mol Biol. 1994;5:25-40.
112. Justé A, Thomma BPHJ, Lievens B. Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. Food Microbiol. 2008;25(6):745-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2008.04.009>
113. DuPont. BAX® System PCR assays for *E. coli*. 2014 [acesso em: ago 2014]. Disponível em: [http://www2.dupont.com/Qualicon/en\\_US/products/BAX\\_System/bax\\_ecoli\\_testing.html](http://www2.dupont.com/Qualicon/en_US/products/BAX_System/bax_ecoli_testing.html).
114. 3M Brasil. 3M Food Safety lança o inovador 3M Molecular Detection System para identificação de patógenos em alimentos [acesso em 27 ago 2014]. Disponível em: [http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt\\_BR/about-3M/information/more-info/pressroom/?PC\\_Z7\\_RJH9U5230ONQ6027DTROJH2482000000\\_assetId=1319213453406](http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/about-3M/information/more-info/pressroom/?PC_Z7_RJH9U5230ONQ6027DTROJH2482000000_assetId=1319213453406)
115. Pall Corporation. Rapid food pathogen detection using PCR technology: pathogenic *E. coli* O157, STEC, *Salmonella*, *Listeria*. [acesso em: 27 ago 2014]. Disponível em: <http://www.pall.com/main/food-and-beverage/product.page?id=20120614103141#>



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada. Para ver uma cópia desta licença, visite [http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt\\_BR](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR).