



INCIDÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* EM LINGUIÇAS DE CARNE SUÍNAS E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

INCIDENCE OF *Staphylococcus aureus* IN PORCINE SALUTHS AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PROFILE

Camila Kessler* Erika Izumi †

RESUMO

O presente trabalho buscou avaliar a presença de *Staphylococcus aureus* em carnes produzidas e distribuídas na região oeste do estado do Paraná, bem como o perfil de resistência a antimicrobianos desta bactéria. a pesquisa foi realizada no laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Paraná, no campus Santa Helena. a importância desta pesquisa é validada pelo constante aumento de patógenos resistentes a antimicrobianos, e pelo fato de a *Staphylococcus aureus* ser a principal bactéria estafilocócica causadora de intoxicações alimentares, sendo portanto indispensável a avaliação da resistência destes aos antibióticos para se ter um norte da necessidade de melhoramento, e até desenvolvimento, de novos medicamentos. sendo que se constatou a presença de cepas de *S. aureus* em uma das duas empresas avaliadas na pesquisa, e ainda, a resistência dessas à 5 dos 16 antibióticos testados.

Palavras-chave: Patógenos Humanos; Intoxicação alimentar; Resistência antimicrobiana;

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the presence of *Staphylococcus aureus* in meat produced and distributed in the western region of the state of Paraná, as well as the antimicrobial resistance profile of this bacterium. the research was carried out in the microbiology laboratory of the Federal University of Paraná, on the Santa Helena campus, by the student and author of this project, Camila Kessler, together with prof. Dr. Erika Izumi. the importance of this research is validated by the constant increase in antimicrobial-resistant pathogens, and by the fact that *Staphylococcus aureus* is the main staphylococcal bacteria causing food poisoning, therefore, it is essential to evaluate their resistance to antibiotics in order to determine the need for improvement, and even development, of new drugs. The presence of strains of *S. aureus* was found in one of the two companies evaluated in the research, and also the resistance of these to 5 of the 16 antibiotics tested.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; food poisoning; antimicrobial resistance.

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

No início do emprego clínico dos antibióticos, estes eram muito eficientes no combate às bactérias patogênicas, levando a acreditar que doenças infecciosas deixariam de ser um problema. Entretanto este pensamento estava equivocado, sendo que atualmente a resistência antimicrobiana (RAM) aos antibióticos tem sido uma preocupação de saúde pública mundial uma vez que, nas últimas décadas, houve uma disseminação muito rápida de patógenos resistentes aos antibióticos, e até multirresistentes, mostrando nosso despreparo em relação a evolução e aos processos ecológicos dos microrganismos (AMINOV, 2009; OMS, 2012). Salientando-se que é considerada resistente aquela bactéria que consegue crescer *in vitro* em uma concentração que a droga alcança no meio natural deste microrganismo (OLIVEIRA, BATISTA DE, 2016)

Diversos mecanismos são usados pelas bactérias para sobreviver na presença de um antibiótico, como degradação ou modificação do antimicrobiano através de ações enzimáticas antes que consiga atingir o local de destino e danificar a célula; mutações espontâneas que geram modificações estruturais na molécula alvo, resultando em uma diminuição da afinidade entre antibiótico e molécula; entre outros mecanismos (AMINOV, 2009).

Uma das infecções bacterianas de grande importância, em se tratando de saúde pública, é a causada pela bactéria *Staphylococcus aureus*, a qual será o foco do presente trabalho. A *S. aureus* é uma bactéria gram-positiva, esférica, a qual é encontrada no formato de cocos, podendo ser: isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente. Apesar de ser comumente encontrada na pele e fossas nasais dos seres humanos, pode causar desde pequenas infecções como espinhas à infecções graves, por exemplo, pneumonia e meningite (SANTOS et al., 2007)

A *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina causa mais de 100 mil casos de infecções a cada ano, já tendo se tornado comunitária, não sendo unicamente hospitalar (BRITO; CORDEIRO, 2012). É também uma frequente causadora de intoxicação alimentar, entre as bactérias Gram positivas, devido a produção de enterotoxinas termoestáveis (CHAVES, 2012; ZEAKI et al, 2014).

A contaminação um alimento pode acontecer em qualquer etapa do processo de produção, podendo estar ligada a vários fatores, como: questões ambientais, características da matéria-prima alimentar e tecnologias e insumos usados na produção. Devido à nem sempre ser possível eliminar de maneira integral os agentes contaminantes, estabelecem-se níveis aceitáveis da presença destes em alimentos (ANVISA, 2021).

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br



A presença de bactérias resistentes em alimentos tem sido amplamente relatada. Boer e cols. (2009) verificou a presença de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) em diferentes tipos de carne. Outro estudo realizado por Beilei e cols. (2017) avaliou carnes vendidas em oito estados dos EUA quanto à presença de *S. aureus* resistentes e os resultados mostraram a presença de MRSA bem como de cepas multirresistentes, sendo a predominância em carnes de peru (3,5%), carne suína (1,9%), bovina (1,7%) e de frango (0,9%). Neste estudo cerca de 37% dos isolados MRSA eram multirresistentes.

Levando-se em consideração as informações citadas a cima, levanta-se o questionamento: Será possível detectar a presença da bactéria gram-positiva, *Staphylococcus aureus*, em carnes de porcos produzidas e comercializadas na região oeste do paraná? Se presentes neste alimento a ser analisado, qual seria o perfil de resistência antimicrobiana deste patógeno?

Tem-se, portanto, como objetivo do presente trabalho a verificação de patógenos resistentes em alimentos, que se faz necessário com o intuito de auxiliar na melhor compreensão da disseminação de resistência entre bactérias e ambiente, bem como avaliar o potencial risco para saúde humana.

2 MÉTODO (OU PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA)

2.1 COLETA DO AGENTE PATOGÊNICO *Staphylococcus aureus* EM LINGUIÇA DE PORCO DE INDÚSTRIAS DA REGIÃO DO OESTE PARANAENSE.

A pesquisa foi realizada em conjunto com a Profa. Dra. Erika Izumi no laboratório de microbiologia da UTFPR, campus Santa Helena.

O primeiro passo realizado foi a lavagem da linguiça de porco, neste experimento foram utilizadas peças de duas indústrias diferentes, adotaremos para elas os nomes fictícios de amostra 1 e amostra 2. Utilizamos apenas duas amostras por conta do tempo e do material disponíveis. Estas amostras de linguiça, produzidas 100% com carne suína, foram compradas congeladas em mercado comum e descongeladas em temperatura ambiente.

Em uma cabine de fluxo, para evitar contaminantes externos, foram utilizados 100ml de água peptonada tamponada 1%, para cada amostra, sendo este solvente despejado dentro do pacote com a carne descongelada. Feito isto, a água da lavagem foi realocada do pacote para um balão de erlenmeyer, tampado com uma boneca, e levado para a estufa a 36C° por 24 horas.

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br



Passadas as 24 horas, as soluções obtidas de cada empresa foram diluídas, com o intuito de diminuir a concentração dos microrganismos para posterior separação e coleta. A diluição realizada foi a seriada de $1/10^3$. Aliquotas destas diluições foram semeadas na superfície do meio de cultivo, seletivo, sal manitol (uma placa para cada empresa), para favorecer o crescimento e detecção de *Staphylococcus* ssp, especialmente *S. aureus*, estas placas foram armazenadas novamente em uma estufa por 24 horas, à $36C^\circ$. No dia seguinte, os crescimentos microbianos das placas foram observados, e selecionadas as culturas bacterianas que apresentaram um halo amarelado, sugestivo da espécie desejada. Na amostra 1 não foram detectadas colônias suspeitas. A partir deste ponto analisou-se apenas as amostras sugestivas que foram constatadas na amostra 2.

Para a confirmação de que realmente tratava-se da espécie desejada, foi feita uma repicagem, das colônias selecionadas da amostra 2, para uma placa de petri contendo o meio DNase, novamente levando a placa à estufa por mais 24 horas, à $36C^\circ$.

Completado este período, as colônias da placa contendo o DNase que apresentaram um halo ao redor, fato que confirma tratar-se da *Staphylococcus aureus*, foram repicadas em uma placa de petri com ágar nutriente para fortalecer seus metabolismos. Levadas a estufa por mais 24 horas, e no dia seguinte armazenada em geladeira. Ao todo conseguiu-se coletar 13 colônias de *Staphylococcus aureus* da amostra 2.

2.2 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Nesta pesquisa foram utilizados 16 antibióticos, sendo eles: Amicacina (AMI), azitromicina (AZI), cefoxitin (CFO), ciprofloxacina (CIP), cloranfenicol (CLO), gentamicina (GEN), nitrofurantoína (NIT), norfloxacina (NOR), levofloxacina (LVX), ofloxacina (OFX), penicilina (grupo meticilina) (PEN), rifampin (RIF), sulfametoxazol-trimetropim (SUT), tobramicina (TOB), tetraciclina (TET), oxacilina (grupo meticilina) (OXA).

Utilizando-se de uma alça esterelizada, foram coletadas pequenas amostras de todas as colônias de *S. aureus*, obtidas anteriormente, sendo depositadas no tubo de ensaio com água destilada e homogeneizado até atingir uma turgidez igual, ou parecida, com a escala McFarland (0,5). O segundo passo então, foi, o espalhamento da solução formada em duas placas, contendo ágar nutriente, depositando nela 20ul e espalhando novamente com o auxílio de uma alça esterelizada. Posteriormente, foram dispostos os discos de antibióticos pela placa, mantendo uma distância de, aproximadamente, 35 milímetros entre eles. As placas foram levadas à estufa a $36C^\circ$ por 24 horas.

No dia seguinte, com uma régua, foram medidos (em milímetros) os halos formados por cada cepa, em cada antibiótico, e anotado em uma tabela. Os ensaios realizados foram interpretados seguindo instruções padronizadas (CLSI, 2017).

3. RESULTADOS

3.1 Incidência de *Staphylococcus aureus* em carne suína.

Dentre as duas empresas avaliadas, foi comprovada a presença da bactéria gram-positiva *S. aureus* nas linguças da amostra 2, sendo um total de 13 colônias isoladas. Não foi realizado UFC.

*Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br



3.2 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

Houve cepas resistentes em apenas 5 dos 16 antibióticos testados, sendo eles e a porcentagem de resistência, respectivamente: Tobramicina (7,6%); Oxacilina (38,46%); azitromicina (15,3%); Gentamicina (7,6%) e Penicilina (68%).

4 CONCLUSÃO

Quanto a incidência de *Staphylococcus aureus*, esta foi confirmada na amostra de linguiça de porco de uma das duas amostras analisadas, portanto, havendo o risco de ingestão desta bactéria e, com possibilidade de ingerir também suas enterotoxinas causadoras da intoxicação alimentar, por pessoas que optarem pela compra da marca na hora de suas compras.

Em relação ao perfil antimicrobiano das cepas bacterianas isoladas, a partir das amostras de carne da empresa 2, obteve-se resultados regulares, pois dos 16 antibióticos utilizados, em apenas cinco foram observadas resistência de cepas de *S. aureus*. Sendo que, em 3 desses, a taxa de resistência foi inferior a 16% em um universo de 13 cepas analisadas.

Houve também uma prevalência de cepas resistentes a metilina (MRSA), fato que foi demonstrado em nossa pesquisa, ao acaso, com o uso dos antibióticos penicilina e oxacilina, antibióticos pertencentes ao grupo da metilina, que apresentaram altas taxas de resistência, sendo respectivamente de 38,46% e 68%.

Essa resistência elevada à classe de antibióticos da penicilina é comum em *Staphylococcus aureus*, sendo que esta bactéria já tem dados de resistência a penicilina desde poucos anos após o início do emprego deste medicamento. Contudo a presença de resistências nos demais 3 antibióticos dentre os 16 testados, que obtiveram resposta de resistência, mostra um perfil de adaptação à outros antibióticos e, classes de antibióticos, para além dos já comumente relatados, mostrando uma possível diminuição no número de medicamentos que poderão ser utilizados no tratamento de infecções causadas pela bactéria. Esse estudo mostra-se importante como, uma maneira de avaliar o nível de resistência das bactérias dessa espécie à diferentes antibióticos, com o intuito de acompanhar a evolução destas e analisar a necessidade de pesquisa e produção de novos antibióticos que consigam ter efeito sobre este agente patogênico.

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br



REFERÊNCIAS

- ANVISA, 2021. **Resistência Antimicrobiana – Mecanismo e Impacto clínico.** Disponível em:
https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_w eb/modulo3/gramp_staphylo.htm
- ANIMOV, 2009. **The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature.** v.1 pg. 1
- BRITO, M. A., & Cordeiro, B. C. (2012). **Necessidade de novos antibióticos.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 48(4), 247–249.
<https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000400002>
- CHAVES, T. F. **Revisão Teórica Das Técnicas Utilizadas Na Detecção De Enterotoxinas Estafilocócicas.** v. 2, p. 1–14, 2012.
- OMS. **Livro: A crescente ameaça da resistência antimicrobiana.** Pub.2012. v.1
16 p. Acesso em: 25 jul. 2021. Acesso em: 26/07/2021
- OLIVEIRA, Andreza Aguiar Batista de, t. P. D. N. (2016). **ASPECTOS DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS EM INFECÇÕES HOSPITALARES POR S. AUREUS: REVISÃO.** CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO LUCAS, 66, 37–39
- SANTOS, A., Santos, Freitas, Ferreira, Afonso, Rodrigues, Castro. (2007). **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. Staphylococcus aureus: visiting a strain of clinical importance.** *J Bras Patol Med. Lab*, 43(6), 413–423.
- ZEAKI, N. et al. **Assessment of high and low enterotoxin A producing Staphylococcus aureus strains on pork sausage.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 182–183, p. 44–50, 2014.

*Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena, Paraná, Brasil; ckessler@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; erikaizumi@utfpr.edu.br