

# OCORRÊNCIA DE *Escherichia coli* O157:H7 EM PRODUTOS CÁRNEOS E SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DE DETECÇÃO<sup>1</sup>

Neusely da SILVA<sup>2,\*</sup>, Neliane Ferraz de Arruda SILVEIRA<sup>2</sup>, Carmen CONTRERAS<sup>2</sup>, Nelson José BERAQUET<sup>2</sup>, Fumio YOKOYA<sup>3</sup>, Cleide Alves do NASCIMENTO<sup>2</sup>, Valéria Marques OLIVEIRA<sup>2</sup>, Chen Lee TSE<sup>2</sup>

## RESUMO

Foi verificada a ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em 340 amostras de produtos cárneos e ambiente industrial, provenientes de frigoríficos do Sul e Sudeste do Brasil, no período de abril/98 a abril/99. A presença de *E. coli* O157:H7 não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas e os resultados da avaliação da sensibilidade dos métodos de detecção evidenciaram que tanto o método cultural quanto o imunoenensaio da Neogem foram capazes de detectar a presença de *E. coli* O157:H7 em cultura pura em concentrações iniciais de menos de 0,5Log UFC/mL do caldo de enriquecimento.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli* O157:H7; carne; produtos cárneos; métodos; imunoenensaio enzimáticos; ELISA; Reveal *E. coli* O157.

## SUMMARY

OCCURRENCE OF *Escherichia coli* O157:H7 IN MEAT PRODUCTS AND SENSIBILITY OF THE DETECTION METHODS. The occurrence of *E. coli* O157:H7 was evaluated in 340 samples of meat products and industrial environment of meat manufacturers from the South and Southeast regions of Brazil, from April, 1998 to April, 1999. Pathogen was not detected in any of the samples analysed, and the evaluation of the sensibility of the studied detection methods showed that both, culture and immuno-assay methods detected *E. coli* O157:H7 in pure culture in initial population levels of 0.5Log CFU/mL of enrichment broth.

**Keywords:** *Escherichia coli* O157:H7, meat, meat products, methods, enzymatic immunoassay, ELISA, Reveal *E. coli* O157.

## 1 – INTRODUÇÃO

*E. coli* O157:H7 pertence a um grupo de cepas patogênicas de *E. coli*, conhecidas como entero-hemorrágicas (EHEC) ou produtoras de verotoxina (VTEC). Essas linhagens caracterizam-se pela produção de uma toxina chamada de verotoxina (VT) ou "shiga-like" toxina (ST), similar à produzida pela bactéria *Shigella dysenteriae* tipo I [16]. A VT provoca uma doença chamada colite hemorrágica que, em casos mais graves, resulta em um quadro conhecido como síndrome urêmica hemolítica (HUS) [10]. As cepas EHEC podem pertencer a diferentes grupos sorológicos somáticos, mas a maioria das linhagens associadas à HUS são do sorótipo O157:H7 [17]. Essas cepas diferem das demais cepas

de *E. coli* em algumas características, sendo mais importantes a não fermentação do sorbitol, a não produção da enzima  $\beta$ -glicuronidase e o crescimento pobre ou nulo a 44°C [9, 10, 11, 12].

O trato-intestinal de ruminantes, particularmente bovinos e ovinos, parece ser o principal reservatório das cepas entero-hemorrágicas de *E. coli* O157:H7 e *E. coli* O157:NM. Já foram incriminados em surtos, dentre outros alimentos, leite cru, carne bovina mal cozida e outros produtos à base de carne (rosbifes, hambúrgueres e salsichas tipo "hot-dog"), frutas e vegetais (alface, melão, suco de maçã e diversos tipos de saladas) e maionese industrializada [3,6,15]. No geral, pode-se dizer que a carne bovina é uma das principais fontes potenciais de *E. coli* O157:H7, uma vez que o trato gastrointestinal de bovinos é o reservatório desses microorganismos [7].

*E. coli* O157:H7 é reconhecida como patógeno de origem alimentar desde 1982, respondendo por milhares de casos de diarreia e síndrome urêmica hemolítica (HUS) nos Estados Unidos, Europa e Japão. No Brasil, SILVEIRA *et al* [14] analisaram, no período de janeiro a dezembro de 1997, 886 amostras de hambúrgueres provenientes de frigoríficos do Sul e Sudeste, não sendo detectada a presença desse patógeno em nenhuma das amostras. O presente estudo complementou esses resultados, verificando a ocorrência em outros produtos cárneos e no ambiente industrial. Também foi feita uma avaliação da sensibilidade dos métodos com cultura pura de *E. coli* O157:H7, injuriada e não injuriada, acompanhada ou não de uma cepa competidora de *E. coli* comum.

## 2 – MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 – Amostragem

As amostras de produtos cárneos diversos e ambiente industrial foram coletadas em frigoríficos localizados nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, no período de abril/98 a abril/99.

### 2.2 – Métodos de análise

Na determinação da ocorrência foi utilizado o método de imunoenensaio enzimático da Neogem (Reveal *E. coli* O157 Test Kit). Na avaliação da sensibilidade o imunoenensaio enzimático foi comparado com o método cultural, ambos descritos abaixo.

#### 2.2.1 – Método cultural

25g da amostra foram homogeneizadas com 225mL de Caldo EC Modificado Novobiocina (mECn), incuba-

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 06/02/01. Aceito para publicação em 07/06/01.

<sup>2</sup> Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Núcleo de Microbiologia, Av. Brasil, 2880, CEP 13473-001 - Campinas (SP). E-mail: neusely@ital.org.br

<sup>3</sup> Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

\* A quem a correspondência deve ser enviada.

das por 6 horas em “shaker” com temperatura controlada a 37°C e, em seguida, incubadas em incubadora estática por mais 18 horas a 37°C. Uma alçada do caldo enriquecido foi estriada em placas de Ágar McConkey Sorbitol e, após incubação a 35°C/24h foram selecionadas colônias típicas para confirmação, que foi feita através do teste sorológico de aglutinação em lâmina com antisoro O157 (Probac do Brasil), atividade de β-glicuronidase em Caldo Lauril Sulfato Triptose suplementado com 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo (LST-MUG), teste de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Lisina Ferro (LIA) e, a partir dos tubos de TSI, provas bioquímicas utilizando-se o kit da BioMerieux (API 20E).

### 2.2.2 – ELISA Neogem (Reveal *E.coli* O157 Test Kit)

25g da amostra foram homogeneizadas com 225mL do Caldo Neogem para *E.coli* O157 (Reveal media 8 hours 9760), incubadas por 8 horas em “shaker” com temperatura controlada a 41°C. O imunoensaio foi realizado com uma alíquota do caldo enriquecido, submetida à fervura, conforme instruções do fabricante. Todas as amostras sinalizadas pelo imunoensaio foram submetidas à confirmação, estriando-se uma alçada do caldo de enriquecimento original (8h de enriquecimento), em placas de Ágar McConkey Sorbitol. Após incubação a 35°C/24h foram selecionadas colônias típicas para confirmação, que foi feita seguindo o mesmo procedimento utilizado no método cultural, incluindo-se o teste sorológico de aglutinação em lâmina com antisoro O157 (Probac do Brasil).

### 2.3 – Determinação do limite de sensibilidade dos métodos

Foram feitos vários tipos de avaliações para determinar o limite de sensibilidade do método da Neogem, sempre em paralelo com o método cultural: a) Avaliação com cultura pura não injuriada, feita utilizando-se uma cepa de *E.coli* O157:H7 inoculada nos caldos de enriquecimento antes do início da análise, em concentrações iniciais variando de 6,5 a menos de 0,5Log UFC/mL de caldo. A seqüência da análise seguiu as mesmas etapas descritas nos itens 2.2.1.e 2.2.2., dispensando-se a confirmação. b) Avaliação com cultura pura injuriada, feita utilizando-se o mesmo procedimento seguido para a cepa não injuriada, com inóculo inicial variando de 2,1 a menos de 0,1Log UFC/mL de caldo. c) Avaliação com cultura mista não injuriada, feita utilizando-se a cepa de *E.coli* O157:H7 inoculada em concentrações iniciais variando de 5,5 a 3,5Log UFC/mL de caldo, acompanhada de uma cepa de *E.coli* comum competidora (ATCC 25922), inoculada em concentrações iniciais variando de 1 a 100 vezes a da cepa de *E.coli* O157:H7. A seqüência das análises seguiu as mesmas etapas descritas nos itens 2.2.1. e 2.2.2, dispensando-se as provas bioquímicas em API 20E. d) Avaliação com cultura mista injuriada, feita seguindo-se o mesmo procedimento utilizado na avaliação com cultura mista não injuriada, porém, em concentrações

iniciais da cepa competidora de 50 a 5.000 vezes a da cepa de *E.coli* O157:H7.

Em todos os casos a simulação de injúria foi feita por choque térmico sub-letal aplicado em banho-maria a 60°C/5min e a quantificação da população final de *E.coli* O157:H7 e *E.coli* comum após o período de enriquecimento foi feita em Petrifilm coliformes/*E.coli* (3M Company).

Para uma avaliação preliminar do limite de sensibilidade do ELISA propriamente dito, o imunoensaio foi realizado com a cepa pura de *E.coli* O157:H7 suspensa em Caldo Neogem, com concentrações variando de 9,0 a 3,0Log UFC/mL.

## 3 – RESULTADOS

### 3.1 – Ocorrência de *E.coli* O157:H7 em produtos cárneos e ambiente industrial

Os resultados encontram-se sumariados na *Tabela 1*. Foram analisadas 340 amostras, não sendo detectada a presença de *E.coli* O157:H7 em nenhuma das amostras analisadas. Esses resultados complementam os já previamente relatados para produtos cárneos no Brasil [14], atestando, senão a ausência, pelo menos uma baixa freqüência desse patógeno em nossa produção.

**TABELA 1.** Ocorrência de *E.coli* O157:H7 em produtos cárneos e ambiente industrial.

Tipo amostra	Nº amostras analisadas	Amostras positivas
Hambúrguer	77	0
Lingüiça	148	0
Ambiente	115	0
<b>Total</b>	<b>340</b>	<b>0</b>

### 3.2 – Determinação do limite de sensibilidade dos métodos de detecção utilizados

**3.2.1.** Na avaliação preliminar do limite de sensibilidade do ELISA propriamente dito, o imunoensaio da Neogem foi realizado com a cepa pura de *E.coli* O157:H7 suspensa em Caldo Neogem, sendo a captura das células feita a partir de uma pequena alíquota (5 gotas) do caldo de enriquecimento. Observou-se que, para emissão de um sinal claro, foi necessária uma contagem de *E.coli* O157:H7 na faixa de 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> UFC/mL, valor similar aos normalmente relatados para *Salmonella*, que também encontra-se na faixa de 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup>/mL [13].

**3.2.2.** Os resultados da avaliação da sensibilidade dos métodos com cultura pura, utilizando-se uma cepa de *E.coli* O157:H7 não injuriada, adicionada ao caldo de enriquecimento com contagens iniciais variando de 4,5 a menos de 0,5Log UFC/mL, encontram-se sumarizados na *Tabela 2*. No caldo EC Modificado Novobiocina (mECn) a contagem *E.coli* O157:H7 elevou-se em menos de dois ciclos logarítmicos após o

período de enriquecimento, porém, mesmo assim, em todos os casos foi possível a recuperação de colônias típicas no Ágar MacConkey Sorbitol. No caldo Neogem a contagem elevou-se a valores acima de 8,0Log UFC/mL em todos os casos, podendo-se obter um sinal positivo no teste de ELISA e também a recuperação de colônias típicas na Ágar MacConkey Sorbitol. Comparado com o caldo mECn, os resultados evidenciaram que a velocidade de crescimento de *E. coli* O157:H7 foi muito maior no Caldo Neogem, permitindo levar a população aos níveis de detecção do ELISA mesmo a partir de contagens iniciais abaixo de 0,5Log UFC/mL.

**TABELA 2.** Resultados da avaliação do limite de sensibilidade do método cultural e do imunoenensaio enzimático da Neogem (Reveal *E. coli* O157) na detecção de *E. coli* O157:H7 em cultura pura, utilizando-se inóculo não injuriado.

Inóculo inicial adicionado ao caldo de enriquecimento (Log UFC/mL)	Método cultural		Imunoenensaio Reveal <i>E. coli</i> O157		
	Enriquecimento em Caldo mECn		Enriquecimento em Caldo Neogem		
	Contagem final (Log UFC/mL) <sup>a</sup>	Recuperação no Ágar MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>	Contagem final (Log UFC/mL) <sup>c</sup>	ELISA	Recuperação no Ágar MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>
4,5	5,8	+	9,0	+	+
3,5	4,7	+	8,9	+	+
2,5	3,8	+	9,0	+	+
1,5	3,0	+	9,0	+	+
0,5	1,9	+	>8,8	+	+
<0,5	1,0	+	>7,8	+	+

<sup>a</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 35°C por 6 horas sob agitação seguido de 18h a 35°C sem agitação. <sup>b</sup>Estrias em Ágar MacConkey Sorbitol feitas a partir de uma alçada do caldo enriquecido. <sup>c</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 41°C por 8 horas sob agitação.

**TABELA 3.** Resultados da avaliação do limite de sensibilidade do método cultural e do imunoenensaio enzimático da Neogem (Reveal *E. coli* O157) na detecção de *E. coli* O157:H7 em cultura pura com inóculo injuriado por injúria sub-letal (choque térmico em banho-maria a 60°C por 5 minutos).

Inóculo inicial adicionado ao caldo de enriquecimento (Log UFC/mL)	Método cultural		Imunoenensaio Reveal <i>E. coli</i> O157		
	Enriquecimento em Caldo mECn		Enriquecimento em Caldo Neogem		
	Contagem final (Log UFC/mL) <sup>a</sup>	Recuperação no Ágar MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>	Contagem final (Log UFC/mL) <sup>c</sup>	ELISA	Recuperação no Ágar MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>
2,1	3,3	+	7,4	+	+
1,1	2,5	+	6,1	+	+
0,1	1,0	+	6,1	+	+
<0,1	0,4	+	5,1	-	pobre

<sup>a</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 35°C por 6 horas sob agitação seguido de 18h a 35°C sem agitação. <sup>b</sup>Estrias em Ágar MacConkey Sorbitol feitas a partir de uma alçada do caldo enriquecido. <sup>c</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 41°C por 8 horas sob agitação.

**3.2.3.** Os resultados da avaliação da sensibilidade dos métodos com cultura pura, utilizando-se uma cepa de *E. coli* O157:H7 submetida a injúria sub-letal (choque térmico a 60°C/5min), adicionada ao caldo de enriquecimento com contagens iniciais variando de 2,1 a menos de 0,1Log UFC/mL, encontram-se sumarizados na Tabela 3. No caldo EC Modificado Novobiocina (mECn) a contagem *E. coli* O157:H7 elevou-se em no máximo um ciclo logarítmico, porém, ainda assim, em todos os casos foi possível a recuperação de colônias típicas no Ágar MacConkey Sorbitol. No caldo Neogem a contagem elevou-se em mais de 5 ciclos logarítmicos, em

todos os casos, porém, com inóculo inicial abaixo de 0,1Log UFC/mL, não foi possível a obtenção de um sinal positivo no teste de ELISA e a recuperação no Ágar MacConkey Sorbitol foi muito pobre, com desenvolvimento de um número reduzido de colônias típicas. Nesse caso é possível que o inóculo transferido na alçada tenha sido muito pequeno.

**3.2.4.** Na avaliação da sensibilidade dos métodos com cultura mista sem injúria (Tabela 4) foi utilizado inóculo inicial de *E. coli* O157:H7 variando na faixa de 3,5 a 1,5Log UFC/mL e proporção de 1:100, 1:10 e 1:1 entre as cepas de *E. coli* O157:H7 e *E. coli* comum. Em todas as situações testadas os dois métodos permitiram uma boa recuperação da cepa no Ágar MacConkey Sorbitol e o ELISA da Neogem foi capaz de sinalizar a presença de *E. coli* O157:H7 mesmo na presença de uma população competidora 100 vezes maior.

**TABELA 4.** Resultados da avaliação do limite de sensibilidade do método cultural e do imunoenensaio enzimático da Neogem (Reveal *E. coli* O157) na detecção de *E. coli* O157:H7, acompanhada de uma cepa de *E. coli* comum (ATCC 25922) competidora, com inóculos não injuriados.

Inóculo inicial adicionado ao caldo de enriquecimento (Log UFC/mL)	Método cultural		Imunoenensaio Reveal <i>E. coli</i> O157			
	Enriquecimento em Caldo mECn		Enriquecimento em Caldo Neogem			
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> comum	Contagem final <i>E. coli</i> O157:H7 (Log UFC/mL) <sup>a</sup>	Recuperação em MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>	ELISA	Contagem final <i>E. coli</i> O157:H7 (Log UFC/mL)
3,5	5,5	5,7	+	+	7,7	+
3,5	4,5	5,2	+	+	8,7	+
3,5	3,5	4,9	+	+	9,1	+
2,5	4,5	3,0	+	+	7,7	+
2,5	3,5	3,7	+	+	8,8	+
2,5	2,5	3,8	+	+	8,9	+
1,5	3,5	2,5	+	+	7,0	+
1,5	2,5	2,7	+	+	8,9	+
1,5	1,5	2,6	+	+	8,6	+

<sup>a</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 35°C por 6 horas sob agitação seguido de 18h a 35°C sem agitação. <sup>b</sup>Estrias em Ágar MacConkey Sorbitol feitas a partir de uma alçada do caldo enriquecido. <sup>c</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 41°C por 8 horas sob agitação.

**3.2.5.** Nos testes com inoculação das duas culturas injuriadas (Tabela 5) foi mantida a faixa de inóculo inicial da *E. coli* O157:H7 mas a proporção entre as cepas passou para 1:5000, 1:500 e 1:50. Nesse caso, a população final de *E. coli* O157:H7 no Caldo Neogem manteve-se em faixas 10 a 1.000 vezes menores do que as obtidas com a cepa sem injúria e, no Caldo mECn, esse dado não pode ser bem avaliado porque as contagens finais ficaram abaixo das iniciais. A explicação provável para esse resultado é o fato de a elevação da população de *E. coli* O157:H7 no Caldo mECn não ser muito acentuada, dificultando a competição com a cepa de *E. coli* comum nas placas de Petrifilm. Ainda assim, os resultados mostraram que, em todas as combinações testadas, tanto o caldo Neogem quanto o caldo mECn permitiram a recuperação da *E. coli* O157:H7 no Ágar MacConkey Sorbitol, porém, o ELISA da Neogem não conseguiu sinalizar a presença da cepa nas combinações com proporção acima de 1:500. Cabe lem-

brar que, nos alimentos mais susceptíveis à contaminação por *E. coli* O157:H7, como hambúrgueres, lingüiças e outros produtos cárneos crus, a contagem de coliformes fecais temotolerantes (*E. coli*) permitida pela legislação brasileira é de  $5,0 \times 10^3/g$  [1], de forma que, numa amostra no limite de tolerância, a presença de menos de 10UFC/g de *E. coli* O157:H7 poderia não ser detectada pelo ELISA da Neogem. Cabe ainda lembrar que a menor dose infectiva de *E. coli* O157:H7 conhecida encontra-se na ordem de 10 células/g [2, 4, 8], evidenciando o risco de não detecção do patógeno em produtos potencialmente capazes de provocar a doença.

**TABELA 5.** Resultados da avaliação do limite de sensibilidade do método cultural e do imunoenensaio enzimático da Neogem (Reveal *E. coli* O157) na detecção de *E. coli* O157:H7, acompanhada de uma cepa de *E. coli* comum (ATCC 25922) competidora, com inóculos injuriados por injúria sub-letal (choque térmico em banho-maria a 60°C por 5 minutos).

Inóculo inicial adicionado ao caldo de enriquecimento (Log UFC/mL)		Método cultural		Imunoenensaio Reveal <i>E. coli</i> O157	
<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> comum	Contagem final <i>E. coli</i> O157:H7 (Log UFC/mL) <sup>a</sup>	Recuperação em MacConkey Sorbitol <sup>b</sup>	ELISA	Contagem final <i>E. coli</i> O157:H7 (Log UFC/mL)
3,5	7,2	>2,0	+	fraco	6,3
3,5	6,2	>2,0	+	+	6,3
3,5	5,2	2,8	+	+	6,6
2,5	6,2	2,0	+	-	>6,0
2,5	5,2	2,7	+	+	6,0
2,5	4,2	2,0	+	+	6,4
1,5	5,2	2,6	+	-	>5,0
1,5	4,2	1,5	+	+	>5,0
1,5	3,2	1,1	+	+	5,7

<sup>a</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 35°C por 6 horas sob agitação seguido de 18h a 35°C sem agitação. <sup>b</sup>Estriás em Agar MacConkey Sorbitol feitas a partir de uma alçada do caldo enriquecido. <sup>c</sup>Contagem realizada a partir do caldo enriquecido a 41°C por 8 horas sob agitação.

#### 4 – CONCLUSÕES

- Não foi detectada a presença de *E. coli* O157:H7 nas amostras analisadas, corroborando os resultados anteriormente obtidos por SILVEIRA *et al* [14], com amostras de hambúrguer. Embora esse resultado não possa ser interpretado como garantia da ausência desse patógeno nos produtos cárneos brasileiros, atesta que a ocorrência no Brasil é, certamente, mais baixa do que nos Estados Unidos, Europa e outros Japão, onde amostragens similares têm detectado a presença em 0,2 a 3,7% do total de amostras analisadas nos diferentes estudos [5].
- O ELISA da Neogem exigiu contagens mínimas de  $10^6$  a  $10^8$  UFC de *E. coli* O157/mL para a emissão de um sinal positivo inequívoco, deixando claro que, assim como todos os ELISAs heterogêneos de captura desenvolvidos para *Salmonella* ou *Listeria*, até o momento, não tem sensibilidade para aplicação direta na amostra, sendo essencial a etapa de enriquecimento, para levar a contagem aos níveis de detecção.

- Tanto o método cultural quanto o imunoenensaio da Neogem foram capazes de detectar a presença de *E. coli* O157:H7 em cultura pura, injuriada ou não, em concentrações iniciais de menos de 0,5Log UFC/mL do caldo de enriquecimento.
- Tanto o método cultural quanto o imunoenensaio da Neogem foram capazes de detectar a presença de *E. coli* O157:H7 em cultura mista com *E. coli* comum competidora, injuriada ou não, em concentrações iniciais de 1,5Log UFC/mL do caldo de enriquecimento, até concentrações 500 vezes maior do competidor.

#### 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANVISA, 2001. Resolução RDC 12 de 02 de janeiro de 2001 - Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Saúde, **D.O.U. de 10/01/2001, Seção 1.**
- [2] ATTENBOROUGH, M. & MATTHEWS, K.R. Food safety through the meat supply chain. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p144S-148S, 2000.
- [3] BEUCHAT, L.R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **Journal of Food Protection**, v.59, n.2, p.204-216, 1996.
- [4] CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers-Western United States, 1992. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.42, p.258-263, 1993.
- [5] DESMARCHELIER, P.M. & GRAU, F.H. (1997). *Escherichia coli*. In: HOCKING, A.D., ARNOLD, G., JNSON, I. *et al.* eds. **Foodborne Microorganisms of Public Health Significance**. Sydney, Australia: Australian Institute of Food Science and Technology Inc., Chapter 7, p.231-264.
- [6] ERICKSON, J.P., STAMER, J.W., HAYES, M. *et al.* An assessment of *Escherichia coli* O157:H7 contamination risks in commercial mayonnaise from pasteurized eggs and environmental sources, and behavior in low pH dressings. **Journal of Food Protection**, v.58, n.10, p.1059-1064, 1995.
- [7] KNIGHT, P. Hemorrhagic *Escherichia coli*: the danger increases. **ASM News**, v.59, n.5, p.247-250, 1993.
- [8] LIOR, H. *Escherichia coli* O157:H7 and verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC). **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v.14, n.7, p.378-382, 1994.
- [9] MARCH, S.B.; RATNAM, S. Sorbitol MacConkey Medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.23, p.869-872, 1986.
- [10] MENG, J.; DOYLE, M.P.; ZHAO, T. *et al.* Detection and control of *Escherichia coli* O157:H7 in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.51, p.179-184, 1994.
- [11] OKREND, A.J.G, ROSE, B.E., 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. **Journal of Food Protection**, v.53, p.936-940, 1990.
- [12] SHUTERLAND, J.P.; BAYLISS, A.J.; BRAXTON, D.S. Predictive modelling of growth of *Escherichia coli* O157:H7:the effects of temperature, pH and sodium

- chloride. **International Journal of Food Microbiology**, v.25, p.29-49, 1995.
- [13] SILVA, N. Imunoensaios enzimáticos aplicados à detecção de *Salmonella* em alimentos. **Coletânea do ITAL**, v.21, n.2, p.173-185, 1991.
- [14] SILVEIRA N.F.A., SILVA N., CONTRERAS C., MIYAGUSKU L., BACCIN M.D.F., KOONO E., BERAQUET N.J. Occurrence of *Escherichia coli* O157 : H7 in hamburgers produced in Brazil. **Journal of Food Protection**, v.62, n.11, p.1333-1335, 1999.
- [15] TAUXE, R., KRUSE, H. HELDBERG, C. *et al.* Microbial hazards and emerging issues associated with produce – a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiologic Criteria for Foods. **Journal of Food Protection**, v.60, n.11, p.1400-1408, 1997.

- [16] WEAGANT, S.D.; BRYANT, J.L.; JINNEMAN, K.G. An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. **Journal of Food Protection**, v.58, n.1, p.7-12, 1995.
- [17] WILLSHAW, G.A., THIRLWELL, J., JONES, A.P., *et al.* Vero toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhoea, haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome in Britain. **Letters in Applied Microbiology**, v.19, p.304-307, 1994.

## 6 – AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do trabalho.