

ISOLAMENTO DE VÍRUS DE COPOS DE BARES E CAFÉS DA CIDADE DE SÃO PAULO ⁽¹⁾

José Alberto N. CANDEIAS
Dacio de Almeida CHRISTOVÃO
Luis G. COTILLO Z.

De 8,75% dos 80 lotes de copos, prontos para uso, de 40 «bares e cafés» do centro da cidade de São Paulo, foram isoladas 7 cépas de vírus, sendo três de adenovírus do tipo 3, duas de vírus ECHO 11, uma de adenovírus do tipo 4 e uma de vírus do herpes simples. Cada lote era constituído de 5 copos. Os 7 lotes positivos provinham de 7 «bares e cafés» diferentes. Estes achados comprovam a má situação sanitária dos utensílios de uso comum nos estabelecimentos públicos de distribuição de alimentos e bebidas da cidade de São Paulo, já evidenciada através de investigações bacteriológicas anteriores, e resultam da falta total de aplicação das medidas de saneamento de tal material, nesses locais. As condições existentes são consequência das disposições inoperantes e até impraticáveis da atual legislação sanitária estadual concernente à matéria.

INTRODUÇÃO

A possibilidade da transmissão, do portador a outro indivíduo, de microrganismos patogênicos — vírus, bactérias, cogumelos e protozoários — através de copos, xícaras e talheres de bares, cafés ou restaurantes, quando estes utensílios não são adequadamente lavados e desinfetados, é reconhecida por todos aqueles a par da capacidade de resistência desses microrganismos no meio exterior.

Embora não haja conhecimento exato da importância epidemiológica dessa via de transmissão e, provavelmente, nem possa, nas condições naturais, ser obtido tal conhecimento, as autoridades sanitárias estão de acôrdo que não deve ser aceitável a falta de instituição, de regulamentação e de contrôle de medidas capazes de impedir a operação de tal via ou, pelo menos, de reduzi-la ao mínimo possível. Tendo em vista tais objetivos,

os códigos sanitários dos diferentes países preconizam medidas diversas, mais ou menos estritas e, às vezes, totalmente inadequadas, a serem adotadas na lavagem e desinfecção de tais utensílios.

A Associação Americana de Saúde Pública ¹ (1944) propôs um método e um padrão bacteriológicos para o contrôle das condições de saneamento desses utensílios. Tal técnica e tal padrão passaram a ser adotados oficialmente nos Estados Unidos, bem como em outros países, como o Canadá e a União Sul Africana. A aplicação desse método em duas investigações, realizadas por CHRISTOVÃO ^{4, 5} (1947, 1956), veio revelar as péssimas condições sanitárias dos utensílios de restaurantes, bares e cafés do centro da cidade de São Paulo, através dos elevados números de bactérias presentes na grande maioria dos utensílios examinados e até mesmo da demons-

Recebido para publicação em 30-8-1968.

(1) Da Cadeira de Microbiologia Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP.

ração da existência de bactérias patogênicas em elevada proporção dos mesmos.

Parecendo continuar a existir em São Paulo, hoje em dia, a mesma situação de 1947 e 1956, julgaram os autores que o isolamento de vírus, a partir dos utensílios dados como lavados e prontos para uso, de bares e cafés ou restaurantes do centro da cidade, deveria ser perfeitamente possível e bastante provável, embora o isolamento de vírus de material desta natureza ainda não tenha sido relatado por nenhum investigador. Baseados nesta presunção, levaram a efeito a presente investigação.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e amostragem — Delimitou-se uma área central⁽¹⁾ da cidade e dentro dela escolheram-se as ruas ou largos e praças principais. Estabeleceu-se, em seguida, um itinerário ao longo dos limites e das ruas, largos e praças escolhidos e se decidiu que cada quinto "bar e café" encontrado ao longo deste itinerário, assim prefixado, até se atingir o total de 40 estabelecimentos, teria seus utensílios examinados. No caso de recusa no fornecimento do material para exame, seria tomado o estabelecimento seguinte e a contagem reiniciada a partir deste.

Material — De cada um dos 40 "bares e cafés" foi colhido material de 2 lotes de copos já lavados, prontos para uso, de 5 copos cada um. Foram examinados, assim, 80 lotes, correspondentes ao total de 400 copos.

Examinaram-se unicamente copos, baseando-se nos dados dos dois inquéritos anteriores (CHRISTOVÃO^{4, 5} 1947, 1956) que revelaram serem estes os utensílios em pior condição sanitária. Não tendo ha-

vido, em São Paulo, nenhuma modificação no sistema de lavagem e desinfecção dos utensílios, não havia nenhuma razão para que não continuassem a ser estes os utensílios com maior número de bactérias e, presumivelmente, aqueles que maiores probabilidades apresentariam de estarem mais contaminados com vírus.

A colheita de material de cada lote de copos foi realizada de acordo com a técnica padrão da Associação Americana de Saúde Pública¹ (1944), apenas substituindo-se a solução salina tamponada padrão — destinada a molhar os "swabs" de colheita de material e a servira de meio de transporte — por solução salina de Hanks, adicionada de 0,5% de gelatina, 200 u/ml de penicilina e 200 u/ml de estreptomicina. Os chumaços de algodão foram sempre montados em arame de alumínio.

O material colhido era transportado ao laboratório, dentro das condições impostas pela técnica padrão (APHA¹, 1944). Depois da agitação requerida, os chumaços de algodão, após serem espremidos com pinças estéreis, eram desprezados e o material foi sempre imediatamente congelado a -20° C, condição na qual permaneceu até a sua inoculação para a pesquisa da eventual presença de vírus.

Tempo de estudo — A presente investigação foi empreendida em duas épocas. O material dos primeiros 20 "bares e cafés" foi colhido nos dias 15 e 16 de agosto e 5 e 6 de setembro de 1967 e dos segundos 20 "bares e cafés", nos dias 23 e 24 de janeiro e 20 e 21 de fevereiro de 1968. Assim, a primeira época corresponde à segunda metade do inverno e a segunda, aos 30 dias do meio do verão.

A colheita foi realizada sempre entre as 15:00 e 16:00 horas.

(1) Os limites de área estudada são: Av. Ipiranga (a partir da esquina da Av. São Luiz), Av. Cásper Líbero, Largo Santa Ifigênia, Viaduto Santa Ifigênia, Largo São Bento, Rua Boa Vista, Pátio do Colégio, Praça da Sé, Rua Santa Tereza, Praça Clóvis Bevilacqua, Rua Anita Garibaldi, Praça Dr. João Mendes, Viaduto D* Paulina, Rua Maria Paula, Viaduto Jacareí, Viaduto 9 de Julho, Av. São Luiz.

Métodos virológicos — Cada amostra foi inoculada em 5 tubos de cultura de células HeLa e 5 tubos de culturas primárias de rim de macaco Rhesus, usando-se o volume de 0,2 ml de inóculo, por tubo. Incubadas a 37° C e observadas, cada dois dias, durante 20 dias, para exame do efeito citopático, eram consideradas negativas as amostras que não ocasionavam qualquer efeito em duas passagens sucessivas.

Cada uma das amostras foi ainda inoculada, por via sub-cutânea, em camundongos recém-nascidos, com menos de 24 horas de idade, na dose de 0,02 ml por animal, em grupos de 5 animais por amostra.

A identificação das amostras isoladas foi feita por provas de neutralização (ROWE et alii¹⁰, 1955; HAMBLING, DAVIES & MACRAE⁶, 1963 e APHA², 1964). Os soros padrões homólogos foram fornecidos pela Dra. M. S. Pereira do "Virus Reference Laboratory — Central Public Health Laboratories, Colindale", Londres.

RESULTADOS

De 7 dos 80 lotes de copos examinados, isto é, de 8,75%, foram isoladas 7 cêpas de vírus, sendo três de adenovírus do tipo 3, duas de vírus ECHO 11, uma de adenovírus do tipo 4 e uma de herpes simples. Os sete lotes positivos correspondem a 7 "bares e cafés" diferentes.

Os resultados obtidos não permitem estabelecimento de nenhuma relação entre época de colheita e maior freqüência de vírus.

DISCUSSÃO

A técnica padrão da Associação Americana de Saúde Pública¹ (1944), destinada à coleta de material de utensílios para a enumeração das bactérias nêles presentes, foi amplamente experimentada antes da sua adoção oficial e tem sido largamente posta à prova, nas condições práticas mais diversas, em diferentes paí-

ses. A presente investigação viria demonstrar a possibilidade da sua utilização, na parte que se refere ao método de coleta de material e com a modificação do meio suspensor por nós empregada, na pesquisa de vírus nesse tipo de material. Os resultados obtidos, neste trabalho de campo, parecem confirmar os achados de KELLER, BRASPENNINCKX & KASDAN⁸ (1961) relativos à eficiência do método. Estes autores, utilizando-se de modelos experimentais, demonstraram que, nas condições em que trabalharam, a porcentagem de recuperação do vírus bacteriófago T1 através do mesmo método de coleta por nós empregado, a partir de superfícies não porosas, se aproximava da precisão obtida na evidencição de contaminantes bacterianos. Mostraram também que até mesmo se aplicando apenas 12 TCD₅₀ de vírus de poliomielite do tipo 1, sobre uma superfície de 25 centímetros quadrados, ainda era possível revelar a presença do vírus quando a coleta do material era feita 5 minutos após a contaminação.

Por outro lado — e êste é o aspecto de maior importância da presente investigação — o isolamento de vírus, de três espécies diferentes, de 8,75% dos 80 lotes de copos examinados vem corroborar os achados das duas investigações realizadas anteriormente (CHRISTOVÃO^{4, 5}, 1947, 1956), confirmando a má situação sanitária dos utensílios de uso comum nos estabelecimentos públicos de alimentação da cidade de São Paulo. Mesmo se admitindo que, de cada lote positivo, apenas um dos copos continha o vírus isolado — hipótese, aliás, que deve ser, no caso presente, a mais provável — ainda, assim, se teria revelado que pelo menos 1,75% dos copos estava contaminado com vírus, ou seja, 1 de cada 57 copos.

Qual o significado epidemiológico desta elevada proporção de contaminação, é pergunta para a qual não se dispõe atualmente de conhecimentos suficientes para permitir resposta precisa. Para a quase totalidade dos vírus, pelo menos no que

se refere às cêpas selvagens, como também para as bactérias, ainda são desconhecidas as doses mínimas infectantes para o homem. KATZ & PLOTKIN⁷ (1967) puderam determinar que para a cêpa atenuada Fox de vírus da poliomielite, do tipo III, a dose mínima capaz de infectar infantes prematuros é, praticamente, igual à dose mínima capaz de infectar as culturas de células. Estes autores, anteriormente (PLOTKIN & KARZ⁸, 1965) após revisão das informações disponíveis sobre a relação entre infectividade para culturas de células e infectividade para o homem e animais, de vírus administrados pela via oral, respiratória ou conjuntival, haviam apresentado, como conclusão, a opinião de que uma dose de vírus infectante para cultura de células é suficiente para infectar o homem, se entrar em contacto com células suscetíveis. A investigação posterior, por eles empreendida, pôde confirmar este ponto de vista, pelo menos no que diz respeito ao vírus da poliomielite.

Diante dos dados disponíveis, poder-se-ia, assim, julgar os achados da presente investigação como demonstrativos da existência de risco de infecção na utilização de copos de "bares e cafés" do centro da cidade de São Paulo. O isolamento de adenovírus, vírus ECHO e vírus do herpes simples desse material, parecem-nos indício claro da possibilidade de isolamento de qualquer outro vírus do grupo respiratório, e, até mesmo, do grupo intestinal. A frequência relativa do achado de qualquer vírus destes dois grandes grupos, deverá depender principalmente da sua incidência particular na população, por ocasião da colheita de material. Será, entretanto, influenciada pela resistência de cada espécie aos fatores ambientais.

O isolamento de vírus, a partir do material examinado, não nos parece de nenhum modo surpreendente, frente aos resultados obtidos nas investigações bacteriológicas anteriores (CHRISTOVÃO^{4,5}, 1947, 1956), resultados estes que, pro-

vavelmente, se repetiriam no caso de se realizar novo levantamento daquele tipo. Com efeito, em 1947 e em 1956, nenhum dos lotes examinados de copos dos "bares e cafés" apresentou número médio de bactérias dentro do limite padrão (100 bactérias) proposto pela Associação Americana de Saúde Pública¹ (1944). Na realidade, em 1947, apenas 3% e, em 1956, nenhum dos lotes de utensílios deste tipo evidenciaram número médio de bactérias igual ou inferior a 1.000. Em 1947, o número médio geral de bactérias dos 448 copos examinados foi de 85.331 e o valor máximo do número médio, por lote, chegou a 720.000. Em 1956, o número médio geral para os 360 copos examinados foi de 92.996 e o valor máximo do número médio, por lote, atingiu 1.130.000. Além disto, em 1947, foram isolados estreptococos β -hemolíticos de 45,3% dos lotes, estafilococos patogênicos de 15,6%, *Escherichia coli* de 4,7% e coliformes, em geral, de 64,1%. Em 1956, pelas razões então apresentadas, não se repetiu a pesquisa de bactérias patogênicas ou potencialmente patogênicas, nem das reveladoras de poluição fecal.

Os resultados das investigações anteriores e da que ora se relata são a consequência natural da total ausência da aplicação de qualquer medida efetiva de saneamento dos utensílios de uso comum, nos estabelecimentos públicos de distribuição de alimentos e bebidas da cidade de São Paulo. Estes fatos foram amplamente discutidos nas investigações anteriores (CHRISTOVÃO^{4,5}, 1947, 1956), nas quais se apresentou crítica da irracional legislação sanitária que rege a matéria, a qual, para o caso de "copos" exige que sejam "convenientemente lavados em água fervente", medida impossível de ser tomada na quase totalidade dos estabelecimentos, por empregarem métodos manuais de lavagem.

Seria de interesse que a presente legislação fosse revista e, em seu lugar, fossem adotadas medidas eficientes e praticáveis, como as exigidas em códigos sani-

tários de estados ou cidades norte-americanas, dois dos quais foram apresentados, como exemplo, em investigação anterior (CHRISTOVÃO⁵, 1956), ou como aquelas exigidas em outros países, das quais, em seguida, se apresentam também alguns exemplos.

Assim, na província de Ontário, no Canadá³, a lei de saúde pública C.R.O. 332 de 1947, consolidada em 1950, que se refere aos estabelecimentos de distribuição de alimentos, estabelece disposições simples e rígidas, nos artigos de 34 a 43, sobre "a lavagem e o armazenamento dos utensílios". O artigo 41 exige que estes não apresentem, em média, mais que 100 bactérias. Os artigos anteriores regulam os métodos de lavagem e desinfecção, exigindo, por exemplo, quando se usam métodos manuais de lavagem, que esta seja realizada em solução de detergente eficiente, mantida a, pelo menos, 43,3 °C, que seja seguida de enxaguadura e, em seguida, de "esterilização". Esta será feita, ou através de imersão em água à temperatura mínima de 76,7 °C, durante, pelo menos, 2 minutos, ou de imersão em solução de cloro, de não menos que 100 p.p.m. de cloro disponível e a uma temperatura mínima de 43,3 °C ou, ainda, pela imersão em solução de composto quaternário de amônio na concentração mínima de 200 p.p.m. e à temperatura mínima de 43,3 °C.

Na União Sul-Africana¹¹ (1962) as leis sanitárias da cidade de Johannesburg, na seção 15 do capítulo 8, da Parte IV, exigem que a contagem de bactérias, pelo método padrão, não revele números médios superiores a 100 bactérias por utensílio. Segundo Smith⁽¹⁾, o controle de tal exigência é realizado através da Secção de Higiene Promocional do De-

partamento de Saúde local, a qual, em 1966, procedeu a 1.678 exames de lotes de utensílios, dos quais apenas 327 acusaram resultados superiores aos permitidos. Ainda segundo Smith⁽¹⁾, o Departamento de Saúde tem agido com sucesso, junto aos fabricantes de equipamento para restaurantes, bares, etc., no sentido de obter a fabricação de esterilizadores de louças, simples e eficientes.

Na URSS, de acôrdo com Liarskii⁽²⁾, as exigências sanitárias relativas à lavagem de utensílios, em estabelecimentos públicos de alimentação, são regulamentadas por leis sanitárias aprovadas pelo Ministério da Saúde e de execução obrigatória em todos os estabelecimentos desta categoria. Segundo Liarskii⁽²⁾, a lavagem de utensílios requer a existência de pias de três compartimentos ou de apenas dois, no caso de utensílios de vidro, e o processo de lavagem deve ser o seguinte: a) após a remoção, por meios mecânicos, dos restos de alimentação, os utensílios devem ser lavados, com escôva, em solução de fosfato trissódico a 1% ou de 0,5 a 2% de soda cáustica ou outro agente químico aprovado para êste fim, pelo Ministério; b) em seguida, os utensílios são "lavados" em água, à temperatura de 50 °C, adicionada de 10 ml de solução a 1% de cal clorada para cada litro (o que corresponde a 200-250 mg de cloro ativo), ou de cloramina; c) após esta operação, os utensílios são enxaguados, na terceira pia, em água de temperatura nunca inferior a 70 °C, para o que os utensílios são postos em cestas especiais de tela, as quais são colocadas sobre grades; d) finalmente, se realiza a secagem em estufas ou sobre prateleira especial; e) os talheres, de metais inoxidáveis, devem ser lavados da maneira descrita, mas têm, uma vez lavados e co-

(1) Smith, A. H., médico-sanitarista chefe do Departamento de Saúde Pública de Johannesburg, Professor de Administração Sanitária Urbana, Universidade de Witwatersrand: Comunicação pessoal, 1967.

(2) Liarskii, P., chefe do Departamento Sanitário-Epidemiológico Central de Moscou, Ministério da Saúde da URSS: Comunicação pessoal, 1967.

locados em cestas especiais de tela, de ser obrigatoriamente fervidos ou mergulhados em água fervendo durante 1-2 minutos e, depois, submetidos à secagem. Ainda de acordo com Liarskii⁽¹⁾, para o controle da eficiência das operações de lavagem, os órgãos do Serviço Sanitário-Epidemiológico empregam métodos especiais, aprovados pelo Ministério de Saúde da URSS. Coleta-se e analisa-se a água obtida após a lavagem de utensílios já anteriormente lavados, com a finalidade de verificar a presença ou não de microrganismos do grupo de bacilos intestinais e determinar a quantidade total de bactérias. Nestas amostras d'água, os bacilos intestinais não devem estar presentes.

Medidas eficazes e aplicáveis ao nosso meio deveriam ser estudadas e, após a sua seleção, dever-se-ia cogitar da substituição das atuais disposições sanitárias referentes à matéria — que se têm provado inteiramente inoperantes — pela legislação adequada.

S U M M A R Y

Seven strains of viruses were isolated from 8.75% of the 80 lots of drinking glasses, ready for use, in 40 coffee shops and bars in the business district of São Paulo. Three strains were identified as adenovirus type 3, two as echo type 11, one as adenovirus type 4 and one as herpesvirus. Each lot consisted of 5 drinking glasses. The positive lots belonged to 7 different coffee shops and bars. These findings confirm the poor sanitary conditions already observed of the common use utensils in the eating and drinking places of the city of São Paulo. These conditions are the result of the total lack of adoption of sanitation measures regarding such material. The existing conditions are the consequence of the inefficient and even infeasible regulations of the present sanitary laws of the State, concerning the matter.

(1) Nota da página anterior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Subcommittee on Food Utensil Sanitation — A proposed method for the control of food utensil sanitation: report. *Amer. J. publ. Hlth.*, 34(3):255-258, Mar., 1944.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — *Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases*. 3rd ed. New York, 1964. p. 396.
3. CANADA. Laws, statutes, etc. — *Regulations under the public health act, C. E. O. 332: eating establishments* Ontario, Frank Fogg Publ., 1958.
4. CHRISTOVAO, D. de A. — O problema sanitário dos copos, louças e talheres dos restaurantes, bases e cafés do centro da cidade de São Paulo, revelado por inquérito bacteriológico. Causas determinantes e sugestões para a sua solução. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 1(2):241-264, dez., 1947.
5. — As condições sanitárias dos copos, louças e talheres de restaurantes, bares e cafés do centro da cidade de São Paulo. 2º Inquérito bacteriológico. *Rev. paul. Med.*, 49(6):385-403, dez., 1956.
6. HAMBLING, M. H.; DAVIES, P. M. & MACRAE, A. D. — The typing of enteroviruses in tissue culture by neutralization with composite antiserum pools. *J. Hyg.*, Cambridge, 61(4):479-484, Dec., 1963.
7. KATZ, M. & PLOTKIN, S. A. — Minimal infective dose of attenuated poliovirus for man. *Amer. J. publ. Hlth.*, 57(10):1837-1840, Oct., 1967.
8. KELLER, K.; BRASPENNINCKX, H. & KASDAN, M. — Detecting viruses on nonporous surface by use of the cotton swab technique. *Publ. Hlth. Rep.*, 76(5):453-458, May, 1961.
9. PLOTKIN, A. & KATZ, M. — "Minimal infective doses of viruses for man by the oral route". In: BERG, G. ed. *Transmission of viruses by the water route*. New York, Wiley & Sons, 1965. p. 151-166.
10. ROWE, W. P. et alii — Studies of adenoidal-pharyngeal-conjunctival (A P C) group of viruses. *Amer. J. Hyg.*, 61(2):197-218, Mar., 1965.
11. UNIÃO SUL-AFRICANA. Laws, statutes, etc. — *Public health by by-laws: food handling*. Johannesburg, 1962. Part IV, chap. 8, 10 (Reprint).