

Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de pescado salgado

MARCELLE OLIVEIRA GARCIA¹; FLÁVIA LIÉGE SCHÜTZ VOLOSKI²; JULIA ROSIN DA SILVA³; LAURA BRENNER COLLING³; BRUNO FEIJÓ ALVES⁴
EDUARDA HALLAL DUVAL⁵

^{1,2} Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com; fla_voloski@hotmail.com

³ Graduandas em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – julia_rosin@hotmail.com; lbcolling@gmail.com

⁴ Graduando em Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – brunofeijoalves0@gmail.com

⁵Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal/Departamento de Veterinária Preventiva/
Universidade Federal de Pelotas – eduardahd@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos são passíveis de contaminação por diferentes micro-organismos patogênicos ou suas toxinas, podendo ocasionar o desenvolvimento de doenças que afetam a saúde humana (PASSOS; KUANE, 1996). *Staphylococcus aureus* é um dos principais agentes bacterianos causadores de doenças de origem alimentar em todo o mundo (EFSA, 2010; LE-LOIR et al., 2003) e fazem parte da microbiota da pele e membranas mucosas em todos animais (MURRAY, 2009). Segundo DE VITA et al. (2008), o processamento dos alimentos envolve um elevado grau de contato com superfícies e manipulação de matérias-primas e produtos intermediários podendo aumentar a disseminação de *S. aureus* para alimentos e superfícies de contato. Em condições adequadas, o micro-organismo multiplica-se no alimento, atingindo concentrações elevadas ($\geq 10^5$ micro-organismos/g), favoráveis à produção de enterotoxinas de quatro a seis horas mais tarde. As enterotoxinas estafilocócicas (SES) são resistentes a proteases, mantendo, assim, a sua atividade no trato digestivo após a ingestão (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A salga é uma das formas mais utilizadas na conservação de pescados. Sua ação preservativa é caracterizada pela remoção parcial da água, com a função de inibir o crescimento bacteriano e além disso, o aumento da concentração salina no produto final (GAVA, 1977).

A ameaça à saúde pública devido ao aumento da resistência de agentes infecciosos frente aos antimicrobianos é impulsionada pelo uso inadequado de medicamentos na saúde humana e animal, bem como pela utilização de medidas inappropriadas para controlar a disseminação de infecções. O desenvolvimento de resistência de patógenos a um número cada vez maior de antimicrobianos vem aumentando ao longo de várias décadas, o que levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a reconhecer este fato como uma crise de saúde pública global (OMS, 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *S. aureus* isoladas de pescado salgado.

2. METODOLOGIA

A avaliação do perfil de resistência a antimicrobianos foi realizada com 24 cepas de *S. aureus* isoladas de pescado salgado, já confirmadas fenotípica e

genotipicamente, de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Inicialmente, as cepas foram cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) durante 16-18 horas a 37°C. A partir deste cultivo, foram preparados inóculos bacterianos com 0,5 de densidade óptica (OD_{600nm}) ($\approx 1,5 \times 10^8$ UFC.mL $^{-1}$), os quais foram semeados em placas contendo ágar Müller Hinton (MH), sobre as quais foram adicionados, assepticamente, os discos comerciais dos antimicrobianos. No total, 15 diferentes antimicrobianos foram testados: eritromicina (ERI, 15µg), trimatoprima (TRI, 5µg), sulfametaxol-trimatoprima (SUT, 25µg), clindamicina (CLI, 2µg), norfloxacina (NOR, 10µg), ácido nalidíxico (NAL, 30µg), tetraciclina (TET, 30µg), ciprofloxacina (CIP, 5µg), penicilina (PEN, 10µg), cloranfenicol (CLO, 30µg), ceftriaxona (CRO, 30µg), nitrofurantoína (NIT, 300µg), gentamicina (GEN, 10µg), ampicilina (AMP, 10µg) e vancomicina (VAN, 30µg). As placas foram incubadas a 37°C por 16-18 horas, sendo depois verificada a formação ou não de halos de inibição, cujo diâmetro foi comparado com os valores já especificados pelo CLSI (2012).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um elevado nível de resistência a antimicrobianos foi verificado no presente estudo, onde 100% dos isolados apresentaram resistência a, pelo menos, seis antimicrobianos (eritromicina, trimatoprima, sulfametaxol-trimetoprima, clindamicina, penicilina e ceftriaxona), apresentando um perfil de multirresistência, conforme pode ser verificado na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *S. aureus* isoladas de pescado salgado.

<i>Antimicrobianos</i>	<i>Perfil de resistência (%) das cepas testadas</i>		
	<i>Sensível</i>	<i>Intermediário</i>	<i>Resistente</i>
Eritromicina	-	-	24 (100%)
Trimatoprima	-	-	24 (100%)
Sulfametaxol-trimetoprima	-	-	24 (100%)
Clindamicina	-	-	24 (100%)
Norfloxacina	24 (100%)	-	-
Ácido Nalidíxico	-	1 (4,2%)	23 (95,8%)
Tetraciclina	-	1 (4,2%)	23 (95,8%)
Ciprofloxacina	23(95,8%)	1(4,2%)	-
Penicilina	-	-	24 (100%)
Cloranfenicol	11(45,8%)	2 (8,4%)	11(45,8%)
Ceftriaxona	-	-	24 (100%)
Nitrofurantoína	8 (33,3%)	4 (16,7%)	12 (50%)
Gentamicina	23 (95,8%)	1 (4,2%)	-
Ampicilina	16 (66,7%)	-	8 (33,3%)
Vancomicina	1 (4,2%)	1 (4,2%)	22 (91,6%)

- não detectado

SÁNCHEZ et al. (2012), avaliando perfil de cepas de *S. aureus* isoladas de produtos de pesca, verificaram 100% (125/125) destas com sensibilidade à penicilina G, tetraciclina, cloranfenicol, vancomicina, clindamicina, eritromicina e

gentamicina. Estes resultados diferem dos obtidos no presente estudo, sendo mais de 90% das cepas de *S. aureus* testadas resistentes a estes mesmos antimicrobianos, exceto com relação à gentamicina que apresentou 95,8% (23/24) dos isolados sensíveis e 4,2% (1/24) com resistência intermediária e cloranfenicol que no presente estudo foi verificado com 45,8% (11/24) isolados sensíveis e 8,4% (2/24) com resistência intermediária.

Sensibilidade à norfloxacina foi observada em 100% das cepas de *S. aureus* avaliadas no presente estudo, o que corrobora os resultados encontrados por MOURA et al. (2016), que também verificaram 100% (27/27) das cepas de *S. aureus* isoladas de carne caprina com sensibilidade a este antimicrobiano, considerando-o o mais eficaz contra o patógeno.

Segundo CONNELL (1988), a estabilidade microbiológica de produtos salgados ocorre em função da inibição de micro-organismos e enzimas através da alta concentração de sal e desidratação considerável que acompanha o processo produtivo. *S. aureus* possuem a capacidade de desenvolvimento em baixa atividade de água sendo considerado, de acordo com GARRITY et al. (2003), como extremamente halofílico com capacidade de tolerância a concentrações de até 15% de NaCl. Apesar disso, práticas higiênico-sanitárias inadequadas ao longo da cadeia produtiva podem resultar na contaminação e sobrevivência de micro-organismos patogênicos (FRAZIER; WESTHOFF, 1993). *S. aureus* não faz parte da microbiota natural do ambiente marinho, nem do próprio pescado, por isso, a presença deste micro-organismos em pescados processados permite inferir que a contaminação é decorrente de manipulação inadequada (BASTI et al., 2007).

Cepas de *S. aureus* isoladas de alimentos têm demonstrado alta resistência à ação de antimicrobianos, tornando necessária a adoção de boas práticas de higiene na produção de alimentos, como uma medida preventiva, de maneira que contribua com a diminuição da contaminação por este patógeno, assegurando a saúde dos consumidores.

4. CONCLUSÕES

Todas as cepas de *S. aureus* isoladas de pescado salgado testadas no presente estudo apresentaram um perfil de resistência a, pelo menos, seis antimicrobianos, caracterizando-se como multirresistentes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTI, A. A.; MISAGHI, A.; SALETTI, T. Z.; KAMKAR, A. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. **Food Control.** v. 17, p. 183-188, 2006.
- CONNELL, J. J. **Control de la calidad de pescado.** Zaragoza: Acribia, p.236, 1988.
- Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.** Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, v. 32, ed.11, 2012.
- EFSA, European Centre for Disease Prevention and Control. **The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008.** EFSA Journal, v. 8, n. 1, p. 1496, 2010. Acessado em 16 jul. 2016. Online. Disponível em:

<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/EU-summary-report-trends-sources-of-zoonoses-zoonotic-agents-food-borne-uutbreaks-in-2008.pdf>.

DE VITA, M. D.; WADHERA, R. K.; THEIS, M. L.; INGHAM, S. C. Assessing the potential of *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* transfer to foods and customers via a survey of hands, hand-contact surfaces and food-contact surfaces at foodservice facilities. **Journal of Foodservice**. v. 18, p. 76-79, 2008.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo:Atheneu, 2008.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los Alimentos**. Zaragoza, Editorial Acribia, p. 681, 1993.

GARRITY, G. M.; BELL, J. A.; LIBURN, T. G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. New York: Springer-Verlag, 2003.

GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1977. p. 157.

LE-LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**. v. 2, n. 1, p. 63–76, 2003.

MOURA, A.P.B.L.; ACIOLI, R.; DUARTE, D.A.M.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; ALCÂNTARA, J.S., MOTA, R.A. Caracterização e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de amostras de carne caprina comercializadas em mercados e supermercados em Recife, PE. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 73, n. 1, p.7-15, 2006.

PASSOS, M.H.C.R.; KUAYE, A.Y. Avaliação dos surtos de enfermidades transmitidas por alimentos comprovados laboratorialmente no município de Campinas- SP no periodo de 1987 a 1993. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 56, n. 1, p. 77-82, 1996.

SÁNCHEZ, D. V.; CABO, M.C.L.; IBUSQUIZA, P. S.; HERRERA, J. J.R. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). **International Journal of Food Microbiology**. v. 157, p. 286-296, 2012.

WERTHEIM, H.F.; MELLES, D.C; VOS, M.V; VAN LEEUWEN, W.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH H.A.; NOUWEN JL. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infectious. **LANCET Infectious Diseases**.v. 5, n. 12, p. 751-62, 2005.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana**. Opções de ação, 2012. Acessado em 13 jul. 2016. Online. Disponível em:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75389/3/OMS_IER_PSP_2012.2_por.pdf.