



PERFIL DE RESISTÊNCIA/SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS EM CEPAS DE ESTAFILOCOCCOS COAGULASE POSITIVA ISOLADAS DE EMBUTIDOS E DE QUEIJOS

GANDRA, Tatiane Kuka Valente¹; OLIVEIRA, Mauricéia Greici¹; BASSANI, Milena Tomasi¹, SILVA, Wladimir Padilha da².

^{1,2}Deptº de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – FAEM/UFPeI
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. tkvgandra@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Estafilococos Coagulase Positiva (ECP) são patógenos relacionados a surtos de intoxicação alimentar (Jay, 2005), além disso, entre estes microrganismos encontra-se a espécie *S. aureus*, comumente associada à doenças hospitalares, sendo considerada um grande problema de saúde pública (Pereira et al., 2009). Segundo Jay (2005) a presença de ECP em alimentos pode indicar deficiência de processamento térmico, condições higiênicas inadequadas do processo ou, ainda, refrigeração ineficiente pós preparo.

A presença de microrganismos resistentes a antibióticos está diretamente relacionada ao uso indiscriminado desses agentes antimicrobianos no tratamento de doenças, bem como na pecuária, onde são muito utilizados para aumento da eficiência alimentar e das taxas de crescimento em animais de diferentes espécies. Atualmente cepas de bactérias multirresistentes são responsáveis por diversos surtos em todo o mundo e o arsenal terapêutico tem se tornado cada vez mais escasso (Santos et al, 2008). Em humanos, geralmente as infecções causadas por essas cepas são mais graves, aumentando os custos e o tempo do tratamento (Santos et al, 2006).

A maioria das infecções hospitalares é causada por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA), além disso, devido à emergente multiresistência à outros antibióticos, essas infecções tornaram-se uma causa amplamente conhecida de morbidade e mortalidade no mundo, por restar limitada escolha de princípios-ativos para seu controle (André et al., 2008).

O leite e derivados, pelo alto índice de mastite bovina associado a *Staphylococcus aureus*, bem como os derivados cárneos, devido a grande manipulação a que são submetidos, são facilmente contaminados com ECP. Dessa

forma, objetivou-se estudar o perfil de resistência/sensibilidade a antibióticos de uso terapêutico em humanos e em animais, em cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* isoladas de embutidos e de queijos na região de Pelotas, RS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 11 cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* do banco de cepas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/DCTA/UFPel, isoladas em amostras de embutidos e de queijos coloniais.

A recuperação das cepas a partir do Ágar Conservação foi realizada em *Brain-Heart-Infusion* (BHI) com incubação por 24 horas a 35°C. Após este período, uma alíquota de cada cepa proveniente do BHI foi estriada em Ágar Tripton de Soja (TSA) e incubada por 24 horas a 35°C, para avaliação de sua pureza.

Os testes de resistência/sensibilidade aos antibióticos foram realizados de acordo com protocolo proposto pelo NCCLS (2000), utilizando-se a técnica de disco-difusão.

As culturas puras provenientes do TSA foram diluídas em solução salina estéril, até uma concentração equivalente a 0,5 na escala de McFarland. Em seguida, com auxílio de *swab* estéril, as células foram inoculadas de forma homogênea em Ágar Muller-Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar, foram colocados os discos (Multidisco®, Laborclin, PR, Brasil) de papel impregnados com os seguintes antibióticos: clindamicina (CLI, 2mg), cefalotina (CFL, 30mg), sulfazotrim (SUT, 25 mg), ampicilina (AMP, 10mg), penicilina G (PEN, 10U), oxacilina (OXA, 1 mg), tetraciclina (TET 30mg), eritromicina (ERI, 15mg), gentamicina (GEN, 10mg), cefoxitina (CFO, 30mg), vancomicina (VAN, 30mg), ciprofloxacina (CIP, 5mg) e cloranfenicol (CLO, 30mg). Logo após, as placas foram incubadas por 18 horas e, passado esse período, realizou-se a leitura dos testes, detectando-se a resistência ou sensibilidade a determinado antibiótico, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco.

A análise dos resultados foi realizada de forma descritiva. Os valores absolutos foram tabulados, calculados os respectivos percentuais e comparados às informações disponíveis na literatura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o perfil de resistência/sensibilidade das cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* avaliadas, frente a 13 antibióticos de uso comum na terapia em medicina humana e veterinária.

Tabela 1. Perfil de resistência/sensibilidade de cepas de *Estafilococos Coagulase Positiva* isoladas em embutidos e queijos frente a 13 antibióticos

Antibióticos	Sensível		Intermediário		Resistente	
	Nº cepas	%	Nº cepas	%	Nº cepas	%
Clindamicina	0	0	9	81,8	2	18,2
Cefalotina	9	81,8	2	18,2	0	0
Sulfazotrim	11	100	0	0	0	0
Ampicilina	0	0	0	0	11	100

Ciprofloxacina	0	0	9	81,8	2	18,2
Gentamicina	5	45,5	4	36,3	2	18,2
Tetraciclina	4	36,3	5	45,5	2	18,2
Vancomicina	0	0	0	0	11	100
Cefloxitina	0	0	0	0	11	100
Cloranfenicol	3	27,3	8	72,7	0	0
Eritromicina	0	0	9	81,8	2	18,2
Penicilina	0	0	0	0	11	100
Oxacilina	7	63,6	3	27,3	1	9,1

Pode-se observar que 100% das cepas foram resistentes aos antibióticos ampicilina, vancomicina, cefloxitina e penicilina, sendo que uma cepa de ECP, originária de embutidos, demonstrou resistência a oito antibióticos diferentes. Sensibilidade intermediária aos antibióticos clindamicina, ciprofloxacina e eritromicina foi apresentada por 81,8% das cepas e 72,7% ao cloranfenicol. É importante destacar que cepas com sensibilidade intermediária apresentam o potencial para se tornar resistentes. Todas as cepas testadas apresentaram-se sensíveis apenas ao antibiótico sulfazotrim, utilizado em tratamentos para infecções urinárias, e 81,8% à cefalotina.

Estes resultados estão em concordância com o estudo feito por Menegotto & Picoli (2007) que testaram o perfil de sensibilidade de 40 cepas de *S. aureus* isoladas de indivíduos não hospitalizados frente à antibióticos e observaram uma maior tendência à resistência aos β -lactâmicos, como a penicilina (72,5%), e uma sensibilidade à oxacilina de 82,5%. Porém, em relação ao antibiótico vancomicina as cepas estudadas por aqueles autores apresentaram 100% de sensibilidade, oposto ao encontrado neste estudo, onde 100% das cepas foram resistentes. Esse resultado é relevante, haja vista a importância da vancomicina na terapêutica médica.

A penicilina é um dos antibióticos mais utilizados no tratamento de enfermidades animais, portanto, é de se esperar que haja uma grande pressão seletiva sobre os microrganismos. Como neste estudo foram utilizadas cepas isoladas em produtos de origem animal (embutidos e queijos), talvez isso possa explicar a elevada taxa de resistência das cepas à penicilina (100%). Santos et al. (2006) avaliaram cepas isoladas de leite de vacas mastíticas, e também observaram uma elevada taxa de resistência a esse antibiótico (90%). O elevado índice de cepas com sensibilidade intermediária à eritromicina (81,8%) e ao cloranfenicol (72,7%), provavelmente também se deve à pressão seletiva à que estes microrganismos são submetidos pelo uso inadequado de antibióticos.

Mais de sessenta por cento das cepas (63,6%) apresentaram sensibilidade à oxacilina, e apenas uma (1) apresentou-se resistente. Este é um dado bastante interessante porque cepas de *S. aureus* resistentes a esse antibiótico são agentes importantes em infecções nosocomiais, tendo papel de destaque pela sua fácil disseminação intra-hospitalar (Menegotto & Picoli 2007).

4. CONCLUSÕES

Cepas de *Estafilococos* Coagulase Positiva isoladas de queijos e embutidos na região de Pelotas, RS apresentaram elevado índice de resistência a vários antibióticos de uso comum em terapêutica médica e veterinária, bem como

observou-se a ocorrência de cepas multirresistentes. À apenas a um (Sulfazotrin), entre treze antibióticos testados, todas as cepas apresentaram sensibilidade. .

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉ, M. C. D. P. B, CAMPOS, M. R. H., BORGES, L. J., KIPNIS, A., PIMENTA, F. C., SERAFINI, A. B. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following Smal digestion. **Food Control**, 2008, 19, p. 200–207.

BONNA, I. C. F., SANTOS, A. P. V., TEIXEIRA, G. N., MOTTA, O. V. *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes a drogas isolados de leite de búfalas (*Bubalus Bubalis*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 2007, v. 14, n 2, p. 117-121.

FILHO, A. N., FERREIRA, L. M., AMARAL, L. A., ROSSI JUNIOR, O. D., OLIVEIRA, R. P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Instituto de Biologia São Paulo**, 2007, v.74, n.1, p.1-4.

GANDRA, E. A. **Multiplex PCR para detecção de *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hycus* em leite artificialmente contaminado**. Pelotas, 2006. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2006.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2005, 712p.

MENEGOTTO, F. R., PICOLI, S. U. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 2007, 39(2), P. 147-150.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M7-A5. Wayne, PA, 2000.

PEREIRA, V., LOPES, C., CASTRO, A., SILVA, J., GIBBS, P., TEIXEIRA, P. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. **Food Microbiology**, 2009, 26, p. 278-282.

SANTOS, C. D. M., LEAL, G. S., ROSSI, D. A. Frequência e suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* spp isolados de leite de vacas com mastites recorrentes de rebanhos da região de Uberlândia – MG. **Revista Veterinária Notícias**, 2006, v. 12, n. 2, p. 83-88.

SANTOS, L. L.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; VIANA, C.; HILGERT, A. R.; BERGER, J.; MARTINS, P. K. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) na região de Oeste do Paraná. **Anais: 54º Congresso Brasileiro de Genética**. Salvador, 2008.

ZAFALON, L. F., ARCARO, J. R. P., FILHO, A. N., 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 Instituto Adolfo Lutz**, 2008, 67(2), p.118-125.