

# Determinação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana em *Staphylococcus aureus* isolado de queijos coloniais sob inspeção oficial em Porto Alegre

Laura Nunes de Souza<sup>1,2</sup>, Thais de Campos Ausani<sup>2</sup>, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ciências Biológicas, UFRGS (lauransouza@gmail.com)

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva



paz no plural

## Introdução

O queijo colonial é um importante derivado do leite, o qual apresenta características sensoriais marcantes e alto valor nutricional. Geralmente comercializado em feiras públicas, é amplamente consumido pela população. Durante a elaboração, micro-organismos de diversas origens (ambiente, animal, humano) podem ter contato com o produto, sendo que fatores tais como: disponibilidade de nutrientes, manipulação excessiva, curto período de maturação e umidade podem contribuir para sua sobrevivência e multiplicação. Dentre os micro-organismos patogênicos que podem ser veiculados pelo queijo colonial destaca-se *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pela sua importância como causador de surtos de intoxicação alimentar. Adicionalmente, a presença de bactérias resistentes a antimicrobianos vem sendo monitorada de forma cada vez mais frequente em produtos de origem animal, com o intuito de evitar a disseminação destas cepas para humanos via cadeia alimentar.

## Objetivos

- ✓ Confirmar a presença de *S. aureus* entre os isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva oriundos de queijos coloniais sob inspeção oficial comercializados em Porto Alegre;
- ✓ Determinar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos *S. aureus* frente aos seguintes antimicrobianos: Ciprofloxacina, Eritromicina, Gentamicina, Oxacilina, Penicilina, Tetraciclina e Vancomicina.

## Material e Métodos

Em etapa anterior do presente estudo, constatou-se que entre 205 amostras de queijo colonial inspecionado, comercializadas em Feiras Modelos e Mercado Público de Porto Alegre, 40,5% (83/205) apresentavam a presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva em número acima do limite máximo previsto na legislação. As colônias suspeitas de *S. aureus* foram mantidas congeladas (-20°C) e, para recuperação foram semeadas em caldo BHI incubado a 37°C por 24 horas. A partir dessa cultura, o DNA foi extraído pelo sistema de purificação Kit Nucleospin Tissue, conforme as instruções do fabricante. A confirmação dos *S. aureus* foi realizada a partir da amplificação do gene *nuc*, que codifica a Nuclease Termoestável. Os isolados de *S. aureus* confirmados foram avaliados quanto ao perfil de suscetibilidade antimicrobiana pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), segundo o método de Microdiluição em Caldo, de acordo com normas estabelecidas no documento M100-S do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

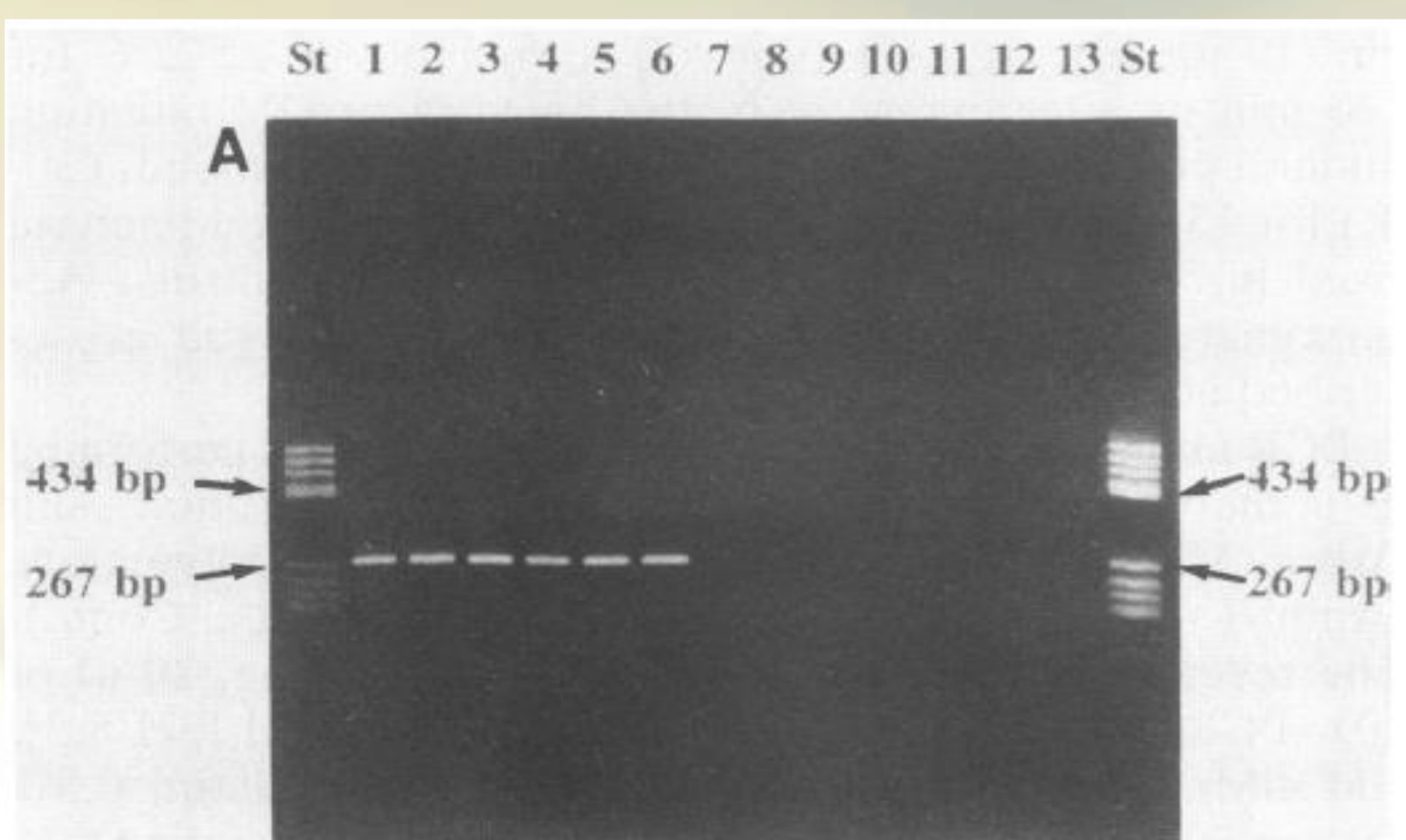


Figura 1: Gel de agarose representando a detecção do gene *nuc* pela reação de amplificação em cadeia da polimerase.

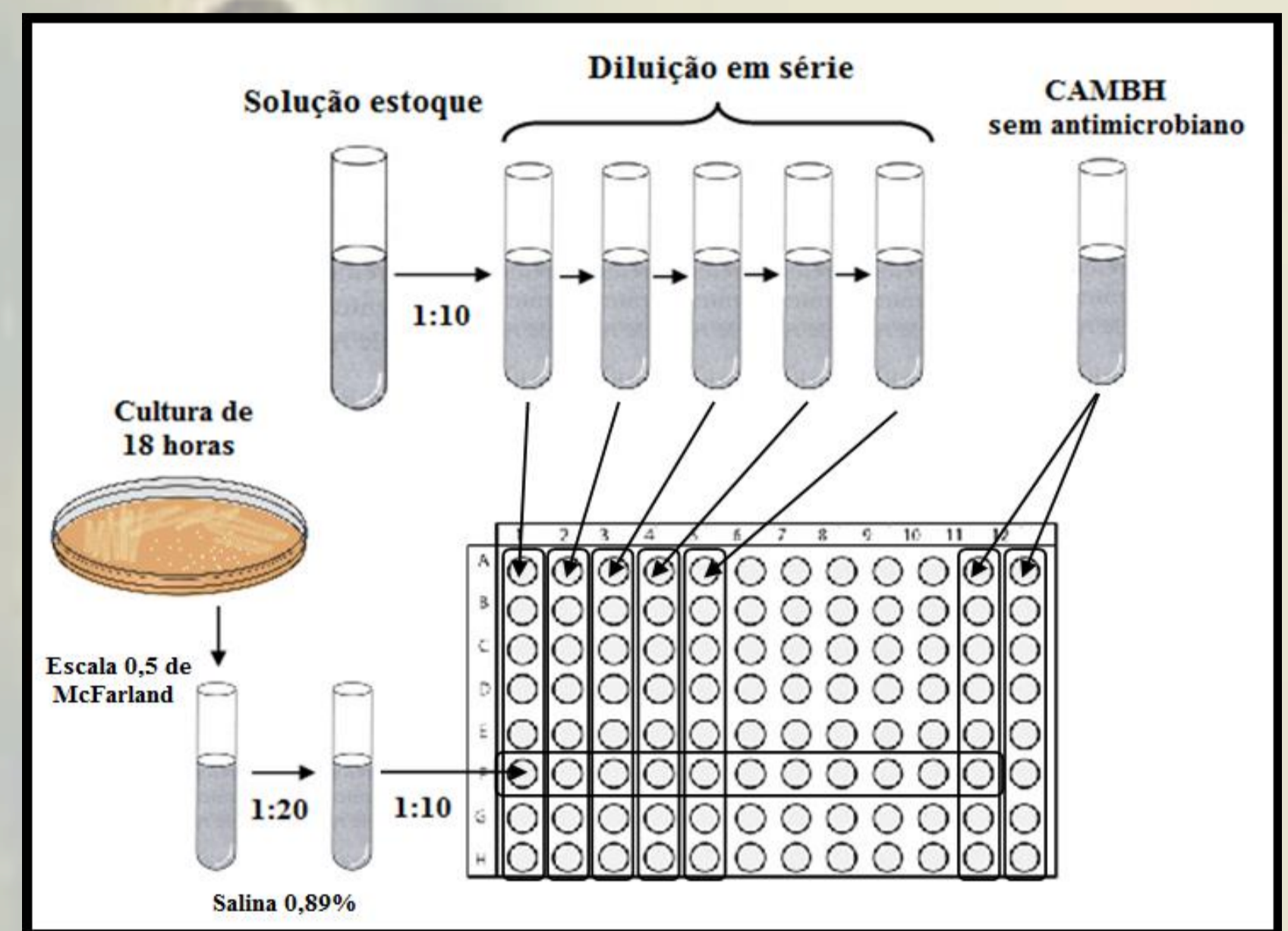


Figura 2: Representação esquemática do Método de Microdiluição em Caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

## Resultados e Discussão

- ✓ Foi detectada a presença do gene *nuc* em 100% (90/90) dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva, confirmando-os como *S. aureus*;
- ✓ CIM acima do breakpoint de resistência foi observada em 7,2% dos isolados de *S. aureus* para ciprofloxacina e eritromicina, 3,6% para gentamicina, 6,3% para oxacilina e tetraciclina e 24,3% para penicilina;
- ✓ Nenhum isolado de *S. aureus* apresentou resistência frente a vancomicina.

Tabela 1: Número de isolados de *S. aureus* de acordo com as diferentes concentrações do antimicrobiano testado. As barras indicam ponto de corte para resistência ao antimicrobiano.

Antimicrobiano	Número de cepas com CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) de:													
	0.03	0.06	0.12	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Ciprofloxacina			24	35	20	2	1	5	2					
Eritromicina			7	51	21	2	1	2	3	3				
Gentamicina			2	15	41	25	2	1	2	2				
Oxacilina		2	34	21	15	9	1	5	1	1				
Penicilina	44	10	9	1	3	3	5	3	7	3	2			
Tetraciclina		2	69	3	1	8				2	5			
Vancomicina					9	46	34	2						

## Conclusão

A partir dos resultados obtidos até o momento, conclui-se que *S. aureus* resistentes a antimicrobianos podem estar presentes em queijos coloniais comercializados em Porto Alegre.

## Referências

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S (ISBN 1-56238-923-8 [Print]; ISBN 1-56238924-6 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2016.
- Brakstad, O.G.; Aasbakk, K.; Maeland, J.A. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the *nuc* Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, nº 7, 1654-1660, 1992.