

Resistência a antibióticos em *Staphylococcus aureus* isolados de alimentos lácteos

Autores

Ana Paula Toneto Novaes
Michele Novaes Ravelli

Orientador

Gislene Garcia Franco do Nascimento

1. Introdução

A ocorrência do uso de agentes antimicrobianos em rações animais vem crescendo de maneira indiscriminada nos últimos anos (COSTA et al., 2002). Na criação do gado leiteiro, a administração de antibióticos vem sendo feita principalmente, na profilaxia e tratamento de mastites, e ainda, incorporados à alimentação animal, como suplemento dietético e conservante de alimentos (COSTA et al., 2002; PEREIRA et al., 1997 apud PERESI et al., 2001). Isto faz com que apareçam microorganismos resistentes, contribuindo para que estes produtos não sejam eficazes no tratamento do animal (COSTA et al., 2002).

Os resíduos de antibióticos encontrados no leite, preocupam as autoridades sanitárias, devido aos efeitos tóxicos que provocam sobre a saúde humana (WHO, 1990). Isto representa um risco ao consumidor, sendo deste modo, um sério problema na área econômica e de saúde pública (MINIUSSI, 1992; NASCIMENTO et al., 2001). Assim, é recomendado que o abuso de medicamentos veterinários, seus resíduos e derivados metabólicos do leite, sejam monitorados frequentemente, especialmente nos países onde seu emprego não é controlado rigorosamente. Deve-se adotar como referência, os limites estabelecidos através de agências internacionais e corrigidos por informações suficientes e exatas aos usuários, veiculadas por cooperativas e centros de apoio técnico governamentais (BOECKMAN, CARLSON, 1997 apud CORASSIN & OLIVEIRA, 2000; MINIUSSI, 1992; NASCIMENTO et al., 2001).

O leite é o alimento mais completo que existe para o ser humano, é um fluido altamente nutritivo, além de ser um dos alimentos mais populares, podendo ser obtido mais facilmente e pelas classes menos favorecidas (COSTA et al., 2002; GONÇALVES & FRANCO, 1998 apud LEITE et al., 2002). Deste modo, devido a sua riqueza em nutrientes, é necessário que o mesmo apresente condições higiênicas e sanitárias adequadas, pois torna-se mais susceptível ao ataque de um grande número de microorganismos, provenientes do próprio animal, do homem e dos utensílios usados na ordenha (COSTA et al., 2002; GONÇALVES & FRANCO, 1998 apud LEITE et al., 2002). Assim, o leite deve ser isento de contaminações pois, representa um meio favorável para o crescimento e veículo de vários patógenos, como por exemplo os *Staphylococcus* spp, que são bactérias, em sua maioria, produtoras de coagulase, destacando-se entre elas os *Staphylococcus aureus*, que, quando presente no substrato alimentício, tem a capacidade de sintetizar enterotoxinas causadoras de intoxicação alimentar, além de causar uma série de infecções (COSTA et al., 2002; PEREIRA et al., 2000 apud LOPES et al., 2004).

Mesmo desenvolvendo-se drogas cada vez mais específicas, a resistência bacteriana permanece como um problema que requer consideração constante por parte da classe médica (WISTREICH & LECHTMAN, 1980

apud LOPES et al., 2004). Assim, o controle de resíduos de agentes antimicrobianos no leite é importante, além de poder causar prejuízos no desenvolvimento de culturas lácteas em indústrias específicas de laticínios (SPREER, 1991 apud CORASSIN & OLIVEIRA, 2000).

Deste modo, a produção de leite de alta qualidade e seus derivados, sem resíduos de antibióticos, é de grande importância para os produtores, levando em conta diversos prejuízos e penalidades por causa da rejeição deste alimento contaminado que ultrapassa os valores acima dos níveis de tolerância. Analisando a elevada prevalência de mastites e outras enfermidades que fazem com que sejam utilizadas drogas antimicrobianas em vacas leiteiras, torna-se necessário disponibilizar aos produtores instrumentos eficazes que permitam assegurar a produção de leite isento de resíduos de antibióticos, diminuindo desta forma microorganismos resistentes, como no caso do *S.aureus*, que tantos danos pode causar a saúde humana (CORASSIN & OLIVEIRA, 2000).

2. Objetivos

O objetivo desta pesquisa foi de avaliar a resistência a antibióticos de isolados de *S. aureus* de alimentos lácteos.

3. Desenvolvimento

Foram selecionadas 25 cepas de *S. aureus* isoladas de alimentos em pesquisa anterior e que se encontravam armazenadas na bacterioteca do laboratório de Microbiologia da Unimep. Os alimentos, em sua maioria, foram coletados em diferentes lanchonetes e supermercados da cidade e foram selecionadas dentre outras amostras por terem sido obtidas de alimentos onde foi acrescentado leite em sua composição (Tabela 1).

Para a realização das análises, inicialmente fez-se o revigoramento das bactérias em caldo BHI por 24 horas a 35 °C, seguindo-se a sua semeadura em Agar Baird-Parker e incubação por 24 horas a 35 °C. Posteriormente, colônias típicas de *S. aureus* tiveram sua classificação confirmada, realizando-se as provas de catalase, coagulase, fermentação do manitol, sensibilidade a novobiocina, furozalidona e coloração de Gram.

Para a determinação da resistência das cepas bacterianas aos agentes antimicrobianos, transferiu-se 4 a 6 colônias de cada um dos isolados crescidos em agar tripticase-soja, para caldo BHI e incubou-se por 18 horas a 35 °C. O inóculo assim desenvolvido, foi semeado em agar Mueller-Hinton e a seguir adicionados discos contendo diferentes antibióticos (NCCLS, 2000). Após incubação por 48 horas a 35 °C, observou-se a ocorrência de halos de inibição, considerando-se sensível ou resistente. Todas as amostras foram ensaiadas em duplicata.

4. Resultados

Na Tabela 1 pode ser observada a origem das amostras bacterianas. Nota-se que algumas delas (AL1 a AL 23) provêm de alimentos onde o leite não foi o componente principal, como salgadinhos fritos, onde também há envolvimento dos manipuladores de alimentos os quais podem contribuir para a contaminação dos alimentos com estas bactérias.

Na tabela 2 e Figura 1 são apresentados os dados sobre os modelos e marcas de resistência dos isolados

de *S. aureus*.

Observa-se que há grande variação na distribuição das amostras com relação a resistência ou sensibilidade a cada um dos antibióticos utilizados, notando-se maior frequência de amostras resistentes a penicilina e ampicilina (72%), seguida de clindamicina e amicacina (32%). Com relação às cefalosporinas, observou-se para a cefalotina (1ª geração), 32% de resistência, enquanto que para as de 3ª geração, cefotaxima e ceftazima, 24 e 68%, respectivamente. Já cefpime (4ª geração) com resistência em 16% das amostras.

Apenas 1 amostra (4%) não apresentou nenhuma marca de resistência e 16% com resistência a 1 ou 2 drogas. As demais (80%) apresentaram resistência a 3 ou mais antibióticos, chegando algumas (AL1 e 16) até a 16 antibióticos. Resistência a vários antibióticos também foi observada por OLIVEIRA SANTOS e TANAKA (1990) em amostras isoladas no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, SP. Resultados semelhantes foram encontrados na análise de 40 amostras de *S. aureus* isoladas de laboratórios de análises clínicas de Piracicaba em 1991, onde em 18 delas foi encontrada resistência até a 6 drogas (NASCIMENTO et al., 1993). Porém, nestes casos relatados, as amostras tinham origem de ambiente hospitalar, o que já era esperado pelo amplo uso dos antibióticos e, portanto, com maior chance de seleção e disseminação dos genes de resistência.

Na presente pesquisa, estas cepas foram isoladas de alimentos, o que é bastante preocupante. Porém quando se observa os dados da Tabela 1, as amostras AL23 a 34 isoladas de diferentes amostras de queijos onde o leite é o principal componente, verifica-se baixa incidência de resistência quando comparada com as demais amostras. Estes dados revelam que embora cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos estejam presentes nestes alimentos, ainda é superior naqueles onde ocorreram maior manipulação e adição de outros ingredientes. Conforme relatado por outros autores, é alta a incidência de resíduos de antibióticos no leite. ALBUQUERQUE et al. (1996) analisando amostras de leite, observaram que 69,7% delas continham antibióticos NASCIMENTO et al. (2001) relataram que das 96 amostras de leite analisadas, 50% apresentaram antibióticos, sendo 34,37% com resíduos de antibióticos beta-lactâmicos. Sendo assim, espera-se que o uso destas substâncias com alta frequência proporcione a seleção de germes resistentes.

Assim, os dados desta pesquisa mostram que os *S. aureus* resistentes a antibióticos estão amplamente distribuídos no ambiente, sendo os alimentos, agentes de disseminação dos mesmos.

5. Considerações Finais

Conclui-se portanto, que mesmo encontrando-se cepas presentes em todas as amostras, o que é alarmante ao se tratar de alimentos, as que continham o leite como ingrediente principal apresentaram quantidade muito menor de *S. aureus* resistentes a antibióticos. Isto mostra que a manipulação está sendo um fator muito importante a ser estudado, pois esta pode estar sendo um foco perigoso de contaminação, podendo causar riscos à saúde da população.

Referências Bibliográficas

Natureza da resistência a drogas em amostras de *em laboratórios de análises clínicas de Piracicaba, SP. Ciência e Tecnologia 2: 49 - 57, 1993.*

Anexos

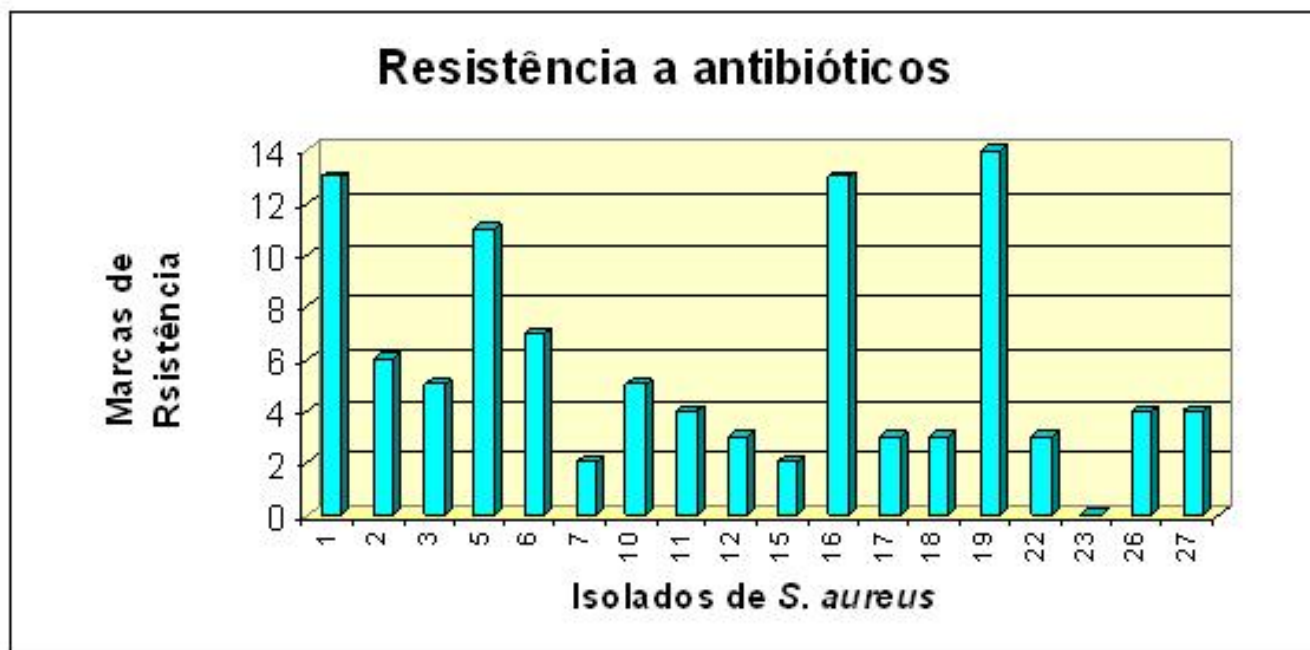


Figura 1. Marcas de resistência de cada um dos isolados de *S. aureus*

Resistência a antibióticos

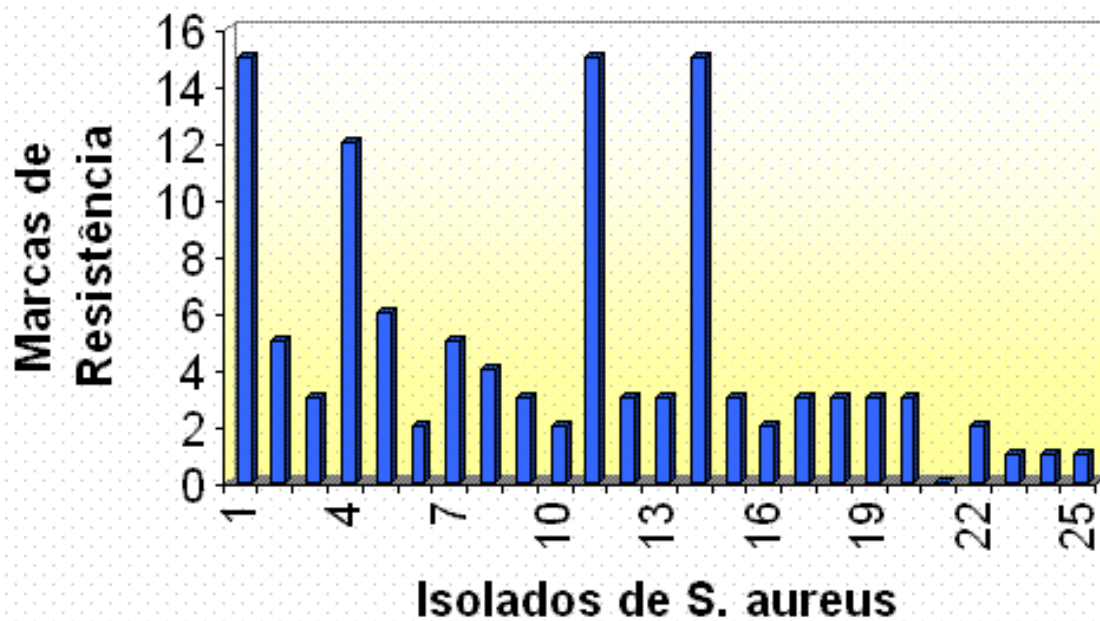


Figura 1. Marcas de resistência de cada um dos isolados de *S. aureus*

Tabla 2. Modelo de resistência das cepas de *S. aureus* isolados de alimentos lácteos.

Bac	Antibióticos													
AL1	CLI	AMP	GN	CL	TT	KN	NOR	TB	AMI	OX	PEN	CTX	CAZ	
	CFM	CTX												
AL2	CLI	AMP	PN	CTX	CFL									
AL3	AMP	PN	CAZ											
AL5	CLI	AMP	CL	TT	KN	NOR	TB	AMI	PN	CTX	CAZ	CFM		
AL6	CLI	NOR	TB	AMI	CTX	CAZ								
AL7	PN	CAZ												
AL10	AMP	IPM	TT	AMI	CAZ									
AL11	AMP	IPM	PN	CAZ										
AL12	AMP	PN	CAZ											
AL15	AMP	PN												
AL16	CLI	AMP	GN	CL	TT	KN	NOR	TB	AMI	OX	PN	CTX	CAZ	
	CF	CFM												
AL17	AMP	AMI	PN											
AL18	AMP	PN	CAZ											
AL19	CLI	AMP	IPM	CL	TT	KN	NOR	TB	AMI	OX	PN	CTX	CAZ	
	CFE	CFM												
AL22	AMP	PN	CAZ											
AL23	CLI	TT												
AL26	AMP	PN	CAZ											
AL27	AMP	PN	CAZ											
AL28	AMP	PN	CAZ											
AL29	AMP	PN	CAZ											
AL30														
AL31	AMP	PN												
AL32	CAZ													
AL33	CAZ													
AL34	CL													

AMI - Amicacina; AMP - Ampicilina; CF - Cefalotina; CFO - Cefoxitina; CAZ - Ceftazedima; CTX - Cefotaxima; CL - Cloranfenicol; TT - Tetraciclina; GN - Gentamicina; KN - Kanamicina; TB - Tobramicina; NOR - Norfloxacina; PN - Penicilina; CLI - Clindamicina; IPM - Imipenen; CPM - Cefepime; OX - Oxacilina; TC - Teicoplanina; VC - Vancomicina.

Local de isolamento	Designação das cepas de <i>S. aureus</i>
Creme de milho	AL1
Risoles de catupiry	AL2
Creme de milho	AL3
Cocinha	AL5
Mussarela	AL6
Queijo minas	AL7
Cocinha	AL10
Lasanha	AL11
Sufilé de batata	AL12
Risolis com recheio de milho verde	AL15
Queijo	AL16
Pusé de batata	AL17
Risolis de catupiry	AL18
Pusé de batata	AL19
Risolis de queijo	AL22
Enrolado frito com mussarela	AL23
Queijo meia cura	AL26
Queijo meia cura	AL27
Queijo meia cura	AL28
Queijo meia cura	AL29
Queijo meia cura	AL30
Queijo meia cura	AL31
Queijo meia cura	AL32
Queijo meia cura	AL33
Queijo meia cura	AL34

Tabela 1. Origem dos isolados de *S. aureus*