

SUPERFÍCIES DE EQUIPAMENTOS DE ORDENHA COMO FONTE DE CONTAMINAÇÃO POR *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE POSITIVA METICILINA RESISTENTE – DADOS PRELIMINARES

JÉSSICA DAL VESCO¹; CAROLINE DA LUZ DE FREITAS²; MAYRA ROCHA³; CLAUDIO DIAS TIMM⁴; HELENICE GONZALEZ DE LIMA⁵; NATACHA DEBONI CERESER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jessica.dalvesco@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolineluzf@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – mayra.benji@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – claudiotimm@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – natachacereser@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Staphylococcus coagulase positiva são patógenos de importância mundial. Capazes de produzir biofilmes, cada vez ganham mais destaque no setor alimentício e também na saúde única, devido aos fatores de virulência e perfil de resistência aos antimicrobianos.

O grupo de micro-organismos capazes de coagular o plasma tem como principal representante o *Staphylococcus aureus*, que comumente são causadores de mastite contagiosa nos bovinos (SILVA et al., 2018) e Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) nos seres humanos. De acordo com MOLINERI et al. (2012), as superfícies de equipamentos de ordenha e tanque, superfície externa dos tetos e úbere e os patógenos causadores de mastite são as principais fontes de contaminação bacteriana do leite, através do qual é possível que ocorra a veiculação desses patógenos para leite e derivados, podendo ocasionar DTA. Ainda, pode ocorrer a transmissão de cepas resistentes a antimicrobianos e a transferência de genes de resistência aos seres humanos, ocasionando problema de saúde pública (SILVA et al., 2018).

Segundo SILVA et al. (2017), *Staphylococcus aureus* são causadores de diversas infecções em humanos, associadas ou não aos alimentos. Após a descoberta da penicilina, surgiram cepas resistentes a ela. Para contornar o problema, foi criado um beta-lactâmico sintético a meticilina, que era resistente à ação das beta-lactamases que o *S. aureus* é capaz de produzir (LOWY, 1998). Contudo, a partir da década de 80, emergiram cepas resistentes à meticilina, denominadas MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), que se tornaram um grave problema de saúde pública. Encontrados inicialmente em hospitais, parecem ter sido disseminados no meio rural (DINIZ et al., 2010).

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a presença de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva resistentes à meticilina no ambiente de ordenha.

2. METODOLOGIA

Para realização deste estudo, foram utilizados 70 isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva obtidos das superfícies equipamentos de ordenha e insufladores de teteiras de nove propriedades da região sul do Rio Grande do Sul. Os isolados, obtidos no período de 2014 a 2016, estavam em cultivo de estoque e foram recuperados para testar o perfil de resistência à

cefoxitina (CFO 30µg), que é o antibiótico de escolha para teste de MRSA, já que a meticilina não é mais fabricada (ZURITA et al., 2010). Para a realização dos antibiogramas, foi utilizado o método de disco-difusão de Bauer (BRASIL, 2003). As amostras foram cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI, MERCK, Alemanha) e incubadas a 36°C/24h, padronizadas em absorbância de 0,500nn e semeadas em ágar Mueller Hinton (KASVI, Itália), onde foi adicionado um disco de CFO 30µg. As placas foram incubadas invertidas em estufa 36°C ± 1°C durante 24 horas, e após esse período foi realizada a leitura dos diâmetros dos halos inibitórios com auxílio de régua graduada. A interpretação dos resultados realizou-se de acordo com recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) – foram considerados resistentes os halos ≤ 21 mm e sensíveis aqueles ≥ 22 mm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 70 isolados testados, 33 (47%) apresentaram resistência à cefoxitina e 37 (53%) sensibilidade ao antimicrobiano. Referente aos pontos coletados destacam-se as superfícies dos insufladores de teteiras, demonstrados na Figura 1 como “Teteira Inicial” e “Teteira Final”. Antes de iniciar a ordenha e, portanto, após a sanitização realizada pelo produtor, dos 14 isolados testados, 57% mostraram-se resistentes. Neste mesmo ponto de coleta, porém durante o processo de ordenha, foram obtidos 28 isolados e destes, 39% mostraram-se resistentes à cefoxitina. Outras superfícies coletadas, como o filtro, coador e balde, somaram 28 isolados, onde 14 deles apresentaram resistência à cefoxitina.

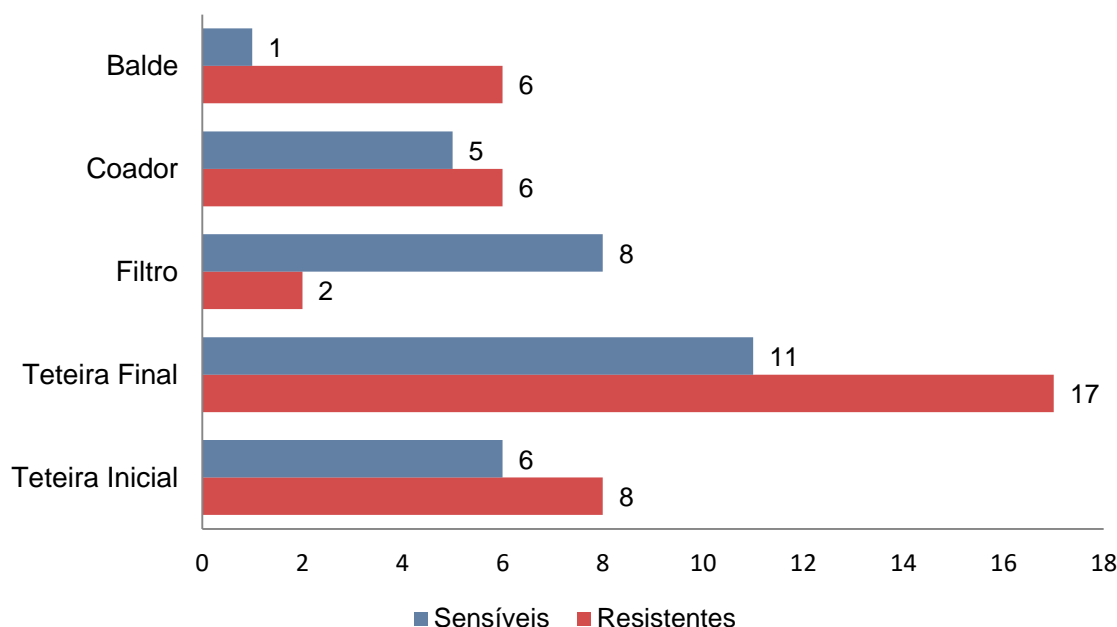


Figura 1: Número de isolados sensíveis e resistentes à cefoxitina (30ug) em 70 isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva de superfícies de equipamentos de ordenha de propriedades do sul do Rio Grande do Sul.

ZAFALON et al. (2008), ao avaliarem o perfil de resistência de *S. aureus* isolados de insufladores de teteiras dos conjuntos de ordenha, relataram que

40,7% dos isolados apresentaram resistência à oxacilina (metilicina). Fica evidente a importância das superfícies que entram em contato direto com o leite como fontes de contaminação e transmissão de *Staphylococcus* metilicina resistente para o leite. A existência de cepas resistentes nas amostras obtidas nas superfícies, mesmo após a realização dos processos de higienização, podem estar associadas à capacidade de formação de biofilme do agente. Já a presença do micro-organismo resistente nos insufladores durante a ordenha pode estar associada ao leite mastítico, uma vez que o insuflador tem contato direto com o teto infeccionado.

LEE (2012) ressalta a importância do pré e pós-dipping e de cuidados com a higienização adequada dos equipamentos de ordenha, a fim de reduzir a transmissão de micro-organismos entre animais e de impedir a formação de biofilmes bacterianos, uma vez que eles representam um ponto permanente de contaminação no leite que é entregue aos laticínios.

Em um estudo de revisão, CERQUEIRA e ALMEIDA (2013) observaram que as amostras de leite apresentaram a segunda maior prevalência de MRSA entre diferentes estudos com produtos de origem animal, mostrando que estes estão comumente associados com a ocorrência de mastite em vacas leiteiras. Esse aspecto não deveria representar perigo à saúde dos consumidores, uma vez que a maioria dos produtos lácteos é produzida a partir do leite pasteurizado, entretanto, ocorre a comercialização informal de leite e derivados sem adequado processamento térmico, oferecendo riscos à saúde pública (MIGUEL et al, 2012).

4. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, as superfícies que entram em contato com o leite durante o processo de ordenha, são importantes fontes de contaminação e transmissão de *Staphylococcus* coagulase positiva metilicina resistente para o leite, sendo relevantes em saúde pública, pois a ingestão de leite ou derivados contaminados por MRSA apresentam o risco de transferência dos genes de resistência aos seres humanos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão: norma aprovada – Oitava Edição.** Brasília: Anvisa, 2003.

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

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.** Twenty Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

DINIZ, C.M; MELO, R.T.; MENDONÇA, E.P.; FONSECA, B.B.; ROSSI, D.A. Resistência a oxacilina em *Staphylococcus* spp. isolado de leite mastítico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 4, p. 482-488, 2010.

LEE, S.H.I. **Identificação molecular de *Staphylococcus aureus* formadores de biofilmes em ambiente de ordenha.** 2012. 71f. Dissertação (Mestrado em

Ciências da Engenharia dos Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.

LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine**, v.339, n.8, p.520-532, 1998. Acessado em 03 set. 2019. Online. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199808203390806>>.

MIGUEL, P.R.R.; POZZA, M.S.; CARON, L.F.; ZAMBOM, M.A.; POZZA, P.C. Incidência de contaminação no processo de obtenção do leite e suscetibilidade a agentes antimicrobianos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.1, p.403-416, 2012.

MOLINERI, A.I.; SIGNORINI, M.L.; CUATRÍN, A.L.; CANAVESIO, V.R.; NEDER, V.E.; RUSSI, N.B.; BONAZZA, J.C.; CALVINHO, L.F. Association between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk. **Revista Argentina de Microbiologia**, Espanha, v.44, p.187-194, 2012.

SILVA, J.G.; ALCÂNTARA, A.M.; MOTA, R.A. Mastite bovina causada por *Staphylococcus* spp. resistentes à metilicina: revisão de literatura. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.38, n. 2, p. 223-228, 2018. Acessado em 27 ago. 2019. Online. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0100-736X2018000200223&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A.R.; OKAZAKI, M.M. *Staphylococcus aureus*. In: _____. **Manual de Métodos de Análise de Alimentos e Água**. São Paulo: Blucher, 2017. Cap. 10, p. 139 – 158.

ZAFALON, L.F.; ARCARO, J.R.P.; NADER FILHO, A.; FERREIRA, L.M.; CASTELANI, L.; BENVENUTTO, F. Investigação de perfis de resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados na ordenha de vacas em lactação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.67, n. 2, p.118-125, 2008.

ZURITA, J.; MEJIA, C.; GUZMAN-BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 14, supl. 2, p. 97-106, 2010. Acessado em 03 set. 2019. Online. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702010000800005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.