



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

**CLAUDIA PATRICIA ÁLVAREZ CONTRERAS**

**OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM  
SANDUICHES E HAMBURGUERES COMERCIALIZADOS EM REDES DE *FAST-  
FOODS* E SUPERMERCADOS DE SALVADOR - BA**

**Salvador**

**2014**

**CLAUDIA PATRICIA ÁLVAREZ CONTRERAS**

**OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM SANDUICHES E HAMBURGUERES COMERCIALIZADOS EM REDES DE *FAST-FOODS* E SUPERMERCADOS DE SALVADOR - BA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Rogeria Comastri de Castro Almeida

Salvador

2014

**CLAUDIA PATRICIA ÁLVAREZ CONTRERAS**

**OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM SANDUICHES E HAMBURGUERES COMERCIALIZADOS EM REDES DE FAST-FOODS E SUPERMERCADOS DE SALVADOR - BA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em:

**Banca Examinadora**

Prof<sup>a</sup>. Dra. Rogeria Comastri de Castro Almeida (Orientadora)

---

Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.  
Escola de Nutrição – Universidade Federal da Bahia.

Prof.Dr. Ferlando Lima Santos

---

Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa  
Núcleo de Inovação Tecnológica - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof<sup>a</sup>. Dra. Aláise Gil Guimarães

---

Doutora em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia.

25 de abril de 2014

Dedico este trabalho aos meus pais, às  
minhas irmãs e aos meus sobrinhos.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me permitir cumprir o meu sonho.

À minha família, pelo amor incondicional, pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

À Professora Rogeria C. C. Almeida, pela dedicação, paciência e orientação exímia na realização desta pesquisa.

À Jeane Ferreira pela confiança demonstrada, colaboração nos experimentos e pela amizade construída.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Dr. Ernesto Hofer e Dra. Marise Dutra Asensi do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Manguinhos, Rio de Janeiro, pelo fornecimento da cepa *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).

A todos os professores, funcionários e colegas do Mestrado, pela parceria durante essa jornada.

Ao Sr. José Carlos, secretário da Pós-Graduação meu anjo da guarda, pela amizade e competência que em muito me ajudou a resolver os percalços encontrados.

Aos técnicos do Laboratório de Controle de Qualidade da Escola de Nutrição, Ayse, Luís e Ari, pela ajuda na realização das atividades.

Às alunas de Iniciação Científica Dilza Ferreira, e Joelza Carvalho, pelo apoio durante a realização das análises, e especialmente a Lis Nery pela ajuda, paciência e carinho.

A todos os meus amigos que partilharam das minhas angústias e torceram por mim, especialmente Vilmara, Jerusa, Jasilaine e Marcos, que estiveram ao meu lado durante estes dois anos de Mestrado, pela verdadeira amizade, companheirismo, conselhos e ajuda sempre que precisei.

Enfim, a todos os amigos e familiares que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização de mais um sonho.

*Obrigada!*

## RESUMO

Estafilococos coagulase positiva são patógenos relacionados a surtos de intoxicação alimentar; dentro deste grupo de microrganismos encontra-se a espécie *Staphylococcus aureus* comumente associada às infecções hospitalares, sendo considerado um grande problema de saúde pública. O presente trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) em sanduíches e hambúrgueres de carne bovina e de carne de frango, comercializados em redes de *fast-foods* e supermercados de Salvador, BA, respectivamente. Para tal, 100 amostras foram investigadas compreendendo 50 amostras de sanduíches (25 de carne de frango e 25 de carne bovina), e 50 amostras de hambúrgueres crus congelados (25 de carne de frango e 25 de carne bovina), observando-se lotes diferentes. Para o isolamento da bactéria, as amostras foram pré-enriquecidas em caldo TSB com NaCl, enriquecidas em caldo vermelho de fenol manitol contendo cefoxitina e aztreonam, e posteriormente inoculadas em ágar manitol hipertônico. Colônias características, Gram, catalase e coagulase positivas, foram submetidas ao antibiograma pelo método de disco difusão. Os resultados encontrados demonstram que MRSA estava presente em 32% das amostras de hambúrgueres e em 8% das amostras de sanduíches. Os resultados ainda evidenciam que tanto nas amostras de hambúrgueres como nas de sanduíches a frequência de isolamento do patógeno foi maior nos produtos com carne de frango. Entretanto, os resultados da análise estatística demonstraram que não houve associação entre o isolamento de MRSA e o tipo de alimento investigado. A presença de MRSA, principalmente em sanduíches prontos para o consumo, é um risco evidente, sendo, portanto necessária a adoção de medidas de controle, para evitar a disseminação da bactéria.

**Palavras-chaves:** MRSA, antibióticos, alimentos cárneos, produtos prontos para consumo

## ABSTRACT

Coagulase positive staphylococci are pathogens associated with outbreaks of food poisoning; within this group of organisms is *Staphylococcus aureus* associated with hospital infections, with species being considered a major public health problem. The present study aimed to investigate the occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sandwiches and hamburgers of beef and chicken meat sold in networks of *fast foods* and supermarkets of Salvador-BA, respectively. For this purpose, 100 samples were investigated comprising 50 samples of sandwiches (25 chicken and 25 beef), and 50 samples of frozen raw hamburgers (25 chicken and 25 beef), observing different batches. For the isolation of the bacteria, samples were pre enriched in TSB with NaCl, enriched in phenol red broth manitol containing aztreonam and ceftiofur, and then inoculated in hypertonic manitol agar. Characteristic colonies Gram positive, catalase and coagulase positive were subjected to antibiotic susceptibility testing by disk diffusion method. The results show that MRSA was present in 32% of the hamburgers and in 8% of the sandwiches samples. The results also indicate that the frequency of MRSA was higher in samples of the products with chicken meat. However, the results of the statistical analysis showed no association between the presence of the MRSA and the type of food investigated. The presence of MRSA, especially in ready-to-eat sandwiches, is a worrying, demonstrated the need for better control during preparation of the food to prevent the spread of bacteria.

Keywords: MRSA, antibiotics, meat products, ready-to-eat foods

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO 1

- Figura 1** - Distribuição de surtos de toxinfecção conforme região no Brasil, entre os anos 2000 e 2011 reportados pelo Ministério da Saúde.....13
- Figura 2** -Marcos importante na evolução da resistência antibiótica no *S. aureus*.....21



**LISTA DE QUADROS****CAPITULO 1**

<b>Quadro 1</b> -Agentes etiológicos identificados em surtos alimentares no Brasil, no período de 2000 a 2011.....	12
--	----

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO 1

**Tabela 1** - Padrões microbiológicos para pratos cárneos prontos para o consumo, de acordo com a Resolução RDC nº12/2001 da ANVISA/MS (BRASIL, 2001).....16

### CAPITULO 2

**Tabela 1** - Frequência de isolamento de estafilococos coagulase positiva em amostras de carne bovina e carne de frango em hambúrguer e sanduíches, comercializados em redes de *fast-foods* e supermercados de Salvador, BA.....43

**Tabela 2** -Frequência de isolamento de MRSA em amostras de carne bovina e carne de frango em hambúrguer e sanduíches, comercializados em redes de fast-foods e supermercados de Salvador, BA.....44

**Tabela 3** -Perfil de resistência/susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados coagulase positiva das amostras de carne bovina e de frango em sanduíches.....47

**Tabela 4** - Perfil de resistência/susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados coagulase positiva das amostras de carne bovina e de frango em hambúrgueres.....48

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AAC	Acetiltransferase Aminoglicosidase
ANT	Nucleotidiltransferase Aminoglicosidase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APH	Fosfotransferase Aminoglicosidase
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
DHI	Diâmetro do halo de inibição
ECN	Estafilococos Coagulase Negativa
EE	Enterotoxinas Estafilocócicas
FAO	Organização de Fomentos Agrícolas
LACQ	Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos
MH	Ágar Müeller-Hinton
MLS-B	Macrolídeo Lincosamina Estreptogramina B
MRSA	<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
MRSA-CA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente-comunidade
MRSA-HA	<i>Health care associated MRSA</i>
MS	Ministério da Saúde
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
SAg	Superantígenos de Estafilococos
SCCmec	<i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i>
SFP	<i>Staphylococcal food poisoning</i>
TSA	Agar Trípico de Soja
TSB	Caldo triptona de soja
VISA	<i>VANCOMYCIN-INTERMEDIATE Staphylococcus aureus</i>

## SUMARIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo Geral.....	4
2.2 Objetivos Específicos.....	4
CAPÍTULO 1:.....	6
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
1. Considerações Iniciais.....	6
2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3. Intoxicação alimentar causada por enterotoxinas estafilocócicas.....	9
4. Legislação para produtos cárneos.....	13
4.1 Hambúrguer.....	13
4.2 Sanduíches prontos para o consumo.....	15
5. Resistência de <i>Staphylococcus aureus</i> aos antimicrobianos.....	17
6. Prevalência de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina em alimentos.....	21
7. Avaliação da resistência bacteriana.....	23
REFERÊNCIAS.....	27

<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>34</b>
<b><i>Staphylococcus aureus</i> RESISTENTE À METICILINA EM SANDUÍCHES E HAMBÚRGUERES COMERCIALIZADOS EM REDES DE FAST-FOODS E SUPERMERCADOS EM SALVADOR, BA.</b>	
<b>RESUMO</b> .....	<b>34</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>36</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
<b>2.1 Materiais</b> .....	<b>39</b>
<b>2.2 Desenho e local do estudo</b> .....	<b>39</b>
<b>2.3 Investigação de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina em sanduiches e hambúrgueres</b> .....	<b>39</b>
<b>2.3.1 Amostragem</b> .....	<b>39</b>
<b>2.3.2 Tratamento das amostras</b> .....	<b>40</b>
<b>2.3.3 Detecção de estafilococos coagulase positiva</b> .....	<b>40</b>
<b>2.3.4 Avaliação dos isolados de estafilococos coagulase positiva quanto à resistência aos antimicrobianos</b> .....	<b>41</b>
<b>2.5 Análise dos dados</b> .....	<b>42</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>3.1 Investigação de estafilococos coagulase positiva e MRSA em amostras de Hambúrgueres e Sanduiches adquiridos respectivamente em supermercados e lanchonetes do tipo fast-foods em Salvador, BA</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2 Perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados de estafilococos de coagulase positiva</b> .....	<b>45</b>
<b>3.3 Resultados da análise estatística</b> .....	<b>51</b>

<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>

## INTRODUÇÃO

A industrialização trouxe mudanças de hábitos alimentares com o consumo de alimentos enlatados, pré-cozidos, e do tipo *fast-food*. A chamada “comida caseira” foi ficando cada vez mais rara. Antes do aparecimento dos alimentos do tipo *fast-food*, o ritual do se alimentar tinha outro significado. Entretanto, hoje, devido à escassez nos horários para as refeições, o *fast-food*, assim como o “comer fora” e a opção *delivery*, entraram na conjuntura de um novo tempo urbano (WENCESLAU,2010).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, milhões de pessoas são diretamente afetadas por doenças de origem alimentar a cada ano no mundo (OMS – Organização Mundial da Saúde, 2000). A ocorrência de tais doenças é particularmente preocupante em países em desenvolvimento, embora incidentes com alimentos também ocorrem em países mais ricos e desenvolvidos. A globalização do comércio de alimentos, urbanização, mudanças nos estilos de vida, poluição, desastres naturais e a deterioração das fontes de água são potencialmente problemáticos. Nesse cenário, os perigos para a saúde humana aumentam e podem ser causados principalmente por substâncias químicas ou contaminantes microbiológicos. Então, segurança alimentar pode ser entendida como o inverso do risco do alimento ou a garantia de que um alimento não causará danos ao consumidor quando ele é preparado e consumido em conformidade com a sua finalidade (WHO – World Health Organization, 2009; WILCOCK, PUN, KHANONA, E AUNG, 2004).

O uso desenfreado de antibióticos aplicados a rações para gado bovino, nas produções avícolas e suínas para fins industriais, implicou no aumento do número de patógenos com resistência a antimicrobianos. Na última década, o número de microrganismos isolados de alimentos que são resistentes a microbicidas tem aumentado consideravelmente, levando a crescentes ocorrências de surtos alimentares. Nesse contexto, observa-se também o aumento da ocorrência de infecções hospitalares e nas comunidades causadas por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes ou multirresistentes aos antibióticos comumente usados na

medicina humana e na veterinária (RIZEK, 2010; PESAVENTO et al., 2007; PERESI et al., 2006; CONTER et al., 2009)

Em análise de diversos estudos epidemiológicos, incluindo o da Vigilância Nacional de Infecções Nosocomiais dos Estados Unidos, observa-se que a incidência de infecções por *Staphylococcus aureus* vem aumentando consideravelmente nas últimas décadas em todas as faixas etárias, incluindo recém-nascidos (ANDRADE, 2008).

A presença dessa bactéria nos alimentos é frequentemente causada pela manipulação imprópria de alimentos, por pessoas portadoras que possuem um importante papel na manutenção e disseminação de patógenos. Este microrganismo é considerado um dos maiores causadores de intoxicação de origem alimentar no mundo por estar presente como um membro persistente ou temporário da microbiota nasal humana de forma assintomática (HATAKKA et al., 2000; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al., 2002).

Por outro lado, a contaminação pela bactéria pode ocorrer através de feridas e outras aberturas na pele, estado de debilidade, operações cirúrgicas e doenças, levando a transmissão de pessoa para pessoa pelo contato direto ou através de objetos. Sendo assim, a versatilidade do *S. aureus* e a capacidade deste crescer em diferentes condições ambientais, facilita o seu desenvolvimento em vários alimentos. (LOIR et al., 2003; CARMO, 2002).

Estudo conduzido por Kluytmans (2010) aponta que o uso indiscriminado de antimicrobianos e a falta de medidas profiláticas para controle das infecções é a principal causa da pandemia de resistência antimicrobiana em patógenos humanos. Dessa forma, o uso dessas drogas em prescrições inadequadas ou em tratamento sem diagnósticos pré-estabelecidos, a automedicação, e o descarte incorreto no meio ambiente, além da utilização indevida na pecuária, também contribuem para a disseminação, pois genes de resistência podem ser transmitidos do animal para o homem através da cadeia alimentar (TAVARES, 2000).

A terminologia MRSA é usada para designar as linhagens de *S. aureus* que não respondem ao tratamento com antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (STUMER et al., 2008). Caracterizam-se como cepas que possuem o gene *mecA* ou demonstram uma



concentração inibitória mínima (CIM) à oxacilina mais alta do que 4 mg/L. Entretanto, alguns isolados clínicos são *mecA*-positivos e susceptíveis à oxacilina (HOSOSAKA et al., 2007). O gene *mecA* codifica a proteína 2a (PBP2a), que se encontra na parede celular do microrganismo, que é uma proteína fixadora de penicilinas envolvida na síntese da parede celular e em mutações, resultando em baixa afinidade aos sítios de ligação dos  $\beta$ -lactâmicos (CHAMBERS, 1997). A detecção de fontes de MRSA, como os alimentos, é fundamental para prevenção e acompanhamento das infecções. Em adição, o interesse por hospitais associados a infecções por MRSA e comunidades com infecções causadas por MRSA vem aumentando nos últimos anos (LOPES, 2005; GELATTI et al., 2009).

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Investigar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em sanduíches de carne bovina e de carne de frango e hambúrgueres crus congelados de carne de bovina e de carne de frango, comercializados em Salvador, BA.

### Objetivos Específicos

- Investigar a ocorrência de estafilococos coagulase positiva em sanduíches e hambúrgueres de carne de frango e de carne bovina, comercializados em redes de *fast-foods* e supermercados;
- Investigar dentre os isolados de estafilococos coagulase positiva a ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina;
- Avaliar a associação entre a ocorrência de MRSA e os alimentos investigados

## **ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO**

Este estudo organiza-se em dois capítulos, sendo o primeiro de revisão de literatura, com abordagem de temas relacionados às doenças de origem alimentar, às características de *Staphylococcus aureus* e MRSA, a sua ocorrência em alimentos e resistência a antibióticos.

O segundo capítulo, em forma de artigo, avalia a ocorrência de estafilococos coagulase positiva e MRSA em amostras de hambúrgueres e sanduíches de carne bovina e de carne de frango, identificando a resistência aos antibióticos, e comparando a frequência de isolamento entre os grupos de alimentos investigados.

## CAPITULO 1

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 1. Considerações Iniciais

No Brasil, estudos demonstram a presença de bactérias indicadoras de qualidade microbiológica e bactérias patogênicas nos alimentos disponíveis para consumo da população e ao longo da cadeia produtiva (BOARI et al., 2004; LANDEIRO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011). *Salmonella* spp.e*Staphylococcus aureus* estão entre os principais agentes envolvidos em tais intoxicações, onde quase nove (9) mil surtos de intoxicação alimentar foram reportados ao Ministério da Saúde (MS) entre 2000 e 2011(BRASIL, 2013).

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) têm um grande impacto na saúde pública. Segundo o Centro para o Controle e Prevenção de Doenças (CDC) a cada ano, nos Estados Unidos, entre 76 a 80 milhões de pessoas são afetadas por essas doenças, gerando em torno de 325 mil internações hospitalares e causando 5.200 mortes (CDC, 2009), e um custo entre 5 e 17 bilhões de dólares com medicamentos, internamentos, além da queda na produtividade (SANTANA et al., 2010).

Segundo *United States Department of Agriculture* (USDA, 2004),4,5% das DVA que ocorrem anualmente nos Estados Unidos da América se atribuem ao o *S. aureus*. Já na França, 1.267 surtos de DVA ocorreram nos anos de 1999 a 2000, totalizando 17.378 indivíduos afetados e 1.383 hospitalizações com um óbito. No Brasil, anualmente são notificados cerca de 620 surtos em média, gerando 12 mil casos de DVA; entre os anos de 2009 a 2010 foram notificados aproximadamente 1.700 surtos alimentares e 1.800 casos, sendo que no segundo ano as notificações somaram a metade do primeiro no número de surtos (BRASIL, 2011).

Ainda, no Brasil, de acordo com o Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), de 1999 a 2002, ocorreram 25.281 óbitos por DVA, com uma média de 6.320

óbitos/ano e um custo em torno de 280 milhões de reais com internamento entre 1999 a 2004, média de 46 milhões de reais ao ano (SANTANA et al., 2010). Em se tratando das intoxicações estafilocócicas, sua real frequência no Brasil é subnotificada, devido a erros de diagnósticos, por serem similares a outras intoxicações (*Bacillus cereus* – toxina emética), por coletas inadequadas, exames laboratoriais impróprios ou investigações epidemiológicas inadequadas dos surtos, e por ser uma doença de notificação não compulsória. Dos casos onde os agentes etiológicos foram identificados nos surtos alimentares, de 2000 a outubro de 2011, *S. aureus* foi o segundo microrganismo mais envolvido, estando presente em 800 surtos (BRASIL, 2011).

Ações no cuidado com a saúde humana já são realizadas objetivando o uso racional de antibióticos, contudo, o mesmo não acontece no setor da pecuária. No Brasil, a regulamentação do uso de antibióticos em animais compete ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e à Secretaria de Defesa Agropecuária. O Programa Nacional de Controle de Resíduos no Leite (PCRL), criado em 1999 por este Ministério, tem a finalidade de regulamentar o controle e a vigilância dos resíduos em alimentos de origem animal. Suas ações visam evitar a violação dos limites máximos permitidos de resíduos (LMR) e de coibir o uso de substâncias proibidas. Todavia, apesar de todos os esforços, não é possível fiscalizar toda a produção, cabendo aos produtores e às empresas prezarem pela qualidade do produto (KORB et al., 2011).

## 2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* foi observado pela primeira vez em 1878 por Robert Kock, a partir de um material purulento. Em 1881 o microrganismo foi caracterizado em áreas de abscessos epiteliais agudos e crônicos. A relação de *Staphylococcus* spp. asurtos de intoxicação alimentar só foi evidenciada em 1884, em Michigan, EUA, devido a casos relacionados ao consumo de queijo do tipo *cheddar* contaminado com a bactéria (PEREIRA et al., 2000).

Koneman et al. (2001) afirmam que de acordo com *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, o gênero *Staphylococcus* (do grego “staphyle” = cacho de uvas e “coccus” = semente ou grão) pertence à família *Micrococcaceae*, se apresentando em forma de cocos tendendo a formar agrupamentos semelhantes a cachos de uva; são bactérias Gram positivas, com diâmetro variando entre 0,5 e 1,5 µm, imóveis e não formam esporos; possuem metabolismo fermentativo e respiratório; são mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8°C e temperatura ótima entre 40 e 45°C; o pH ideal para o crescimento está entre 7 a 7,5, porém eventualmente ocorre sua multiplicação em alimentos com pH na faixa entre 4,2 e 9,3; são capazes de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 15%; são os únicos com capacidade de multiplicarem substratos com atividade de água em torno de 0,86 com relatos de crescimento em 0,83, valores esses inferiores ao considerados mínimos para outros grupos de bactérias halófilas.

A versatilidade nutricional e a capacidade de crescerem em diferentes condições ambientais fazem com que o *S. aureus* se desenvolva com facilidade em vários alimentos (LOIR et al., 2003; CARMO, 2002). A distribuição simultânea de *Staphylococcus* spp. em mucosas e pele, especialmente na região naso-faríngea, em hospedeiros bovinos e nas aves, compreende 41 espécies e 24 subespécies, dentre as quais 20 estão associadas a infecções de caráter oportunista, em seres humanos e animais (WONG; BERGDOLL, 2002; FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Segundo Tseng et al. (2004), em humanos, o *S. aureus* causa um amplo espectro de enfermidades que incluem: infecções cutâneas, intoxicação alimentar, endocardites, pneumonia, osteomielite e artrite séptica. Além disso, a emergência de

casos de *S. aureus* resistentes a metilina (MRSA) associados com infecções nosocomiais e adquiridas em comunidade têm ganhado a atenção de centros de controle de patógenos e dos pesquisadores em todo o mundo (KOREEN, et al., 2004).

Em animais, *S. aureus*, é um importante agente etiológico de mastite em vacas, cabras e ovelhas, causando uma infecção crônica e profunda na glândula mamária de fêmeas lactantes. A mastite causa sérias perdas econômicas para a produção leiteira em todo o mundo e representa um risco para a saúde pública (GILOT et al., 2002; AIRES-DE-SOUSA et al., 2007).

Existem alguns fatores de virulência dos estafilococos, associados à sua capacidade enterotoxigênica, que são importantes para o fechamento das conclusões de um processo de investigação epidemiológica. Entre estes fatores de virulência utiliza-se a pesquisa das enzimas coagulase e termonuclease (Tnase) como os indicadores mais aceitos quanto à evidência presuntiva da sua propriedade enterotoxigênica (PEREIRA et al., 2000).

O *S. aureus* produz uma série de toxinas extracelulares: as enterotoxinas estafilocócicas (EE), a esfoliatina, a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1) e as hemolisinas. As EE são as responsáveis pela intoxicação alimentar estafilocócica; as hemolisinas, envolvidas em casos de mastite; a TSST, na síndrome do choque tóxico; e a esfoliatina na síndrome da pele escaldada (DINGES et al., 2000).

A intoxicação alimentar estafilocócica, é resultado da ingestão de alimentos contaminados com EE, sendo considerada a terceira causa mais comum de doença alimentar no mundo (NEMA et al., 2007).

### **3. Intoxicação alimentar causada por enterotoxinas estafilocócicas**

O *S. aureus* é considerado um dos agentes etiológicos mais envolvidos em surtos de intoxicação alimentar; está largamente distribuído na natureza, sendo veiculado aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos

animais (BALABAN; RASOOLY, 2000; SIMON; SANJEEV, 2007; STAMFORD et al., 2006).

Os diferentes tipos de enterotoxinas produzidas pelos estafilococos foram inicialmente descritos por Bergdoll et al., em 1973, como sendo 5 tipos sorologicamente distintos, denominados de EEA, EEB, EEC1, EEC2, EEC3, EED e EEE. Na sequência, novas enterotoxinas e seus genes correspondentes foram descritos embora seu envolvimento com os surtos de intoxicação alimentar não estejam ainda bem esclarecidos. Estas novas EE foram denominadas EEG, EEH, EEI, EEJ, EEK, EEL, EEM, EEN, EEO, EEP, EEQ, EER e EEU (JORGENSEN et al., 2005).

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas simples de baixo peso molecular (27,5 a 30,0 KDA) e suas cadeias polipeptídicas apresentam quantidades apreciáveis de lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico e tirosina. A composição dos aminoácidos das EEA, EED e EEE são similares, o mesmo ocorrendo com EEB e EEC. Estas proteínas são resistentes à tripsina, quimotripsina, renina, papaína e pepsina, o que possibilita a sua passagem pelo trato gastrointestinal. Apenas a EEB é inativada pela pepsina em pH próximo de 2.0. As enterotoxinas ainda são termorresistentes, o que aumenta sua importância na indústria de alimentos uma vez que a maioria dos alimentos recebe tratamento térmico (WONG E BERGDOLL, 2002; FRANCO& LANDGRAF, 2005).

A produção de enterotoxinas é influenciada pela temperatura, pH, aa, tamanho do inóculo, fonte de carbono e nitrogênio, concentração de sal e condições atmosféricas do substrato. Em temperaturas ótimas, a enterotoxina torna-se detectável entre 4 a 6 horas (WONG E BERGDOLL, 2002, FRANCO E LANDGRAF, 2005).

As intoxicações estafilocócicas ocorrem ocasionalmente em indivíduos debilitados imunologicamente como os idosos e crianças. Em determinados casos, pode causar morte devido aos sintomas representados por náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, cólicas, dores de cabeça e, até hipotermia. Todos esses sintomas surgem, em média, a partir de quatro horas após ingestão do alimento contaminado, variando de 1 a 6 horas, geralmente durando de 24 a 48 horas (FRANCO& LANDGRAF, 2002).



Estima-se que seja necessário 1µg de enterotoxina para causar intoxicação alimentar, mas as quantidades são variáveis entre indivíduos e dependem da quantidade de alimento contaminado ingerido, do tipo de enterotoxina, do peso e do estado imunológico do indivíduo (FREIRAS et al., 2004). Com relação a quantidade de microrganismo, Franco e Landgraff (2002) relatam que  $10^5$  a  $10^6$  UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de *S. aureus* por grama de alimento, sejam necessárias para causar intoxicação alimentar.

Vários alimentos são incriminados em surtos, mas aqueles que envolvem uma grande manipulação e os derivados do leite são mais frequentemente envolvidos (PELES et al., 2007).

Na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos há uma alta prevalência de toxinas alimentares causadoras de gastroenterites relacionadas ao *S. aureus* (ZECCONIAE PICCININI, 1999). Entretanto, o desencadeamento da síndrome varia de acordo com o grau de susceptibilidade do indivíduo, com a concentração da toxina no alimento e a quantidade que foi ingerida que, no caso do *S. aureus*,  $10^5$  células por alimento já é o suficiente para que seja produzida e acumulada toxina em níveis capazes de provocar a intoxicação. Considera-se que o microrganismo em populações inferiores pode também desencadear a intoxicação, principalmente em indivíduos susceptíveis (ESR, 2001).

Segundo Da Motta (2001), os surtos alimentares ocorrem pelas seguintes razões: primeiro, porque o *S. aureus* em alimentos processados pode estar relacionado às condições higiênicas inadequadas do processo; segundo, porque suas enterotoxinas, uma vez presentes no alimento, poderão causar intoxicação alimentar. Sabe-se que a prova bioquímica convencional não detecta precisamente a produção de coagulase pelo microrganismo, pois a proteína pode não estar sendo expressa. Neste sentido, técnicas moleculares para a detecção do gene *coa* tem sido de fundamental importância na confirmação de *S. aureus* em alimentos (DA MOTTA et al., 2001).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) reportou 8.663 surtos alimentares entre os anos de 2000 e 2011. Do total, 3.927 tiveram o agente etiológico identificado, e esses foram principalmente *Salmonella* spp. E *S. aureus*, sendo que o *S. aureus* foi

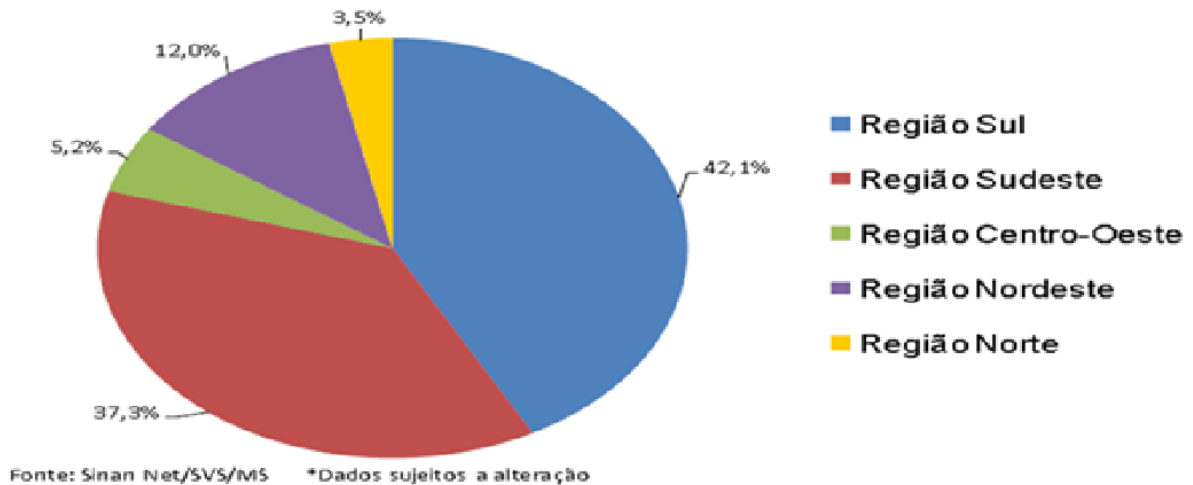
responsável pela ocorrência de 799 surtos, representando 9,2% dos casos registrados (Quadro 1).

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	Total
<i>Salmonella spp</i>	140	206	218	139	155	161	111	125	212	147	27	19	1660
<i>S. aureus</i>	35	96	89	51	60	103	46	51	102	122	32	12	799
<i>B. cereus</i>	6	23	29	21	24	34	40	16	46	41	9	11	300
<i>E. coli</i>	14	44	33	31	41	65	43	17	40	58	14	11	411
<i>Campylobacter spp</i>	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
<i>C. perfringens</i>	9	14	19	8	21	30	18	13	24	17	11	6	190
<i>C. botulinum</i>	0	1	1	0	0	1	6	0	0	1	0	0	10
<i>Shigella spp</i>	7	22	17	10	7	9	1	1	0	4	1	3	82
<i>V. cholerae O1</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>V. parahaemolyticus</i>	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	4
<i>Cryptosporidium spp</i>	0	6	1	4	0	1	0	0	0	0	0	0	12
Rotavirus	2	38	24	27	38	33	2	4	6	2	3	3	182
Norovirus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hepatite A	46	71	38	19	7	37	4	5	4	1	2	0	234
<i>Enterobacter spp</i>	0	1	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	5
<i>T. gondii</i>	0	1	0	0	1	2	0	0	0	2	0	0	6
Giardia	1	4	3	2	1	1	0	1	11	0	0	0	24
<i>T. cruzi</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2
Inconsistência	5	12	15	15	4	7	2	13	16	38	6	5	138
Inconclusivo	3	22	12	8	7	26	11	44	110	130	47	30	450
Ignorado	155	303	300	265	258	399	275	413	694	570	262	254	4148
<b>Total de agentes identificados</b>	<b>262</b>	<b>528</b>	<b>472</b>	<b>316</b>	<b>358</b>	<b>479</b>	<b>272</b>	<b>233</b>	<b>445</b>	<b>395</b>	<b>100</b>	<b>67</b>	<b>3927</b>
<b>Total geral</b>	<b>425</b>	<b>865</b>	<b>799</b>	<b>604</b>	<b>627</b>	<b>911</b>	<b>560</b>	<b>703</b>	<b>1265</b>	<b>1133</b>	<b>415</b>	<b>356</b>	<b>8663</b>

**Quadro 1:** Agentes etiológicos identificados em surtos alimentares no Brasil, no período de 2000 a 2011.

Fonte: Sinan Net/SVS/MS

Em relação a distribuição dos surtos, a região Sul, obteve a maior prevalência com 42,1% dos surtos; a região Sudeste 37,3%; a região Centro-Oeste 5,2%; a região Nordeste 12%; e a região Norte com apenas 3,5%. (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição dos surtos conforme regiões no Brasil, entre os anos de 2000 e 2011, reportados pelo Ministério da Saúde.

Fonte: Sinan Net/SVS/MS.

## 4. Legislação para Produtos cárneos

### 4.1. Hambúrguer

A qualidade da carne é motivo de constante preocupação em todo o mundo, em especial no Brasil, país considerado o segundo maior produtor de carne bovina do mundo e que vêm mantendo-se como maior exportador (ABIEC, 2011).

O hambúrguer é um produto cárneo industrializado, obtido de carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Trata-se de produto cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado de acordo com sua classificação (BRASIL, 2000). A resolução RDC nº12/2001 da ANVISA (BRASIL, 2001) estabelece parâmetros que regulamentam a produção e manipulação da carne destinada ao consumo para garantir a segurança alimentar, de forma a assegurar a fiscalização de parâmetros intrínsecos e extrínsecos que permitam preservar a microbiota natural da carne e ainda evitar a instalação e proliferação de patógenos.

Em nível mundial, problemas relacionados com hambúrgueres de carne bovina, como surtos de colites hemorrágicas causadas por *Escherichia coli* O157: H7, dentre outras ocorrências de toxinfecções têm sido relatados. Assim, como outros produtos

cárneos, os hambúrgueres quando mal cozidos ou manipulados inadequadamente, apresentam-se como importantes fontes de contaminação por bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *S. aureus* e *Clostridium perfringens* (TAVARES E SERAFINI, 2003).

No caso da carne moída, a moagem é um fator adicional que pode favorecer a contaminação e a multiplicação de microrganismos. Os fatores que mais colaboram com a contaminação do produto são o uso de equipamentos e instalações mal higienizados, bancadas sujas, presença de bactérias no moedor pela falta de limpeza ou os próprios manipuladores que, pela falta de informação ou negligência, acabam por transmitir bactérias à carne moída (ALMEIDA; GONÇALVES; FRANCO, 2002; OLIVEIRA; NASCIMENTO; FIORINI, 2002).

Os estudos apontam que os manipuladores representam um dos principais veículos de contaminação da carne, uma vez que sua participação chega a atingir até 26% dos surtos de toxinfecção alimentar. Desse modo, medidas preventivas devem estar relacionadas à higiene pessoal na manipulação, ao adequado preparo e armazenamento de alimentos (ANDRADE E BRABES, 2003).

Entretanto, no Brasil, os trabalhadores do setor de carnes possuem baixos níveis social e cultural. Este quadro exige grande atenção e dedicação a esses profissionais, para que os hábitos mais elementares de higiene sejam obedecidos, uma vez que a higiene é fundamental para garantir a boa qualidade dos produtos. A utilização de equipamentos de proteção individual (EPI's) por parte dos trabalhadores que manipulam produtos de origem animal deve ter um caráter contínuo, enfatizando a necessidade da higiene e saúde dos manipuladores de alimentos. Esta educação deve salientar a importância da boa qualidade das matérias primas, a higiene das instalações, utensílios, moedores e dos métodos de preparo da carne moída (ABRAHÃO; NOGUEIRA; MALLUCELI, 2005)

A literatura relata pesquisas que obtiveram resultados preocupantes quanto ao nível de contaminação das carnes, dos equipamentos, utensílios e manipuladores, assim como pela adoção de práticas inadequadas de manipulação de alimentos (ALMEIDA, 2010). Em alguns estabelecimentos comerciais, o moedor de carne, as facas destinadas ao corte e os utensílios do estoque raramente são limpos com o

cuidado e a frequência necessários para prevenir o aumento do número de microrganismos (JAMES, 2005).

Embora a legislação brasileira (BRASIL, 2001) não estabeleça limites de tolerância para o grupo de microrganismos psicrotróficos e mesófilos, populações elevadas desse grupo representam qualidade higiênica sanitária deficiente, devido à má qualidade da matéria-prima aliada a tempo e temperatura de estocagem inadequados. Quando populações mesofílicas e psicrotróficas ultrapassam  $10^6$  UFC/g, a vida de prateleira deste produto torna-se comprometida (SILVAEGANDRA, 2001).

A legislação Brasileira vigente preconiza, entretanto, padrões microbiológicos para os produtos cárneos, a fim de assegurar as condições higiênico-sanitárias desses produtos e evitar a possível presença de microrganismos patogênicos (Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 02/01/2001, ANVISA) (BRASIL, 2001) (Tabela 1).

#### **4.2 Sanduíches prontos para o consumo**

A venda de alimentos do tipo *fast-food*, juntamente com a procura por alimentação “fora de casa”, tem promovido o surgimento do reflexo do dinamismo dos dias atuais. Sendo assim, uma das opções mais rápidas e viáveis adotada em todo o mundo é o consumo de sanduíches. O consumidor deste tipo de alimento, em geral, está pouco preocupado com sua qualidade nutricional e sanitária, sendo o preço e aparência agradável os fatores determinantes na hora da escolha (SOUZA, 2006; VALENTIM E MONTEIRO, 2008).

Como já mencionado para os hambúrgueres, a carne moída, em particular, apresenta altos níveis de contaminação microbiana em relação aos outros cortes, por sofrer maior manipulação e possuir maior relação área/volume sendo mais susceptível a carrear microrganismos deterioradores e patogênicos para os alimentos manipulados com falhas de processamento (COSTA E MOREIRA, 2008; SOUSA et al., 2012).

Em vista disso, há a necessidade de uma preocupação com a higiene pessoal, utensílios e materiais utilizados na produção destes alimentos, uma vez que eles também podem estar contaminados e transmitir microrganismos patogênicos que podem causar prejuízos à saúde do consumidor (LUCCA E TORRES, 2002).

Muitos casos de doenças veiculadas por alimentos não são notificados, pois seus sintomas são geralmente parecidos com gripes ou discretas diarreias e vômitos. Desta forma, para que se evitem as toxinfecções e possibilitar a identificação de alimentos suspeitos ou de má qualidade, os consumidores devem ser esclarecidos quanto aos riscos de adquirir alimentos de origem desconhecida, recebendo informações preventivas e educativas necessárias (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Microrganismos	Tolerância para amostra Indicativa <sup>a</sup>	Tolerância para amostra Representativa <sup>b</sup>			
		N <sup>1</sup>	C <sup>2</sup>	m <sup>3</sup>	M <sup>4</sup>
Contagem de coliformes a45°C/g	2x10	5	2	10	2x10
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Contagem de <i>Bacillus cereus</i> /g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Contagem de <i>Clostridium</i> sulfito redutor a 46°C/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp./25g	–	5	0	–	–

**Tabela 1.** Padrões microbiológicos para pratos cárneos prontos para o consumo de acordo com a Resolução RDC nº12/2001 da ANVISA/MS (BRASIL, 2001)

a: amostra indicativa – composta por um número de unidades amostrais inferior ao estabelecido no plano de amostragem constante na legislação específica.

b: amostra representativa – constituída pelo número de unidades amostrais estabelecidos de acordo com o plano de amostragem.

1: n – é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente.

2: c – é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M.

3: m – limite inferior estabelecido pela legislação RDC nº12/2001 da ANVISA/MS

4: M – limite superior estabelecido pela legislação RDC nº12/2001 da ANVISA/MS

Na resolução RDC n° 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 12 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001), as amostras de pratos prontos para o consumo humano, à base de carne, devem ser interpretadas, de acordo com as especificações, como produtos em condições sanitárias satisfatórias ou insatisfatórias. Nesta legislação não existem padrões microbiológicos específicos para sanduíches com carne de hambúrgueres cozidos; adotam-se, portanto, os padrões para pratos cárneos prontos para o consumo (Tabela 1).

### **5. Resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos**

O uso desenfreado de antibióticos em animais e em rações implicou no aumento do número de patógenos transmitidos por alimentos que apresentam resistência a antibióticos e a sua transmissão subsequente através de alimentos contaminados. Nos últimos dez anos, o número de microrganismos isolados de alimentos, que são resistentes a antimicrobianos, tem aumentado consideravelmente através de mutações espontâneas em bactérias resistentes (PESAVENTO et al., 2007; PERESI et al., 2006; CONTER et al., 2009).

Embora o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) tenha sido considerado um patógeno exclusivo de hospitais por muitos anos, atualmente, alguns estudos têm documentado a disseminação de MRSA em alimentos (*S. aureus* resistente à meticilina adquirido em comunidade - MRSA-CA) e em animais de produção como: bovinos, caprinos, avícolas, etc. (TENOVER et al., 2006; CARDOSO et al., 2007; NORMANNO et al., 2007; PESAVENTO, et al., 2007; WALTHER et al., 2007; SIMEONI et al., 2008). Portanto, o MRSA é o principal caso de resistência bacteriana no mundo, e uma grande preocupação em saúde pública (APPELBAUM, 2007).

Em 1950 foram produzidos antibióticos como: cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina e estreptomicina, para o combate a bactérias como *S. aureus* e *E. coli*, resistentes a penicilina, entretanto com o uso indiscriminado de antimicrobianos, surgiram cepas multirresistentes a dois ou mais antibióticos. Na década de 60 foi introduzida a meticilina na prática médica resultando rapidamente em isolados de *Staphylococcus* resistentes à meticilina e, como consequência, foram criadas as primeiras

cefalosporinas (cefalotina e cefazolina), que inicialmente tiveram como objetivo estabilizar o avanço de *S. aureus* resistente a penicilina (MRSA). Ainda em 1960, a descoberta de que a substituição do grupamento fenilacetil pelo grupo acil poderia impedir o ataque ao anel  $\beta$ -lactâmico contido na penicilina, levou à criação da oxacilina, metecilina e nafcilina, os novos  $\beta$ -lactâmicos. Posteriormente, foram criados os aminoglicosídeos como a gentamicina, e os glicopeptídeos como a vancomicina (LIVERMORE, 2000; FLUIT et al., 2001; MCCULLOCH, 2006).

Atualmente, inclui-se os agentes antimicrobianos sintéticos, como sulfonamidas e quinolonas na classe dos antibióticos, que são definidos como substâncias “produzidas por diversas espécies de microrganismos (bactérias, fungos, actinomicetos), que suprimem o crescimento de outros microrganismos”. (CHAMBERS, 2002).

De acordo com o mecanismo de ação e classes químicas, os fármacos comumente utilizados no tratamento de doenças infecciosas podem ser agrupados em: inibidores da síntese proteica (aminoglicosídeos e anfenicóis) inibidores da síntese da parede bacteriana (penicilinas e cefalosporinas), inibidores da síntese enzimática bacteriana, através da inativação do DNA (nitroimidazólicos), inibidores do DNA bacteriano (quinolonas) e inibidores da síntese do ácido tetrahidrofólico (sulfonamidas)(BRASIL, 2007).

A resistência ao *S. aureus* pode ser causada por diversas ações: (i) a presença de uma enzima beta-lactamase que inativa o antimicrobiano; (ii) presença de uma enzima alternativa à enzima que é inibida pelo antibiótico; (iii) uma mutação no sítio alvo do agente antimicrobiano; (iv) modificação pós-transcricional ou pós-traducional do alvo do agente antimicrobiano; (v) reduzida captação do antimicrobiano; (vi) atividade de efluxo; e, (vii) superprodução do sitio alvo do antimicrobiano (FLUIT et al., 2001; ALTERTHUM, 2008).

A ação do MRSA sobre os  $\beta$ -lactâmicos (penicilinas, oxacilina, metecilina, ampicilina, amoxicilina e as cefalosporinas usados na antibioticoterapia) é evidenciada pela atuação nas proteínas fixadoras de penicilinas (PBPs) que estão envolvidas na síntese da parede celular e em mutações, resultando em baixa afinidade aos sítios de ligação dos  $\beta$ -lactâmicos. Dependem da expressão de uma proteína 78-kDa (PBP2a) codificada pelo gene *mecA*, o qual está localizado no gene *mec* do cassete



cromossômico (*staphylococcal cassette chromosome mec- SCCmec*), um elemento genético móvel, incorporado ao DNA de cepas MRSA. São conhecidos sete tipos diferentes de *SCCmec* (tipo I a VII), sendo que os tipos I, IV, V, VI e VII estão envolvidos em resistência somente a  $\beta$ -lactâmicos, enquanto os demais (II e III), por adição de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, podem apresentar resistência a outros antibióticos. Como exemplo, pode-se citar o pUB110, que confere resistência também a aminoglicosídeos e o Tn544 que carrega o gene *ermA* conferindo resistência aos macrolídeos (LIVERMORE, 2000; FLUIT et al., 2001; APPELBAUM, 2007; GOULD, 2007; DEURENBERG E STOBBERINGH, 2008; ALTERTHUM, 2008).

Considerando a possibilidade de pacientes imunocomprometidos ingerirem cepas de MRSA, Normanno et al. (2007) afirmam que o microrganismo, nesse caso, pode atingir o sistema circulatório provocando uma septicemia, ressaltando a importância do controle da disseminação de MRSA em alimentos. Em outro estudo, Jones et al., (2002) descreveram um surto pela ingestão de MRSA proveniente de carne suína assada contaminada pelo manipulador.

A identificação de cepas MRSA é conduzida através de testes fenotípicos, que são testes qualitativos de resistência, tendo como marcadores dois antibióticos  $\beta$ -lactâmicos: a oxacilina e cefoxitina. Também são usados testes genotípicos, como PCR para detecção do gene *mecA* (NORMANNO et al., 2007). Similarmente, o *National Committee for Clinical Laboratory Standards*(NCCLS, 2005) recomenda testes fenotípicos de discodifusão usando cefoxitina e oxacilina, como marcadores, que possuem a melhor correlação com a presença ou ausência do gene *mecA*.

Na terapia anti-MRSA, a vancomicina, um glicopetídeo que atua na síntese da parede celular, foi útil para o aumento da taxa de isolamento de cepas MRSA. Entretanto no ano de 1996, no Japão, foi registrado o primeiro caso de *S. aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina (VISA ou GISA), em um paciente da pediatria com infecção por MRSA. Posteriormente, em 2000, foram encontradas, no Brasil, as primeiras cepas resistentes em um hospital de referência no Rio de Janeiro (SRINIVASAN et al., 2002; SAKOULAS, 2002; APPELBAUM, 2007; SANTOS et al., 2007).

Acredita-se que a resistência do *S. aureus* à vancomicina esteja relacionada ao gene *van*, que determina a resistência a esse antimicrobiano em *Enterococcus* e que, provavelmente, pode transmitir essa resistência por meio de plasmídeos, para *S. aureus*. As cepas resistentes à vancomicina produzem coagulase em mais de quatro horas, portanto, levam mais tempo para apresentar reação positiva no teste de produção dessa enzima. Além disso, geralmente essa resistência altera o aspecto morfológico das colônias, que apresentam uma aparência bastante heterogênea, dando a impressão visual de contaminação (SRINIVASAN et al., 2002; SANTOS et al., 2007, FLUIT et al., 2001)

Por seu papel no controle dos genes de virulência de *S. aureus*, o locus *agr*, tornou-se alvo importantíssimo na terapia antimicrobiana, segundo Vianello (2006). Em outro estudo Sakoulas et al. (2002) e Moise-Broder et al. (2004) relataram a relação entre o grupo *agr* II e cepas resistentes à vancomicina e, esses últimos autores observaram que cepas MRSA pertenciam ao grupo *agr* III (VIANELLO, 2006).

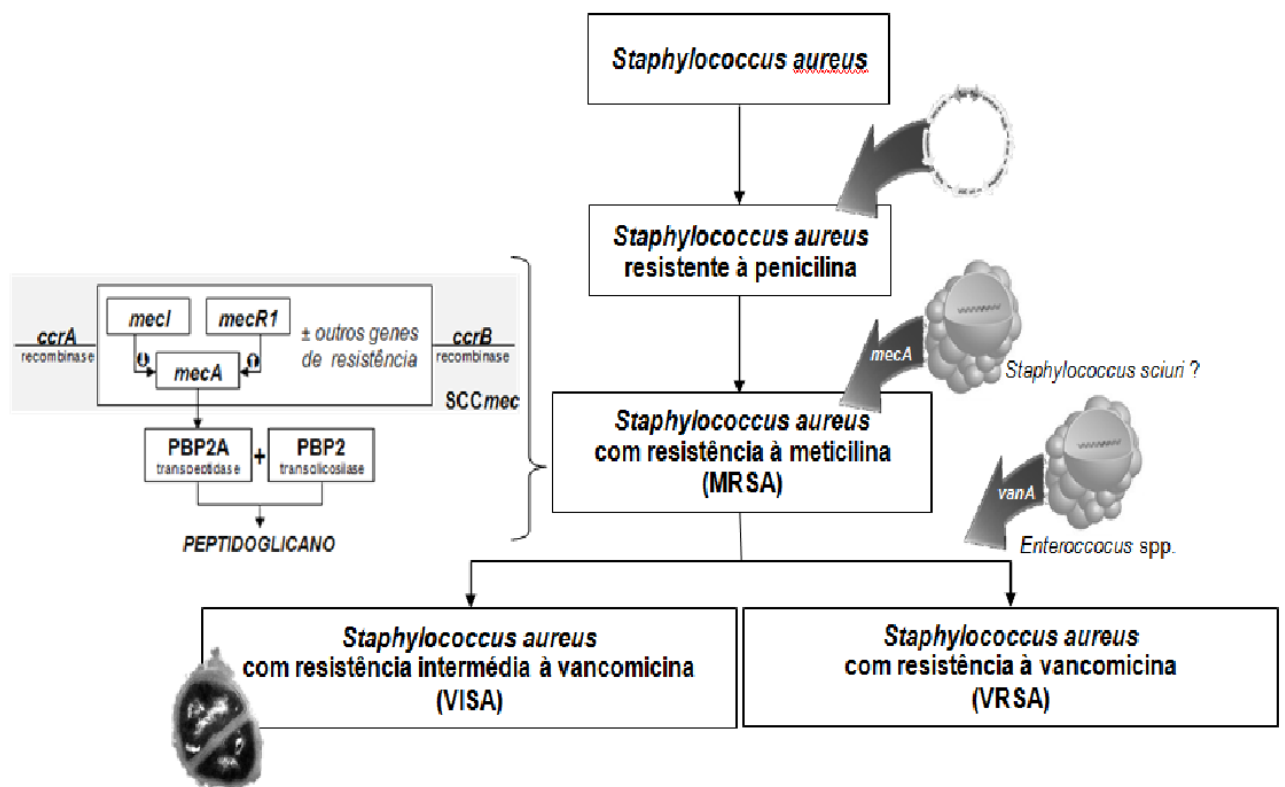
O principal mecanismo de resistência aos aminoglicosídeos é a inativação celular da droga por enzimas que a modificam. Aminoglicosídeos como a gentamicina, tobramicina, amicacina e estreptomicina são antibióticos que se ligam ao ribossomo e interferem na síntese proteica. A resistência a gentamicina é mediada por uma enzima bifuncional que exibe atividade AAC(6') e APH(2'), localizada no transposon Tn4001. As principais enzimas são classificadas em acetiltransferase aminoglicosidase (AAC), nucleotidiltransferase aminoglicosidase (ANT) e fosfotransferase aminoglicosidase (APH) (FLUIT, 2001; ALTERTHUM, 2008).

Os antibióticos que inibem a síntese proteica, como os macrolídeos, que são a eritromicina e a azitromicina, se ligam a subunidade 50S do ribossomo levando a resistência. Esta pode ocorrer de três maneiras: por metilação do sítio alvo no ribossomo, codificada pelo gene *erm* (mais comum em *S. aureus*); por bomba de efluxo, mediada pelos genes *msrA* e *msrB*; e, por último, a chamada resistência macrolídeo-lincosamina-estreptogramina B (MLS-B) que também ocasiona modificação no sítio alvo do antimicrobiano (NAWAZ et al., 2000; FLUIT et al., 2001; STEWARD et al., 2005).

A resistência à tetraciclina, que resulta na inativação da síntese proteica através da ligação na subunidade 30S do ribossomo, ocorre pela aquisição do elemento móvel

contendo o gene *tet*, que codifica uma proteína de efluxo, provocando a saída do antibiótico da célula. Esse antibacteriano de amplo espectro, geralmente bacteriostático se difunde no interior das células do hospedeiro (CHOPRA E ROBERTS, 2001; FLUIT et al., 2001; ALTERTHUM, 2008).

Os marcos evolutivos da resistência aos  $\beta$ -lactâmicos e glicopeptídeos no *S. aureus* encontra-se resumidos na Figura 2.



**Figura 2** – Marcos importante na evolução da resistência antibiótica no *S. aureus*  
Fonte: Pantosti, Sanchini e Monaco (2007).

## 6. Prevalência de *S. aureus* resistente à meticilina em alimentos

Após 1982 cepas epidêmicas de MRSA foram identificadas como multirresistentes. Atualmente, de acordo com Rana (2011), o MRSA é uma das principais causas de infecção para humanos, pois possuem a capacidade de colonizar e causar surtos de infecções em todo o mundo, tornando-se uma causa amplamente conhecida de morbi-mortalidade.

O microrganismo foi isolado pela primeira vez em animais criados para alimentação humana em 1972, em casos de mastite em vacas leiteiras na Bélgica. A partir desse

episódio, este microrganismo surgiu em uma variedade de animais, tais como gato, cachorro, cavalos, ovelhas, porcos, bezerros e aves (KLUITMANS, 2010). O autor também relata que existe uma distinção explícita entre estirpes de MRSA isoladas em animais de companhia e aqueles isolados em animais destinados à produção de alimentos. Ainda segundo o autor, os animais de produção são geralmente contaminados através de contato com pessoas infectadas ou colonizadas com MRSA, de modo que a sua presença nesses animais ocorre em função da transmissão de um reservatório humano.

No Brasil, foi encontrado o gene *mecA* em alimentos prontos para o consumo em peixes crus comercializados em feiras livres (RIZEK, 2010).

Shahraz et al. (2012) demonstraram através do método de discodifusão e pesquisa do gene *mecA* a ocorrência de 57 (22,3%) isolados de MRSA em amostras de hambúrgueres no Irã. Estudo realizado por Moura et al. (2006) com carne caprina no Brasil, relatou a ocorrência de 70,37% de cepas de *S. aureus* multirresistentes aos antibióticos. Os autores concluíram que esse percentual poderá vir a contribuir com infecção ao homem através do consumo desse alimento.

Na Holanda, De Boer et al. (2009) demonstraram a ocorrência de 11,9% de amostras de carne crua contaminadas por MRSA. Neste mesmo estudo, os autores questionam se essa prevalência de MRSA em carnes cruas não contribui para a disseminação de MRSA em seres humanos naquele país. Porém, o mesmo estudo analisa que o risco de colonização seria provavelmente muito pequeno, pois os números de MRSA encontrados nesses alimentos foram muito baixos. Então, considera-se que a presença do MRSA em alimentos já é fator de risco para a saúde dos consumidores.

Estudo recente realizado por Costa (2013) no Brasil, investigando alimentos cárneos crus e prontos para o consumo em dez hospitais públicos de Salvador, BA, relatou um total de 92 isolados de estafilococos coagulase positiva, com 13 (14,7%) desses positivos para MRSA. Dentre as diferentes carnes investigadas, os percentuais de amostras positivas para carne bovina, carne de frango, carne suína e carne de peixe em relação à presença de MRSA foram de 23,3% (7/30), 23,3% (7/30), 37,5% (9/24) e 30,0% (9/30), respectivamente. Esses dados corroboram com os dos autores já

mencionados, chamando a atenção para a necessidade de melhoria no controle na aquisição da matéria prima de origem animal e no preparo de produtos cárneos em cozinhas de hospitais.

## 7. Avaliação da resistência bacteriana

A resistência bacteriana não é um problema de cada indivíduo, mas sim um problema de saúde pública. A utilização de antibióticos no combate às infecções bacterianas, no século XX, foi um grande passo da medicina moderna, no entanto, a resistência bacteriana não deu tréguas e rapidamente se propagou. Estudos realizados em 29 países da comunidade europeia, entre 2008 e 2011, revelam um aumento da resistência de bactérias Gram negativas, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo extremamente importante conscientizar a sociedade para esse problema. Em Portugal as resistências mais importantes são: *S. aureus* resistentes à meticilina e os enterococos resistentes à vancomicina, bactérias Gram negativas produtoras de  $\beta$ -lactamase de amplo espectro e meningococos com susceptibilidade diminuída à penicilina. Além disso, as resistências bacterianas levam à existência de poucas opções terapêuticas em infecções que podem ser fatais (INSA, 2010). Em relação à resistência das bactérias Gram positivas, os valores encontrados são mais estáveis, ou tendendo a diminuir, como é o caso das cepas de *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* (ECDPC, 2011).

Dentre os métodos historicamente mais utilizados para o estudo da resistência das bactérias aos antibióticos destacam-se os testes de discodifusão, incluindo o disco de cefoxitina, o teste com placa de identificação com oxacilina, o teste para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), os métodos automatizados como o Vitek e o MicroScan e a utilização de meios cromogênicos. O diagnóstico laboratorial para o rastreamento de MRSA, apesar das várias recomendações disponíveis na literatura, ainda não apresenta consenso sobre qual o melhor ser utilizado (O'BRIEN et al., 2012; DE BOER et al., 2009).

O método de discodifusão em Agar (Kirby-Bauer), utilizado para a avaliação da resistência das bactérias aos antibióticos, é um método fenotípico qualitativo e avalia

diretamente a atividade antimicrobiana sobre determinada amostra. Caracterizado por ser um método clássico e bastante utilizado, se baseia no fato de que “antimicrobianos impregnados em discos de papel de filtro difundem-se no ágar, criando em torno do disco um gradiente decrescente de concentração da droga” (halo) (CLLS, 2011).

Na aplicação do método de discodifusão usam-se critérios bacteriológicos precisos para o isolamento do microrganismo, os quais são: obtenção do inóculo, semeadura, diluições de meio de cultura, condições de incubação (atmosfera de O<sub>2</sub>, temperatura e tempo) e observação do examinador, bem como um número variável dos discos estabelecidos em função da espécie microbiana e da infecção ou doença que provoca, de modo que se permita classificar as bactérias como susceptível, com susceptibilidade intermediária ou resistente aos antimicrobianos (VAZ, 1995; CLLS, 2011).

Destaca-se que a detecção de MRSA baseada em métodos convencionais de susceptibilidade a antimicrobianos, tanto através de discodifusão, quanto através de micro diluição em caldo, podem ser trabalhosos, demorados, altamente dependentes das condições de crescimento e pouco discriminatórios (SHAHRAZ et al., 2012).

O teste de aglutinação em látex tem sido também bastante utilizado; este é um método com exatidão próxima a 100% baseado na detecção da proteína PBP2a. Entretanto, a técnica Reação de Polimerase em Cadeia (PCR) para detecção do gene *mecA* é a mais utilizada nas pesquisas para identificar isolados de MRSA. Esse método é baseado numa caracterização genotípica e constitui método padrão ouro para avaliação qualitativa da resistência à meticilina (MÍMICAEMENDES, 2007). É um método útil e bastante sensível para análises de resistência antimicrobiana (SHAHRAZ et al., 2012).

Apesar do método de discodifusão ser o mais empregado para avaliação da resistência bacteriana, tanto em amostras clínicas como em alimentos, a confirmação através de PCR (DE BOER et al., 2009; FESSLER et al., 2011), ou mesmo a utilização isolada desta técnica para detecção do gene *mecA* (DIAS et al., 2011; CRAGO et al., 2012), tem sido conduzida. Ainda, o teste de aglutinação em

látex (FESSLER et al., 2011; COSTA, 2013) com confirmação ou não através de PCR também tem sido empregado. Hammad et al. (2012) empregaram a tipificação molecular dos isolados de MRSA como análise complementar, que incluíram tipagem por sequenciamento do *multilocus* (MLST) e sequenciamento da região polimórfica X do gene da proteína A estafilocócica (*spa*-tipagem).

## REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO R. C.; NOGUEIRA P. A.; MALLUCELI M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.10, n.2, p.1-17, 2005.
- AIRES, DE S. M. et al. Intercontinental spread of a multidrug-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, p. 2590-2596, 1998.
- ALMEIDA, A. S.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M. Salmonella em corte de carne bovina inteira e moída. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.96, p.77-81, 2002.
- ALMEIDA, C. A; SOUZA, M. R; PINHO, L; SOBRINHO, M. E; SILVA, M. C. B. Determinação de perigos microbiológicos em carnes bovinas resfriadas provenientes de abates clandestinos e comércio ilegal. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v.4, n.4, p.278-285, 2010.
- ALMEIDA, R. C. DE C.; KUAYE, A. Y.; SERRANO, A. DE M.; ALMEIDA, P. F. DE. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista Saúde Pública**, v.29, n.4, p. 290-294, 1995.
- ALTERTHUM, F. Mecanismos de Ação dos Antibacterianos e Mecanismos de Resistência. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 79-92, 2008.
- AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos às ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná-Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.
- ANDRADE, M. A. Tipagem molecular e investigação dos genes toxigênicos em *Staphylococcus aureus* isolados de amostras clínicas. 2008. 124f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.
- ANDRADE, N. J.; BRABES, K. C. da S. **Procedimentos de higienização e biofilmes microbianos na indústria de alimentos**. In: MENDONÇA, R. C. S.;
- APPELBAUM, P. C. Microbiology of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, p. 165–170, 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE (ABIEC). Mercado Mundial de Carne Bovina, 2011. Disponível em: <[http://www.abiec.com.br/download/stat\\_mercadomundial.pdf](http://www.abiec.com.br/download/stat_mercadomundial.pdf)> <[http://www.abiec.com.br/download/EXP\\_JAN-DEZ\\_09.pdf](http://www.abiec.com.br/download/EXP_JAN-DEZ_09.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2014.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal Enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 61, p. 01-10, 2000.



BALABAN, N; RASOOLY, A. Analytical chromatography for recovery of small amounts of staphylococcal enterotoxins from food. **International Journal of Food Microbiology**, v.64, p.33-44. 2001.

BERGDOLL, M. S. et al. A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with the toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. **Lancet**, London, v. 1, p. 1017-1021, 1989.

BOARI, C. A. et al. Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 886-895, 2004.

BRABES, K. C. da S.; OLIVEIRA, K. A. M.; VIEIRA, E. N. R. (Orgs.). **Microbiologia de alimentos: qualidade e segurança na produção e consumo**. Viçosa: Tribuna, v. 1, p. 145-160, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 26, de 09 de julho de 2009c. Regulamento Técnico para a Fabricação, o Controle de Qualidade, a Comercialização e o Emprego de Produtos Antimicrobianos de Uso Veterinário. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 jul. 2009, seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Plano nacional de Controle de resíduos e contaminantes**. Brasília, Mapa/ACS, 2009b. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/CRC/miolo\\_ANIMAL\\_BAIXA.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/miolo_ANIMAL_BAIXA.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. Sétima edição. Série A. **Normas e Manuais Técnicos**. Brasília, 2009a. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve\\_7ed\\_web\\_atual.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual.pdf). Acesso em: 1 de abril de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF, 10 jan.2001b. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12-01rda.htm>. Acesso em 06 de junho de 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. **Dados epidemiológicos** – DTA período de 2000-2011, 2012. Brasília, 2011. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados\\_epidemiologicos\\_dta\\_15911.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_epidemiologicos_dta_15911.pdf). Acesso em: 10 de abril de 2013.

CARDOSO, L., ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em carnes comercializadas no Distrito Federal no período de 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 17, n. 113, p. 12-19, 2003.

CARMO, L. S. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and rawmilk in Brazil. **Food Microbiology**, Amsterdã, n. 19, p. 9-14, 2002.

**CENTER FOR DISEASES CONTROL (US)**. 2009. **Food Safety**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/briefing/fncidod/eid/voln05/mead.htm>>. acesso em: 23 mar. 2014.

**CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION**. Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the healthcare infection control practices Advisory Committee and HICPAC/ SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR* v. 51, n. RR-16, p. 1-45, 2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5116.pdf>. Acesso em: 30 de março de 2013.

CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, p. 781-791, 1997.

CHAMBERS, H.F. **Antimicrobianos**. Considerações Gerais. In: Penildon Silva (Ed.). *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 43. 859-871, 2002.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. **MICROBIOLOGY AND Molecular Biology Reviews**, v. 65, n. 2, p. 232–260, 2001.

**CLLS**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty- first informational supplement. M 100- S.21. v. 31, n.1. Replaces M 100- S 20 and – S20- v. 30, n. 1; v. 3, n. 15, 2011.

CONTER, M.; PALUDI, D.; ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; VERGARA, A.; IANIERI, A. Characterization of Antimicrobial Resistance of Foodborne *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, p. 497–500, 2009.

COSTA, F.N; MOREIRA, A. P. O. Avaliação microbiológica da carne bovina moída comercializada no município de Jaboticabal, SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 160, n. 22, p. 62-65, 2008.

COSTA, P. M.; LOUREIRO, L. L.; MATOS, A. J. F. Transfer of multidrug-resistant bacteria between intermingled ecological niches: The interface between humans, animals and the environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Suíça, v.10, p. 278-294, 2013.

COSTA, W. L. R. **Investigação de Staphylococcus aureus resistente à metilina em alimentos cárneos destinados ao preparo de dietas em hospitais públicos do município de Salvador-BA**. 101f. 2013. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

CRAGO, B. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. **Food Microbiology**, Londres, v. 32, n. 1, p. 202-205, 2012.

DE BOER, E., ZWARTKRUIS-NAHUIS, J. T. M., WIT, B., HUIJSDENS, X. W., NEELING, A. J., BOSCH, T., et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, n. 1-2, p. 52-56, 2009.

DEURENBERG, R. E.; STOBBERINGH, E. The Evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infection Genetics and Evolution**, v. 8, p. 747-763, 2008.

- DIAS, N. L.; SILVA, D. C. B.; OLIVEIRA, D. C. B. S.; FONSECA, JUNIOR, A. A.; SALES, M. L.; SILVA, N. Detection of genes of *Staphylococcus aureus*, enterotoxins and methicillin resistance in Milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1547-1552, 2011.
- DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, D. P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n.1, p.16–34, 2000.
- ECDPC (2011), **Health**. em **European centre for disease prevention and control**.
- FESSLER, A. T.; KADLEC, K.; HASSEL, M.; HAUSCHILD, T.; EIDAM, C.; EHRLICH, R. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 20, p. 7151-7, 2011.
- FLUIT, A. C.; VISSER, M. R.; SCHMITZ, F. J. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 836–871, 2001.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Atheneu.182p. Cap. 4, p.43-46, 2005.
- FRANCO, B.D.G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.
- FREITAS, M. F. L. et al. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 405-407, 2004.
- GELATTI, L. C. et al. Sepse por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina adquirida na comunidade no sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 458-460, 2009.
- GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. N.; SANZ, J. J.; SANTOS, J. A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M. L. Foodborne Pathogenic Bacteria in Prepackaged Fresh Retail Portions of Farmed Rainbow Trout and Salmon Stored at 3 Degrees C. **International Journal of Food Microbiology**, v.76, n.1, p.135-141, 2002.
- GOULD, I. M. MRSA bacteraemia. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 66-70, 2007.
- HAMMAD, A. H. et al. Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v.156, p. 286-289, 2012.
- HATAKKA, M.; BJÖRKROTH, K. J.; ASPLUD, K. et al. Genotypes and enterotoxigenicity of isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. **Journal of Food Protection**, v. 63, p.1487-91, 2000.
- HOSOSAKA, Y. et al. Characterization of oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Tóquio, v.3, p.79-86, 2007.

KLUYTMANS, J. A. J. W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency. **Clinical Microbiology and Infection**, Suíça, v. 16, n. 1, p. 11-15, 2010.

KONEMAN, E. W. et al. Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e Microrganismos Relacionados. In: KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas Colorido**. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, p. 551-588.2001

JAMES, M. J. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto alegre: Editora Artmed, 2005.

JONES, T. F. et al. An Outbreak of Community-Acquired Foodborne Illness Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 8, n. 1, p. 82-84, 2002.

LANDEIRO, C. M. P. A., Almeida, R. C. C., Nascimento, A. T. M., Ferreira, J. S., YANO, T., ALMEIDA, P. F. Hazards and critical control points in Brazilian seafood dish preparation. **Food Control** 18, 513-520, 2007

LIVERMORE, D. M. Antibioticresistance in staphylococci. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.16, p. 3–10, 2000.

LOIR, Y. LE; BARON, F.; GAUTIR, M. *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. **Genetic Molecular Research**, v.2, n.1, p.63-76, 2003.

LOPES, H. V. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. **Revista Panamericana de Infectología**, São Paulo, v.7, n. 3, p. 34-36, 2005.

MCCULLOCH, J. A. **Avaliação da funcionalidade do locus “Acessory gene Regulador” agrem cepas *Staphylococcus aureus* brasileiras com suscetibilidade reduzida aos glicopeptídeos**. Tese (Doutorado em Análises Clínicas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

MIMICA, M. J.; MENDES, C. M. F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 399-406, 2007.

NASCIMENTO L. C, et al. Qualidade higiênico sanitária da carne de hambúrguer Industrializada. Rev. Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 370-375;2002.

NAWAZ, M. S.; KHAN, S. A.; KHAN, A. A.; KHAMBATY, F. M.; CERNIGLIA, C. E. Comparative molecular analysis of erythromycin-resistance determinants in staphylococcal isolates of poultry and human origin. *Molecular and Cellular Probes*, v. 14, p. 311–319, 2000.

NEMA, V., AGRAWAL, R., KAMBOJ, D.V., GOEI, A.K. Isolation and characterization of heat resistant enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* from a food poisoning outbreak in Indian subcontinent. **International Journal of Food Microbiology** 117, 29-35; 2007.

NORMANNO, G., et al., Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, n. 3, p. 290-6, 2007.

O'BRIEN, A. M.; HANSON, B. M.; FARINA, S. A.; WU, J. Y.; SIMMERING, J. E.; WARDYN, S. E., et al. MRSA in conventional and alternative retail pork products. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e30092, 2012.

OLIVEIRA, D. C.; TOMASZ, A.; LENCASTRE, H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Lancet Infectious Diseases**, Oxford, v. 2, p. 180-189, 2002.

OLIVEIRA, M.P.; SOUZA, V.M.; BERGAMINI, A.M.M.; DE MARTINIS, E.C.P. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. **Food Control** 22, 1400-1403; 2011.

**OMS**. Organização Mundial da Saúde. Food safety and foodborne illness. Disponível em: <[www.who.int/inf-fs/em/fact237.html](http://www.who.int/inf-fs/em/fact237.html)>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

PANTOSTI, A.; SANCHINI, A.; MONACO, M. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiology**, v. 2, p. 323-334, 2007.

PELCZAR, M. J. JR.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo: MAKRON Books, 1997. v. 2.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M. et al. Estafilococos: até onde sua importância. **Revista Higiene Alimentar**, v.14, n.68-69, p.32-40, 2000.

PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; CARDIGA, E. A. MARQUES, D. F.; CARNICEL, F. A.; HOFFMANN, F. F. Susceptibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. isoladas de alimentos envolvidos em surtos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos, ocorridos na região Noroeste do Estado de São Paulo, no período de abril de 1990 a dezembro de 2003. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 65. n. 2, p. 112-117, 2006.

PESAVENTO, G.; DUCCI, B.; COMODO, N.; LO NOSTRO, A. Antimicrobial Resistance profile of *Staphylococcus aureus* Isolated from Raw Meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Food Control**, v. 18, p. 196–200, 2007.

PIRAGINE, K. O. **Aspectos higiênicos e sanitários do preparo da merenda escolar na rede estadual de ensino de Curitiba**.2005. 107f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

RANA, N.; SHRIVASTAVA, S. Comparative study of antimicrobial activity of different plants against multi drug resistant pathogen *Staphylococcus aureus* ATCC242 isolated from burnt patients and the effect of different binary combination of antimicrobial plant extracts. **International Journal of Food Safety**. v.13: 88-92, 2011.

- RIZEK, C. F. **Pesquisa de genes de resistência a antimicrobianos beta-lactâmicos e de enteroxina em cepas de *Staphylococcus aureus* presentes em amostras de alimentos.** 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo 2010.
- SAKOULAS, G. The accessory gene regulator (agr) in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Role in virulence and reduced susceptibility to glycopeptides antibiotics. *Infectious diseases*, v. 3, n. 2, p. 287-294, 2002.
- SANTANA, E. H. W. et al. Artigo de Revisão: Estafilococos em Alimentos. *Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo*, v.77, n.3, p.545-554, 2010.
- SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; BRUNO LEAL ALVES FERREIRA, B. L. A. F.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia Medica Laboratorial*, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.
- SHAHRAZ, F.; DADKHAH, H.; KHAKSAR, R.; MAHMOUDZADEH, M.; HOSSEINI, H.; KAMRAN, M. et al. Analysis of antibiotic resistance patterns and detection of mecA gene in *Staphylococcus aureus* isolated from packaged hamburger. *Meat Science*, v. 90, n. 3, p.759-63, 2012.
- SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.122, p.32-40, jul. 2004.
- SIMON, S. S.; SANJEEV, S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Wshery products and Wsh processing factory workers. **Food Control**, San Luis Obispo, v.18, p. 1565-1568, 2007.
- SMITH, H. W. Antibiotic resistant bacteria in animal: the danger to human health. **The British Veterinary Journal**, Londres, v. 130, p. 110-119, 1983.
- SOUSA, M. T; NETO, C. A; HERNANDES, T; SOUTO, S. C. P. Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v.6, n.2, p.124-130, 2012.
- SOUZA, P. A.; SANTOS, D. A. Microbiological risk factors associated with food handlers in elementary schools from Brazil. **Journal of Food Safety**, v. 29, p. 424-429, 2009.
- SRINIVASAN, A.; DICK, J. D.; PERL, T. M. Vancomycin Resistance in *Staphylococci*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, n. 3, p. 430–438, 2002.
- STAMFORD, T. L. M. et al. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. Isolados de leite in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 41-45, 2006.
- STEWART, C. D.; RANEY, P. M.; MORRELL, A. K.; WILLIAMS, P. P.; MCDOUGAL, L. K.; JEVITT, L.; MCGOWAN, J. E. JR.; TENOVER, F. C. Testing for Induction of

Clindamycin Resistance in Erythromycin-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n.4, p. 1716–1721, 2005.

STURMER, F. C. R. **Caracterização parcial do elemento CCR em *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isolados no Sul do Brasil**. 2008. 47f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

TAVARES, T. M.; SERAFINI, A. B. Avaliação Microbiológica de Hambúrgueres de Carne Bovina Comercializados em Sanduicherias Tipo Trailers em Goiânia (GO). **Revista de Patologia Tropical**, UFG. Goiânia, 2003. Disponível em <http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/4350/3808>. Acesso em 26/03/14.

TENOVER, F. C.; MCDUGAL, L. K. ; GOERING, R. V.; KILLGORE, G.; PROJAN, S. J. ; PATEL, J. B.; DUNMAN, P. M. Characterization of a Strain of Community Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Widely Disseminated in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 108–118, 2006.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo, 2002

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Center for Food Safety and Applied Nutrition**. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. 1992.

US.DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Economic Research Service.2004. A Safe Food Supply. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/briefing/foodborneDisease/foodandpathogens.htm>. Acesso em: 20 jan. 2014.

VAZ, M. J. S. A. M. **Caracterização das resistências bacterianas observadas em *Staphylococcus aureus***. 1995. 149f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Porto, 1995.

VIANELLO, M. P. **Caracterização genotípica dos fatores de virulência e seu regulador agr em cepas *Staphylococcus aureus* sensíveis a oxacilina**. **Dissertação** (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

VIEIRA-DA-MOTTA, et al; Detection of different *Staphylococcus aureus* strains in bovine milk from subclinical mastitis using PCR and routine techniques. **Bras. J. Microbiologia.**, v.32, n.1, p. 27-31, 2001.

WALTHER, B. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from small and exotic animals at a university hospital during routine microbiological examinations. **Veterinary Microbiology**, Amsterdã, v. 127, n. 1-2, p. 171-178, 2008

WENCESLAU, J. A. G. **Fast-Food**: um estudo sobre globalização alimentar, 2010, Salvador; BA. 1 ed, Editora EDUFBA, 2010

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food borne disease: A focus for health education**. Geneva: World Health Organization. p. 200, 1985

WHO. World Health Organization. **Food safety and food-borne illness. Fact sheet**, n. 23. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>>. (Reviewed March), 2009. Acesso em: 30 de março de 2013

WILCOCK, A. et al. Consumer attitudes, knowledge and behaviour: A review of food safety issues. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 56–66, 2004.

WONG, A. C. L.; BERGDOLL, M. S. **Staphylococcal Food Poisoning**. In: CLIVER, D.; RIEMANN, H. Foodborne diseases. 2th ed. Amsterdam: Academic Press. p. 231-248, .2002.

ZECCONI A, PICCININI R. Teoria e prática de controle de mastite por *staphylococcus aureus*. Napgama; 5:4–11, 1999.



## CAPITULO 2

### ***Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA EM SANDUÍCHES E HAMBÚRGUERES COMERCIALIZADOS EM REDES DE FAST-FOODS E SUPERMERCADOS DESALVADOR-BA.**

#### **RESUMO**

Apesar de bastante conhecido, o *S. aureus* é uma bactéria que continua sendo amplamente estudada, pois requer especial atenção devido a seu alto potencial patogênico associado a um amplo espectro de doenças que variam desde lesões cutâneas superficiais até infecções sistêmicas graves, e também a sua capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos utilizados rotineiramente na prática clínica. Os agentes antimicrobianos são essenciais para prevenção, controle e tratamento de infecções bacterianas em homens e animais, sendo usados também para a promoção do crescimento na criação de animais em muitos países. Todavia, o uso indiscriminado desses agentes tem causado o surgimento e prevalência da resistência antimicrobiana de forma acelerada em bactérias. O presente estudo teve por objetivo investigar a ocorrência de MRSA em sanduíches e hambúrgueres comercializados em Salvador, BA. Um total de 50 amostras de hambúrgueres crus congelados (25 de carne bovina e 25 de carne de frango) e 50 amostras de sanduíches prontos para o consumo (25 contendo carne bovina e 25 carne de frango) foram adquiridas em redes de supermercados e lanchonetes do tipo *fast-foods*, respectivamente, e posteriormente foram investigadas para a presença de MRSA. Para o isolamento do microrganismo, as amostras foram pré-enriquecidas em caldo TSB com NaCl, enriquecidas em caldo vermelho de fenol manitol contendo cefoxitina e aztreonam, e posteriormente inoculadas em ágar manitol hipertônico. Colônias características Gram, catalase e coagulase positivas foram submetidas ao teste de antibiograma pelo método de discodifusão. Os resultados encontrados demonstram que MRSA estava presente em 32% das amostras de hambúrgueres e em 8% (n=4) das amostras de sanduíches. Os resultados ainda evidenciaram que a frequência de isolamento do patógeno foi maior naqueles produtos contendo carne de frango. Entretanto, os resultados da análise estatística demonstraram que não houve associação entre a presença de MRSA e o tipo de alimento investigado. A presença de MRSA, principalmente em sanduíches prontos para o consumo, é um dado preocupante, demonstrando a necessidade da adoção de medidas de controle durante o preparo dos alimentos para evitar a disseminação da bactéria.

**Palavras-chave:** antimicrobiano, estafilococos coagulase positiva resistentes à metilicina, produtos cárneos.

## ABSTRACT

Although well known, *Staphylococcus aureus* is a bacterium that is still widely studied because it requires special attention due to its high pathogenic potential and its ability to develop resistance to antibiotics routinely used in clinical practice, and is thus associated with a broad spectrum of diseases ranging from superficial skin lesions to severe systemic infections. Antimicrobials are essential for prevention, control and treatment of bacterial infections in humans and animals and is used for growth promotion in animal husbandry in many countries. However, the indiscriminate use of these agents has caused the emergence and prevalence of antimicrobial resistance in bacteria in an expedited manner. The present study aimed to investigate the occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sandwiches and hamburgers sold in Salvador-BA. A total of 50 samples of frozen raw hamburgers (25 beef and 25 chicken) and 50 samples of ready-to-eat sandwiches (25 beef and 25 chicken) were collected from supermarkets and food outlets, respectively, and investigated for the presence of MRSA. To isolate the microorganism, the samples were pre enriched in TSB with NaCl, enriched in phenol red broth containing mannitol and aztreonam cefoxitin, and inoculated in hypertonic manitol agar. Characteristic colonies, Gram, catalase and coagulase positive were subjected to antibiotic susceptibility testing by disc diffusion method. The results showed that MRSA was present in 32% of the hamburgers and in 8% of the sandwiches samples. The results also showed that the frequency of MRSA was higher in samples of the products contained chicken meat. However, the results of the statistical analysis showed no association between the presence of the MRSA and the type of food investigated. The presence of MRSA, especially in ready-to-eat sandwiches, is a worrying, demonstrated the need for better control during preparation of the food to prevent the spread of bacteria.

**Keywords:** antimicrobials, estafilococos coagulase positive methicillin-resistant, meat products.

## 1. INTRODUÇÃO

Com a diminuição do tempo disponível para o preparo e/ou consumo de alimentos pela população, nos últimos anos houve alterações nos hábitos alimentares das pessoas, motivadas, especialmente, pelos processos de urbanização e profissionalização das mulheres, favorecendo, substancialmente, o consumo de produtos industrializados ou preparados fora do domicílio. Sendo assim, a busca de refeições fora de casa, já, facilmente, prontas para o consumo, produzidas em grande escala e com custo reduzido, a exemplo de sanduíches e hambúrgueres, culminou no aumento do número de pessoas fazendo refeições em lanchonetes e trailers, assim como no segmento da comercialização de *fast-foods* (LEVRÈ et al., 2000; TAVARES E SERAFINI, 2003; LIMA E OLIVEIRA, 2005; FATTORI et al., 2005).

A carne caracteriza-se pela natureza das proteínas que a compõem, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo, além de sua riqueza em aminoácidos essenciais, gordura, vitaminas, glicídios e sais minerais como elementos nutritivos complementares. É a principal fonte de alimentação utilizada pelo ser humano, pois é rica em proteína de alto valor biológico (ROÇA, 2013). Essa riqueza nutricional, aliada à elevada atividade de água, fazem desse alimento, sobretudo os de origem animal, um excelente meio de cultura para a multiplicação microbiana, podendo mesmo estar envolvida na disseminação de microrganismos patogênicos, causadores de enfermidades ao homem e a outros animais (GIL, 2000; PELCZAR JÚNIOR; CHAN; KRIEG, 1997).

A ocorrência de *S. aureus* em alimentos é considerada a terceira causa mais importante de toxinfecção alimentar no mundo (NORMANNO et al., 2005). Existem dois agravantes para sua presença: a produção de toxinas e a resistência a antimicrobianos. Este patógeno é ainda considerado um excelente indicador da ineficiência do processamento térmico, condições higiênicas inadequadas do processo, ou ainda refrigeração inadequada após o preparo dos alimentos (JAY, 2005).

Em relação à resistência a antimicrobianos, observa-se que o *S. aureus* é um dos microrganismos mais implicados nos episódios de infecção hospitalar em todo o

mundo. O *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) era considerado um agente patogênico responsável quase que exclusivamente por infecções hospitalares, entre as décadas de 30 e 80, porém no final de 1990, infecções por MRSA entre as pessoas consideradas sadias começaram a surgir (VAZ, 1995; CALFEE, 2011).

Os mecanismos de resistência do *S. aureus* aos antibióticos devem-se à produção de uma penicilinase, enzima que inativa o anel betalactâmico da molécula de penicilina, tornando o antibiótico ineficaz contra o microrganismo. A resistência à metilina apresentada pelo *S. aureus* é mediada pela presença do gene *mecA*, que codifica a proteína 2a (PBP2a) que se encontra na parede celular do microrganismo (VAZ, 1995; CHAMBERS, 2002; STURMER, 2008).

Os objetivos deste estudo foram investigar a ocorrência de *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA) em sanduíches e hambúrgueres comercializados em Salvador, BA, e avaliar a ocorrência de associação entre os isolados de MRSA e os alimentos investigados.

## 2. MATERIAS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

*Cepas de referência:*

*Staphylococcus aureus* resistente a metilina ATC33591; *S. aureus* ATCC 29213; *S. aureus* ATCC 43300

*Meios de cultura:*

Os seguintes meios de cultura foram utilizados: Caldo Trípico de Soja (TSB, Difco, Detroit, MI, EUA) com 6,5% de NaCl (TSB + 6,5% NaCl, Acumedia, São Paulo, SP, Brasil), ágar Manitol Hipertônico (MA, Acumedia, São Paulo, SP, Brasil), Caldo vermelho de fenol manitol (CVFM), contendo cefoxitina (5 µg/ml) e aztreonam (PRMB+) (75µg/ml) (Acumedia, São Paulo, SP, Brasil), ágar Trípico de Soja (TSA), e ágar Mueller-Hinton (MH) (Acumedia®, São Paulo, SP, Brasil).

*Discos de Antibióticos:*

Penicilina G (PN) (10 UI), Eritromicina (ERI) (15µg), Tetraciclina (TET) (30 µg), Oxacilina (OXA) (1 µg), Cefoxitina (CF) (30 µg), Vancomicina (VC) (30 µg) e Ciprofloxacina (CIP) (5 µg) (Laborclin, São Paulo, SP)

### 2.2 Desenho e local do estudo

Trata-se de um estudo de corte transversal de caráter exploratório e experimental conduzido no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos (LACQ) da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

### 2.3. Investigação de *S. aureus* resistentes à metilina em sanduíches e hambúrgueres.

#### 2.3.1 Amostragem:

a) Amostras de Sanduíches: foram adquiridas 50 amostras de sanduíches sendo 25 sanduíches preparados com carne bovina e 25 com carne de frango em três

lanchonetes do tipo *fast-food* da cidade de Salvador, BA. Os sanduíches foram adquiridos embalados como na opção *dellivery*.

b) Amostras de hambúrgueres: foram adquiridas 50 amostras de hambúrgueres sendo 25 hambúrgueres de carne de frango e 25 de carne bovina, de três marcas diferentes em redes de supermercados de Salvador, BA. O produto foi adquirido cru congelado em sua embalagem original e posteriormente foi descongelado sob refrigeração antes das análises. Para os hambúrgueres foram observadas a integridade física das embalagens, a data de fabricação e o prazo de validade.

A aquisição das amostras foi realizada entre os meses de setembro a dezembro de 2013.

### **2.3.2 Tratamento das amostras:**

Hambúrgueres e sanduíches foram acondicionados em sacos plásticos estéreis, lacrados, identificados e acondicionados em recipientes isotérmicos com gelo reciclável e encaminhadas imediatamente ao LACQ, onde foram processadas, conforme descrito a seguir.

### **2.3.3 Detecção de estafilococos coagulase positiva:**

De acordo com De Boer et al. (2009), 25 g das amostras (hambúrgueres e sanduíches) foram pesadas em cabine de fluxo laminar (Labconco modelo 36210, classe BII; Kansas City, MO, USA) e homogeneizadas em 225 mL de caldo de pré-enriquecimento (TSB + 6,5% de NaCl) em homogeneizador de amostras do tipo stomacher por dois minutos (ITR modelo 1204, série 126, 240bpm Esteio, RS, Brasil,) e incubadas a 37°C por 24 horas. Alíquota de 1 mL do caldo TSB + 6,5% de NaCl foi adicionada a 9 mL de PRMB<sup>+</sup>, seguido de incubação por 24h a 37°C. Dos tubos de PRMB<sup>+</sup> que apresentaram coloração amarela (fermentação do manitol) uma alçada (aproximadamente 10 µl) foi transferida para o ágar manitol hipertônico. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias típicas (amarelas, convexas, brilhantes) foram purificadas em ágar tríptico de soja (TSA) e confirmadas por observações macro e microscópicas (coloração de Gram) (adaptado de COSTA,

2013). Para a prova da catalase, utilizou-se solução de peróxido de hidrogênio a 3% (Synth, São Paulo, SP, Brasil) e para prova da coagulase utilizou-se o kit Staphyclin látex (Laborclin, São Paulo, SP, Brasil), um teste rápido de aglutinação em lâmina

#### **2.3.4 Avaliação dos isolados de estafilococos coagulase positiva quanto à resistência aos antimicrobianos**

Os isolados confirmados como estafilococos coagulase positiva foram mantidos sob refrigeração em TSA inclinado e foram reativados em caldo TSB por 18–24 h a 37°C para investigação de MRSA (adaptado de COSTA, 2013).

Após a recuperação dos isolados em TSB, uma alçada foi estriada nas placas contendo TSA que foram incubadas por 24 horas a 35°C, para avaliação da pureza. Para os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos utilizou-se a técnica de discodifusão, de acordo com protocolo proposto pelo CCLS (2011).

Alçadas das culturas puras provenientes do TSA foram diluídas em solução salina estéril, até a concentração equivalente a 0,5 na escala de McFarland (aprox.  $10^8$  UFC). Em seguida, com auxílio de suabes, as células foram inoculadas de forma homogênea em ágar Mueller-Hinton (MH). Após secagem da superfície do ágar, foram colocados os discos de antibióticos penicilina G (PN) (10 UI), eritromicina (ERI) (15µg), tetraciclina (TET) (30 µg), oxacilina (OXA) (1 µg), cefoxitina (CF) (30 µg), vancomicina (VC) (30 µg) e ciprofloxacina (CIP) (5 µg) com o auxílio de pinças de aço inoxidável estéreis, fazendo-se uma leve pressão. As placas foram incubadas por 24 horas, e após esse período, realizou-se a leitura do tamanho dos halos em mm formados ao redor do disco de antibiótico para detectar a resistência ou sensibilidade aos antimicrobianos testados (CCLS, 2011).

Foram determinadas as frequências de sensibilidade, sensibilidade intermediária e resistência para todos os discos de antibióticos testados, segundo a tabela padronizada do CCLS (2011).

Os isolados que apresentaram resistência à oxacilina e/ou cefoxitina (marcadores) foram classificados como *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) ou *Staphylococcus aureus* sensível à metilina (MSSA). (GELLATI et al., 2009).

## **2.5 Analise dos dados**

Os dados obtidos foram tabulados e analisados através de análise descritiva, teste de t, para comparação de médias. Para verificar a ocorrência de associação entre a presença de MRSA e o tipo de alimento investigado utilizou-se o teste de associação chi-quadrado de Pearson ( $X^2$ ), considerando um nível de significância de 0,95 (SPSS 17.0 para Windows).



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Investigação de estafilococos coagulase positiva e MRSA em amostras de hambúrgueres e sanduíches adquiridos respectivamente em supermercados e lanchonetes do tipo fast-food em Salvador, BA

Vários estudos relatam a presença de estafilococos coagulase positiva e/ou *S. aureus* resistente a antibióticos em fossas nasais, mãos, cavidade oral de manipuladores de alimentos, assim como, em alimentos prontos para o consumo (FREITAS et al., 2004; MARTINS et al., 2007; ALBURQUERQUE et al., 2007; MARTINS et al., 2009; RIZEK, 2010). No presente estudo, foram isoladas 34 colônias de estafilococos coagulase positiva nas amostras de hambúrgueres, sendo que destas 16(64%) foram provenientes do produto preparado com carne bovina e 18 (72%) do preparado com carne de frango. Em relação às amostras de sanduíches, foi observado que de um total de sete isolados, cinco (20%) eram provenientes de sanduíches preparados com carne bovina e dois (8%) preparados com carne de frango (Tabela 1).

**Tabela 1:** Frequência de isolamento de estafilococos coagulase positiva em amostras de hambúrgueres e sanduíches adquiridos em supermercados e lanchonetes do tipo fast-food, respectivamente, em Salvador, BA

Tipo de produto	Hambúrgueres		Sanduíches	
	Nº de amostras	Coagulase positiva N (%)	Nº de amostras	Coagulase positiva N (%)
Carne bovina	25	16 (64%)	25	5(20%)
Carne de frango	25	18 (72%)	25	2 (8,0%)
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>34(68%)</b>	<b>50</b>	<b>7(14%)</b>

Freitas et al. (2004) ao avaliaram a sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango, encontraram um percentual de 56,6% de colônias coagulase positivas, resultado esse inferior ao encontrado no presente estudo nas amostras de hambúrguer preparados com carne de frango.

Os resultados encontrados nesse estudo na investigação da ocorrência de MRSA demonstram que o microrganismo estava presente em 32% das amostras de hambúrgueres e em 8% das amostras de sanduíches (Tabela 2).

**Tabela 2:** Frequência de isolamento de MRSA em amostras de hambúrgueres e sanduíches adquiridos em supermercados e lanchonetes do tipo *fast-food*, respectivamente, em Salvador, BA

Tipo de produto	Hambúrgueres		Sanduíches	
	Nº de amostras	MRSA N (%)	Nº de amostras	MRSA N (%)
Carne bovina	25	4 (16%)	25	2 (8,0%)
Carne de frango	25	12 (48%)	25	2 (8,0%)
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>16(32%)</b>	<b>50</b>	<b>4 (8,0%)</b>

Nas amostras de hambúrgueres, os percentuais de detecção de MRSA no produto preparado com carne bovina foram de 16% (n=4) e de 48% (n=12) para aquele preparado com carne de frango. Em se tratando de amostras de sanduíches prontos para o consumo, os percentuais de detecção foram de 8,0%(n=2) para aqueles preparados com carne bovina e 8,0%(n=2) para o preparado com carne de frango (Tabela 2). Chama-se a atenção pelo alto nível de isolamento de MRSA de hambúrgueres crus preparados com carne de frango.

Considerando o tipo de produto, hambúrguer, verifica-se que 68% (n=34) das amostras estavam contaminadas com estafilococos coagulase positiva e 32% (n=16) com MRSA (Tabelas 1 e 2). Observa-se que a frequência de detecção de MRSA nas amostras de hambúrgueres do presente estudo foi superior àquela relatada por De Boer et al. (2009), que detectaram MRSA em 16% das amostras de carne de frango crua, Agerso et al. (2012), na Dinamarca, que isolaram o microrganismo em 18%

das amostras de frango cru, Fessler et al. (2011) que observaram um percentual de isolamento de MRSA igual a 25% nas amostras de frango cru, e Voetsel en Waren Autoiteit (2008), na Holanda, que relatou um percentual de isolamento igual a 27% em carne de frango cru e 10% em carne bovina crua.

Considerando as amostras de sanduíches, verifica-se um isolamento de estafilococos coagulase positiva em 14% (n=7) e MRSA em 8% (n=4) das amostras. A literatura consultada não apresenta dados sobre o isolamento de MRSA em produtos prontos para o consumo, o que impossibilita a comparação de resultados.

Entretanto, resultados apresentados por Gomes (2011) em uma pesquisa sobre a qualidade higiênico-sanitária da alimentação oferecida em escolas públicas revelaram que 100% das amostras de carne cozida de frango não apresentavam contaminação por *S. aureus*.

### **3.2 Perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados de estafilococos coagulase positivas**

A resistência das bactérias aos antibióticos tem grande importância em saúde pública devido à sua relação com a virulência. A disseminação de microrganismos resistentes, entre eles o MRSA por alimentos e/ou manipuladores de alimentos é preocupante, devendo-se prevenir a ocorrência dessa contaminação na cadeia produtiva de alimentos (DANTAS et al., 2006).

Nesse contexto, a presença generalizada de microrganismos resistentes aos antibióticos reforça a importância das boas práticas de higiene como medida de controle contra agentes infecciosos (TAVARES, 2000).

As Tabelas 3 e 4 apresentam o perfil de resistência/susceptibilidade das cepas de estafilococos coagulase positivas isoladas de sanduíches e hambúrgueres, comercializados em redes de *fast-foods* e supermercados de Salvador, BA.

Observa-se que os estafilococos coagulase positiva isolados das amostras dos alimentos apresentaram resistência a diversos antimicrobianos. Assim, na avaliação dos isolados provenientes das amostras de sanduíches de frango, verifica-se um perfil de resistência maior ou igual a 50% para os antibióticos: penicilina G (66,7%), eritromicina (50%), oxacilina (66,7%) e inferior a 50% para: tetraciclina, cefoxitina,

ciprofloxacina e vancomicina (Tabela 3). Já para os isolados das amostras de sanduíches de carne bovina e de carne de frango, o perfil de resistência aos antibióticos foi sempre inferior a 50% (Tabela 4).

**Tabela 3.** Perfil de resistência/susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de estafilococos coagulase positiva das amostras de carne bovina e carne de frango em sanduíches.

<b>Sanduiche</b>					
	<b>Carne de Frango</b>		<b>Carne bovina</b>		
<b>Penicilina</b>	N	%	N	%	<i>p</i> -valor
Resistente	2	66,7	3	23,1	0,265
Intermediário	0	0,0	5	38,5	
Sensível	1	33,3	5	38,5	
Total	3	100,0	13	100,0	
<b>Eritromicina</b>					
Resistente	2	50,0	2	15,4	0,154
Intermediário	0	0,0	0	.0	
Sensível	2	50,0	11	84,6	
Total	4	100	13	100,0	
<b>Tetraciclina</b>					
Resistente	0	0,0	1	6,7	0,182
Intermediário	1	20,0	0	0,0	
Sensível	4	80,0	14	93,3	
Total	5	100,0	15	100,0	
<b>Oxacilina</b>					
Resistente	2	66,7	3	21,0	0,241
Intermediário	0	0,0	5	35,7	
Sensível	1	33,3	6	42,9	
Total	3	100,0	14	100,0	
<b>Cefoxitina</b>					
Resistente	0	0,0	0	0,0	-
Intermediário	0	0,0	0	0,0	
Sensível	5	100,0	15	100,0	
Total	5	100,0	15	100,0	
<b>Vancomicina</b>					
Resistente	0	0,0	0	0,0	0,054
Intermediário	1	25,0	0	0,0	
Sensível	3	75,0	14	100,0	
Total	4	100,0	14	100,0	
<b>Ciprofloxacina</b>					
Resistente	0	0,0	0	0,0	-
Intermediário	0	0,0	0	0,0	
Sensível	4	100,0	15	100,0	
Total	4	100,0	15	100,0	

**Tabela 4.** Perfil de resistência/susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de estafilococos coagulase positiva das amostras de carne bovina e carne frango em hambúrgueres.

	Hambúrguer				p-valor
	Carne de Frango		Carne bovina		
<b>Penicilina</b>	N	%	N	%	
Resistente	19	43,2	10	33,3	0,391
Intermediário	15	34,1	15	50,0	
Sensível	10	22,7	5	16,7	
Total	44	100,0	30	100,0	
<b>Eritromicina</b>					
Resistente	11	35,5	6	21,4	0,234
Intermediário	0	0,0	0	0,0	
Sensível	20	64,5	22	78,6	
Total	31	100,0	28	100,0	
<b>Tetraciclina</b>					
Resistente	12	25,0	7	21,9	0,703
Intermediário	7	14,6	3	9,4	
Sensível	29	60,4	22	68,8	
Total	48	100,0	32	100,0	
<b>Oxacilina</b>					
Resistente	11	39,3	9	31,0	0,480
Intermediário	2	7,1	5	17,2	
Sensível	15	53,6	15	51,7	
Total	28	100,0	29	100,0	
<b>Cefoxitina</b>					
Resistente	1	2,3	0	0,0	0,455
Intermediário	1	2,3	0	0,0	
Sensível	41	95,3	33	100,0	
Total	43	100,0	33	100,0	
<b>Vancomicina</b>					
Resistente	2	5,0	0	0,0	0,200
Intermediário	0	0,0	0	0,0	
Sensível	38	95,0	32	100,0	
Total	40	100,0	32	100,0	
<b>Ciprofloxacina</b>					
Resistente	0	0,0	0	0,0	0,228
Intermediário	2	4,2	0	0,0	
Sensível	46	95,8	34	100,0	
Total	48	100,0	34	100,0	

Em estudo no Japão conduzido por Kitai et al. (2005), os níveis de detecção de MRSA foram inferiores ao do presente estudo, quando na investigação de 444 amostras de carne e miúdos de frango crus. Segundo os autores, apenas duas cepas, ambas isoladas das partes musculares da coxa de frangos, foram identificadas como MRSA, sugerindo que as mesmas tenham sido transmitidas acidentalmente ao alimento por manipuladores. É importante ressaltar que a manipulação inadequada por parte dos manipuladores é a principal fonte de contaminação dos alimentos e a higiene das mãos com água morna e sabão e posterior uso de antissépticos seriam as barreiras positivas para evitar essa contaminação (ALMEIDA et al., 1995; MARTINS et al., 2009; SOARES, 2011).

Estudo conduzido por Hanson et al. (2011), demonstrou que MRSA foi isolado em apenas 1,2% das amostras de carne suína, bovina, frango, e peru, sendo todos eles identificados como MRSA resistente a oxacilina e multirresistentes.

Van Loo et al. (2006) encontraram resultados semelhantes aos de Hanson et al. (2011), ou seja, apenas 2,5% das amostras de carne de porco e carne bovina estavam contaminadas por MRSA, sendo todos os isolados resistentes a oxacilina e cefoxitina. Ainda, Weese (2010), no Canadá, analisando amostras de carnes suínas, bovina e de frango cruas observaram uma frequência de isolamento de MRSA um pouco superior aos dos estudos mencionados, com 5,3% das amostras contaminadas por MRSA.

Quanto ao isolamento de MRSA multirresistente, observa-se no presente estudo que houve um total de 31 colônias sendo estas 27 de hambúrgueres e 4 de sanduíches; resultados semelhantes aos estudos de Normano et al., (2007) e Lim. et al., (2010) encontraram que todos os isolados de MRSA foram multirresistentes. Curiosamente, os hambúrgueres de carne de frango (22) foi o produto que apresentou maior frequência de multirresistência aos antimicrobianos. Esses resultados concordam com os estudos de Fleber (2011), demonstrou que todos os MRSA foram multirresistentes, em produtos de carne de frango. De acordo com Hanson et al., (2011), demonstrou que todos os isolados de MRSA foram multirresistentes em produtos de carne de frango e carne bovina. O achado no presente estudo pode estar relacionado às condições de processamento, devido à contaminação do alimento por equipamentos ou manipuladores contaminados.

Em relação aos marcadores da resistência para MRSA, oxacilina e cefoxitina, observa-se que essa resistência apresentou variação, não sendo encontrada em todos os isolados do presente estudo, ou seja, 66,7% dos isolados de sanduíches de frango foram resistentes à oxacilina, enquanto 100% foram sensíveis à cefoxitina (Tabela 3). Resultados diferentes são apresentados por Fessler et al. (2011) na Alemanha, demonstrando que todos os isolados de MRSA eram resistentes à oxacilina, e 62,5% apresentaram multirresistência.

A cefoxitina foi introduzida como marcador de resistência para MRSA há pouco tempo, então esses resultados apresentados para as amostras de alimentos devem ser revistos, pois pode ocorrer das cepas de origem humana apresentarem diferente comportamento das isoladas de alimentos. É importante também mencionar que alguns isolados clínicos são *mecA*-positivos e susceptíveis à oxacilina.(HOSOSAKA et al., 2007). Corroborando com esses achados, Shahrz et al. (2012) no Japão, verificaram a presença do gene *mecA* em cepas de *S. aureus* identificadas como sensíveis à metilina (MSSA) em hambúrgueres.

Voltando aos resultados do presente estudo, nota-se que 66,7% dos isolados de estafilococos coagulase positiva provindos das amostras de sanduíches de frango foram resistentes à penicilina, fármaco muito empregado na medicina humana e na veterinária. Quanto aos isolados provenientes das amostras de sanduíches de carne bovina, essa resistência foi observada em apenas 23,1% dos isolados. No Brasil a resistência à penicilina varia de 20% a 100%, enquanto percentagem de resistência a outros antimicrobianos é mais baixa (ANDREOTTI E NICODEMO, 2004). Em diversos países, contudo, os estudos de larga escala mostram que a resistência à penicilina está em torno de 60%. Nesse contexto, a avaliação da suscetibilidade de *S. aureus* de 11 países mostrou que a prevalência de amostras resistentes a diversos antibacterianos, usados rotineiramente para tratamento da mastite, foi, em geral, baixa, independente do país de origem (ERSKINE et al., 2002).

Em relação à vancomicina, droga de escolha para o tratamento de MRSA na medicina humana, observou-se que todos os isolados (100%) provenientes das amostras de sanduíches de carne bovina e de hambúrgueres de carne bovina foram sensíveis ao fármaco, enquanto 75% dos isolados das amostras de sanduíches de carne de frango apresentaram sensibilidade, com 25% apresentando sensibilidade intermediária (Tabela 3). Verifica-se ainda que apenas 5% dos isolados de amostras



de hambúrgueres de carne de frango foram resistentes ao antibiótico (Tabela 4). Esses resultados são importantes, pois vem demonstrar que a escolha do antibiótico vancomicina no tratamento de infecções por MRSA é adequada.

Estudo realizado por Costa (2013) no Brasil relata que algumas preparações à base de carnes prontas para o consumo estavam contaminadas com MRSA. O autor conclui que o processamento térmico foi suficiente para eliminar o microrganismo, uma vez que a temperatura de cocção dos alimentos era sempre superior a 80°C, e então considera a ocorrência de contaminação após a preparação dos pratos cárneos por manipuladores portadores assintomáticos, ou ainda por utensílios contaminados utilizados na distribuição das refeições. Dessa forma, verifica-se a disseminação do microrganismo para os alimentos prontos para o consumo pelo manipulador ou utensílios infectados, causando ou potencializando as infecções por MRSA (DOYLE; HARTMANN; WONG, 2011).

Corroborando com o estudo de Costa (2013), a presença de MRSA nas amostras de alimentos é um dado preocupante, principalmente em se tratando de sanduíches prontos para o consumo, e pode estar relacionada à presença de manipulador assintomático e/ou o não atendimento às Boas Práticas de Fabricação (BPF) na linha de produção dos alimentos.

Devido ao recente surgimento de cepas MRSA associadas à pecuária, tais como a ST398 (FITZGERALD 2012), é provável que nenhuma explicação simples possa ser suficiente, e que "MRSA" represente um fenômeno emergente continuamente impulsionado pelas multifatoriais interações entre a tríade clássica de hospedeiro, patógeno e ambiente (MEDIAVILLA et al., 2012).

### **3.3 Resultados da análise estadística**

Objetivando comparar a ocorrência de MRSA entre os tipos de produtos cárneos investigados, foi feita a análise descritiva dos dados, porém essa análise demonstrou não haver associação entre o isolamento de MRSA e o tipo de alimento investigado.

#### 4. CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais da presente pesquisa e os dados da literatura, pode-se concluir que:

- ✓ Os dados observados comprovam que *S. aureus* permanece como um dos patógenos mais comuns em alimentos, podendo representar sérios riscos à saúde pública;
- ✓ O isolamento de MRSA em hambúrgueres crus congelados sugere uma possível contaminação pelo microrganismo oriundo do próprio animal ou das etapas do processamento, reforçando a importância do uso adequado e monitorado de antimicrobianos na saúde animal;
- ✓ A presença de MRSA em sanduíches prontos para o consumo é preocupante, indicando que esta contaminação pode ser oriunda da presença de manipulador assintomático e/ou o não atendimento às Boas Práticas de Produção na linha de processamento do alimento;
- ✓ O isolamento de MRSA em carne bovina e carne de frango cruas demonstra que a manipulação da carne antes de ser cozida envolve um risco de colonização por MRSA se as práticas de higiene não forem observadas no preparo desses alimentos;

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do progresso nos últimos anos sobre o mecanismo de ação de antimicrobianos e sobre o mecanismo de defesa das bactérias, ainda continua sendo um desafio a capacidade de sobrevivência bacteriana à antibioticoterapia. O homem produz novos antibióticos, e as bactérias ampliam a todo o momento o seu potencial de defesa, por tanto são capazes de alterar a permeabilidade da parede e da membrana celular, produzir enzimas que inativam os antibióticos e modificar seu sítio de ação.

Desta forma, entende-se que os estafilococos são patógenos de importância nas DVA, apontando a necessidade de mais informações epidemiológicas a respeito dos surtos envolvendo esse micro-organismo. Falhas no diagnóstico clínico e laboratorial são muitas vezes o principal motivo para subnotificações a respeito das intoxicações alimentares no país.

Futuras investigações, considerando toda a cadeia produtiva “da fazenda a mesa”, são necessárias para esclarecer a origem da contaminação e traçar medidas adequadas para seu controle.

Os resultados do presente estudo vem alertar as autoridades de saúde pública para o controle efetivo na administração de antibióticos não apenas na saúde humana, mas também na veterinária nas ações de proteção e promoção de crescimento dos animais produtores de alimentos.

## REFERÊNCIAS

- AGERSO, Y. et al. Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. **Veterinary Microbiology**, Amsterdã, v. 157, n. 1-2, p. 246-250, 2012.
- ALBUQUERQUE, W.F.; MACRAE, A.; SOUSA, O.V.; VIEIRA, G.H.F.; VIEIRA, R.H.S.F. Multiple drug resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a fish market and from fish handlers. **Brazilian Journal Microbiology**, v.38, p.131-134, 2007.
- ALMEIDA, R. C. DE C.; KUAYE, A. Y.; SERRANO, A. DE M.; ALMEIDA, P. F. DE. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista Saúde Pública**, v. 29, n.4, p. 290-294, 1995.
- ANDREOTTI, R.; NICODEMO, M. L. F. **Uso de Antimicrobianos na Produção de Bovinos e Desenvolvimento de Resistência**. Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte, 2004.
- BOER, E. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 134, p. 52-56, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Resolução nº 216. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 15 de setembro 2004.
- CALFEE, D.P. The Epidemiology, treatment, and prevention of transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Art and Science of Infusion Nursing** v.34,n. 6, p. 359-64, 2011.
- CHAMBERS, H.F. Antimicrobianos. Considerações Gerais. In: Penildon Silva (Ed.). **Farmacologia**.6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 43. 859-871, 2002
- CLLS**. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement. v. 31, n. 1. M100-S21, Wayne, PA. 2011.
- COSTA, W. L. R. **Investigação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em alimentos cárneos destinados ao preparo de dietas em hospitais públicos do município de Salvador-BA**. 101f. 2013. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- DE BOER, E.; ZWARTKRUIS-NAHUIS, J. T. M.; WIT, B.; HUIJSDENS, X. W., NEELING, A. J.; BOSCH, T. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, v,134, n.1-2, p. 52-56, 2009.
- DOYLE, M. E.; HARTMANN, F. A.; WONG, A. C. L. White Paper on Sources of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Other Methicillin-Resistant

Staphylococci: Implications for Our Food Supply? **Food Research Institute**, Madison, p. 1-25, feb. 2011. Disponível em: <[http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI\\_Brief\\_MRSA\\_FoodSupply\\_Feb2011.pdf](http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRI_Brief_MRSA_FoodSupply_Feb2011.pdf)>. Acesso em: 16 Mar. 2014.

ERSKINE, R. J. et al. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven- year period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 5, p. 1111-1118, 2002.

FATTORI, F. F. A.; SOUZA, L. C.; BRAOIOS, A.; RAMOS, A. P. D.; TASHIMA, N. T.; NEVES, T. R. M.; BARBOSA, R. L. Aspectos sanitários em “trailers” de lanche no município de Presidente Prudente, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, p. 54-62, 2005.

FERREIRA, J. S. **Investigação de estafilococos coagulase positiva resistentes à meticilina em manipuladores de alimentos em hospitais públicos do município de Salvador- BA**. 2012. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

FESSLER, A. T.; KADLEC, K.; HASSEL, M.; HAUSCHILD, T.; EIDAM, C.; EHRLICH, R. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n.20, p. 7151-7, 2011

FITZGERALD, J. R. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat. **Trends in Microbiology**, v. 20, p.192-98, 2012.

FREITAS, M. F. L. et al. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 405-407, 2004.

GELATTI, L. C. et al. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GIL, J. I. **Manual de inspeção sanitária de carnes**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000.

GOMES, N. A.A. A. **Qualidade higiênico-sanitária da alimentação oferecida em escolas públicas do estado de Goiás**. 2011. Dissertação de mestrado. Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011

HANSON, B. M.; DRESSLER, A. E.; HARPER, A. L.; SCHEIBEL, R. P.; WARDYN, S. E.; ROBERTS, L. K. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. **Journal of Infection Public Health**, v. 4, n.4, p.169-74, 2011.

HOSOSAKA, Y. et al. Characterization of oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Tóquio, v.3, p.79-86, 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**.6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KITAI, S. et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. **Journal of Veterinary Medicine** Tóquio, v. 67, n. 1, p.107-110, 2005.

LEVRÈ, E.; VALENTINI, P.; CHIAVERINI, F. Presenza di *E. coli* O157:H7 verocitotossigeni in hamburger di carne bovina. **Ann Ig**, v. 12, p. 131-137, 2000.

LIMA JX, OLIVEIRA LF. O crescimento do restaurante self-service: aspectos positivos e negativos para o consumidor. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, p. 45-53, 2005.

MARTINS; J. F. L.; MARTINS, A. D. O.; MILAGRES, R. C.; ANDRADE, N. J. Resistência a antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados de dietas enterais em um hospital público de Minas Gerais. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 28, p. 9-14, 2007

MARTINS, S. C. S. et al. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva* isoladas de manipuladores de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 27, n. 1, p. 43-52, 2009.

MEDIAVILLA, J. R.; CHEN, L.; MATHEMA, B.; KREISWIRTH, B. N. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **Current Opinion in Microbiology**, v. 15, p. 588–595, 2012.

NORMANNO, G. et al. Coagulase–positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 98, p. 73-79, 2005.

NORMANNO, G. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food of animal origin product in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 117, p. 219-222, 2007.

NRDC. Raising Resistance: Feeding Antibiotics to Healthy Food Animals Breeds Bacteria Dangerous to Human Health. **Natural Resources Defense Council**, out. Nova Iorque, 2011. Disponível em: <http://www.nrdc.org/health/files/raisingresistance.pdf>. Acesso em: 04. Mar. 2012.

OMBUI, J. N.; KIMOTHO, A. M.; NDUHIU, J. G. Antimicrobial resistance patterns and plasmid profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and meat. **East African Medical Journal**, Nairobi, v. 77, n. 9, p. 463-467, 2000.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Food safety and foodborne illness**. Disponível em: <[www.who.int/inf-fs/em/fact237.html](http://www.who.int/inf-fs/em/fact237.html)>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

PELCZAR JÚNIOR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: McGraw-Hill, v. 2.1997.

RIZEK, C. F. **Pesquisa de genes de resistência a antimicrobianos beta-lactâmicos e de enteroxina em cepas de *Staphylococcus aureus* presentes em**

**amostras de alimentos**. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo 2010.

ROÇA, R. O. **Microbiologia da Carne**. UNESP, Campus de Botucatu, [19--]. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/tecarne.htm#s5>>. Acesso em: 12 março de 2013.

SHAHRAZ F, DADKHAH H, KHAKSAR R, MAHMOUDZADEH M, HOSSEINI H, KAMRAN M. Analysis of antibiotic resistance patterns and detection of *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from packaged hamburger. **Meat Science**, v.90, n.3, p.759-63, 2012.

SOARES, L. S. **Segurança dos alimentos: avaliação do nível de conhecimento, atitudes e práticas dos manipuladores de alimentos na rede municipal de ensino de Camaçari-BA**. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição, Salvador, 103f,2011.

STURMER, F. C. R. **Caracterização parcial do elemento CCR em *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isolados no Sul do Brasil**. (Dissertação de Mestrado). Porto Alegre, RS, 47f, 2008.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TAVARES, T. M.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduicheiras tipo “trailers” em Goiânia, GO. **Revista de Patologia Tropical**, v. 32, p. 46-52, 2003

Voedsel en Waren Autoriteit - VWA -**Food and Consumer Products Safety Authority** Disponível em: <<https://www.vwa.nl>>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

VAN LOO, I. H. M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, p. 1753-1755, 2006.

VAZ, M. J. S. A. M. **Caracterização das resistências bacterianas observadas em *Staphylococcus aureus***. (Tese de doutorado). Porto, Portugal, 149f, 1995.

WEESE, J. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 3, p. 430-435, 2005.

WEESE, J.S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Animals. **ILARS Journal**. 51 (3): 338-42, 2010.