



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS**

**JOELZA SILVA CARVALHO**

**OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVA RESISTENTE A  
METICILINA EM *SASHIMI***

**SALVADOR**

**2017**

**JOELZA SILVA CARVALHO**

**OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVA RESISTENTE A  
METICILINA EM *SASHIMI***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Rogeria Comastri de Castro Almeida

**SALVADOR**

**2017**

Sistema de Bibliotecas – UFBA

Carvalho, Joelza Silva  
Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva resistente a  
metilina em *sashimi* / Joelza Silva Carvalho. -- Salvador, 2017.

67 f.

Orientador: Rogeria Comastri de Castro Almeida.  
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos)  
– Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, 2017.

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Resistência antimicrobiana. 3.  
Alimento seguro. 4. Peixe. I. Almeida, Rogeria Comastri de Castro. II.  
Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS



## TERMO DE APROVAÇÃO

JOELZA SILVA CARVALHO

### OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* COAGULASE-POSITIVA RESISTENTES A METICILINA EM *sashimi*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 10 de abril de 2017.

#### BANCA EXAMINADORA

Dr<sup>a</sup>. Rogeria Comastri de Castro Almeida  
Universidade Federal da Bahia  
Orientadora

Dr<sup>a</sup>. Aláise Gil Guimarães  
Universidade Federal da Bahia

Dr<sup>a</sup>. Norma Suely Evangelista Barreto  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Aos meus pais, Joalice e Eloisio Carvalho, por incentivarem a minha formação, sempre  
com muito amor e dedicação.

Aos meus irmoes, Josiane e Joelson Carvalho, pela parceria ao longo dessa jornada de  
vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela sua presença constante em minha vida.

À minha orientadora Professora Rogeria C. C. Almeida, pela paciência, dedicação, pelas oportunidades e confiança a mim depositada, pela orientação, sendo uma referência de profissional, influenciando no meu crescimento profissional e pessoal.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, FAPESB, pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Federal da Bahia, UFBA, pelo apoio financeiro.

Às meninas do Laboratório de Controle de Qualidade dos Alimentos da Escola de Nutrição da UFBA, Isabela Maciel e Luana Milen, e ao colega de trabalho e do curso de mestrado Antenor Ferreira Leal Neto, por se dedicarem com responsabilidade à pesquisa, pela parceria e colaboração.

Aos técnicos dos Laboratórios de Controle de Qualidade e Bioquímica dos Alimentos da Escola de Nutrição, Ari, Luís e Ayse.

À Valquíria Carvalho pelo incentivo a educação.

Às amigas, Ana Claudia Menezes, Rosemary Porto, Tanisa Andrade, Rafaela Santos pelo apoio, incentivo força e momentos de descontração durante o percurso do mestrado.

Enfim, a todos os amigos e familiares que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização de mais um sonho.

*“Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no  
sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo [...]”  
Quem acredita sempre alcança...”*

Renato Russo/Flávio Venturini

CARVALHO, Joelza Silva. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva resistente a meticilina em *sashimi*. 67f. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2017.

## RESUMO

*Sashimi* é um produto da culinária japonesa elaborado com peixe cru geralmente das espécies salmão e atum. Por ser preparado com matérias primas que não sofrem cocção ou outro tratamento térmico, o *sashimi*, produto muito popular em vários países do mundo, inclusive no Brasil, é susceptível à contaminação bacteriana durante o preparo, armazenamento e distribuição. Entretanto, dados sobre a ocorrência de patógenos nesse tipo de produto são escassos. A espécie *Staphylococcus aureus* comumente associada às infecções hospitalares é um problema de saúde pública e recentemente tem sido relatada a presença de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) em pessoas não internadas em redes hospitalares, bem como o seu isolamento em vários alimentos de origem animal. Com base nesses relatos e diante da importância que o pescado representa na dieta do brasileiro, o objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva, incluindo *Staphylococcus* resistente a meticilina (MRSA) em *sashimi*. Para tal, um total de 127 amostras de *sashimi* foram adquiridas em 16 restaurantes da culinária japonesa localizados na região metropolitana de Salvador, BA. As amostras foram pré-enriquecidas em caldo Mueller-Hinton com 6,5% de NaCl e enriquecidas em caldo vermelho de fenol manitol contendo ceftizoxima e aztreonam. O isolamento do microrganismo foi conduzido em ágar manitol hipertônico e colônias características foram caracterizadas pela coloração de Gram e testes de catalase e coagulase. Para confirmação da presença de MRSA, os isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva foram submetidos às análises de susceptibilidade/resistência a antimicrobianos pela técnica de disco-difusão, utilizando-se como marcadores a cefoxitina e a oxacilina. Análise estatística descritiva foi conduzida para verificar associação entre o tipo de peixe utilizado no preparo do *sashimi* (atum ou salmão) e a presença de MRSA. Verificou-se que 93 (73,2%) das amostras estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positiva e dessas 35 (74,5%) foram provenientes de *sashimi* preparados com atum e 58 (72,5%) de *sashimi* preparados com salmão. Um total de 163 isolados foi obtido e MRSA foi detectado em 32 (65,3%) das amostras de *sashimi* de salmão e em 17 (34,7%) das amostras de *sashimi* de atum. A análise estatística demonstrou não existir associação entre o tipo de pescado usado na preparação do *sashimi* e a presença de MRSA. Esses resultados demonstraram uma alta ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva em *sashimi* comercializados em Salvador, indicando risco potencial de toxinfecção alimentar por *Staphylococcus*. Em adição, foi verificado que mais de 79% dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva apresentaram resistência à Penicilina G, antibiótico comumente utilizado na medicina veterinária e humana. Por outro lado, 98,8% dos isolados demonstraram sensibilidade à vancomicina, confirmando esse antibiótico como um fármaco adequado para uso no controle da infecção por MRSA. Em relação à presença de MRSA nas amostras, observou-se alta ocorrência de isolados resistentes aos marcadores cefoxitina e oxacilina. Esses resultados enfatizam a necessidade de melhorar o controle e monitoramento das práticas higiênicossanitárias no preparo do



*sashimi*, assim como no uso de antibióticos na aquicultura e na medicina humana, evitando a propagação do microrganismo e seus genes de resistência.

**Palavras-chave:** MRSA, Culinária japonesa, Higiene, Peixe

CARVALHO, Joelza Silva. Occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus* resistant to methicillin in *sashimi*. 67f. 2017. Dissertation (Master of Science in Food Science) - Federal University of Bahia, Faculty of Pharmacy, Salvador, 2017.

## ABSTRACT

*Sashimi* is a product of Japanese cuisine made with raw fish usually of the species salmon and tuna. Being prepared with raw materials that do not undergo cooking or other heat treatment, *sashimi*, a very popular product in several countries in the world, including Brazil, is susceptible to bacterial contamination during preparation, storage and distribution. However, data on the occurrence of pathogens in this type of product are scarce. The *Staphylococcus aureus* species commonly associated with hospital infections is a public health problem, and the presence of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA) in non-hospitalized patients has been reported recently, as well as its isolation in various foods of animal origin. Based on these reports and the importance of fish in the Brazilian diet, the objective of this study was to investigate the occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in *sashimi*. To this end, a total of 127 *sashimi* samples were purchased from 16 Japanese cuisine restaurants located in the metropolitan region of Salvador, Bahia. The samples were pre-enriched in Mueller-Hinton broth with 6.5% NaCl and enriched in red phenol mannitol broth containing ceftizoxime and aztreonam. Isolation of the microorganism was conducted on hypertonic mannitol agar and characteristic colonies were characterized by Gram staining and catalase and coagulase tests. To confirm the presence of MRSA, the isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* were subjected to antimicrobial susceptibility / resistance analyzes by disc diffusion technique using ceftoxitin and oxacillin as markers. Descriptive statistical analysis was conducted to verify the association between the type of fish used to prepare *sashimi* (tuna or salmon) and the presence of MRSA. It was verified that 93 (73.2%) of the samples were contaminated with coagulase-positive *Staphylococcus* and of these 35 (74.5%) were from *sashimi* prepared with tuna and 58 (72.5%) of *sashimi* prepared with salmon. A total of 163 isolates were obtained and MRSA was detected in 32 (65.3%) of the salmon *sashimi* samples and in 17 (34.7%) of the tuna *sashimi* samples. Statistical analysis showed no association between the type of fish used in the preparation of *sashimi* and the presence of MRSA. These results showed a high occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus sashimi* marketed in Salvador, indicating potential risk of food toxoinfection by *Staphylococcus*. In addition, over 79% of the coagulase-positive *Staphylococcus* isolates showed resistance to Penicillin G, an antibiotic commonly used in veterinary and human medicine. In other side, 98.8% of the isolates demonstrated sensitivity to vancomycin, confirming this antibiotic as an adequate drug for use in the control of MRSA infection. Regarding the presence of MRSA in the samples, we observed a high occurrence of isolates resistant to the markers ceftoxitin and oxacillin. These results emphasize the need to improve the control and monitoring of hygienic sanitary practices in the preparation of *sashimi*, as well as the use of antibiotics in aquaculture and human medicine, avoiding the propagation of the microorganism and its resistance genes.

**Key words:** MRSA, Japanese cuisine, Hygiene, Fish

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1. Expansão da produção mundial da pesca de captura e da aquicultura no mundo .....</b>	<b>21</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1. Produção mundial da pesca e da aquicultura ..... 22

Tabela 2. Composição do salmão (*Salmon salar* L.) in natura por 100 gramas de parte comestível. .... 24

Tabela 3. Composição do atum (*Thunnus thynnus*) in natura por 100 gramas de parte comestível. .... 26

### CAPÍTULO 2

Tabela 1. Ocorrência de *Staphylococcus coagulase-positiva* em amostras de *sashimi* a base de atum ou salmão, provenientes de restaurantes de comida japonesa e/ou oriental, situados no município de Salvador, BA. .... 58

Tabela 2. Susceptibilidade de cepas de *Staphylococcus coagulase-positiva* isoladas de amostras de *sashimi*, a base de atum ou salmão, a antimicrobianos. .... 60

Tabela 3. Análise bivariada entre a presença de MRSA em *sashimi* e o tipo de peixe utilizado para preparação. .... 60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BA	Bahia
BC	<i>Berlin Clone</i>
BEC	<i>Brazilian Endemic Clone</i>
°C	Grau Celsius
CA-MRSA	<i>Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
CC	Complexo Clonal
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CEF	Cefoxitina
CIP	Ciprofloxacina
CIM	Concentração inibitória mínima
CSLI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
EE	Enterotoxinas Estafilocócicas
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ERI	Eritromicina
ETA	<i>Exfoliative Toxin A</i>
ETB	<i>Exfoliative Toxin B</i>
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FAPESB	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
HA-MRSA	<i>Hospital-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
HMA	Ágar Manitol Hipertônico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICCAT	Comissão Internacional para a Conservação dos Tunídeos do Atlântico
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
LA-MRSA	<i>Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
<i>mecA</i>	Gene que codifica a resistência à meticilina
Min	Minutos

ml	Mililitros
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i>
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
MRSA	<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
MSSA	<i>Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus</i>
NaCl	Cloreto de Sódio
NCBI	<i>National Center of Biotechnology Information</i>
NNIS	<i>National Nosocomial Infections Surveillance</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OSPC	<i>Oceania South Pacific clone</i>
OXA	Oxacilina
PBP	<i>Penicillin Binding Protein</i>
PBP2a	<i>Penicillin Binding Protein 2a</i>
PC	<i>Pediatric clone</i>
PEN	Penicilina G
PFGE	<i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>
PHMB	Caldo Manitol Vermelho de Fenol
PVL	Toxina Panton-Valentine Leucocidina
SCCmec	<i>Staphylococcal cassette chromosome mec</i>
SE	<i>Staphylococcal enterotoxin</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TAC	Total Admissível de Captura
TET	Tetraciclina
TNase	Termonuclease
TSA	Ágar Trípico de Soja
TSB	Caldo Trípico de Soja
TSST-1	<i>Toxic shock syndrome toxin 1</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
µg	micrograma
<i>vanA</i>	Gene que codifica resistência à vancomicina
VCM	Vancomicina
VISA	<i>Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus</i>
VRSA	<i>Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>21</b>
<b>1. A PRODUÇÃO DO PESCADO .....</b>	<b>21</b>
1.1. Salmão ( <i>Salmon salar</i> L.).....	22
1.2. Atum ( <i>Thunnus thynnus</i> ) .....	25
<b>2. DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS.....</b>	<b>277</b>
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	277
2.1.1. Caracterização .....	277
2.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina.....	30
2.1.3. Terapias utilizadas no tratamento da infecção por MRSA .....	33
2.1.4. Epidemiologia do MRSA .....	35
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>388</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>ARTIGO .....</b>	<b>50</b>
<b>Ocorrência de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva resistente a meticilina em <i>sashimi</i></b> <b>.....</b>	<b>50</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>51</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>52</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>55</b>
2.1. Amostragem .....	55
2.2. Detecção de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva.....	56
2.3. Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos e detecção de MRSA .....	56
2.4. Análise Estatística .....	57
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
3.1. Detecção de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva em <i>sashimi</i> .....	57

3.2. Susceptibilidade das cepas isoladas de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva aos antimicrobianos e detecção de MRSA.....	59
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>64</b>



## INTRODUÇÃO GERAL

A carne de peixe é uma excelente fonte de proteína animal, além de possuir outros nutrientes essenciais, o que contribui para uma alimentação saudável em diversas regiões do mundo, sobretudo, nos países em desenvolvimento, onde muitos dependem do peixe como principal fonte de proteína (FAO, 2006). Estima-se que das 160 milhões de toneladas produzidas mundialmente do alimento, cerca de 136 milhões são utilizadas para consumo humano direto (FAO, 2014a).

O Brasil, país que apresenta faixa litorânea com dimensões continentais, possui um grande potencial para aproveitar a fonte de pescado proveniente do oceano para consumo da sua população. De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, os brasileiros consomem em torno de 14,4 Kg de pescado *per capita*/ano, número que está acima do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que é de 12 Kg, por habitante, a cada ano (BRASIL, 2017). Associadas ao grande consumo de pescado por parte dos brasileiros, estão a ascensão e popularização da culinária japonesa em restaurantes, em especial o consumo de *sushi* e *sashimi*, fato que pode ter contribuído para o aumento no consumo *per capita*/ano de pescado em todo o país.

*Sashimi* é um produto oriundo da culinária japonesa, elaborado utilizando peixes crus como salmão e atum. Esse produto que é muito popular em vários países do mundo, inclusive no Brasil, é susceptível à contaminação bacteriana durante o seu preparo, armazenamento e distribuição.

De acordo com Amson et al. (2006), microrganismos presentes no organismo de peixes, podem ser encontrados após a captura na carne crua e ainda causar contaminação cruzada em outros produtos. Além disso, é de conhecimento que a presença de patógenos está ligada a muitos fatores como a contaminação do *habitat* onde esses peixes foram pescados ou criados, contaminação do ambiente de produção, falta de higiene na manipulação, processamento, armazenamento e venda desses produtos (FRANCO e LANDGRAF, 2008; ARAÚJO e NASCIMENTO, 2013).

Entre os patógenos mais envolvidos em doenças veiculadas por alimentos se destaca *Staphylococcus aureus*, considerado a terceira causa mais importante de doenças veiculadas por alimentos no mundo (NORMANNO et al., 2005; COSTA, 2013b). Existem dois agravantes para a sua presença: a produção de toxinas e a resistência a antimicrobianos (COSTA, 2013b). A produção de enterotoxinas

geralmente está associada ao *Staphylococcus* coagulase e termonuclease (TNase) positivas, porém algumas espécies de estafilococos que não produzem nenhuma dessas enzimas também podem produzir enterotoxinas (JAY, 2005).

Em se tratando das infecções causadas pelo *S. aureus* verifica-se que a incidência vem aumentando consideravelmente nas últimas décadas em todas as faixas etárias, de acordo com estudos epidemiológicos (ANDRADE, 2008), sendo que nos últimos anos, tem-se observado o surgimento de cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos, devido ao seu genoma extremamente adaptável (RIZEK, 2010; COSTA, 2013b).

A elevada prevalência de resistência de microrganismos patogênicos a antimicrobianos verificada em alguns estudos, possivelmente está relacionada ao uso indiscriminado e cada vez mais elevado de antibióticos com finalidade profilática e/ou promotora de crescimento na medicina veterinária e no tratamento de doenças na medicina humana (SOUFI et al., 2011; JIANG et al., 2014).

Agentes antimicrobianos como as penicilinas são rotineiramente misturados à ração animal para aumentar o peso e melhorar a saúde animal. Segundo a Food and Drug Administration (FDA), vários pesquisadores tem se preocupado com o fato de que o uso indiscriminado dos antimicrobianos possa levar ao aumento de genes de resistência que podem ser disseminados entre humanos (FDA, 2015).

A resistência à meticilina em estafilococos está associada com a aquisição de um grande fragmento de DNA no cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*), que é considerado um elemento genético móvel. Esse evento foi observado em *Staphylococcus aureus* antes mesmo do isolamento da primeira cepa de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) em 1961 (MEDIAVILLA et al., 2012).

Por mais da metade do século, após esta constatação, MRSA foi considerado um patógeno nosocomial, com um número limitado de clones, causando infecções graves em indivíduos com fatores de risco, que se encontravam sob cuidados hospitalares. Durante a década de 90, no entanto, relatórios de um novo clone de MRSA associado a infecções em indivíduos saudáveis em comunidades (CA-MRSA) começaram a aparecer na literatura e foram associados com linhagens geneticamente distintas, aparentemente sem relação com as cepas de MRSA (HA-MRSA) associadas a hospitais. Posteriormente, cepas de MRSA associadas a comunidades emergiram em vários continentes e foi constatado o aumento da resistência aos antimicrobianos de várias dessas cepas implicadas em doenças infecciosas. Devido à multiplicidade de cepas de

CA-MRSA existentes atualmente e o uso indiscriminado de antimicrobianos na promoção da saúde animal, estudos que avaliem a ocorrência de MRSA em alimentos são de suma importância para que se possa propor medidas de segurança adequadas na cadeia produtiva de alimentos, considerando os riscos inerentes a sua produção ou preparo, com a finalidade de elaborar estratégias efetivas e aplicáveis à prevenção e controle da infecção.

Esse estudo organiza-se em dois capítulos: o primeiro deles apresenta uma Revisão de Literatura com abordagem de temas relacionados à caracterização de MRSA, a sua ocorrência em alimentos de origem animal e resistência a antimicrobianos. O segundo capítulo, em forma de artigo, avalia a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva e *Staphylococcus* resistente a meticilina (MRSA) em *sashimi* comercializado em restaurantes da culinária japonesa em Salvador, BA. Ambos obedecem ao disposto na Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) para redação de Dissertação.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

Avaliar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva, incluindo *Staphylococcus* resistente a meticilina (MRSA) em *sashimi* comercializados em restaurantes da culinária japonesa de Salvador, BA e a sensibilidade dos isolados a antimicrobianos.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Investigar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva em *sashimi*;

Determinar a freqüência de *Staphylococcus* coagulase-positiva resistente a meticilina (MRSA) nos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva;

Investigar a sensibilidade dos isolados de *Staphylococcus* a antimicrobianos;

Investigar a ocorrência de associação entre os tipos de peixes utilizados no preparo do *sashimi* (atum ou salmão) e a presença de MRSA.

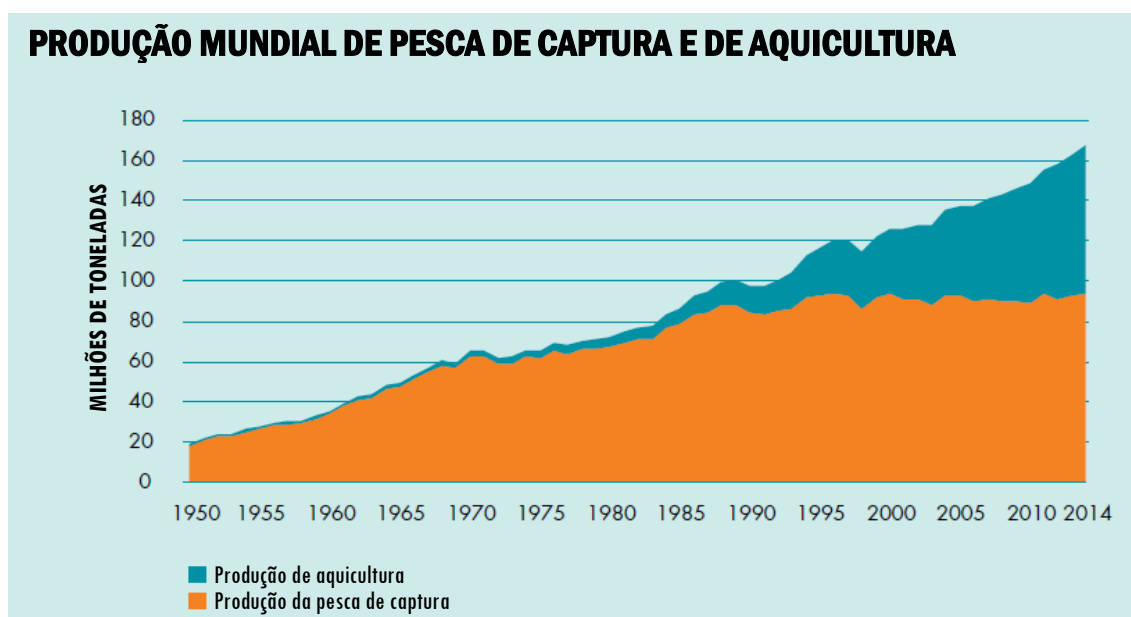
## CAPÍTULO 1

### REVISÃO DE LITERATURA

#### 1. A PRODUÇÃO DO PESCADO

A pesca e aquicultura continuam sendo fontes importantes de alimentos, nutrição, renda e subsistência para centenas de milhões de pessoas em todo o mundo. A oferta mundial de pescado *per capita* atingiu um novo recorde de 20 kg em 2014, graças ao forte crescimento da aquicultura, que agora fornece metade de todo o peixe para consumo humano (FAO, 2016).

Nas últimas décadas, a expansão da produção aquícola contribuiu significativamente para o aumento do consumo e comercialização de espécies que eram capturadas principalmente como selvagens, com produtos de criação representando uma parcela crescente do comércio internacional de peixe (FAO, 2016) (Figura 1).



**Figura 1.** Expansão da produção mundial da pesca de captura e da aquicultura no mundo.

Fonte: Adaptado da FAO (2016)

Em 2014, a produção oriunda das atividades de pesca e aquicultura atingiu cerca de 168 milhões de toneladas, contra 163 milhões no ano de 2013 (Tabela 1), e a China continua sendo a maior produtora mundial de pescado, além do país com maiores

consumidores desse alimento (FAO, 2016). O Brasil ocupa apenas a 19ª posição no *ranking* mundial, entretanto, como outros países em desenvolvimento, o Brasil desempenha um papel de grande relevância no suprimento dos mercados de alimentos do mundo, representando 61% do total das exportações de peixe no ano de 2012. Esse papel é tão importante que o percentual de exportações do pescado foi superior a outros produtos da agricultura, como leite, açúcar, arroz, carne e banana, totalizando uma receita líquida de cerca de 35 bilhões de dólares (FAO, 2014b).

**Tabela 1.** Produção mundial da pesca e da aquicultura.

	2009	2010	2011	2012	2013	2014
<b>(Milhões de toneladas)</b>						
<b>PRODUÇÃO</b>						
<b>Pesca de captura</b>						
Continental	10.5	11.3	11.1	11.6	11.7	11.9
Marinha	79.7	77.9	82.6	79.7	81.0	81.5
<b>Total de captura</b>	<b>90.2</b>	<b>89.1</b>	<b>93.7</b>	<b>91.3</b>	<b>92.7</b>	<b>93.4</b>
<b>Aquicultura</b>						
Continental	34.3	36.9	38.6	42.0	44.8	47.1
Marinha	21.4	22.1	23.2	24.4	25.5	26.7
<b>Total da aquicultura</b>	<b>55.7</b>	<b>59.0</b>	<b>61.8</b>	<b>66.5</b>	<b>70.3</b>	<b>73.8</b>
<b>TOTAL</b>	<b>145.9</b>	<b>148.1</b>	<b>155.5</b>	<b>157.8</b>	<b>162.9</b>	<b>167.2</b>

Fonte: Adaptado da FAO (2016)

Ainda, em se tratando de Brasil, um balanço realizado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) estimou que a produção de pescado no país no ano de 2013 seria de mais de 2,5 milhões de toneladas (BRASIL, 2013). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) apontaram que, em 2015, foram produzidas 483 mil toneladas de peixe, com incremento de 1,5% em relação a 2014. O Relatório da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), de 2016, estimou que o país deverá registrar crescimento de 104% na pesca e aquicultura até 2025 (BRASIL, 2017). Além disso, dados do boletim estatístico do MPA demonstram que, dentre todas as regiões da Federação, a região Nordeste ocupava o primeiro lugar em produção de pescado, seguida da região Sul (BRASIL, 2011).

### 1.1. Salmão (*Salmon salar* L.)

Salmão, Salmão Negro ou Salmão do Atlântico (*Salmon salar* L.), são nomes populares dados ao principal representante da Família Salmonidae, tendo como

características principais, o corpo alongado e a presença de um delgado pedúnculo caudal. Além disso, possui coloração marrom no dorso, podendo ser verde ou azul, os flancos prateados e o abdome em coloração branca (IUCN, 1996; FAO, 2014c).

A espécie é indígena da costa europeia do Atlântico Norte e dos rios que nela desaguam, portanto anádroma que se reproduz em água doce, onde passa os primeiros anos (2-3 anos), até sofrerem o processo de “salmonificação”, através do qual a sua fisiologia se adapta à água do mar, permitindo viver em águas salgadas. A criação foi inicialmente desenvolvida no Reino Unido, no século XIX, para efeitos de repovoamento, para fins de pesca desportiva. Mas foi na Noruega, em 1960, que as primeiras explorações aquícolas começaram a instalar jaulas flutuantes, com o objetivo de comercializar salmões adultos (2 a 5 kg) (COMISSÃO EUROPEIA, 2012).

As técnicas de produção de salmão seguem três fases do ciclo, sendo as duas primeiras realizadas em água doce e a última, a de engorda, ocorre no mar. O salmão é um peixe carnívoro, em cativeiro, são alimentados com granulados à base de farinha e óleo de peixe, que contêm também outros ingredientes, como farinhas e extratos vegetais (cereais, fava, soja, etc.), vitaminas e sais minerais, bem como o pigmento carotenoide (natural ou sintético), astaxantina, que lhe confere a cor característica (COMISSÃO EUROPEIA, 2012; FAO, 2014c).

Em nível mundial, a aquicultura responde por dois terços da produção total de salmão. A espécie mais cultivada é o salmão do Atlântico (*Salmon salar* L.), que representa 93% da produção total da aquicultura. Entre os principais países produtores encontram-se: Noruega, Chile, Canadá, Estados Unidos, Austrália, Rússia, Espanha, França, Irlanda, Islândia, Finlândia e Dinamarca (IUCN, 1996; COMISSÃO EUROPEIA, 2012; FAO, 2014c).

As principais enfermidades que afetam o salmão variam com a localização geográfica e, em alguns casos, se utilizam antibióticos e outros produtos farmacêuticos para o tratamento, dependendo do país produtor e dos requisitos estabelecidos por eles para o controle das doenças (FAO, 2014c).

O salmão é um alimento nutricionalmente saudável em termos de composição centesimal e de ácidos graxos, podendo ser consumido em uma dieta com alto teor protéico e elevado teor de ácidos graxos essenciais (TONIAL et al., 2010).

A Tabela 2 apresenta a composição do salmão *in natura* com base nos teores de umidade, valor energético, proteína e lipídios, minerais e vitaminas.

**Tabela 2.** Composição do salmão (*Salmon salar* L.) *in natura* por 100 gramas de parte comestível.

<b>Nutriente</b>	<b>Quantidade</b>
Valor energético	170 kcal = 710 kJ
Umidade	69 %
Proteínas	19,3 g
Lipídeos	9,7 g
Gorduras saturadas	2,5 g
Gorduras monoinsaturadas	2,9 g
Gorduras poliinsaturadas	3,1 g
Ácido linoleico (18:2n-6)	1,73 g
Ácido alfa-linolênico (18:3 n-3)	0,03 g
Ácido docosahexanóico (22:6)	0,46 g
Ácido eicosapentanóico (20:5)	0,43 g
Colesterol	53,0 mg
Cálcio	9 mg
Magnésio	27,4 mg
Fósforo	259 mg
Ferro	0,2 mg
Potássio	376 mg
Niacina	3,21 mg
Sódio	64 mg

Fonte: Adaptado da Tabela TACO (NEPA, 2011)

Juntamente com outras espécies de salmonídeos, o peixe apresenta altos níveis de ácidos graxos essenciais, tais como ácidos alfa-linolênico (LNA, 18:3n-3), linoleico (LA, 18:2n-6) e também níveis elevados de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (AGPI n-3), resultado de sua dieta alimentar (GREENE e SELIVONCHICK, 1990; YANG e DICK, 1994; TONIAL et al., 2010).

O ácido LNA é metabolizado em outros ácidos, entre eles os ácidos docosahexanóico (DHA) e eicosapentanóico (EPA). A esses ácidos graxos têm sido atribuídos uma grande importância nutricional, pois sua ingestão reduz o nível de colesterol do organismo e o consumo de óleos de peixe reduz fatores bioquímicos de risco associados às doenças cardiovasculares, psoríase, artrite e câncer (MAYSER et al.,



1998; HUNTER e ROBERTS, 2000; VISENTAINER et al., 2000; YEHUDA et al., 2002; BRANDÃO, 2005; ELVEVOLL et al., 2006; CASTRO et al., 2007; TONIAL et al., 2010).

## 1.2. Atum (*Thunnus thynnus*)

O atum (*Thunnus thynnus*) pertence à família Scombridae e tem como característica viver a maior parte do tempo em alto mar, aproximando-se da costa apenas em algumas épocas do ano. Essa espécie, com dorso azul-escuro, quase enegrecido, e flancos e abdome na coloração branca, tem a habilidade de suportar uma ampla faixa de temperatura e podem alcançar três metros de comprimento (IUCN, 2011; FAO, 2014d; COMISSÃO EUROPEIA, 2017).

A espécie é encontrada em todo o Oceano Atlântico, bem como no Mediterrâneo e Mar Negro (COMISSÃO EUROPEIA, 2017). As principais espécies comercializadas são a albacora, patudo, atum-rabilho (*Thunnus maccoyii*, *Thunnus orientalis* e *Thunnus thynnus*), gaiado e atum-amarelo (*Katsuwonus pelamis*, *Thunnus albacares*), e totalizaram uma produção de 5,1 milhões de toneladas em 2013, representando um aumento de meio milhão de toneladas. Em 2014, a totalidade das capturas de atum e espécies afins ascendeu a quase 7,7 milhões de toneladas (FAO, 2016). Os principais países na pesca de atum são o Japão, Estados Unidos e Canadá (IUCN, 2011; FAO, 2014d).

O atum é alvo de uma vasta gama de métodos de pesca, desde as tradicionais empregando armadilhas, vara e linha até à pesca de palangre no alto mar, a de arrasto, e a pesca com rede de cerco (COSTA, 2013a; FAO, 2014d; COMISSÃO EUROPEIA, 2017), sendo que 60% das capturas em todo o mundo são feitas através da rede de cerco (COSTA, 2013a; COMISSÃO EUROPEIA, 2017).

Segundo a FAO (2016), em 2013, as principais espécies de atum foram exploradas em um nível biologicamente insustentável. Em alguns casos, a situação dessas principais espécies de atum é desconhecida ou não é suficientemente conhecida, pois a demanda do mercado continua a ser elevada e a frota de pesca do atum continua a ter excesso de capacidade substancial, sendo necessário realizar uma gestão eficaz dos estoques subexploradas (FAO, 2016).

Nas últimas décadas, foram criadas várias organizações, como a Comissão Internacional para a Conservação dos Tunídeos do Atlântico (ICCAT), com o fim de

evitar cenários indesejáveis e/ou inaceitáveis. Em uma das reuniões anuais da ICCAT, em 2006, foi acordado um plano de recuperação de 15 anos baseado numa redução do total admissível de captura (TAC), e em um tamanho maior de desembarque mínimo (COSTA, 2013a; COMISSÃO EUROPEIA, 2017).

O atum, como outros gêneros de peixes de águas oceânicas e frias com alto teor de gordura, proporciona maior conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 basicamente na forma de ácido docosahexanóico (DHA) e eicosapentanóico (EPA). Sendo seu consumo fundamental para a saúde em função da redução do risco de doenças cardiovasculares, de ter ação anti-inflamatória, auxiliar na regeneração dos neurônios e atuar no desenvolvimento cerebral e também na coagulação sanguínea, reduzindo a agregação plaquetária (ANDRADE, 2006; TONIAL et al., 2010).

A Tabela 3 apresenta a composição do atum *in natura* com base nos teores de umidade, valor energético, proteína e lipídios, minerais e vitaminas.

**Tabela 3.** Composição do atum (*Thunnus thynnus*) *in natura* por 100 gramas de parte comestível.

<b>Nutriente</b>	<b>Quantidade</b>
Valor energético	118 kcal = 492 kJ
Umidade	73,1 %
Proteínas	25,7 g
Lipídeos	0,9 g
Gorduras saturadas	0,5 g
Gorduras monoinsaturadas	0,2 g
Colesterol	48,0 mg
Cálcio	7 mg
Magnésio	32,0 mg
Fósforo	254 mg
Ferro	1,3 mg
Potássio	308 mg
Cobre	0,09 mg
Zinco	0,4 mg
Vitamina A	20 µg
Niacina	5,94 mg
Sódio	30 mg

Fonte: Adaptado da Tabela TACO (NEPA, 2011)

O Fe e o Cu são elementos que desempenham papel de destaque na carne do peixe por serem componentes de pigmentos protéicos respiratórios (hemoglobina, mioglobina, hemocianina, entre outros), portanto, peixes de carne vermelha e escura contêm mais Fe e Cu do que os de carne branca (OLIVEIRA, 2003).

## **2. DOENÇAS VEICULADAS POR ALIMENTOS**

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) abrangem uma ampla variedade de doenças que se manifestam após a ingestão de alimentos contaminados, representando grande impacto na saúde da população mundial e, conseqüentemente, grande preocupação nos órgãos de vigilância sanitária e epidemiológica (HANSON et al., 2012; ANSELMO et al., 2015).

Entre os patógenos mais implicados em surtos originados da ingestão de alimentos se destaca *Staphylococcus aureus*, a terceira maior causa de doenças veiculadas por alimentos, sendo precedido apenas pela *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*. O microrganismo é considerado como uma das principais preocupações em saúde pública devido à resistência apresentada a múltiplos medicamentos. Ao longo dos anos, frequentemente vem sendo feitos relatos consideráveis de surtos de alimentos causados pelo microrganismo, que habitualmente é encontrado em seres humanos e animais (NORMANNO et al., 2007; CONTRERAS et al., 2015; MIAO et al., 2017). É considerado um excelente indicador da ineficiência do processamento térmico, condições higiênicas inadequadas durante a produção/preparo, ou refrigeração inadequada após o preparo de alimentos (JAY, 2005; CONTRERAS et al., 2015). No Japão, os microrganismos veiculados por peixes, incluindo *S. aureus*, são uma das principais causas de doenças veiculadas por alimentos (CATO, 1998; HAMMAD et al., 2012), tanto pelo elevado consumo de peixe, como pela prática comum de comer peixe cru (HAMMAD et al., 2012).

### **2.1. *Staphylococcus aureus***

#### **2.1.1. Caracterização**

O gênero *Staphylococcus* (do grego “*staphyle*” = cacho de uvas e “*coccus*” = semente ou grão) pertence à família Staphylococcaceae. Apresenta-se em forma de

cocos Gram positivos, com 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, ocorre na forma de células isoladas, em pares, tétrades e cadeias curtas, porém é encontrado predominantemente formando grupos semelhantes a cachos de uva, devido à sua divisão ocorrer de maneira aleatória e em vários planos. Os estafilococos não esporulam e são aeróbios ou anaeróbios facultativos, exceto as espécies *Staphylococcus aureus* subespécie *anaerobius* e *Staphylococcus saccharolyticus*, que são anaeróbios estritos, catalase negativos e não fermentam carboidratos. Formam colônias relativamente grandes, com 1 a 2 mm de diâmetro, opacas, convexas, cremosas e suas cores variam do branco a vários tons de amarelo, dependendo da espécie e do meio de cultivo (KONEMAN et al., 2012; ANDRADE, 2013; COSTA, 2013b; MURRAY et al., 2014).

Os estafilococos são microrganismos mesófilos, apresentando temperatura de crescimento na faixa de 4°C a 46°C, sendo a temperatura ótima de 35°C a 37°C (FRAZIER e WESHOFF, 2000; ANDRADE, 2013). Apresentam capacidade de crescer dentro de uma escala compreendida entre os valores de pH 4,0 e 9,8, sendo o pH ótimo para crescimento compreendido entre 6,0 e 7,0 (FRANCO e LANDGRAF, 2008; COSTA, 2013b). As espécies *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e *Staphylococcus hyicus* são coagulase positiva (KONEMAN et al., 2012) e produtoras de enterotoxinas (FERREIRA, 2012). *Staphylococcus* é ainda, reconhecido como patógeno capaz de sobreviver em alimentos refrigerados (FREITAS et al., 2004; COSTA, 2013b), capaz de crescer em atividade de água de 0,85 e em concentração de 25% de cloreto de sódio, com facilidade de se disseminar e produzir biofilmes sobre superfícies inanimadas (JAY, 2005; SOARES, 2011).

O gênero *Staphylococcus* abrange cerca de 53 espécies diferentes (NCBI, 2017), sendo 21 associadas a uma ampla variedade de infecções em seres humanos e animais, (KONEMAN et al., 2012). Em patologias humanas, apesar de fazer parte da microbiota normal, as principais espécies envolvidas são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis* e *Staphylococcus saprophyticus* (MURRAY et al., 2014), produzindo infecções oportunistas em condições apropriadas, sendo o microrganismo veiculado por outros doentes ou por portadores sadios, por contato direto ou indireto (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008; KONEMAN et al., 2012).

No homem, o principal *habitat* do microrganismo são as fossas nasais, embora diferentes regiões do corpo possam ser colonizadas como boca e diversas áreas da pele, podendo atingir qualquer superfície ou objeto que entre em contato com essas regiões, o

que leva a contaminação de alimentos direta ou indiretamente, perpetuando a cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar estafilocócica (CARVALHO e SERAFINI, 1996; FRANCO e LANDGRAF, 2008; FERREIRA, 2012). Geralmente, é possível encontrar estafilococos, até mesmo em quantidades pequenas, em quase todos os alimentos de origem animal ou manipulados, a menos que tenha sido aplicado algum tratamento térmico nos alimentos para a destruição desses microrganismos (JAY, 2005).

A pele humana apresenta uma população diferenciada de microrganismos, classificados em dois grupos: microbiota residente e microbiota transitória. A microbiota residente é constituída por estafilococos coagulase negativo, *Staphylococcus epidermidis* (85%) e por *Staphylococcus aureus* (coagulase positiva) e outros microrganismos como *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Acinetobacter* (5-25%). A microbiota transitória é representada pelos microrganismos que o indivíduo teve contato, os quais não se multiplicam na pele, mas permanecem nela, podendo contaminar outras superfícies e alimentos; entre eles estão as enterobactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., os vírus, fungos e parasitos. Os microrganismos residentes são encontrados nas camadas mais profundas da pele, não sendo facilmente removidos por fricção mecânica durante simples lavagem das mãos com água e sabão ou detergente (RADDI et al., 1988; AYÇIÇEK, 2004; FERREIRA, 2012), sendo a utilização de antissépticos na lavagem das mãos mais uma ação para o controle de microrganismos patogênicos (FERREIRA, 2012).

*S. aureus* é um dos principais patógenos em infecções humanas, tanto de origem comunitária quanto hospitalar. Também está envolvido em intoxicações alimentares, pela sua capacidade toxigênica e termorresistência da toxina produzida em diferentes tipos de alimentos (MOURA et al., 2006; DE BOER, et al., 2009; ANDRADE, 2013). Apesar da célula microbiana ser sensível ao calor, sendo destruída em uma temperatura de 65°C, a eliminação da toxina se dá apenas em temperatura de 121°C por um período de 3 a 8 minutos (SILVA et al., 2007; FERREIRA, 2012). Ainda, Borges et al. (2008) e Ferreira (2012) afirmam que as enterotoxinas estafilocócicas (EE) são resistentes à ação de enzimas proteolíticas do sistema digestivo, permanecendo ativas após a ingestão. As principais exotoxinas produzidas pelos estafilococos (EE), responsáveis por gastroenterite, enterocolite, diarreia, intoxicação alimentar estafilocócica e outras doenças no homem, são identificadas como SEA, SEB, SEC, SED e SEE, e as novas SEG, SEH, SEI, SER, SES, SET e SE/s (SE/J, SE/K, SE/L, SE/M, SE/N, SE/O, SE/P, SE/Q, SE/U, SE/U2, e SE/V) e a SEF antes designada como a toxina-1 da Síndrome do

Choque Tóxico (TSST-1), mas que perdeu atividade emética (BERGDOLL, 1989; ARGUDÍN et al., 2010; PERILLO et al., 2012; ANDRADE, 2013; COSTA, 2013b). Há também as Toxinas Esfoliativas dos tipos A (ETA) e B (ETB), responsáveis pela Síndrome Estafilocócica da Pele Escaldada (BERGDOLL et al., 1981; LEE et al., 1987; SATO et al., 1994; YAMAGUCHI et al., 2002; TRABULSI e ALTERTHUM, 2008; ANDRADE, 2013, COSTA, 2013b).

*S. aureus* também tem sido encontrado como colonizador de quase todos os animais domésticos como gatos, cães e cavalos, e domesticados como porcos, gado e aves de capoeira. Além de mamíferos, pássaros selvagens (por exemplo, urubus, pombos, patos, faisões, gaivotas e gralhas) também foram encontrados colonizados com o microrganismo (MEYER, 1967; HÁJEK e HORÁK, 1984; CUNYA et al., 2013).

### **2.1.2. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina**

*Staphylococcus* multirresistentes aos antimicrobianos representa um risco sério para pacientes hospitalizados, podendo causar uma variedade de problemas que variam de uma infecção de pele a pneumonia, de uma infecção na corrente sanguínea a uma sepse e morte (UNAKAL e KALIWAL, 2012; CDC, 2016). Atualmente, representa preocupação ainda maior para a saúde pública, com o aparecimento de infecções adquiridas em comunidades sadias afetando adultos e crianças (UNAKAL e KALIWAL, 2012).

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) tem sido definido como cepas ou linhagens de *Staphylococcus aureus* contendo o gene *mecA* ou apresentando uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) à oxacilina mais alta que 4 mg/L (HOSOSAKA et al., 2007). Entretanto, alguns isolados são *mecA* positivos e sensíveis à oxacilina. O gene *mecA* faz parte do cassete cromossômico estafilocócio *mec* (SCC*mec*), que é um grande fragmento de DNA e considerado um elemento genético móvel, cuja especulação é que foi adquirido por *S. aureus* a partir de *Staphylococcus sciuri* (WU et al., 1996; MALACHOWA e DELEO, 2010; ANDRADE, 2013).

Os isolados MRSA responsáveis por infecções no ambiente hospitalar são denominados de HA-MRSA (hospital-associated MRSA), surgidos logo após o início da penicilinoterapia, na década de 40 (TAVARES, 2000; FERREIRA, 2012; STEFANI et al., 2012; ANDRADE, 2013). Até a década de 90, essas infecções foram consideradas um problema predominantemente hospitalar, quando então foram registrados os

primeiros casos oriundos de isolados de origem comunitária ou CA-MRSA (community-associated MRSA) (BASSETTI et al., 2009; FERREIRA, 2012; EVANGELISTA e OLIVEIRA, 2015). A partir de então, cepas com características genéticas e fenotípicas diferentes das apresentadas pelas cepas hospitalares passaram a ser identificadas na comunidade, causando infecções em pessoas saudáveis que não estavam expostas aos habituais fatores de risco (BASSETTI et al., 2009; EVANGELISTA e OLIVEIRA, 2015).

Isto se explica não apenas pela propagação de HA-MRSA em comunidade, mas também pela disseminação clonal de estirpes de MRSA que parecem ter surgido como resultado da migração do gene que codifica a resistência à meticilina (*mecA*) (CALFEE, 2011; FERREIRA, 2012).

O HA-MRSA caracteriza-se principalmente pela presença de SCC*mec* tipos I, II, III, VI e VIII, ausência da citotoxina Panton Valentine Leucocidina (PVL) na maioria dos casos, e pela pouca ou nenhuma susceptibilidade a outros agentes antimicrobianos. Já o CA-MRSA pode ser caracterizado principalmente pela presença de SCC*mec* tipos IV, V, VII e pela presença da citotoxina PVL, a qual é capaz de destruir leucócitos humanos sendo, portanto, associada à necrose tecidual, especialmente pulmonar (MILLAR et al., 2007; REMONATTO et al., 2007; STEFANI e GOGLIO, 2010; MARIMÓN et al., 2012; STEFANI, 2012; FERREIRA, 2012; ANDRADE, 2013).

As infecções por MRSA têm sido causadas por clones internacionalmente disseminados e todos identificados através de técnicas moleculares. As técnicas moleculares mais comumente utilizados são a tipagem do SCC*mec*, eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), sequenciamento do gene *spa* e tipagem de sequências multilocus (MLST) (GORDON e LOWY, 2008; MEHNDIRATTA e BAHLLA, 2012; ANDRADE, 2013; COSTA, 2013b; LUZ, 2015).

Os principais clones pandêmicos de MRSA descritos na literatura são: Clone Epidêmico Brasileiro (BEC, ST239-MRSA-III), USA100 (clone Nova Iorque/Japão, NY/J, HA-MRSA, ST5-MRSA-II), USA400 (CA-MRSA), USA500 (clone Ibérico, HA-MRSA, ST247-MRSA-IA), USA600 (clone Berlim, BC, HA-MRSA), Húngaro (ST239-MRSA-III), USA800 (clone Pediátrico, PC, CA- e HA-MRSA, ST5-MRSAIV) e USA1100 (clone Oceania Sudoeste do Pacífico, OSPC, CA-MRSA) (ENRIGHT et al., 2002; McDOUGAL et al., 2003; DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008; RODRÍGUEZ-NORIEGA et al., 2010; FERREIRA, 2012; ANDRADE, 2013).

Nas últimas décadas, a emergência e alta disseminação do microrganismo tem trazido importantes mudanças nos mecanismos de prevenção da infecção e nos serviços de controle de infecção hospitalar e clínicas de assistência à saúde. Por outro lado, os recentes isolamentos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (MRSA) de vários alimentos de origem animal (como suínos, bovinos e aves de capoeira) tem se constituído em um grande desafio no ambiente agrícola e pecuário (WULF e VOSS, 2008; CUNY et al., 2010; KÖCK et al., 2013; VAN CLEEF et al., 2011; BALLHAUSEN et al., 2014).

Isolados de MRSA associados a animais criados em fazenda (LA-MRSA, livestock-associated MRSA) pertencem ao complexo clonal CC398 (HUIJSDENS et al., 2006; VERKADEA e KLUYTMANSA, 2014). Esse clone foi relatado pela primeira vez em seres humanos na Holanda em 2003 (VOSS et al., 2005; DE NEELING et al., 2007; VERKADEA e KLUYTMANSA, 2014) e até o final de 2008, 42% de todas as novas estirpes de MRSA identificadas nos seres humanos nos Países Baixos pertenciam a este clone (VERKADEA e KLUYTMANSA, 2014). Os principais grupos de risco para o transporte de LA-MRSA CC398 são seres humanos com exposição profissional na criação de suínos e bezerros (VAN DEN BROEK et al., 2008; GRAVELAND et al., 2010; VERKADEA e KLUYTMANSA, 2014).

Sabe-se que as bactérias patogênicas que apresentam resistência simples ou múltipla aos antimicrobianos podem ser transferidas de animais ou produtos animais para o homem (COSTA, 2013b). Assim, De Boer et al. (2009) investigando amostras de vários tipos de carne crua do comércio varejista da Holandadetectaram uma significativa contaminação de MRSA nos produtos analisados. Mais recentemente, em Salvador, BA, Brasil, Contreras et al. (2015) também detectaram o microrganismo em amostras de hambúrgueres crus congelados e sanduíches prontos para o consumo, vendidos em supermercados e lojas de *fast food* respectivamente, sendo a maior frequência verificada em amostras que continham carne de frango. Costa et al. (2015) realizando investigação de MRSA em alimentos cárneos crus e em preparações a base de carne prontas para o consumo, inclusive filés de tilápia, em hospitais públicos de Salvador-BA, encontraram contaminação por MRSA tanto em filés de tilápia crus como nos pratos preparados com esse tipo de peixe. Os autores não isolaram o patógeno na carne bovina pronta para consumo, destacando a importância do controle de qualidade na seleção de fornecedores de produtos de origem animal e alertando sobre o uso indiscriminado de antimicrobianos na pecuária e aquicultura.



### 2.1.3. Terapias utilizadas no tratamento da infecção por MRSA

Os antibióticos são definidos como substâncias “produzidas por diversas espécies de microrganismos (bactérias, fungos, actinomicetos), que suprimem o crescimento de outros microrganismos”. Em anos mais recentes, estendeu-se essa definição para incluir agentes antimicrobianos sintéticos, como sulfonamidas e quinolonas (CHAMBERS, 2002; FERREIRA, 2012).

Os primeiros antibióticos foram elaborados a partir dos fungos *Penicilium notatum*, descoberto em 1928 por Fleming, denominados então como penicilina (KONEMAN et al., 2012). A partir de 1942, a penicilina, um antibiótico  $\beta$ -lactâmico, passou a ser utilizada para o tratamento de infecções em seres humanos, reduzindo a mortalidade por sepse de 80% para 35% (STURMER, 2008; MURRAY et al., 2014), sendo um dos primeiros antibióticos a ter sucesso no tratamento das infecções estafilocócicas (LOWY, 2003; STURMER, 2008).

Poucos anos, após o início da penicilinoterapia, em 1942, o primeiro isolado de *S. aureus* resistente à penicilina foi detectado em um hospital e pouco depois foi observada resistência ao antibiótico na comunidade. As estirpes da bactéria tornaram-se resistentes à benzilpenicilina através da produção da enzima  $\beta$ -lactamase (penicilinasas) (DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008; RIZEK, 2010; FERREIRA, 2012; ANDRADE, 2013).

Em 1960, devido aos problemas com estafilococos resistentes à penicilina, foi desenvolvida uma penicilina semissintética, a meticilina, resistente à hidrólise por  $\beta$ -lactamases. Porém, após um ano também surgiram relatos de casos de resistência à meticilina, sendo as cepas identificadas como *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (STURMER, 2008; RIZEK, 2010; ANDRADE, 2013; MURRAY et al., 2014). Novas moléculas surgiram, tais como as isoxazolilpenicilinas (oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina), e então a oxacilina passou a ser utilizada, inclusive no Brasil; contudo, a expressão “meticilina resistente” ou a sigla MRSA (do inglês Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) ainda é utilizada para designar as linhagens de *S. aureus* que não respondem ao tratamento com oxacilina ou às demais isoxazolipenicilinas (VAZ, 1995; FERREIRA, 2012).

Até recentemente, a vancomicina permanecia como o único antibiótico eficaz, a escolha terapêutica para o tratamento de infecções estafilocócicas graves, especialmente as causadas por MRSA (MURRAY et al., 2014; FRANCHI, 2016),

entretanto, já existem casos de resistência ou susceptibilidade reduzida de *S. aureus* (Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* – VRSA; Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* – VISA) a esse antimicrobiano em vários países (REHM e TICE, 2010; GARCÍA et al., 2010; KELLEY et al., 2011; ANDRADE, 2013; FRANCHI, 2016). Em 2015, foram descritas 14 cepas de VRSA causando infecções em pacientes nos Estados Unidos (WALTERS et al., 2015; FRANCHI, 2016). No Brasil, ocorreu um caso recentemente em um paciente com infecção causada por MRSA susceptível a vancomicina, mas que adquiriu o gene *vanA* durante a terapia antibiótica e tornou-se resistente à vancomicina (ROSSI et al., 2014; FRANCHI, 2016).

A resistência antimicrobiana é definida como a capacidade de alguns microrganismos resistirem à ação de agentes antimicrobianos, que pode ocorrer por mecanismos específicos presentes nas bactérias ou pelo fato das concentrações da droga correspondente, normalmente alcançada no sangue ou tecido, não serem capazes de inibir os microrganismos envolvidos na infecção (MOTA et al., 2005; WHO, 2012, COSTA, 2013b).

Embora este fenômeno seja considerado um fator natural e inevitável (ANTÔNIO et al., 2009; COSTA, 2013b), a resistência bacteriana aos antimicrobianos é atualmente um dos problemas de saúde pública mundial mais relevantes, uma vez que muitas bactérias anteriormente suscetíveis aos antibióticos usualmente utilizados nos tratamentos deixaram de responder a esses mesmos agentes. Essa utilização inadequada destes fármacos demonstra uma correlação muito clara entre um maior consumo de antibióticos e níveis mais elevados de resistência microbiana (WHO, 2005; CDC, 2013; LOUREIRO et al., 2016).

A inativação enzimática, a alteração de transporte do fármaco por mudanças na bomba de efluxo na permeabilidade externa da membrana e alteração de receptores, são os principais mecanismos de resistência conhecidos (SOUZA JÚNIOR et al., 2004; COSTA, 2013b).

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como as penicilinas e cefalosporinas atuam sobre a bactéria inativando as proteínas chamadas proteínas ligadoras de penicilina (Penicillin Binding Protein - PBP), enzimas que são essenciais na biossíntese da parede celular, impedindo a formação completa da camada de peptidoglicano da parede celular. As bactérias atingidas se tornam frágeis osmoticamente e são facilmente lisadas desencadeando a morte celular (CHAMBERS et al., 1988; BOYLE-VAVRA et al., 2003; KATAYAMA et al., 2004; COSTA, 2013b; FRANCHI, 2016).

É importante ressaltar que a enzima  $\beta$ -lactamase que cliva a estrutura betalactâmica (anel) dos antibióticos, confere resistência à penicilina, mas não às penicilinas semissintéticas como as meticilinas, oxacilinas e cloxacilina (PINHO et al., 2001; COSTA, 2013b). Porém, na presença do gene *mecA* ocorrem alterações das proteínas de ligação através da codificação de uma nova proteína alvo, denominada PBP2a, que funcionará como PBP substituta na parede celular do microrganismo, conferindo completa resistência a todos os antibiótico  $\beta$ -lactâmicos, inclusive às penicilinas semissintéticas, não ocorrendo inibição da síntese da parede bacteriana, o que torna o isolado resistente à oxacilina (MRSA) (CHAMBERS et al., 1988; PINHO et al., 2001; BOYLE-VAVRA et al., 2003; KATAYAMA et al., 2004; WEESE et al., 2005; COSTA, 2013b; FRANCHI, 2016).

A utilização excessiva e indevida de antibióticos é mundialmente reconhecida, entretanto, é particularmente maior em países em desenvolvimento. Outros fatores também contribuem para a existência de cepas resistentes, tais como recursos limitados para a aquisição de antibióticos, higiene precária e procedimentos de prevenção e controle de infecções pouco eficientes nas instituições de saúde (CHUA et al. 2011; ROSSI 2011; SADER et al. 2016; VELOSO, 2016). No caso de países europeus destaca-se a incidência de infecções adquiridas na comunidade atrelada a determinantes culturais e sociais, organização das estruturas prestadoras de saúde, recursos humanos e financeiros, mercado farmacêutico e práticas de regulamentação (FERECH et al., 2006; LOUREIRO et al., 2016).

#### **2.1.4. Epidemiologia do MRSA**

A disseminação de microrganismos multirresistentes é um problema mundial de saúde pública, principalmente o MRSA que representa uma grave ameaça, devido à sua rápida propagação e diversificação de clones pandêmicos com virulência e resistência antimicrobianas cada vez maiores (RIBEIRO, 2013; VELOSO, 2016).

A informação da prevalência de MRSA em inúmeros países revela uma grande variação, desde cerca de 1,0% em países como a Holanda até níveis de 25,0-50,0% em muitos países do continente americano, na Austrália e em alguns países do sul da Europa. (GRUNDMANN et al., 2006; HAWKEY, 2008; GOULD, 2008; LOUREIRO et al., 2016).

Em estudos recentes foram observados que os índices de mortalidade são significativamente mais altos em pacientes que desenvolvem bacteremia por MRSA, do que por *Staphylococcus* sensível a meticilina (MSSA). Os índices de mortalidade chegam a ser 2,5 vezes maiores nos casos de infecção por MRSA (21,0%) do que por MSSA (8,0%) (LIU et al., 2008; D'AGATA et al., 2009; VELOSO, 2016). Nos Estados Unidos da América (EUA), desde 1999, a proporção de MRSA ultrapassa 50% entre os pacientes em UTI, segundo os dados do National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS), do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (SENNA et al. 2003; CHAMBERS e DELEO 2009; VELOSO, 2016).

De acordo com a CDC (2013), cada ano nos Estados Unidos, pelo menos 2 milhões de pessoas adquirem infecções graves com bactérias que são resistentes a um ou mais dos antibióticos projetados para tratar essas infecções e que pelo menos 23.000 pessoas morrem todos os anos como resultado direto dessas infecções resistentes aos antibióticos. Em se tratando do MRSA, estima-se anualmente 80.000 casos de infecções causadas pelo microrganismo, destes 11.000 casos são de óbitos; nesses casos são incluídas as infecções invasivas e excluídas os cuidados com a saúde como as infecções não invasivas associadas à comunidade, feridas e infecções da pele e dos tecidos moles.

A vigilância das infecções por MRSA é importante, tanto no cenário hospitalar como na comunidade, por causa do perfil epidemiológico continuamente variável do MRSA (MEJIA et al., 2010). Na América Latina, o Estudo de Avaliação e Vigilância de Tigeciclina (*Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial*) e o Programa SENTRY de Vigilância Antimicrobiana na América Latina, avaliaram a prevalência de MRSA (inclusive cepas HA-MRSA e CA-MRSA). No primeiro estudo, a prevalência foi de 48,3% entre os isolados de *S. aureus* no período de 2004 a 2007; dados coletados de 33 centros de 11 países (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Panamá, Porto Rico e Venezuela). No segundo estudo, revelou-se um aumento na prevalência de 33,8% em 1997 para 40,2% em 2006, chamando a atenção para a procedência da cepa, ou seja, 41% das cepas de MRSA isoladas eram procedentes do Brasil (ROSSI et al., 2008; PICAIO et al., 2008; MEJIA et al., 2010).

Assim, observa-se que no Brasil os índices de isolamento de MRSA entre os pacientes em UTI são bastante elevados (40% a 80%). Nos hospitais brasileiros o chamado clone endêmico brasileiro (BEC-*Brazilian Endemic Clone*) tem sido bastante disseminado, sendo relatado também em outros países da Europa e América do Sul (SENNA et al. 2003; CHAMBERS e DELEO 2009; VELOSO, 2016).

Evangelista e Oliveira (2015) em seu estudo identificaram 21 casos de CA-MRSA, principalmente em crianças, adolescentes e adultos com quadro de infecção de pele e tecidos moles, evoluindo para infecções graves relacionados ao clone *Oceania Southwest Pacific Clone* (OSPC), que resultaram em hospitalização. Os autores, porém, concluíram que, apesar do CA-MRSA ser considerado um microrganismo de relevância mundial, existe escassez de dados publicados sobre sua epidemiologia no Brasil, o que dificulta o delineamento da realidade do país frente ao CA-MRSA.

Considerando os relatos de diversos estudos, Franchi (2016) conclui que é de grande importância a realização de estudos epidemiológicos para conhecimento do perfil predominante de resistência dos clones circulantes, permitindo maior eficácia no controle, prevenção e tratamento de infecções causadas por MRSA.

**REFERÊNCIAS**

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Data research of foodborne diseases outbreaks from state of Paraná – Brazil, in the period from 1978 to 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.

ANDRADE, M. A. **Tipagem molecular e investigação dos genes toxigênicos em *Staphylococcus aureus* isolados de amostras clínicas**. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

ANDRADE, P. F. **Prazo de vida comercial do atum (*Thunnus atlanticus*) armazenado sob refrigeração**. 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, 2006.

ANDRADE, M. A. **Caracterização molecular de *Staphylococcus aureus* meticilina sensíveis e meticilina resistentes isolados de amostras clínicas**. 2013. 129 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, 2013.

ANTÔNIO, N. da S. et al. Mecanismo de resistência bacteriana. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 7, n. 12, p. 12-15, 2009.

ARAÚJO, M. F. M.; NASCIMENTO, V. S. F. Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 91-104, 2013.

ARGUDÍN, M. A.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. **Toxins**, Suíça, v. 2, p. 1751-1773, 2010.

ANSELMO, D. B.; WERLE, C. H.; HOFFMANN, F. L. Ocorrência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistentes a antimicrobianos e parasitos *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* em merendas escolares. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 74, n. 4, p. 399-409, 2015.

AYÇIÇEK, H.; AYDOGAN, H.; KUÇUKKARAASLAN, A. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food workers. **Food Control**, v.15, p. 253-259, 2004.

BALLHAUSEN, B. et al. LA-MRSA CC398 differ from classical community acquired-MRSA and hospital acquired-MRSA lineages: functional analysis of infection and colonization processes. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 7, p. 777-786, 2014.

BASSETTI, M.; NICCO, E.; MIKULSKA, M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. Suppl 1, p. S15-9, 2009.

- BERGDOLL, M. et al. A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with the toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. **Lancet**, v. 1, p. 1017-1021, 1981.
- BERGDOLL, M. S. *Staphylococcus aureus*. DOYLE, M. P. (Ed.). **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcel Dekker, p.463-523, 1989.
- BORGES, M. F. et al. Perfil de contaminação de *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo coalho. **Revista de Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1431-38, 2008.
- BOYLE-VAVRA, S. et al. Transcriptional Induction of the Penicillin-Binding Protein 2 Gene in *Staphylococcus aureus* by Cell Wall-Active Antibiotics Oxacillin and Vancomycin. **Antimicrobial Agent Chemotherapy**, v. 47, p.1028-1036, 2003.
- BRANDÃO, P. A. et al. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p. 5-14, 2005.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. 2011. Disponível em: [http://bibspi.planejamento.gov.br/bitstream/handle/iditem/191/Boletim%20MPA%202011FINAL3\[1\].pdf?sequence=1](http://bibspi.planejamento.gov.br/bitstream/handle/iditem/191/Boletim%20MPA%202011FINAL3[1].pdf?sequence=1). Acesso em: 30 set. 2014.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Balanco 2013**. 2013. Disponível em: <http://bibspi.planejamento.gov.br/handle/iditem/453>. Acesso em: 29 set. 2014.
- BRASIL. Portal Brasil. **Produção de peixes no Brasil cresce com apoio de pesquisas da Embrapa**. Economia e Emprego. 2017. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa>. Acesso em: 10 fev. 2017.
- CALFEE, D.P. The Epidemiology, Treatment, and Prevention of Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **The Art and Science of Infusion Nursing**, v. 34, p. 359-364, 2011.
- CARVALHO, C. O.; SERAFINI, A. B. Grupos de microrganismos isolados da orofaringe, nasofaringe e das mãos dos trabalhadores do restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Higiene Alimentar**, v.10, p.19-24, 1996.
- CASTRO F. A. F. et al. Fatty acid composition of three freshwater fishes under different storage and cooking processes. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1080-1090, 2007.
- CATO, J.C. **Seafood safety — economics of hazard analysis and critical control point (HACCP) programmes**. FAO Fisheries Technical Paper 381. FAO, Rome, 1998.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic Resistance Threats in the United States**, 2013. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>. Acesso em: 26 jan. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**. 2016. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mrsa/>. Acesso em: 26 jan. 2017.

CHAMBERS, H. F. Methicillin-resistant staphylococci. **Clinical Microbiology Review**, v. 1, p. 173-186, 1988.

CHAMBERS, H.F. Antimicrobianos. Considerações Gerais. In: Penildon Silva (Ed.). **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 43. 859-871, 2002.

CHAMBERS, H. F.; DELEO, F. R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. **Nature Review of Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 629-641, 2009.

CHUA, K. et al. Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA - its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 99-111, 2011.

COMISSÃO EUROPEIA. **O salmão**. A Pesca e a Aquicultura na Europa [online]. n.º 58, 2012. Disponível em: [http://ec.europa.eu/fisheries/marine\\_species/farmed\\_fish\\_and\\_shellfish/salmon\\_pt](http://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/farmed_fish_and_shellfish/salmon_pt). Acesso em: 26 jan. 2017.

COMISSÃO EUROPEIA. **Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*)**. Fisheries. Fish and shellfish species. Wild species, 2017. Disponível em: [https://ec.europa.eu/fisheries/marine\\_species/wild\\_species/bluefin\\_tuna](https://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/wild_species/bluefin_tuna). Acesso em: 26 jan. 2017.

CONTRERAS, C. P. Á. et al. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Hamburgers and Ready-to-Eat Sandwiches Commercialized in Supermarkets and Fast Food Outlets in Brazil. **Food and Nutrition Sciences**, v. 6, p. 1324-1331, 2015.

COSTA, L. M. **O atum em Portugal de 1896-2011: contributos para a sua história ambiental, ecológica e económica**. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Biologia (Ecologia e Gestão Ambiental). Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, 2013a.

COSTA, W. L. R.. **Investigação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em alimentos cárneos destinados ao preparo de dietas em hospitais públicos do município de Salvador - BA**. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, BA, 2013b.

COSTA, W. L. R. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in raw meats and prepared foods in public hospitals in Salvador, Bahia, Brazil. **Journal of Food Science**, v. 80, p. M147-M150, 2015.

CUNYA, C.; KÖCK, R.; WITTEA, W. Livestock associated MRSA (LA-MRSA) and its relevance for humans in Germany. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, p. 331-337, 2013.



- CUNY, C. et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, p. 109–117, 2010.
- D'AGATA, E. M. C. et al. Modeling the Invasion of Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* into Hospitals. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 3, p. 274-84, 2009.
- DE BOER, E. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 52-56, 2009.
- DE NEELING, A. J. et al. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. **Veterinary Microbiology**, v. 122, p. 366–372, 2007.
- DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infection, genetics and evolution**, v. 8, p. 747-763, 2008.
- ELVEVOLL, E. O. et al. Enhanced incorporation of n-3 fatty acids from fish compared with fish oils. **Lipids**, v. 41, p. 1109-1114, 2006.
- ENRIGHT, M. C. et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 7687-92, 2002.
- EVANGELISTA, S. S.; OLIVEIRA, A. C. *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 68, n. 1, p. 136-43, 2015.
- FAO. **Pesca e Aquicultura: O peixe, fonte de alimentação, meio de subsistência e de comércio**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, 2006. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/012/i0765pt/>. Acesso em: 29 set. 2014.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, 2014a.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Roma, 2014b. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4738e.pdf>. Acesso em: 30 set. 2014.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Roma, 2014c. Disponível em: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Salmo\\_salar/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Salmo_salar/en). Acesso em: 30 set. 2014.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Roma, 2014d. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/species/3296/en>. Acesso em: 30 de set. 2014.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 200 pp. 2016. Disponível em:

[http://ec.europa.eu/fisheries/marine\\_species/farmed\\_fish\\_and\\_shellfish/salmon\\_pt](http://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/farmed_fish_and_shellfish/salmon_pt). Acesso em: 11 fev. 2017.

FDA. Food and Drug Administration. **Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals**. In: Services HaH, editor. 2015

FRANCHI, E. P. L. P. **Epidemiologia molecular e estudo dos fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina isolados de feridas em pacientes atendidos em unidades básicas de saúde da cidade de Botucatu**. 2016. 98f. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Ed. Atheneu: São Paulo. 2008. 182p.

FERECH, M. et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): Outpatient antibiotic use in Europe. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p. 401–7, 2006.

FERREIRA, J. S. **Investigação de estafilococos coagulase positiva resistentes à meticilina em manipuladores de alimentos em hospitais públicos do município de Salvador- BA**. 2012. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

FRAZIER, W. C; WESHOFF, D. C. **Microbiologia de los Alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000.

FREITAS, M. F. L. et al. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 405-407, 2004.

GARCÍA, M. S. et al. Clinical outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 303, p. 2260-2264, 2010.

GORDON, R. J.; LOWY, F. D. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **Clinical infectious diseases**, v. 46, p. S350-S359, 2008.

GOULD, I. M. The epidemiology of antibiotic resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, n. Suppl 1, p. S2–9, 2008.

GRAVELAND, H. et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in veal calf farming: human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. **PLOS ONE**, v. 5, n. 6, p. e10990, 2010.

GREENE, D. H. S.; SELIVONCHICK, D. P. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 89, p. 165-182, 1990.

- GRUNDMANN, H. et al. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. **Lancet**, v. 368, p. 874–85, 2006.
- HÁJEK, V.; HORÁK, V. Typing coagulase-positive *Staphylococci* of different origin with Blouse and Meekins' phages. **Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology**, v. 29, n. 3, p. 317–322, 1984.
- HAMMAD, A. M., et al. Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, p. 286–289, 2012.
- HANSON, L. A. et al. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. **Popul Health Metrics**, v. 5, n. 10, p. 1-7, 2012.
- HAWKEY, P. M. The growing burden of antimicrobial resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. Suppl 1, p. i1–9, 2008.
- HOSOSAKA, Y. et al. Characterization of oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 13, p.79–86, 2007.
- HUIJSDENS, X. W. et al. Community-acquired MRSA and pig-farming. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 26, 2006.
- HUNTER, B. J.; ROBERTS, D. C. K. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**, v. 20, p. 1047-1058, 2000.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro, v. 43, p.1-49, 2015.
- IUCN. *Salmo salar*. The IUCN Red List of Threatened. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, United Kingdom, 1996. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/19855/0>. Acesso em: 30 set. 2014.
- IUCN. *Thunnus thynnus*. The IUCN Red List of Threatened Species. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, United Kingdom, 2011. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/21860/0>. Acesso em: 30 set. 2014.
- JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos** / trad. Eduardo Cesar Tondo... [et al.]. – 6. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2005.
- JIANG, X. et al. Detection of qnr, aac(6<sup>7</sup>)-Ib-cr and qepA genes in *Escherichia coli* isolated from cooked meat products in Henan, China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 187, p.22-25, jun. 2014.
- KATAYAMA, Y.; ZHANG, Z.; CHAMBERS, F. PBP 2a Mutations Producing Very-High-Level Resistance to Beta-Lactams. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, p. 453-459, 2004.

KELLEY, P. G. et al. Daptomycin non-susceptibility in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous-VISA (hVISA): implications for therapy after vancomycin treatment failure. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.66, p. 1057-1060, 2011.

KÖCK, R. et al. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. **PLOS ONE**, v. 8, p. e55040, 2013.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas Colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

LEE, C. Y. et al. Sequence determination and comparison of the exfoliative toxin A and toxin B genes from *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v.169, p. 3904-3909, 1987.

LIU, C. et al. A population-based study of the incidence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in San Francisco, 2004-2005. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 11, p. 1637-1646, 2008.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, 2003.

LUZ, A. C. O. **Perfil de virulência de isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* relacionados a diferentes clones epidêmicos**. – Recife, 2015. 87 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Genética, 2015.

MALACHOWA, N.; DELEO, F. R. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, p. 3057-3071, 2010.

MARIMÓN, J. M. et al. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* carrying the panton-valentine leucocidin genes in northern Spain. **Journal of Infection**, v. 64, p. 47-53, 2012.

MAYSER, P. et al. Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. **Journal of The American Academy of Dermatology**, v. 38, p. 421, 1998.

MCDOUGAL, L. K. et al. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 5113-5120, 2003.

MEDIAVILLA, J. R. et al. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). **Current Opinion in Microbiology**, v. 15, p. 588-595, 2012.

- MEHNDIRATTA, P.; BHALLA, P. Typing of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a technical review. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 30, p. 16, 2012.
- MEJIA, C.; ZURITA, J.; GUZMAN-BLANCO, M. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 14, n. supl. 2, p. 79-86, 2010.
- MEYER, M. A proposal for subdividing the species *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 17, p. 387–389, 1967.
- MIAO, J., et al. Formation and development of *Staphylococcus* biofilm: With focus on food safety. **Journal of Food Safety**, n. October 2016, p. 1–11, 2017.
- MILLAR, B. et al. Proposed definitions of community-associated. **Journal of Hospital Infection**, v. 67, p. 109-113, 2007.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- MOURA, A. P. B. L. et al. Caracterização e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de amostras de carne caprina comercializadas em mercados e supermercados em Recife, Pernambuco, 2006. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, p. 7-15, 2006.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.
- NATIONAL CENTER OF BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **TaxBrowser**, Washington, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=taxonomy>. Acesso em: 19 fev. 2017.
- NEPA - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA – Unicamp. 2011. 161p.
- NORMANNO, G. et al. Coagulase–positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 98, p. 73-79, 2005.
- NORMANNO, G. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Foods of Animal Origin Product in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, p. 219-222, 2007.
- OLIVEIRA, S. K. **Efeito da Sazonalidade sobre o Valor Químico de Peixes Marinhos do Litoral Catarinense: Sardinha (*Sardinella Brasilienses*), Atum (*Katsuwonus Pelanis*), Corvina (*Micropogonias Furnieri*) e Pescada (*Cynoscion Steindacheri*)**. 2003. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) -

Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2003.

PERILLO, J. et al. Molecular characterization of enterotoxigenic and borderline oxacillin resistant *Staphylococcus* strains from ovine Milk. **Food Microbiology**, Argo, v. 32, n. 2, p. 265-273, 2012.

PICAO, R. C. et al. Analysis of resistance and vancomycin “reverse creep” in Latin American *Staphylococcus aureus*: ten-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2006). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. S173; 2008.

PINHO, M.G.; DE LENCASTRE, H.; TOMASZ, A. An acquired and a native penicillinbinding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington v. 98, n. 19, p. 10886-10891, 2001.

RADDI, M.S.G.; LEITE, C.Q.F.; MENDONÇA, C.P. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 36-40, 1988.

REHM, S. J.; TICE, A. *Staphylococcus aureus*: methicillin-susceptible *S. aureus* to methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *S. aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 2, p. S176-82, 2010.

REMONATTO, G. C. M. et al. **CA-MRSA: um patógeno emergente**. Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. News Lab, ed. 80, p. 92-96, 2007.

RIBEIRO, D. A. **Trânsito de profissionais e pacientes de terapia intensiva entre diferentes hospitais: possível risco de disseminação de microrganismos multirresistentes**. 2013. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

RIZEK, C. F. **Pesquisa do gene *mecA* e codificador de enterotoxina SEA *Staphylococcus aureus* presentes em amostras de alimentos prontos para consumo**. 2010, 70 f. (Dissertação de Mestrado em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2010.

RODRÍGUEZ-NORIEGA, E. et al. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. e560-e566, 2010.

ROSSI, F. et al. Rates of antimicrobial resistance in Latin America (2004-2007) and in vitro activity of the glycylicline tigecycline and of other antibiotics. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 5, p. 405-15, 2008.

ROSSI, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 1138–1143, 2011.

ROSSI, F. et al. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, p. 1524-31, 2014.

SADER, H. S. et al. Antimicrobial susceptibility patterns of community- and hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from United States Hospitals: results from AWARE Ceftaroline Surveillance Program (2012-2014). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 1, p. 76-79, 2016.

SATO, H. et al. A new type of staphylococcal exfoliative toxin from a *Staphylococcus aureus* strain isolated from a horse with phlegmon. **Infection and Immunity**, v. 62, p. 3780-3785, 1994.

SENNA, J. P. et al. Spread of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone between Uruguayan and South of Brazil Hospitals. **Journal of Hospital Infection** v. 53, p. 156-7, 2003.

SILVA, E. C. B. F. DA et al. *Staphylococcus aureus*: aspectos biológicos e patogênicos. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v.52, n.2, p.168-72, 2007.

SOARES, L. S. **Segurança dos alimentos: avaliação do nível de conhecimento, atitudes e práticas dos manipuladores de alimentos na rede municipal de ensino de Camaçari-BA**. 2011.103 f. (Dissertação de Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde). Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição, Salvador, 2011.

SOUFI, L. et al. *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 497-502, 2011.

SOUZA JÚNIOR, M. A.; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Betalactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua Detecção no Laboratório Clínico. **Revista NewsLab**, São Paulo, n. 63, p. 152-174, 2004.

STEFANI, S.; GOGLIO, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. S19-S22, 2010.

STEFANI, S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 4, p. 273-82, 2012.

STURMER, F. C. R. **Caracterização parcial do elemento CCR em *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina isolados no Sul do Brasil**. 2008. 47f. (Dissertação de Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências, Porto Alegre, 2008.

TAVARES, W. Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, n.3, p. 281-301, 2000.

TONIAL, I. B. et al. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 1, p. 93-98, 2010.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

UNAKAL, C. G.; KALIWAL, B. B. Phenotypic Characterization and Risk Factors of Nosocomial *Staphylococcus aureus* from Health Care Centers. **Advances in Microbiology**, v. 2, p. 122-128, 2012.

VAN CLEEF, B. A. et al. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans, Europe. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, p. 502–505, 2011.

VAN DEN BROEK, I. V. F. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. **Epidemiology and Infection**, v. 24, p. 1–9, 2008.

VAZ, M. J. S. A. M. **Characterization of Bacterial Resistance in *Staphylococcus aureus***. Thesis, Porto University, Porto, 1995.

VELOSO, J. O. **Prevalência e tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados de uma Unidade de Terapia Intensiva de um hospital escola do município de Goiânia, Goiás**. 2016. 87f. (Dissertação de Mestrado Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro). Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Goiânia, 2016.

VERKADEA, E.; KLUYTMANSA, J. Livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398: Animal reservoirs and human infections. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, p. 523–530, 2014.

VISENTAINER, J. V. et al. Concentração de ácido eicosapentanóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 90-93, 2000.

VOSS, A. et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, p. 1965–1966, 2005.

WALTERS, M. et al. **Investigation and Control of Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: A Guide for Health Departments and Infection Control Personnel**. Atlanta, GA, 2015.

WEESE, J. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel, 2000-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 3, p. 430-435, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Containing antimicrobial resistance**. Geneva, Switzerland: WHO; 2005. (WHO Policy Perspectives on Medicines; 10).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial Resistance**. Fact sheet 194. 2012. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. Acesso em: 20 mai. 2012.



WU, S. et al. Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* from a methicillin susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. **Microbial Drug Resistance**, v. 2, p.435-441, 1996.

WULF, M.; VOSS, A. MRSA in livestock animals—an epidemic waiting to happen? **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p.519–521, 2008.

YAMAGUCHI, T. et al. Identification of the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and EDIN-B. **Infection and Immunity** 70: 5835-5845, 2002.

YANG, X. W.; DICK, T. K. Arctic char (*Salvelinus alpinus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) differ in their growth and lipid metabolism in response to dietary poly-unsaturated fatty acids. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 51, p. 1391-1400, 1994.

YEHUDA, S. et al. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of Aging**, v. 23, p. 843-853, 2002.

## CAPÍTULO 2

### **Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva resistente a meticilina em *sashimi***

### **Occurrence of methicillin-resistant coagulase-positive *Staphylococcus* in *sashimi***

Joelza Silva Carvalho<sup>1</sup>, Antenor Ferreira Leal Neto<sup>1</sup>, Isabela Maciel Melo<sup>2</sup>, Luana Milen Varjão<sup>2</sup>, Rogeria Comastri de Castro Almeida<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, Ondina, Cep: 40.170-290, Salvador, BA, Brasil.

<sup>2</sup>Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia. Av. Araújo Pinho, n° 32, Canela, Cep: 40.110-160, Salvador, BA, Brasil.

\*Autor para correspondência: Rogeria Comastri de Castro Almeida

Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia

Av. Araújo Pinho, n° 32, Canela, CEP: 40.110-160. Salvador, Bahia, Brasil

E-mail: rogeriac@ufba.br

## ABSTRACT

*Sashimi*, a very popular product in Japanese cuisine, is prepared without cooking, using tuna or salmon fish. The present study evaluated the occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in *sashimi*. One hundred and twenty-seven samples, with 47 *sashimi* prepared with tuna and 80 with salmon, were purchased from 16 restaurants in Salvador, BA, for the microorganism detection. It was verified that 93 (73,2%) samples were contaminated with coagulase-positive *Staphylococcus* and out of these 35 (74,5%) came from *sashimi* prepared with tuna and 58 (72,5%) from *sashimi* prepared with salmon, indicating potential risk of food poisoning by *Staphylococcus*. A total of 163 isolates were obtained and MRSA was detected in 32 (65,3%) samples of *sashimi* prepared with salmon and in 17 (34,7%) samples of *sashimi* prepared with tuna, indicating a high level of isolates showing resistance to cefoxitin and oxacillin markers. Statistical analysis showed no association between the type of fish used in the preparation of *sashimi* and the presence of MRSA. In addition, 79% of the coagulase-positive *Staphylococcus* isolates showed resistance to penicillin G, an antibiotic commonly used in veterinary and human medicine. Also, 98,8% of the isolates demonstrated sensitivity to vancomycin, confirmed as a drug used in the MRSA infection control. According to the results, the high occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus* in *sashimi* marketed in Eastern cuisine restaurants in Salvador, indicates a potential risk of food poisoning by *Staphylococcus*. These results emphasize the need to improve the control and hygiene practices monitoring in the *sashimi* elaboration, as well as the use of antimicrobials in aquaculture and human medicine, to avoid the dissemination of resistant microorganisms and genes.

**Keywords:** MRSA, Food safety, Fish, Japanese cuisine

## RESUMO

Sashimi, um produto muito popular na culinária japonesa, é preparado sem cocção, utilizando peixe das espécies atum e salmão. O presente estudo avaliou a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva, *Staphylococcus* resistente a meticilina (MRSA) em *sashimi*. Cento e vinte e sete amostras, sendo 47 de *sashimi* preparados com atum e 80 com salmão, foram adquiridas em 16 restaurantes de Salvador, BA, para detecção de MRSA. Verificou-se que 93 (73,2%) amostras estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positiva e dessas 35 (74,5%) foram provenientes de *sashimi* preparados com atum e 58 (72,5%) de *sashimi* preparados com salmão, indicando risco potencial de intoxicação alimentar por *Staphylococcus*. Um total de 163 isolados foram obtidos e MRSA foi detectado em 32 (65,3%) amostras de *sashimi* preparadas com salmão e em 17 (34,7%) amostras de *sashimi* preparadas com atum, indicando um alto índice de isolados resistentes aos marcadores cefoxitina e oxacilina. A análise estatística demonstrou não existir associação entre o tipo de peixe usado na preparação do *sashimi* e a presença de MRSA. Em adição, mais de 79% dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva apresentaram resistência à Penicilina G, um antibiótico comumente utilizado na medicina veterinária e humana. Além disso, 98,8% dos isolados demonstraram sensibilidade à vancomicina, confirmando o antibiótico como um fármaco adequado no controle da infecção por MRSA. De acordo com os resultados, a alta ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva em *sashimi* comercializado em restaurantes da cozinha oriental em Salvador, indica um risco potencial de intoxicação alimentar por *Staphylococcus*. Estes resultados enfatizam a necessidade de melhorar o monitoramento das práticas de controle e higiene na elaboração do *sashimi*, bem como o uso de antimicrobianos na aquicultura e medicina humana, para evitar a disseminação de microorganismos e genes resistentes.

**Palavras-chave:** MRSA, Alimento seguro, Peixe, Cozinha japonesa

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que apresenta faixa litorânea com dimensões continentais, com grande potencial para aproveitar as fontes de pescado, o que reflete no consumo do brasileiro que é em torno de 14,4 Kg de pescado per capita/ano, número que está acima da média recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que é de 12 Kg, por habitante, a cada ano (BRASIL, 2017).

Associadas ao grande consumo de pescado por parte dos brasileiros estão a ascensão e popularização da culinária japonesa em restaurantes, em especial o consumo do *sushi* e *sashimi*, fato que pode ter contribuído para o aumento no consumo *per capita*/ano de pescado em todo o país. *Sashimi* é elaborado utilizando peixes crus, geralmente salmão e atum, portanto, sendo susceptível à contaminação bacteriana durante o preparo, armazenamento e distribuição.

Nesse contexto, emergem as questões de segurança alimentar aliadas à presença de patógenos responsáveis por doenças veiculadas por alimentos (LIU et al., 2016; MIAO et al., 2017), que reflete na saúde de toda população mundial (MIAO et al., 2017). Em se tratando de pescado, Amson et al. (2006) relatam que os microrganismos presentes no organismo dos animais, podem ser encontrados após a captura na carne crua e causar contaminação cruzada em outros produtos. A presença desses patógenos está ligada a muitos fatores como a contaminação pelo *habitat* onde esses peixes foram capturados ou criados, contaminação do ambiente de produção, falta de higiene na manipulação, processamento, armazenamento e venda dos produtos (ARAÚJO e NASCIMENTO, 2013).

Entre os patógenos mais envolvidos em doenças veiculadas por alimentos se destaca *Staphylococcus aureus*, considerado a terceira causa mais importante dos surtos relatados no mundo (CONTRERAS et al., 2015). A presença do microrganismo em alimentos geralmente tem como causa o processamento térmico ineficiente, condições higiênicas inadequadas, e/ou refrigeração inadequada após o preparo ou processamento (CONTRERAS et al. 2015). Destaca-se que no Japão, os microrganismos veiculados por peixes, incluindo *S. aureus*, são uma das principais causas de doenças veiculadas por alimentos, tanto pelo elevado consumo de peixe, como pela prática comum de consumir peixe cru pela população (HAMMAD et al., 2012).

Os surtos de origem alimentar causados por *S. aureus* vem sendo relatados ao longo dos anos e de 1998 a 2008, 87% dos pacientes dos Estados Unidos que

apresentaram vômito como sintoma, foram diagnosticados como infectados por *S. aureus* (MIAO et al., 2017).

Considerando a alta taxa de isolamento de *S. aureus* de alimentos e a ampla gama de casos de intoxicação alimentar pelo microrganismo, a espécie *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) vem sendo considerada como um importante microrganismo veiculado também pelos alimentos (LIU et al., 2016).

MRSA foi inicialmente reconhecido como importante causa de infecções em seres humanos associadas à área hospitalar (HA-MRSA), porém no final de 1990, as infecções começaram a surgir em comunidades com indivíduos saudáveis (CA-MRSA) (CALFEE, 2011). Mais recentemente, o microrganismo vem sendo isolado de alimentos de origem animal, inclusive de peixes (COSTA et al., 2015).

Vários países relatam problemas no cuidado à saúde humana causados por *S. aureus* e MRSA. Na América Latina, por exemplo, estudo da Avaliação e Vigilância de Tigeciclina (*Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial*) relata uma ocorrência de 48,3% de MRSA entre os isolados de *S. aureus* no período de 2004-2007. Já o Programa SENTRY de Vigilância Antimicrobiana na América Latina revelou aumento na ocorrência de MRSA de 33,8% em 1997 para 40,2% em 2006, chamando a atenção para a procedência das cepas, ou seja, 41% das cepas de MRSA isoladas eram procedentes do Brasil (MEJIA et al., 2010).

Nos Estados Unidos da América, *S. aureus* e MRSA causaram aproximadamente 80-100.000 infecções invasivas e 11-19.000 mortes por ano (BOUCHER e COREY, 2008). No Canadá, Austrália, Suécia e Dinamarca entre os anos 2000 e 2007, a taxa de mortalidade foi de 3,4 mortes/100.000 pessoas (3,1 por *Staphylococcus* sensível a meticilina (MSSA) e 0,3 por MRSA), com uma média de casos de fatalidade igual a 20,3% (20,2% por MSSA, 22,3% por MRSA) (TOM et al., 2014).

No Brasil os índices de isolamento de MRSA entre os pacientes de Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) são bastante elevados (40% a 80%) (VELOSO, 2016) e, embora exista um elevado índice de isolamento de MRSA na área clínica, observa-se atualmente um alto índice de isolamento de MRSA também em comunidades (CA-MRSA). Corroborando com essa constatação, Evangelista e Oliveira (2015) em seu estudo identificaram 21 casos de CA-MRSA que resultaram em hospitalização, com predominância em crianças, adolescentes e adultos com quadro de infecção de pele e tecidos moles, evoluindo para infecções graves relacionados ao clone *Oceania Southwest Pacific Clone* (OSPC). Os autores relatam que apesar do CA-MRSA ser

considerado um microrganismo de relevância mundial, existe escassez de dados publicados sobre sua epidemiologia no Brasil, o que dificulta o delineamento da realidade do país frente ao CA-MRSA.

O controle das infecções causadas por MRSA vem sendo cada vez mais difícil devido à resistência apresentada pelo *S. aureus* a muitos antimicrobianos (TRAVERSA et al., 2015). *S. aureus* isolado de pacientes pode ser classificado em duas categorias: pela origem do isolamento e pelo nível de resistência aos beta-lactâmicos. MRSA de origem hospitalar geralmente produz enterotoxinas e a toxina da síndrome do choque tóxico, e o CA-MRSA produz a toxina esfoliativa e a leucocidina denominada Panton-Valentine (HOSOSAKA et al., 2007; FERREIRA et al., 2014). A resistência aos beta-lactâmicos em *S. aureus* é mediada pelo gene *mecA*, que codifica a proteína 2a (PBP2a) encontrada na parede celular do microrganismo (TRAVERSA et al., 2015). Então, MRSA tem sido definido como *S. aureus* tendo o gene *mecA* ou mostrando uma concentração inibitória mínima (CIM) à oxacilina mais alta que 4 mg/L. Entretanto, alguns isolados clínicos são *mecA*-positivos e susceptíveis à oxacilina (HOSOSAKA et al., 2007).

Esse estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva, incluindo *Staphylococcus* resistente a meticilina em *sashimi* comercializado em restaurantes da culinária japonesa de Salvador, BA.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Amostragem

Um total de 127 amostras de *sashimi* foi investigado, sendo 47 amostras preparadas com atum e 80 com salmão, comercializadas em 16 restaurantes de comida japonesa e/ou oriental (taxa de adesão =30%), na cidade de Salvador, Bahia, no período de junho a outubro de 2016. Cada amostra consistiu de 100 g de *sashimi*, compreendendo de cinco ou seis fatias de filé de peixe cru, salmão ou atum, obtidas por filetagem pelos manipuladores de alimentos de cada estabelecimento, tradicionalmente chamados de *sushiman*. As amostras foram adquiridas em cinco visitas distintas a cada restaurante, pelo menos uma vez por semanal, sendo obtido *sashimi* preparado com as duas variedades de peixe ou ocasionalmente apenas com uma delas, atendendo à disponibilidade da matéria prima no restaurante no momento da visita.

## 2.2. Detecção de *Staphylococcus coagulase-positiva*

Para detecção de *Staphylococcus coagulase-positiva*, aproximadamente 25 g de cada alimento foram pesados em cabine de fluxo laminar (Labconco Corporation, Classe Iib Purificador Labconco, Escape Total, modelo 36210-04, certificado ISO 9002, Kansas City, MO, EUA) e adicionados a 225 ml de caldo Müeller-Hinton (Difco, Detroit, MI, EUA) suplementado com NaCl a 6,5%, e homogeneizado em *Stomacher* (240 bpm, modelo ITR 1204, série 126, Esteio, RS, Brasil) por 2 min e incubado a 37°C por 16 a 20 hs para o pré-enriquecimento. Para o enriquecimento, uma alíquota de 1 mL a 9 mL de caldo manitol vermelho de fenol (PHMB), (Acumedia, Brasil) contendo ceftizoxima (5 µg/mL) e aztreonam (75 µg/mL) (Sigma-Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente, alíquota do PHMB foi estriada na superfície do ágar manitol hipertônico (HMA) (Acumedia, Brasil), seguindo-se incubação por 24 horas a 37°C. Para confirmação da presença de microrganismo, cinco colônias típicas de *Staphylococcus* (amarelas e circulares) foram selecionadas e submetidas ao exame morfo-tintorial de Gram e aos testes da catalase e coagulase (adaptado de DE BOER et al., 2009).

## 2.3. Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos e detecção de MRSA

Colônias confirmadas como *Staphylococcus coagulase-positiva* foram reativadas *overnight* em caldo tríptico de soja (TSB) (Acumedia, Brasil) a 35°C, purificadas em ágar tríptico de soja (TSA), suspensas em solução salina fisiológica (NaCl 0,85%) e ajustadas a 0,5 na escala de McFarland (c.a 10<sup>8</sup> UFC). As suspensões celulares foram inoculadas com um suabe em ágar Müeller-Hinton (MHA) (Acumedia, Brasil) e após a secagem das placas em cabine de fluxo laminar, foram adicionados os seguintes antibióticos: penicilina G (PEN, 10 UI), eritromicina (ERI, 15 µg), tetraciclina (TET, 30 µg), oxacilina (OXA, 1 µg), cefoxitina (CEF, 30 µg), vancomicina (VCM, 30 µg) e ciprofloxacina (CIP, 5 µg) (CLSI, 2013) (Laborclin, Interlab, São Paulo, SP, Brasil). Para a detecção de MRSA, *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, foi usado como controle negativo e MRSA, ATCC 33591, como controle positivo.

As placas foram incubadas a 33-35°C por 16 a 18 horas e, passado esse período, realizada a leitura dos testes, de acordo com o tamanho dos halos formados ao redor do disco, em milímetros. Foram determinadas as frequências de sensibilidade,



sensibilidade intermediária e resistência para todos os antimicrobianos testados. Para a detecção de MRSA foram utilizados como marcadores os antimicrobianos cefoxitina e oxacilina (adaptado de DE BOER et al., 2009).

Segundo o protocolo do CLSI (2013), a cefoxitina é o antimicrobiano utilizado como substituto da oxacilina, portanto, para determinação de resistência ou sensibilidade do *S. aureus* à oxacilina, deve-se relatar o resultado com base no tamanho dos halos formados ao redor do disco de cefoxitina, em milímetros. No caso de se realizar o teste com os dois antimicrobianos (como realizado nesse estudo), se as cepas forem resistentes, o microrganismo deverá ser definido como resistente à oxacilina. Assim, nesse estudo os isolados que apresentaram resistência à cefoxitina e à oxacilina foram classificados como *Staphylococcus* coagulase-positiva resistentes à oxacilina.

## 2.4. Análise Estatística

Os dados obtidos na detecção de MRSA foram tabulados e analisados pelo programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 17.0 for Windows) conduzindo-se testes de associação de qui-quadrado de Pearson ( $X^2$ ) ou teste exato de Fisher, considerando-se nível de confiança de 0,95, para verificar a existência de associação entre o tipo de matéria prima utilizada no preparo do *sashimi* (atum ou salmão) e a presença de MRSA.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Detecção de *Staphylococcus* coagulase-positiva em *sashimi*

Entre os 16 restaurantes selecionados para o estudo, 6 (37,5%) apresentaram todas as amostras contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positiva. Entre esses, três restaurantes (A, B e F) eram usualmente frequentados por turistas que visitam a cidade de Salvador e outros três (E, H e M) se encontravam localizados em bairros com predominância de população de melhor poder aquisitivo, sendo que dois deles atendiam a clientela de dois grandes shoppings da cidade.

Verificou-se que entre as 47 amostras de *sashimi* preparadas com atum, 35 (74,5%) estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase-positiva, e em relação as

80 amostras preparadas com salmão, índice semelhante de detecção foi encontrado, ou seja, 58 (72,5%) apresentaram o microrganismo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva em amostras de *sashimi* a base de atum ou salmão, provenientes de restaurantes de comida japonesa e/ou oriental, situados no município de Salvador, BA.

Restaurantes	<i>Sashimi</i> de atum		<i>Sashimi</i> de salmão	
	Amostras (n)	<i>Staphylococcus</i>	Amostras (n)	<i>Staphylococcus</i>
		coagulase-positiva		coagulase-positiva
		Amostras positivas n (%)		Amostras positivas n (%)
A	5	5 (100)	5	4 (80)
B	—	—	5	5 (100)
C	—	—	5	4 (80)
D	—	—	5	4 (80)
E	5	5 (100)	5	5 (100)
F	—	—	5	5 (100)
G	—	—	5	4 (80)
H	5	5 (100)	5	5 (100)
I	5	4 (80)	5	4 (80)
J	—	—	5	2 (40)
L	5	4 (80)	5	3 (60)
M	5	5 (100)	5	2 (40)
N	5	2 (40)	5	3 (60)
O	5	3 (60)	5	2 (40)
P	2	1 (50)	5	3 (60)
Q	5	1 (20)	5	3 (60)
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>35 (74,5)</b>	<b>80</b>	<b>58 (72,5)</b>

n- número de amostras

Resultado semelhante ao desse estudo foi relatado por Hammad et al. (2012), onde 87% das amostras de peixe cru pronto para consumo (*sashimi*) estavam contaminadas pelo microrganismo. Estudo similar conduzido por Vázquez-Sánchez et al. (2012) na Galícia (Espanha) também relata a presença do microrganismo em peixe

cru e seus produtos, porém com apenas 25% das amostras contaminadas com o microrganismo. Em ambos estudos, os autores atribuíram a presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva nas amostras às falhas no processo de produção e distribuição dos alimentos, considerando que a bactéria não faz parte da microbiota normal de peixe (HAMMAD et al., 2012).

Em se tratando do presente estudo, durante a aquisição das amostras nos restaurantes foram observadas falhas no cumprimento das normas de Boas Práticas de Manipulação no preparo do *sashimi*, como por exemplo, o uso incorreto de tábuas de corte, utilização de panos para secar facas, uso de adornos por parte do manipulador, dentre outros. Essas inadequações provavelmente contribuíram para a alta taxa de detecção de *Staphylococcus* coagulase-positiva nas amostras.

Outros estudos relatando questão de segurança dos alimentos associados ao consumo de *sashimi* contaminados com *Staphylococcus aureus* foram realizados nos EUA, Hong Kong, Itália e Malásia (ADAMS et al., 1994; HKSAR, 2000; MUSCOLINO et al., 2014; PUAH et al., 2016), o que representa preocupação em vários países do mundo e a necessidade de diretrizes para garantir a segurança dos alimentos, principalmente, consumidos crus.

### **3.2. Susceptibilidade das cepas isoladas de *Staphylococcus* coagulase-positiva aos antimicrobianos e detecção de MRSA**

Um total de 163 isolados foi obtido de 93 (73,23%) amostras contaminadas por *Staphylococcus* coagulase-positiva e submetido ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.

O perfil de susceptibilidade dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positiva aos antimicrobianos é demonstrado na Tabela 2. Verifica-se que essas cepas, independentemente do tipo de peixe utilizado na preparação do *sashimi*, apresentaram resistência superior a 79% para penicilina G, enquanto que para os outros antimicrobianos foi observada susceptibilidade igual ou superior a 60%.

Em relação ao MRSA, verificou-se que a resistência apresentada pelas cepas de *Staphylococcus* coagulase-positiva aos marcadores cefoxitina e oxacilina (Tabela 2), foi encontrada em 22 (38%) isolados provenientes das amostras de *sashimi* preparados com atum, correspondentes a 17 (34,7%) amostras, e em 42 (40%) isolados de *sashimi* de salmão, correspondente a 32 (65,3%) amostras.

**Tabela 2.** Susceptibilidade de cepas de *Staphylococcus* coagulase-positiva isoladas de amostras de *sashimi*, a base de atum ou salmão, a antimicrobianos.

Perfil	Antibióticos						
	PEN G	ERI	TET	OXA	CEF	VCM	CIP
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
<b>Sashimi de Atum</b>							
Resistente	79,3 (46)	20,7 (12)	6,9 (4)	<b>38,0 (22)</b>	<b>38,0 (22)</b>	3,4 (2)	1,7 (1)
Intermediário	ND	8,6 (5)	6,9 (4)	ND	ND	ND	1,7 (1)
Susceptível	20,7 (12)	70,7 (41)	86,2 (50)	62,0 (36)	62,0 (36)	96,6 (57)	96,6 (57)
<b>Sashimi de Salmão</b>							
Resistente	80,0 (84)	9,5 (10)	12,4 (13)	<b>40,0 (42)</b>	<b>40,0 (42)</b>	ND	3,8 (4)
Intermediário	ND	6,7 (7)	3,8 (4)	ND	ND	ND	ND
Susceptível	20,0 (21)	83,8 (88)	83,8 (88)	60,0 (63)	60,0 (63)	100 (104)	96,2 (100)

ND = Não Detectado

Em negrito= marcadores Oxacilina e Cefoxitina

Embora as amostras de *sashimi* preparados com salmão apresentassem uma maior ocorrência de MRSA, não foi observada associação entre a contaminação por MRSA e o tipo de peixe usado no preparo do produto ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3).

Com relação à resistência apresentada pelas cepas isoladas à penicilina G, antibiótico comumente utilizado na medicina veterinária e na humana, Contreras et al. (2015) e Vázquez-Sánchez et al. (2012) também relataram a presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva resistentes ao antimicrobiano em alimentos. Esses resultados indicam a necessidade do controle no uso do antibiótico na profilaxia e na promoção do crescimento de animais.

**Tabela 3.** Análise bivariada entre a presença de MRSA em *sashimi* e o tipo de peixe utilizado para preparação.

Peixe	<i>Staphylococcus</i>	MRSA	P-valor <sup>1</sup>
	coagulase-positiva		
	(n) (%)	n (%)	
Atum	35 (74,5)	17 (34,7)	
Salmão	58 (72,5)	32 (65,3)	0,687
<b>Total</b>	<b>93 (73,23)</b>	<b>49 (52,7)</b>	

<sup>1</sup> teste qui-quadrado de associação

De acordo com o FDA (2015), agentes antimicrobianos como as penicilinas são rotineiramente misturados à ração animal para aumentar o peso e melhorar a saúde animal e vários pesquisadores tem se preocupado com o fato de que o uso indiscriminado dos antimicrobianos possa levar ao aumento de genes de resistência que podem ser disseminados entre humanos, com potencial também para gerar resíduos em tecidos animais e produtos de carne (LIPSITCH et al., 2002).

Em se tratando da criação de peixes em cativeiros, os antimicrobianos são utilizados na aquicultura não para promover o crescimento, mas sim para prevenir e tratar infecções bacterianas em peixes e invertebrados (CABELLO et al., 2013). No caso do salmão, o peixe se desenvolve em diferentes estágios, em água doce e salgada, e a manipulação para a transferência entre esses dois ambientes também aumenta o estresse e as oportunidades de infecção cruzada (CABELLO et al., 2013).

A aquicultura com o uso de agentes antimicrobianos em países desenvolvidos como Canadá, Noruega e Estados Unidos é limitada para evitar seleção de agentes patogênicos humanos resistentes a agentes antimicrobianos (CABELLO et al., 2013). Nesses países são permitidos apenas o uso da oxitetraciclina, quinolonas, sulfa/trimetoprima e derivados (CABELLO et al., 2013).

O uso de antimicrobianos em países onde o controle é menos rigoroso ou insuficiente representa preocupação (CABELLO et al., 2013), como é o caso do Chile, segundo maior produtor do salmão da aquicultura mundial (FAO, 2016) e exportador do peixe para o Brasil. Nesse país, é permitido o uso da amoxicilina, eritromicina e vários outros antimicrobianos, além da oxitetraciclina e quinolonas (CABELLO et al., 2013).

No caso do atum, outro peixe utilizado no preparo do *sashimi* investigado nesse estudo, o mesmo é obtido por captura em alto mar, tendo como provável contaminação as etapas do preparo do alimento, seja por outro tipo de peixe cru, por utensílios contaminados ou por mãos e fossas nasais de manipuladores colonizados.

Estudos conduzidos para avaliar a presença de MRSA em peixes relatam resultado similar aos encontrados nesse estudo, como aqueles relatados por Costa et al. (2015), com 30% das amostras de peixe cru e 22,2% de produtos de peixe prontos para o consumo contaminadas com o microrganismo. Hammad et al. (2012), por sua vez, relataram uma prevalência bem menor de amostras contaminadas com MRSA, apenas 5% e Vázquez-Sánchez et al. (2012) não detectaram o microrganismo em amostras de peixes.

Outros estudos também tem relatado a presença do microrganismo em produtos cárneos crus (CONTRERAS et al., 2015; COSTA et al., 2015; DE BOER et al., 2009; JACKSON et al., 2013; WATERS et al., 2011; WEESE et al., 2010), o que representa preocupação em vários países do mundo, considerando que o uso de antibióticos tem aumentado na produção animal, como relatou a *Food and Drug Administration*, ou seja, aumento de 22% na venda de antibióticos nos EUA, no período de 2009 a 2014 (FDA, 2015). Além disso, MRSA tem sido detectado em outros produtos de origem animal, como amostras de leite, 8,3% (BASANISI et al., 2017); tanque de armazenamento de leite, 0,77% (TRAVERSA et al., 2015). O microrganismo foi também detectado em 102 (12,9%) amostras de alimentos comercializados na Sicília (Itália), e em outros países como Austrália, Japão e Brasil foram encontrados índices semelhantes de isolamento (MIAO et al., 2017).

Apesar de ainda não se ter estudos conclusivos que comprovem que a disseminação de MRSA através dos alimentos possa levar a casos de infecção no homem, Kluytmans et al. (1995) relataram que o primeiro caso de infecção por MRSA através de alimentos ocorreu em 1995, em um hospital da Holanda, e resultou em um surto alimentar no hospital, com a ocorrência de óbito. Nesse estudo, o microrganismo foi isolado da orofaringe do manipulador de alimentos e do alimento servido.

Posteriormente, o isolamento da cepa de MRSA ST398 veio demonstrar a disseminação de MRSA entre homens e animais na Holanda (HUIJSDENS et al., 2006). Essa cepa, considerada específica de suínos, foi primeiramente descrita na Europa onde foi encontrada colonizando suínos e seus tratadores na Holanda e França, além de cães, suínos, cavalos e humanos na Alemanha e Áustria (HUIJSDENS et al., 2006; WITTE et al., 2007), e mais recentemente em suínos e tratadores no Canadá (KHANNA et al., 2008). Cerca de 20 a 80% desses animais carregam o patógeno em seu corpo sem desenvolverem infecções (GARDNER, 2010).

Entretanto, a principal preocupação, segundo Kluytmans et al. (1995), são os manipuladores de alimentos que ao manipularem essas carnes contaminadas com MRSA, colonizam suas mãos ou membranas mucosas e levam através da contaminação cruzada estes microrganismos a causarem infecções em outros seres humanos.

Ainda, é importante mencionar que existe um amplo consenso de que o uso de antimicrobianos fortalecem as bactérias portadoras de genes de resistência e que genes de resistência de bactérias oriundas da agropecuária podem ser transferidas para seres humanos. No entanto, os detalhes de como e com que frequência as bactérias e os genes

são transferidos dos animais para os seres humanos através desses sistemas (solo, água, animais selvagens, insetos, poeiras e alimento) permanecem indeterminados (DURSO e COOK, 2014).

Ainda quanto aos resultados encontrados nesse estudo, apesar das cepas de MRSA serem susceptíveis à vancomicina (98,8% dos isolados), droga de escolha na terapia utilizada para o controle da infecção por MRSA (PESAVENTO et al., 2007), corroborando com os estudos de Contreras et al. (2015) e Vázquez-Sánchez et al. (2012), é importante mencionar que em 2015 foram relatadas 14 cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina (VRSA) causando infecções em pacientes nos Estados Unidos (FRANCHI, 2016). No Brasil, ocorreu um caso recentemente em um paciente com infecção causada por MRSA susceptível a vancomicina, mas que adquiriu o gene *vanA* durante a terapia antibiótica e tornou-se resistentes à vancomicina (FRANCHI, 2016).

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesse estudo apontam uma elevada ocorrência de *Staphylococcus* coagulase-positiva nas amostras de *sashimi* demonstrando a possibilidade da veiculação do microrganismo para o homem através do consumo do alimento, indicando risco potencial de toxinfecção alimentar por *Staphylococcus*. Em adição, a alta ocorrência de MRSA no alimento comprova que *S. aureus* permanece como um dos patógenos mais comuns em alimentos, sugerindo provável ocorrência de falhas durante as etapas de manipulação.

O alto índice de cepas isoladas com resistência a penicilina alerta para a necessidade de melhoria no controle do uso de antimicrobianos na criação de peixes, evitando a propagação de microrganismos patogênicos e seus genes de resistência.

A constatação de que todas as cepas isoladas foram sensíveis à vancomicina é um dado confortante, pois vem reafirmar que o uso da vancomicina como antimicrobiano de escolha para o tratamento da infecção por MRSA está correto, apesar de alguns relatos de casos de resistência na literatura.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

(FAPESB) pela concessão da bolsa de estudos.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, A.M. et al. Anisakid parasites, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in *sushi* and *sashimi* from Seattle area restaurants. **Journal of Food Protection**, v. 57, p. 311–317, 1994.
- AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Data research of foodborne diseases outbreaks from state of Paraná – Brazil, in the period from 1978 to 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.
- ARAÚJO, M. F. M.; NASCIMENTO, V. S. F. Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 91-104, 2013.
- BASANISI, M. G. et al. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. **Food Microbiology**, v. 62, p. 141-146, 2017.
- BOUCHER, H. W.; COREY, G. R. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Disease**, v. 46, p. S344-9, 2008.
- BRASIL. Portal Brasil. **Produção de peixes no Brasil cresce com apoio de pesquisas da Embrapa**. Economia e Emprego. 2017. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa>. Acesso em: 10 fev. 2017.
- CABELLO, F. C. et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. **Environmental Microbiology**, v. 15, p. 1917-1942, 2013.
- CALFEE, D. P. The epidemiology, treatment, and prevention of transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Art and Science of Infusion Nursing*, v. 34, p. 359-364, 2011.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**; twenty-third informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute Document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2013.
- CONTRERAS, C. P. A. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw hamburgers and ready-to-eat sandwiches commercialized in supermarkets and fast food outlets in Brazil. **Food and Nutrition Sciences**, v. 6, p. 1324-1331, 2015.
- COSTA, W. L. R. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meats and prepared foods in public hospitals in Salvador, Bahia, Brazil. **Journal of Food Science**, 80, M147-M150, 2015.



DE BOER, E. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 52-56, 2009.

DURSO, L. M.; COOK, K. L. Impacts of antibiotic use in agriculture: what are the benefits and risks? **Current Opinion in Microbiology**, v. 19, p. 37-44, 2014.

EVANGELISTA, S. S.; OLIVEIRA, A. C. *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 68, n. 1, p. 136-43, 2015.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. Contributing to food security and nutrition for all**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 200 pp. 2016. Disponível em: [http://ec.europa.eu/fisheries/marine\\_species/farmed\\_fish\\_and\\_shellfish/salmon\\_pt](http://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/farmed_fish_and_shellfish/salmon_pt). Acesso em: 11 fev. 2017.

FDA. Food and Drug Administration. **Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals**. In: Services HaH, editor. 2015

FERREIRA, J. S. et al. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. **Food Control**, v. 37, p. 395–400, 2014.

FRANCHI, E. P. L. P. **Epidemiologia molecular e estudo dos fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina isolados de feridas em pacientes atendidos em unidades básicas de saúde da cidade de Botucatu**. 2016. 98f. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2016.

GARDNER, P. **MRSA st398 in food animals worrisome, expert says**. 2010. Disponível em: <http://animal-epidemics.blogspot.com.br/>. Acesso em: 19 mai. 2017.

HAMMAD, A. M. et al. Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, p. 286–289, 2012.

HOSOSAKA, Y. et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 13, p. 79-86, 2007.

HKSAR. Risk Assessment Studies Report No. 2. Microbiological Hazards Evaluation. **Sushi and Sashimi in Hong Kong**. 2000. Disponível em: [http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme\\_haccp/files/ss\\_ras2\\_eng.pdf](http://www.cfs.gov.hk/english/programme/programme_haccp/files/ss_ras2_eng.pdf). Acesso em: 19 mai. 2017.

HUIJSDENS, X. W. et al. Community-acquired MRSA and pigfarming. **Annals of Clinical Microbiology Antimicrobial**, v. 5, p. 26–29, 2006.

JACKSON, C. R.; DAVIS, J. A.; BARRETT, J. B. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, p. 1199-207, 2013.

KHANNA, T. et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. **Veterinary Microbiology**, v. 128, p. 298-303, 2008.

KLUYTMANS, J. et al. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno-and genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 1121-1128, 1995.

LIPSITCH, M.; SINGER, R. S.; LEVIN, B. R. **Antibiotics in agriculture: When is it time to close the barn door?** PNAS, Washington, v. 99, p. 5752-54, 2002.

LIU, J. et al. Staphylococcal chromosomal cassettes *mec*, (*scc mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, v. 101, p. 56–67, 2016.

MEJIA, C.; ZURITA, J.; GUZMAN-BLANCO, M. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 14, p. 79-86, 2010.

MIAO, J. et al. Formation and development of *Staphylococcus* biofilm: With focus on food safety. **Journal of Food Safety**, n. October 2016, p. 1–11, 2017.

MUSCOLINO, D. et al. Hygienic-sanitary evaluation of *sushi* and *sashimi* sold in Messina and Catania, Italy. **Italian Journal of Food Safety**, v. 3, p. 1701, 2014.

PESAVENTO, G. et al. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Food Control**, v. 18, p. 196–200, 2007.

PUAH, S. M.; CHUA, K. H.; TAN, J. A. M. A. Virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in ready-to-eat foods: Detection of *S. aureus* contamination and a high prevalence of virulence genes. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, p. 199, 2016.

TOM, S. et al. Case fatality ratio and mortality rate trends of community-onset *Staphylococcus aureus* bacteraemia. **Clinical Microbiology Infectious**, v. 20, p. O630-2, 2014.

TRAVERSA, A. A. et al. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and wild animal carcasses in Italy. **Food Microbiology**, v. 52, p. 154-158, 2015.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D. et al. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, p. 286–296, 2012.

VELOSO, J. O. **Prevalência e tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados de uma Unidade de Terapia Intensiva de um hospital escola do município de Goiânia, Goiás**. 2016. 87f. (Dissertação de Mestrado Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro). Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Goiânia, 2016.

WITTE, W. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, p. 255-258, 2007.

WATERS, A. E. et al. Multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US meat and poultry. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, p. 1227-30, 2011.

WEESE, J. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. **Canadian Veterinary Journal**, v. 51, p. 749-752, 2010.