

DETECÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS* SPP. METICILINA RESISTENTE (MRS) EM AMOSTRAS DE CARNE MOÍDA BOVINA

Ana Claudia Lemes Pavan¹ (PIBIC/AF/IS-CNPq-FA/UEM), Giovana Hashimoto Nakadomari², Vanessa Kelly Capoa Vignto³, Sheila Rezler Wosiacki⁴ (Orientadora), e-mail: srwosiacki@uem.br.

¹Acadêmica Bolsista PIBIC/AF/IS-CNPq-FA/UEM do curso de Medicina Veterinária.

²Acadêmica do curso de Medicina Veterinária.

³Técnica do Laboratório de Microbiologia Animal.

⁴Orientadora. Docente do curso de Medicina Veterinária.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Umuarama, PR.

Área: Medicina Veterinária e subárea: Inspeção de Produtos de Origem Animal

Palavras-chave: disco-difusão, *blaZ*, *mecA*

Resumo:

A carne moída apresenta maior risco de contaminação, por sofrer manipulação excessiva e possuir maior superfície de contato, constituindo um excelente meio de cultura, favorecendo a instalação e multiplicação de microrganismos patogênicos. Os *Staphylococcus* spp. são alvos de constante preocupação pelas autoridades de saúde pública e indústrias de alimentos, devido a emergência de microrganismos resistentes. O objetivo dessa pesquisa foi detectar a presença de *Staphylococcus* spp. meticilina resistente (MRS) em amostras de carne moída bovina. Neste estudo foram utilizadas 53 cepas de estafilococos isolados de carne moída obtida *in natura* em 30 estabelecimentos comerciais locais de Umuarama – PR. Caracterizaram-se fenotipicamente 9 (17,0%) cepas como MRS, e 7 (13,2%) cepas hiperprodutoras de beta-lactamase. O gene *blaZ* foi detectado em 5 amostras. Não houve detecção do gene *mecA*. A detecção de cepas resistentes em produtos de origem animal ressalta a importância de se estimular programas de vigilância, garantindo a segurança na saúde humana e animal.

Introdução

Dentre os produtos cárneos, a carne moída apresenta maior risco de contaminação, por sofrer manipulação excessiva e possuir maior superfície

de contato, constitui um excelente meio de cultura, favorecendo a instalação e multiplicação de microrganismos patogênicos (SANTOS *et al.*, 2012).

Quando encontrado nos alimentos, os *Staphylococcus* podem ser considerados indicadores de condições higiênico-sanitárias inadequadas. Esses microrganismos são alvos de constante preocupação pelas autoridades de saúde pública e indústrias de alimentos, devido a emergência de cepas resistentes (SILVA; BERGAMINI; OLIVEIRA, 2010).

Os estafilococos metilicina resistente (MRS) apresentam dois mecanismos distintos de resistência aos beta-lactâmicos. O primeiro é a produção da enzima beta-lactamase, codificada pelo gene *blaZ*, que hidrolisa o anel beta-lactâmico e inativa o antimicrobiano. O segundo mecanismo é a produção de PBP2a ou PBP2' (proteína adicional de ligação à penicilina), codificada pelo gene *mecA*, que altera o sítio de ligação do antibiótico beta-lactâmico, com consequente inatividade (LOWY, 2003).

Devido a importância desses microrganismos, essa pesquisa teve por objetivo detectar a presença de *Staphylococcus* spp. metilicina resistente em amostras de carne moída bovina.

Materiais e métodos

Neste estudo foram utilizadas 53 cepas de estafilococos isolados de carne moída obtida *in natura* em 30 estabelecimentos comerciais locais de Umuarama – PR, em uma coleta de cada local. O isolamento se deu da seguinte forma: em ambiente asséptico, foram pesados 25 gramas da amostra diluídos com 225 mL de água peptonada a 0,1%, sendo realizada diluição seriada até 10^{-4} . O inóculo foi espalhado com alça de Drigalsky em toda superfície do ágar Baird Parker, incubado a 36°C por 48 h. As colônias características de *Staphylococcus* spp. foram semeadas por esgotamento com alça de platina em ágar Nutriente, incubadas a 36°C por 24 horas. Foram avaliadas características morfo-tintoriais (Gram) e bioquímicas (catalase e coagulase) para caracterização. As amostras caracterizadas como *Staphylococcus* spp. foram submetidas a disco-difusão com penicilina, oxacilina e cefoxitina para avaliação da resistência fenotípica, os resultados foram interpretados segundo as normas do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013). Todas as amostras resistentes fenotipicamente foram submetidas a detecção dos genes *mecA* e *blaZ*, através da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction).

Resultados e Discussão

Dos 30 estabelecimentos avaliados, detectou-se a presença de estafilococos em 29 (96,6%). Santos *et al.* (2012) obtiveram resultados semelhantes ao detectar a presença de *Staphylococcus* em 90% das amostras avaliadas.

Das 53 cepas analisadas, caracterizaram-se fenotipicamente 9 (17,0%) cepas como MRS, e 7 (13,2%) cepas hiperprodutoras de beta-

lactamase (tabela 1). Segundo o CLSI (2013), a cefoxitina é considerada o antibiótico padrão para detectar a resistência em estafilococos spp., e a penicilina para detecção da hiperprodução de beta-lactamase.

Tabela 1 – Caracterização fenotípica de resistência em *Staphylococcus* spp. Isolados em carne moída, no município de Umuarama – PR.

Antibióticos Testados	Número de Cepas Resistentes
Penicilina	7
Penicilina, Oxacilina e Cefoxitina	3
Penicilina e Cefoxitina	1
Cefoxitina	3
Cefoxitina e Oxacilina	2
Oxacilina	1
Total de Cepas Resistentes	17

A coagulase é um importante fator de virulência para os *Staphylococcus*. Nesse estudo 4 (7,5%) amostras foram consideradas coagulase-positiva e 49 (92,5%) coagulase-negativa.

Quanto a detecção genotípica de resistência, o gene *blaZ* foi detectado em 5 amostras, sendo uma delas resistente aos 3 antibióticos testados e as outras 4 resistentes apenas a Penicilina (figura 1). Não houve detecção do gene *mecA* nas cepas caracterizadas fenotipicamente como resistentes a cefoxitina. Cerqueira e Almeida (2013), concluíram em sua revisão de literatura que a presença de MRS em alimentos, embora reduzida e bastante divergente entre os estudos, isso indica que esta pode ser uma importante fonte de contaminação para humanos. Entretanto, os diferentes métodos de análise dificultam a realização de comparações e a correta estimativa do risco.

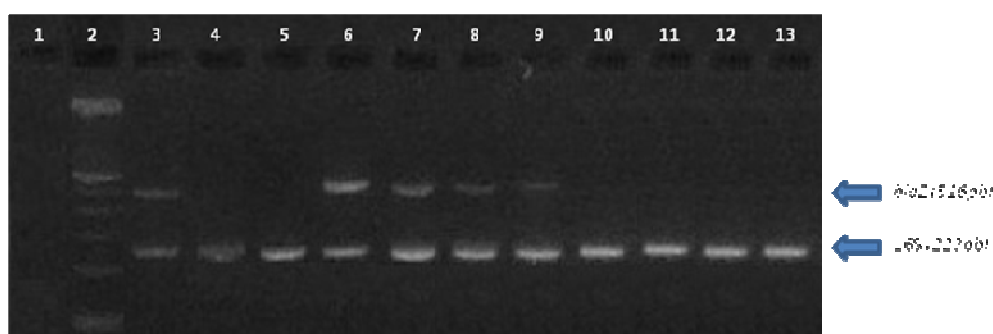


Figura 1 - Eletroforese em gel de agarose (1,5%) corado com SYBR®. Canaleta 1: Controle negativo. Canaleta 2: padrão de tamanho molecular 100 pb. Canaletas 3, 6, 7, 8 e 9 produto amplificado de 228pb e 516pb representando os genes 16S e *blaZ* respectivamente. Canaletas 4, 5, 10, 11, 12 e 13 produto amplificado de 228pb representando o gene 16S.

Os *Staphylococcus* spp. representam perigo a saúde pública não apenas por suas cepas resistentes, quando presente no alimento esse microrganismo poderá se multiplicar, produzindo enterotoxina estafilocócica e consequente intoxicação alimentar (SANTOS *et al.*, 2012).

Conclusões

A detecção de cepas resistentes em carne moída ressalta a importância de práticas de higiene adequada, além disso, deve-se estimular programas de vigilância e promover o uso racional de antimicrobianos, visando garantir a segurança na saúde humana e animal.

Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária pela concessão de bolsa para desenvolvimento do projeto.

Referências

CERQUEIRA, E. S.; ALMEIDA, R. C. C. *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) em alimentos de origem animal: uma revisão sistemática. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 4, p. 268-281, 2013.

CLSI publication M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories, 2013.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation New Haven**, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, 2003.

SANTOS, N. A. F.; LEÔNIO, G. G.; SILVA, F. D. S.; PINHEIRO, M. F. N.; PEREIRA, D. M.; LOPES, I. S. Presença de *Staphylococcus aureus* em carne moída bovina comercializada em feiras e mercados públicos da cidade de São Luís-MA. In: Reunião Anual da SBPC, 64^a, 2012, São Luís. **Anais/Resumos da 64^a Reunião Anual da SBPC**. São Luís: SBPC, 2012. p. 12 - 13. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/4577.htm>>. Acesso em: 02 Jul. 2017.

SILVA, E. P.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, M. A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil: 2005 a 2008. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 7, n. 77, p. 4-10, 2010.