



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANTONIO CLEYTON ARRUDA DE AZEVEDO COSTA

ESTAFILOCOCOS EM HAMBÚRGUER ARTESANAL

MOSSORÓ

2018

ANTONIO CLEYTON ARRUDA DE AZEVEDO COSTA

ESTAFILOCOCOS EM HAMBÚRGUER ARTESANAL

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva,

MOSSORÓ

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

C843e Costa, Antonio Cleyton Arruda de Azevedo.
ESTAFILOCOCCOS EM HAMBÚRGUER ARTESANAL / Antonio
Cleyton Arruda de Azevedo Costa. - 2018.
40 f. : il.

Orientador: Jean Berg Alves Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2018.

1. Doenças veiculadas por alimentos. 2.
Mecanismos Genéticos de Resistência. 3. Saúde
pública. 4. Enterotoxina estafilocócica. I. Silva,
Jean Berg Alves, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANTONIO CLEYTON ARRUDA DE AZEVEDO COSTA

ESTAFILOCOCOS EM HAMBÚRGUER ARTESANAL

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Defendida em: 31 / 10 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente

Maria Rociene Abrantes, Prof. Dr^a. (UFERSA)
Membro Examinador

Carlos Iberê Alves Freitas, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

À todos que não acreditaram que um dia eu iria passar em um curso de Pós-Graduação pública e muito menos me formar, bem como à todos que me ajudaram a seguir em frente e conseguir essa vitória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Maria Valéria por me incentivar a tentar a prova de Mestrado e dar total apoio aos estudos durante a graduação e o período de seleção do Mestrado.

Agradeço à minha mãe Iris Maria de Azevedo por estar sempre ao meu lado e incentivando a busca por conhecimento e falando que sempre dará certo as coisas que eu faço.

Agradeço à minha família por entender a importância dos meus estudos e sempre me apoiarem.

Agradeço à Maria Gabriela por me ajudar em todos os experimentos feitos e testados, nunca me abandonando e sempre sendo positiva, meu muito obrigado mesmo.

Agradeço o Orientador por, mesmo em meio às adversidades decorridas durante o Mestrado, continuar me orientando e sempre sendo positivo em relação ao término do Mestrado.

Agradeço à Banca Examinadora por contribuir para melhorar o desenvolvimento científico da Dissertação.

Agradeço aos meus Amigos e colegas de Laboratório (LIPOA), por sempre estarem me apoiando e sendo positivos nos vários experimentos testados e preocupações surgidas no percurso da minha caminhada no mestrado.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, por disponibilizar toda sua estrutura física e administrativa, tornando os momentos vividos nela únicos e proveitosos, contribuindo assim para minha formação acadêmica.

À Universidade Estadual de Campinas, por ceder os laboratórios para realização do meu experimento.

Aos Órgão de Fomento à Pesquisa, por proporcionar meios para o desenvolvimento da ciência e tecnologia do Brasil.

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e ter posto em minha vida pessoas tão importantes e significativas que me auxiliaram em todas as etapas para que este momento se realizasse.

Agradeço à todas as forças positivas e sobrenaturais que me ajudaram nesse percurso.

A TODOS, MEU MUITO OBRIGADO!

“Eu prefiro ser essa metamorfose ambulante,
do que ter aquela velha opinião formada sobre
tudo...”

(Raul Seixas)

RESUMO

O processamento dos produtos cárneos na indústria visa aumentar a vida útil do produto, bem como o aproveitamento integral das partes dos animais e dentre esses produtos cárneos, o hambúrguer deixa de ser coadjuvante e passar a ser um alimento principal devido a sua praticidade e características nutricionais, contudo devido à alta manipulação do alimento, ele fica sujeito à contaminação microbiológica por agentes deteriorantes e patogênicos, podendo acarretar doenças veiculadas por alimento, como as intoxicações estafilocócicas, além disso, alguns microrganismos patogênicos apresentam genes de resistência antimicrobiana o que gerar um problema de saúde pública relacionado à antibioticoterapia dos pacientes acometidos por doenças veiculadas por alimentos. Diante dessa problemática, o presente trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica dos hambúrgueres artesanais comercializados em Mossoró, RN e verificar o perfil molecular de produção de toxinas e de resistência antimicrobiana estafilocócica de nove estabelecimentos especializados em hambúrguer artesanal. Para alcançar os objetivos foi realizada a contagem de microrganismos mesófilos e estafilococos de hambúrguer artesanal mal passado comercializado em Mossoró, RN, bem como realizada a busca por genes de produção de enterotoxinas e o perfil de resistência antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados dos hambúrgueres. Após a realização das análises, constatou-se que todas as amostras apresentaram uma contaminação elevada de microrganismos mesófilos (5,2 a 6,7 log UFC/g). Já as contagens de estafilococos revelou que três estabelecimentos estavam fora dos padrões da legislação (3,7; 5,4; 4,3 log UFC/g), entretanto houve crescimento de estafilococos coagulase positiva em amostras de quatro estabelecimentos (1, 4, 5 e 7), dos quatro, três estabelecimentos (4, 5, 7), apresentaram um padrão genético para produção de enterotoxinas A e C e de resistência antimicrobiana MecA e MecC, sendo que o estabelecimento cinco apresentou dupla expressão de enterotoxinas e de gene de resistência antimicrobiana, já o antibiograma revelou que dos nove antibióticos testados, cinco já não apresentava mais ação contra os *Staphylococcus aureus* isolados os quatro estabelecimentos. Com isso pode-se inferir que, apesar da Legislação permitir um número máximo de microrganismos no alimento, os mesmos podem produzir toxinas e resistir à vários antibióticos de uso clínico, dificultando o tratamento do paciente, bem como que a manipulação e/ou armazenamento do alimento está sendo realizado de forma inadequada, sendo necessário uma rigidez maior nas boas práticas de manipulação, bem como na legislação.

Palavras-chave: Doenças veiculadas por alimentos. Microbiologia de Alimentos. Mecanismos Genéticos de Resistência. Enterotoxina estafilocócica.

ABSTRACT

The processing of meat products in the industry aims to increase the useful life of the product, as well as the full use of the parts of the animals and among these meat products, the hamburger stops being a coadjuvant and become a main food due to its practicality and nutritional characteristics, due to the high manipulation of the food, it is subject to microbiological contamination by deteriorating and pathogenic agents, which may lead to food-borne diseases, such as staphylococcal intoxications. In addition, some pathogenic microorganisms present antimicrobial resistance genes which generate a public health related to the antibiotic therapy of patients affected by food-borne diseases. In view of this problem, the present work aimed to evaluate the microbiological quality of the handcraft hamburgers commercialized in Mossoró, RN and to verify the molecular profile of toxin production and staphylococcal antimicrobial resistance of nine establishments specializing in handcraft hamburger. To achieve the objectives, the counts of mesophilic microorganisms and staph was successfully carried out in Mossoró, RN, as well as the search for enterotoxin production genes and the antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from hamburgers. After the analysis, all samples showed high contamination of mesophilic microorganisms (5.2 to 6.7 log CFU / g). *Staphylococcal* counts showed that three establishments were outside the standard (3.7, 5.4, 4.3 log CFU / g), but there was growth of coagulase positive staphylococci in samples from four establishments (1, 4, 5 and 7) from the four, three, four, five, seven, seven, five, seven, seven, five, seven, seven, seven, of antimicrobial resistance, and the antibiogram revealed that of the nine antibiotics tested, five no longer had any action against the *Staphylococcus aureus* isolated the four establishments. With this, it can be inferred that, although the legislation allows a maximum number of microorganisms in the food, they can produce toxins and resist the various antibiotics of clinical use, making it difficult for the patient to be treated, as well as the manipulation and / or storage of the food is being carried out in an inadequate manner, requiring greater rigidity in good handling practices, as well as in legislation.

Keywords: Foodborne diseases. Food Microbiology. Genetic Resistance Mechanisms. Staphylococcal enterotoxina.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Média dos dados da contagem de microrganismos mesófilos de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN..... 34
- Tabela 2. Contagem e provas bioquímicas de triagem para confirmação de estafilococos coagulase positiva e presuntivas para *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN 35
- Tabela 3. Avaliação da presença de enterotoxinas A, C, D e E e presença de gene de resistência microbiana *mecA* e *mecC* de *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN 37
- Tabela 4. Avaliação do perfil de resistência à antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN. Dados em halos em mm 37

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 A carne bovina no consumo humano	14
2.1.1 Hambúrguer	15
2.2 Doenças veiculadas por alimentos	16
2.3 Microrganismos deteriorantes e patogênicos	18
2.4 Resistência microbiana	21
2.4.1 Mecanismos de ação dos antibióticos.....	21
2.4.2 Mecanismos de resistência microbiana	22
2.4.2.1 Alteração de permeabilidade da membrana plasmática	22
2.4.2.2 Mecanismos enzimáticos	22
2.4.2.3 Bomba de efluxo	23
2.4.2.4 Alteração do sítio de ação	23
2.4.3 Fatores de resistência microbiana.....	23
2.5 Boas práticas de manipulação	24
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2	30
RISCO DE INTOXICAÇÃO E RESISTÊNCIA ESTAFILOCÓCICA AO CONSUMO DE HAMBÚRGUER ARTESANAL COMERCIALIZADO EM MOSSORÓ, RN	30
1 INTRODUÇÃO.....	31
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
2.1 Obtenção e processamentos das amostras	32
2.2 Análise microbiológica	33
2.2.1 Análise de microrganismos mesófilos	33
2.2.2 Análise microbiológica de estafilococos coagulase positiva.....	33
2.2.2.1 Provas bioquímicas para estafilococos coagulase positiva	33
2.2.2.2 Análise molecular	34

2.2.2.3 <i>Análise de resistência antimicrobiana</i>	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	38

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O processamento da carne exerce uma função primordial para a indústria, a qual preconiza, além da qualidade e segurança do alimento, o aumento na vida útil dos produtos cárneos e também possibilita o aproveitamento integral das partes do animal, principalmente daquelas de difícil comercialização (MANSO, 2014). Nesse sentido, os derivados de carne vêm apresentando significativa expansão e alta competitividade na última década, uma vez que o consumo de produtos cárneos como salsichas, linguiças, mortadelas, hambúrgueres, entre outros, tornou-se parte do hábito alimentar de uma parcela considerável de consumidores brasileiros (HUE, 2011).

Com a crescente industrialização dos produtos cárneos e empresas de *fast food* o hambúrguer passa de um alimento coadjuvante a um alimento popular devido à praticidade que representa para o consumidor, uma vez que, estes produtos são uma ótima opção diante da crescente necessidade de minimizar o tempo de preparo dos alimentos, principalmente para a população dos grandes centros urbanos (PINHEIRO et al., 2008), além disto, possui nutrientes que além de nutrir, saciam a fome e é uma alternativa para o aproveitamento de carnes menos nobres (COSTA, 2004; ARISSETO, 2003).

Porém, este produto está sujeito aos mesmos problemas presentes na carne moída, tais como surtos de infecção, toxinfecções alimentares e perda das características de qualidade por ação de microrganismos deteriorantes. Isto provavelmente se dá por, além de não ter outra proteção eficiente além do frio, as carnes possuem elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento de microrganismos e elevado percentual de proteínas, minerais e vitaminas, tornando-as excelentes meios de cultura para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (SILVA JUNIOR, 2005; CARDOSO; ARAÚJO, 2003).

Sendo o hambúrguer um produto submetido a um processo de manipulação excessiva com problemático sistema de conservação, favorecendo sua contaminação por patógenos. Consequentemente, torna-se necessária a avaliação de sua qualidade higiênico-sanitária do ponto de vista microbiológico a fim de garantir que o consumo ocorra de forma segura e livre de contaminação (FORTUNA; NASCIMENTO; FRANCO, 2013).

Dentre os problemas microbiológicos causados pela contaminação do produto cárneo, a infecção, intoxicação e a veiculação de agentes toxinfecantes é um problema de saúde pública, uma vez que, esse tipo de contaminação alimentar pode causar uma série de

problemas à saúde, sendo caracterizada como doenças transmitidas/veiculadas por alimentos (DTA/DVA) (SILVA JUNIOR, 2005). Contudo, apesar das constantes intervenções no controle higiênico sanitário dos alimentos, essas doenças ainda apresentam alta incidência, sendo consideradas uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, gerando elevados custos em saúde pública e social, o que reforça a importância do cuidado e garantia na preparação de alimentos seguros ao consumo humano (SOUSA, 2017).

Frente à importância em saúde pública, os Órgãos de Saúde Pública, preconizaram o quantitativo e/ou ausência dos principais agentes microbiológicos causadores de infecção, intoxicação e toxicoinfecção contaminantes dos produtos cárneos (BRASIL, 2001). Contudo, esses microrganismos podem apresentar resistência à uma série de antibióticos, dificultando o tratamento do paciente acometido pela infecção por esses microrganismo e para fins de diagnóstico e aplicação de um antimicrobiano adequado é importante traçar o perfil desses microrganismos frente a sua presença e sua resistência à antibioticoterapia. (RAPINI et. al., 2004; CASTRO et. al., 2002).

Diante disso, a presente pesquisa buscou avaliar a qualidade microbiológica dos hambúrgueres artesanais comercializados em Mossoró, Rio Grande do Norte, bem como verificar o perfil molecular de produção de toxinas e de resistência antimicrobiana estafilocócica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A carne bovina no consumo humano

A carne bovina é um dos produtos alimentícios mais consumidos no mundo, pois esse alimento exerce uma contribuição nutricional muito importante na dieta humana, uma vez que o seu elevado teor de aminoácidos essenciais, alta digestibilidade e presença de minerais auxiliarão nos processos fisiológicos requeridos pelo organismo, fazendo com que haja um bom funcionamento do mesmo (LAWRIE, 2005; KOBLIZT, 2010).

Além dos aspectos nutricionais, a qualidade da carne também é avaliada pela cor e maciez. A cor é uma das características primordiais na intenção de compra do consumidor, podendo ela valorizar o produto, sendo seu efeito contrário também notável, já a maciez pode ser atribuída à percepção sensorial que o consumidor tem do produto, nela será avaliado a resistência à língua, à pressão do dente, aderência e resíduo pós mastigatório (MUCHENJE et al., 2009).

A diferenciação do sabor, aparência, origem, durabilidade, estilo ou método de produção, torna-se uma estratégia mercadológica para agregação de valor do produto por parte da indústria, porém o consumo da carne irá variar de acordo com as características do produto (sensorial, nutricional), características dos consumidores (conveniência da compra, preço, cultura) e características próprias do ambiente (clima, região, legislação), sendo a sua aceitabilidade feita após o consumo, é nessa etapa que o consumidor irá decidir se o produto é macio e suculento e, conseqüentemente, se voltará a comprar o produto (MARCHESI, 2013).

2.1.1 Hambúrguer

O hambúrguer é um produto cárneo industrializado, obtido de carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado (BRASIL, 2000). Este alimento se tornou popular pela praticidade que representa, pois possui nutrientes que alimentam e saciam a fome rapidamente, o que combina com o estilo de vida de quem se instala em centros urbanos (PINHEIRO et al., 2008).

O hambúrguer artesanal, caracterizado pelo preparo diferenciado das fabricações industriais, por apresentarem um *blend* e temperos diferenciados, porém originais, tornou-se mais popular devido à expansão, principalmente, dos *food trucks*. Outro aspecto inerente aos hambúrgueres artesanais é o modo de cocção do hambúrguer, já que ao ser consumido, o cliente pode escolher o ponto da carne, tornando-o ainda mais versátil (BURGID, 2018).

Os pontos da carne variam *bleu* até bem passada, porém os pontos mais pedidos são mal passada, ao ponto e bem passada. Na carne mal passada a superfície fica bem grelhada/opaca e o miolo ainda consegue manter a estrutura original, mantendo grande parte do seu suco e o vermelho vivo, seu tempo de cocção varia entre 2 a 3 minutos de cada lado, sendo sua temperatura torno de 52 a 55°C. Apreciadores de carne dizem que o ponto mal passado é o ideal de quem realmente gosta do sabor. Nas carnes ao ponto, a carne fica macia ao toque, especialmente no centro, sua temperatura varia entre 60 a 65°C, já nas carnes bem passadas não existe sucos no interior que encontra-se ressecado e sua temperatura deve ser maior ou igual a 70°C (GONÇALVES; LEMOS, 2005)

Porém, este produto está sujeito aos mesmos problemas presentes na carne moída, tais como as surtos de toxinfecções alimentares e perda das características de qualidade por ação de microrganismos deteriorantes. Isto provavelmente se dá por, além de não ter outra proteção eficiente além do frio, as carnes possuem elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento de microrganismos e elevado percentual de proteínas, minerais e vitaminas,

tornando-as excelentes meios de cultura para o desenvolvimento de patógenos e microrganismos deteriorantes (CARDOSO; ARAÚJO, 2003)

A carne moída, em particular, apresenta maiores problemas microbiológicos que os cortes, por sofrer maior manipulação e possuir maior relação área/ volume (SOUSA et al., 2012). Sendo a carne moída um alimento muito perecível, o prolongamento de sua vida útil é um objetivo importante para os produtores e para efeito de controle desses microrganismos algumas técnicas de conservação de alimento vêm sendo empregadas, como o uso de atmosfera modificada, conservação por calor e frio, controle de umidade, adição de solutos entre outros produtos e processos (GAVA, 2008).

Contudo, a alta manipulação e o processo de conservação inadequado, fazem com que esse alimento esteja sujeito a uma contaminação microbiológica por microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos suficientes para causar problemas na saúde do consumidor. Além disso, com o uso irracional de antimicrobianos, os microrganismos veiculados por esse alimento pode apresentar um perfil de resistência microbiano, fazendo com que o tratamento dos distúrbios gastrointestinais causados pela infecção, intoxicação e/ou toxinfecção seja dificultado (CARDOSO; ARAÚJO, 2003; CASTRO et. al., 2002).

2.2 Doenças veiculadas por alimentos

As doenças de origem alimentar ocorrem quando indivíduos adquirem uma enfermidade ocasionada pela ingestão de alimentos contaminados com microrganismo ou toxinas indesejáveis (FORSYTHE, 2005). Elas possuem uma alta prevalência em função de diversos fatores do estilo de vida da população, fatores estes decorrentes das alterações nos hábitos alimentares devido ao crescente acesso e consumo de alimentos em via pública, que por consequência gera um grande exposição ao consumo de alimentos inseguros, a produção e distribuição de alimentos em grandes demandas, o que pode prejudicar a forma de conservação desses alimento, a utilização de novas práticas de preparo dos alimentos, tais como o consumo de alimentos crus ou mal passado, localização de estabelecimentos em áreas sem infraestrutura de saneamento básico, a falta de informação sobre higiene básica na manipulação dos alimentos. Além disso, o baixo controle dos órgãos públicos e privados no que se refere à qualidade dos alimentos ofertados às populações também influenciarão direta e/ou indiretamente a ocorrência dessas doenças (SOUZA, 2017).

A tipologia das doenças veiculadas por alimentos variam de acordo com os agentes e sintomatologia clínica do paciente, sendo elas classificadas como microbiológica (toxinoze/intoxicação; infecção; toxinfecção), químicas (intoxicação) e naturalmente

presentes nos alimentos (intoxicação), sendo a terminologia, doenças veiculadas por alimentos, mais frequentemente utilizada em doenças causadas por microrganismos presentes no alimento (MIDIO; MARTINS, 2000).

Nas doenças causadas por microrganismos a denominação toxinose/intoxicação é dada quando ocorre a ingestão de alimentos contaminados com toxinas bacterianas pré-formadas de bactérias toxinogênicas neste alimento, a infecção é quando ocorre a multiplicação de microrganismos patogênicos no trato gastrointestinal, onde os mesmos podem agredir o epitélio do trato gastrointestinal e a toxinfecção, quando ocorre a ingestão de quantidades aumentadas de bactérias que irão liberar toxinas no trato gastrointestinal (BRASIL, 2008).

A intoxicação causada pela ingestão de agentes químicos presente nos alimentos, como agrotóxicos, pesticidas, raticidas, detergentes, metais pesados, entre outros, bem como a ingestão de aminas biogênicas, aminas, vasopressoras ácido, glicosídeos cianogênicos, presentes naturalmente em alimentos também caracteriza uma doença veiculada por alimentos (MIDIO; MARTINS, 2000).

No tocante do ambiente de processamento dos alimentos, diversos estudos têm demonstrado que a contaminação dos alimentos, que por conseguinte ocorrência de doenças veiculadas por alimentos, ocorrem por consequência, em grande parte, da não execução de regras básicas de higiene e de segurança alimentar durante todo processo de manipulação e conservação dos alimentos, tais como falhas na cadeia de conservação a frio dos alimentos, o descongelamento inadequado, alimentos deixados a temperatura ambiente, o preparo de alimentos com muita antecipação, o aquecimento ou cocção insuficiente, a utilização de matéria prima contaminada ou de má procedência, as deficiências no processo de limpeza e desinfecção de utensílios, equipamentos e instalações, a contaminação intencional ou acidental de substâncias químicas tóxicas aos alimentos e o emprego de água contaminada cuja potabilidade não é controlada (KOHL et al., 2002; BRASIL, 2010).

Já no que diz respeito a manipulação do alimento a higiene pessoal é um dos fatores mais importantes relacionados às possíveis causas de contaminação microbiológica do alimento, pois, muitas vezes, a higiene pessoal dos manipuladores limita-se apenas no cuidado com a lavagem das mãos, porém, qualquer manipulação inadequada realizada pelo manipulador acarreta em fator de risco (SILVA, 2006).

O manipulador de alimentos é um agente muito importante dentro da cadeia de produção de alimentos como agente veiculador de microrganismos contaminantes nos alimentos, por facilmente servir como um agente disseminador de patógenos (através das

mãos, ferimentos, boca, nariz, pele, cabelo, entre outros) contribuindo para contaminação dos produtos manipulados e consumidos pela população, uma vez que, bactérias patogênicas podem ser encontradas nas mãos dos manipuladores após o uso de sanitários, durante a manipulação de alimentos crus (principalmente alimentos de origem animal) e até mesmo ao tocar superfícies e utensílios contaminados. (SOUZA, 2006).

As doenças veiculadas por alimentos pode acometer qualquer indivíduo, porém a suscetibilidade de adquirir essas doenças é mais prevalente em grupos de alto risco, caracterizados por depressão do sistema imune, como, crianças menores de 5 anos, idosos, gestantes, indivíduos em uso de terapias medicamentadas (quimioterapia, transplantes), ou, ainda, portador da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (BRASIL, 2010). Contudo, apesar de notar-se que a mortalidade e letalidade das DVAs são baixas, pois depende das condições do paciente, agente etiológico e do acesso aos serviços de saúde, elas causam um considerável índice de morbidade, associada com perda de trabalho e outras atividades (SOUZA, 2017).

O quadro clínico do paciente que fez a ingestão do alimento contaminado varia de acordo com agente etiológico envolvido e a quantidade de microrganismos e/ou toxinas que o indivíduo ingeriu, contudo, sintomatologia geral vai de um leve desconforto intestinal até quadros extremamente sérios, como desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (BRASIL, 2010).

2.3 Microrganismos deteriorantes e patogênicos

Os microrganismos deteriorantes, são microrganismos que, através de seus metabólitos, alteram as características organolépticas do alimento, tornando-o impróprio para o consumo e a deterioração dos produtos cárneos é fortemente determinada pelo crescimento de bactérias na superfície da carne, pois o tecido interno do músculo é considerado estéril até o momento do corte e essas bactérias presentes na carne, ao passar pelo processo de moagem, no caso dos hambúrgueres, acabam contaminando toda a matéria-prima (ALCANTARA; MORAIS; SOUZA, 2012; CARDOSO; ARAÚJO, 2003).

Os tipos de microrganismos deterioradores que se desenvolvem em carnes resfriadas são determinados pelas condições de estocagem, ou seja, pela atmosfera e temperatura que o alimento está submetido. Dentre os microrganismos envolvidos na deterioração os microrganismos aeróbios mesófilos permite avaliar informações sobre a qualidade de produtos, sendo estas alteradas de acordo com a práticas de fabricação/manipulação e a

qualidade das matérias-primas o que estipula também a validade comercial do produto (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Tais informações tornam-se útil na avaliação da qualidade do produto, pois altas contagem dessas bactérias podem estar relacionadas com as deficiências e/ou falha nas condições sanitárias do local/manipulador, no controle do processamento da carne, na qualidade dos ingredientes e no armazenamento inadequado do produto/matéria-prima, uma vez que, esses microrganismos possuem uma temperatura ótima de 20 a 40°C, temperatura essa influenciada diretamente pelos fatores supracitados (SILVA et al., 2007).

Os microrganismos patogênicos em alimentos são aqueles que causam infecção, toxinfecção ou intoxicação ao ingerir o alimento, sendo caracterizada essa ação de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) e dentre esses microrganismos, o *Staphylococcus aureus* está presente em vários casos de intoxicação alimentar devido as suas enterotoxinas (JAY, 2005; PRADO et al., 2015)

Os *Staphylococcus* spp. são bactérias com características morfológicas de cocos e propriedades tintoriais de gram-positivos, pertencem à família *Staphylococcaceae*, quanta ao tipo de respiração microbiana eles são categorizados com anaeróbicos facultativos, não possuem motilidade, não produtores de esporos e são comumente divididos em coagulase negativa e positiva. Os estafilococos coagulase negativos estão subdividido em mais de dez espécies e os estafilococos coagulase positivos divididos em quatro espécies: *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hycuse* e *S. delphinie*, sendo eles diferenciados com base em provas bioquímicas e biologia molecular (CARMO et al., 2002; HUYGENS et al., 2006).

Esses microrganismos são amplamente distribuídos tanto no meio ambiente, quanto fazem parte da microbiota dos seres humanos, principalmente na microbiota da pele, mucosas e cavidade nasal. Porém, os microrganismos que colonizam a cavidade nasal tem uma maior relevância, pois essa área oferece condições adequadas para crescimento, armazenamento e disseminação de *Staphylococcus* patogênicos (SANTANA et al., 2010).

Os estafilococos coagulase positiva são agentes microbianos responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, por serem normalmente transmitidos aos alimentos. Essa intoxicação se dá pela ingestão de enterotoxinas pré-formadas nos alimentos contaminados por esses microrganismos, a qual pode continuar viável ou não dependendo das condições intrínsecas e extrínsecas do alimento. Dentre as espécies de estafilococos coagulase positiva, o *Staphylococcus aureus* é a espécie com maior importância no que diz respeito a doenças veiculadas por alimentos, sendo responsável por 98% dos casos de surto de intoxicação/infecção alimentar (PRADO et al., 2015) e essa contaminação por esse agente

patológico se dá, em grande parte, pelos manipuladores de alimentos, seja por defeito na manipulação, má higienização, binômio tempo temperatura, falta de conhecimento e tantos outros problemas que interferem na produção, transporte, compartilhamento, ou comercialização do alimento (SOUSA et al., 2018).

Essa intoxicação por *Staphylococcus aureus*, é atrelada a produção de uma ampla variedade de exoproteínas, enzimas, citotoxinas, hemolisinas (alfa, beta, gama e delta), nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase que contribuem para sua capacidade de colonizar e causar doenças em hospedeiros mamíferos, uma vez que, essas exoproteínas atuam na conversão dos tecidos locais dos hospedeiros em nutrientes necessários para o crescimento bacteriano (DINGES et al., 2000).

Além disso, essas exoproteínas podem conferir toxinas ao microrganismo, tais como a toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1) e as enterotoxinas estafilocócicas (SEA, SEB, SEC₍₁₋₃₎, SED, SEE, SEG, SEH e SEI). Sendo que cada uma dessas toxinas pode exibir pelo menos três propriedades fisiotoxicológica no organismo, como por exemplo a capacidade de induzir a febre no hospedeiro (pirogenicidade), a capacidade de estimulação exacerbada de produção de anticorpos (superantigenicidade) e capacidade de aumentar a letalidade da endotoxina (RIVA et al., 2015).

Várias são as condições necessárias para que ocorra produção de enterotoxina nos alimentos, dentre as principais que o alimento forneça condições para o crescimento bacteriano, como temperatura e teor de água satisfatório, e que as cepas presentes tenham característica enterotoxigênica. A produção de enterotoxinas é influenciada pela temperatura, pH, aw, tamanho do inóculo, fonte de carbono e nitrogênio, concentração de sal e condições do substrato. Em temperaturas ótimas, a enterotoxina torna-se detectável entre 4 a 6 horas (PRADO et al., 2015)

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas simples de baixo peso molecular (26.000 -34.000 kDa) resistentes à hidrólise pelas enzimas gástricas e jejunais, pertencem a uma grande família de toxinas pirogênicas e são produzidas em maior abundância em temperaturas de 37°C, contudo ela podem ser produzidas também a temperaturas de 25 a 35°C, porém em quantidades menores. Essas enterotoxinas apresentam caráter de termorresistência, tolerando temperaturas de até 100°C por até 30 minutos, resistentes as enzimas gástricas do homem, se mantem presentes nos alimentos até pós-processamento, podendo causar uma intoxicação alimentar (CARMO et al., 2002).

Estas toxinas podem causar choque tóxico e estão geralmente associadas com intoxicações alimentares e reações alérgicas e doenças autoimunes, sendo a quantidade

mínima de 200ng capaz de gerar essas sintomatologias em humanos. (BALABAN; RASOOLY, 2000; JAY, 2005).

Outra preocupação decorrente da ingestão de alimentos contaminados por estafilococos coagulase positiva é a resistência microbiana aos antibióticos de uso clínico apresentada por eles, através, principalmente, da produção de genes de resistência à antibióticos, os quais conferirão enzimas capazes de degradar os antibióticos utilizados, tornando a antibioticoterapia dificultada (SOUZA; REIS; PIMENTA, 2005).

Os genes *mecA* e *mecC* conferem ao microrganismo uma potencial resistência a ao antibióticos β -lactâmicos, sendo estes, denominados como meticilinas resistentes (MRSA). A resistência à meticilina é o traço de resistência clínica mais importante adquirido por *S. aureus*, pois é capaz de conferir resistência cruzada a virtualmente todos os antibióticos β -lactâmicos, os quais representam a classe de antibióticos mais comumente prescrita na clínica e as infecções por MRSA continuam a representar um dos principais desafios para o controle de doenças infecciosas (KIM et al., 2012; PATERSON et al., 2014).

O gene *mecC*, homólogo ao gene *mecA* e descoberto recentemente (2011), apresenta problemas de diagnóstico, uma vez que ele apresenta divergência de sequências nucleotídicas como o gene *mecA* fazendo com que os ensaios de reação de cadeia em polimerase dessem ausência do gene *mecA* e conseqüentemente ausência de resistência a meticilina gerando importantes conseqüências o tratamento pacientes e para a vigilância de MRSA, sendo a presença de ambos os genes de suma importância para a clínica (DUPIEUX et al., 2017).

2.4 Resistência microbiana

Em termos de saúde pública, a resistência bacteriana representa um risco à qualidade de vida humana, comprometendo o orçamento dos sistemas de saúde, sejam eles públicos ou privados (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Tendo em vista tal problema a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, por meio do Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde (BRASIL, 2017), relata que o combate à emergência e propagação de bactérias resistentes aos antimicrobianos e ao desenvolvimento de novos mecanismos de resistência requer uma abordagem conjunta de vários segmentos governamentais e da sociedade, além de envolver a necessidade de proposição de políticas que resultem em um amplo investimento em pesquisas, na aquisição de tecnologias e no desenvolvimento de recursos humanos.

2.4.1 Mecanismos de ação dos antibióticos

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento bacteriano (bacteriostático) ou causar a morte bacteriana (bactericida) através de mecanismos que irão atuar na inibição da síntese da parede celular; Inibição da síntese ou dano da membrana citoplasmática; Inibição da síntese proteica nos ribossomas; Alterações na síntese dos ácidos nucleicos; Alteração de metabolismos celulares (SILVA, 2010).

2.4.2 Mecanismos de resistência microbiana

A resistência microbiana aos antibióticos é conferida pela expressão de genes de resistência, que individualmente ou em conjunto, determinam o funcionamento dos mecanismos de resistência, como as modificações bioquímicas e/ou estruturais dos antibióticos, bem como modulação de receptores, da permeabilidade da membrana externa e aumento do efluxo das drogas promovendo falha no mecanismo de ação do antibiótico. Essas características de resistência naturais são passíveis de transferência entre os microrganismos (resistência adquirida) por meio do plasmídeo e de transposons, o que gera maiores problemas no tratamento com antibióticos (BAPTISTA, 2013).

2.4.2.1 Alteração de permeabilidade da membrana plasmática

O mecanismo de resistência pela alteração da permeabilidade da membrana plasmática é visto principalmente em bactérias gram-negativas, pois possuem uma membrana extra na constituição de sua parede celular, tornando esse mecanismo quase exclusivo das bactérias gram-negativas. Além dessa camada extra as bactérias podem modular as porinas, proteínas de membranas que auxilia a passagem de fármacos hidrofílicos por difusão passiva, fazendo com que essas porinas tornem-se mais seletivas ou até mesmo podem bloquear a produção dessas porinas. Este mecanismo pode afetar principalmente a entrada de antibióticos beta-lactâmicos e de fluoroquinolonas (PAGES; JAMES; WINTERHALTER, 2008).

2.4.2.2 Mecanismos enzimáticos

Nos mecanismos de ação enzimáticos das bactérias para resistirem aos antibióticos produzem substâncias que irão degradar ou alterar a estrutura química do antibiótico, essas enzimas degradadoras de antibióticos inativa-os pela catálise hidrolítica das moléculas dessas drogas. Essas enzimas pertencem à diversas classes como por exemplo: as penicilinases, cefalosporinases, cefamicinases, beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e carbapenemases cada uma produzidas por microrganismos diferentes, contudo o gene de

produção dessas enzimas podem ser compartilhados entre espécies, tornando um microrganismo sensível em um resistente. Já as alterações na estrutura química dos antimicrobianos são realizadas por enzimas que atuam na transferência de grupos químicos para a molécula da droga ou atuam inativando aminoglicosídeos, fenicóis e macrolídeos (RICE, 2012; DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008).

2.4.2.3 Bomba de efluxo

O mecanismo de bomba de efluxo é algo natural da célula bactéria, ela é responsável por expulsar substâncias tóxicas do seu interior para o meio extracelular, contudo a hiperexpressão dessas bombas ou a hiperatividade delas fazem com que os fármacos antimicrobianos sejam um problema clínico, conferindo resistência a antibioticoterapia do paciente acometido pela infecção com um microrganismos com a superprodução ou superatividade dessas bombas (LI; PLESIAT; NIKAIDO, 2015).

2.4.2.4 Alteração do sítio de ação

Outro mecanismos de resistência microbiana é a alteração, por mutação, bloqueio ou proteção, dos sítios de ação dos antibióticos e como os antibióticos são dependentes desses sítios para exercer sua função, a alteração desses sítios conferirão resistência antimicrobiana. Os principais genes mutados descritos na literatura são: genes *gyrA* e/ou *parC*, alteração nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), o gene *mecA* e *mecC* que codifica uma PBP alterada, os genes *vanA*, *vanB* ou *vanC*. Já um exemplo de proteção desses sítios de ação é a produção de enzimas denominadas Qnr, a qual é mediada pelo gene adquirido PMQR, que se ligam e protegem a DNA topoisomerase tipo II contra a ação das quinolonas diminuindo a sensibilidade destas bactérias aos antibióticos dessa classe (DZIDIC; SUSKOVIC; KOS, 2008).

2.4.3 Fatores de resistência microbiana

Dada a importância clínica de uma infecção e uma possível resistência à antibiótico terapia alguns autores descreveram alguns fatores que podem influenciar a resistência das bactérias ao antimicrobianos, sendo eles divididos em fatores ambientais, tais como a mutação espontânea e/ou recombinação gênica, criando variantes genéticas resistentes à uma série de antibióticos e fatores humanos como o uso abusivo, indiscriminado e/ou automedicação, bem como o uso incorreto (dose/tempo) de antibióticos selecionarão microrganismos resistentes e

em casos de reincidência desses microrganismos, com um tempo, o antibiótico não fará mais efeito e terá que ser substituído por outros mais potentes o que pode influenciar no surgimento de bactérias super-resistentes (SANTOS, 2002).

Esse grave problema de resistência bacteriana deve ser prevenido e para tanto, os Órgãos de saúde Pública incluíram os antibióticos na lista dos medicamentos controlados, sendo necessária a retenção da receita ao realizar a compra do medicamento. Outras medidas tomadas são a educação em saúde referente ao uso irracional de antibióticos e seus risco tanto para os profissionais em saúde quanto para a população, bem como o incentivo à pesquisas de novos fármacos antimicrobianos (ZIMERMAN, 2010; BRASIL, 2011)

2.5 Boas práticas de manipulação

As Boas Práticas de Manipulação são normas/procedimentos que visa o controle das condições operacionais destinadas a garantir que a elaboração e o produto final sejam seguros para o consumo e essas práticas vão desde a aquisição da matéria-prima até a exposição do produto nos pontos de venda, passando por processos de qualidade durante a produção e não mais apenas sobre o produto final (RÊGO, 2004).

Os pontos avaliados nas Boas Práticas de Manipulação geralmente estão atrelados a higiene pessoal, do local de processamento, dos utensílios e qualidade da matéria-prima. Esses pontos são avaliados por meio de check-list, avaliação física-química da matéria-prima e microbiológica (ARAÚJO; MACHADO; MOLIN, 2012).

A contagem microbiana no produto final reflete a qualidade da matéria-prima, a aplicação e cuidados nos métodos de limpeza do local de processamento, se a manipulação está sendo realizada corretamente, bem como revela se o tempo e temperatura usadas durante a produção está adequada e conseqüentemente se o transporte e/ou estocagem do alimento serão afetados (NASCIMENTO; OLIVEIRA; NASCIMENTO, 2005).

Medeiros e colaboradores (2017), em suas pesquisas verificaram que, apesar dos manipuladores demonstrarem conhecimento sobre as boas práticas de manipulação/fabricação, as análises microbiológicas dos utensílios, ambiente de trabalho e vestimenta não condiziam com esse conhecimento, pois houve contaminação por microrganismos patogênicos nesses locais, fortalecendo a relevância de análises microbiológicas periódicas, juntamente com o controle mais rigoroso dos indicadores de qualidade na manipulação/fabricação de alimentos, bem como capacitações constantes dos manipuladores.

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; SOUZA, C. M. O. C. C. Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 6, n. 1, p. 1 – 18, 2012.
- ARAÚJO, E. S.; MACHADO, M. V. G.; MOLIN, C. T. **Manual de Boas Práticas de Manipulação em Alimentos**. São Paulo: Núcleo Técnico de Comunicação em Vigilância em Saúde, 2012. 81 p.
- ARISSETO, A. P. **Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito**. São Paulo, 2003. 145 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2003.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p.1 - 10, 2000.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Lisboa, 2013. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Plano Nacional para a Prevenção e o Controle da Resistência Microbiana nos Serviços de Saúde**. Brasília, 2017. Disponível em: < <https://bit.ly/2PFUO3b>>. Acesso em 08 de outubro de 2018.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 20, de 05 maio de 2011. **Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação**. Diário Oficial da União, Brasília, n. 87 de 05 de Maio de 2011.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 20, de 31 de Julho de 2000. **Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer**. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de Agosto de 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**, Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 210 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas Por Alimentos**. 2010. Disponível em: < http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_prevencao_doencas_alimentos.pdf > Acesso em: 01 outubro 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella**. Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 60 p.

BURGERID. História do hambúrguer: da sua criação até os dias atuais, *Gastronomia*, 2018. Disponível em: < <https://bit.ly/2HsuRnS>>. Acesso em: 18 de janeiro de 2019.

CARDOSO, L.; ARAUJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em carnes comercializadas no Distrito Federal no período de 1997 – 2001. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 113, p. 12 - 19, 2003.

CARMO, L. S.; et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 9 – 14, 2002.

CASTRO, M. S.; et al. Tendências na utilização de antimicrobianos em um hospital universitário, 1990-1996. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 5, p. 553 - 558, 2002.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 2, p. 45 – 57, 2017.

COSTA, L. O. **Processamento e diminuição do reprocesso do hambúrguer bovino**. Goiás, 2004. 127p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Católica de Goiás, 2004.

DINGES et al. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 13, p. 16 - 34, 2000.

DUPIEUX, C.; et al. Detection of *mecC*-Positive *Staphylococcus aureus*: What To Expect from Immunological Tests Targeting PBP2a. **Journal of Clinical Microbiology**, n. 55, v. 6, p. 1961 - 1963, 2017.

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology Biotechnology**, v. 46, n. 11, p. 11 – 21, 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 602 p.

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

GAVA, A. J. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Livraria Nobel S.A, 2008. 512 p.

GONÇALVES, J. R.; LEMOS, A. L. S. C. efeitos do grau de cozimento na qualidade de cortes de *Supraspinatus* acondicionado a vácuo em embalagem cook-in. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 358 – 362, 2005.

HUE, C. K. **O mercado de frios no brasil: uma estimação de demanda a partir de um modelo aids em três estágios**. 2011. 61 p. Dissertação (Mestrado em Economia), Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas. São Paulo - SP. 2011.

HUYGENS, F.; et al. *Staphylococcus aureus* genotyping using novel real-time PCR formats. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 10, p. 3712 - 3719. 2006.

JAY, J. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005, 2011 p.

KIM, C.; et al. Properties of a novel PBP2A protein homolog from *Staphylococcus aureus* strain LGA251 and its contribution to the β -lactam-resistant phenotype. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 44, p. 36854 – 36863, 2012.

KOBLIZT, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 242 p.

KOHL, K.; et al. Relationship between home food-handling practices and sporadic salmonellosis in adults in Louisiana, United States. **Epidemiology and Infection, England**, v. 129, n. 2, p. 267 - 276, 2002.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.

LI, X. Z, PLESIAT, P.; NIKAIDO, H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 2, p. 337 – 418, 2015.

MANSO, I. J. **Avaliação do crescimento de bactérias ácido lácticas em salsichas recobertas com filme comestível contendo nanopartículas de prata**. 2014. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia dos Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão - PR. 2014.

MARCHESI, A. F. L. M. **Análise da produção de uma indústria e do consumo de carne bovina premium no Estado do Rio Grande do Sul**. 2013. 76 p. Monografia (Bacharelado em Administração) – Departamento de Ciências Administrativas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2013.

MEDEIROS, M. G. G. A.; CARVALHO, L. R.; FRANCO, R. M. Percepção sobre a higiene dos manipuladores de alimentos e perfil microbiológico em restaurante universitário. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 2, p. 383 - 392, 2017.

MIDIO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 227 p.

MUCHENJE, V.; et al. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 279 - 289, 2009.

NASCIMENTO, M. G. F.; OLIVEIRA, C. Z. F.; NASCIMENTO, E. R. Hambúrguer: evolução comercial e padrões microbiológicos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. v. 23, n. 1, p. 59 – 74, 2005.

PAGES, J. M.; JAMES, C. E.; WINTERHALTER, M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. **Nature reviews Microbiology**, v. 12, n. 6, p. 893 – 903, 2008.

PATERSON, G.K.; HARRISON, E.M.; HOLMES, M.A. The Emergence of *mecC* Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**. v. 22, n. 1, p. 42 – 47, 2014.

PINHEIRO, R. S. B.; et al. Composição Química e Rendimento da carne ovina *in natura* e assada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28 (Supl.), p. 154 - 157, 2008.

PRADO, R. R.; et al. *Staphylococcus* spp.: importantes riscos à saúde pública. **PubVet**, v. 9, n. 8, p. 363 – 368, 2015.

RAPINI, L.S.; et al. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**, v. 56, n. 1, p. 130 - 133, 2004.

RICE, L. B. Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to betalactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 87, n. 2, p. 198 – 208, 2012.

RIVA, A.; et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Milk: Prevalence, SCCmec Typing, Enterotoxin Characterization, and Antimicrobial Resistance Patterns. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 6, p. 1142 – 1146, 2015.

SANTANA, E. H. W.; et al. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545 – 554, 2010.

SANTOS, N. Q. **O uso indiscriminado de antibióticos e a ecologia das bactérias - antibiótico - resistentes associadas à problemática da infecção hospitalar: conhecimento e prática de profissionais de saúde, a luz da ética da responsabilidade de Hans Jonas**. Santa Catarina, 2002. 312 p. Tese (Doutorado em Enfermagem), Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**, 6. ed. São Paulo: Varela, 2005. 623 p.

SILVA, L. F. **Procedimento Operacional Padronizado de Higienização como requisito para segurança alimentar em unidade de alimentação**. 2006. 71 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SILVA, N.; et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007, 536 p.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 582 p.

SOUSA, T. M. G.; et al. Gênero *Staphylococcus* spp.: Presença e Transmissão Via Manipuladores de Alimentos. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. 1, p. 24 – 327, 2018.

SOUSA, T. M.; et al. Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitárias em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 2, p. 124 - 130, 2012.

SOUZA, A. M. **Doenças transmitidas por alimentos: Fatores associados às contaminações e principais bactérias causadoras de surtos alimentares**. Lauro de Freire, 2017. 38p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Nutrição), União Metropolitana de Educação e Cultura, 2017.

SOUZA, L. H. L. A manipulação inadequada dos alimentos: Fator de contaminação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 146, n. 20, p. 32 - 39, 2006.

SOUZA, M. V.; REIS, C.; PIMENTA, F. C. Revisão sobre a aquisição gradual de resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos. **Revista de Patologia Tropical**. v. 34, n. 1, p. 27 – 36, 2005.

ZIMERMAN, R. A. **Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos estratégicos/MS, 2010. Disponível em: <<https://bit.ly/2NRaaA8>>. Acesso em 8 de outubro de 2018.

CAPÍTULO 2

RISCO DE INTOXICAÇÃO E RESISTÊNCIA ESTAFILOCÓCICA AO CONSUMO DE HAMBÚRGUER ARTESANAL COMERCIALIZADO EM MOSSORÓ, RN

RISK OF ESTAFILOCOCCAL INTOXICATION TO THE CONSUMPTION OF HAMBURGER HANDCRAFT IN MOSSORÓ, RN

Resumo: O presente estudo teve por objetivo avaliar o risco de intoxicação e resistência estafilocócica a partir do perfil de contaminação, da presença de genes de produção de enterotoxinas e de genes de resistência microbiana de *Staphylococcus aureus* em hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN, bem como a qualidade microbiológica do alimento. Para tanto, em vinte e sete amostras de hambúrguer artesanal de nove estabelecimentos, foram empregadas as técnicas moleculares, antibiograma e provas bioquímicas para triagem das colônias de *Staphylococcus aureus* e realizada a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos. Após as análises, três estabelecimentos (4, 5 e 7) apresentaram um quantitativo de colônias acima do permitido pela legislação (3,6 log UFC/g), contudo quatro estabelecimentos (1, 4, 5 e 7) apresentaram padrão bioquímico para o microrganismo pesquisado, desses quatro um estabelecimento (7) apresentou o gene de resistência mecA e enterotoxina A, um estabelecimento (4) o gene de resistência mecC e enterotoxina A, um estabelecimento (5) apresentou ambos os genes de resistência e enterotoxinas e um estabelecimento (1) não apresentou nenhum gene de resistência e produção de enterotoxina. Já o perfil de resistência avaliado pelo antibiograma dos quatro estabelecimentos apresentaram resistência à cinco dos nove antibióticos testados. A presença de *Staphylococcus aureus* com genes de resistência à alguns antibióticos de uso clínico e genes de produção de enterotoxinas é alarmante, pois tais características influenciam negativamente o quadro clínico do paciente acometido pela intoxicação estafilocócicas.

Palavras-chaves: *Staphylococcus aureus*. Saúde pública. Resistência microbiana.

Abstract: The present study aimed to evaluate the risk of intoxication and staphylococcal resistance from the contamination profile, the presence of enterotoxin production genes and microbial resistance genes of *Staphylococcus aureus* in artisanal hamburgers commercialized in Mossoró, RN, as well as the microbiological quality of the food. For this purpose, twenty-seven samples of artisanal hamburgers from nine establishments were used, molecular techniques, antibiogram and biochemical tests were used to screen the colonies of *Staphylococcus aureus* and counts of aerobic mesophilic microorganisms. After analysis, three establishments (4, 5 and 7) had a higher number of colonies than allowed by legislation (3.6 log CFU / g); however, four establishments (1, 4, 5 and 7) had a biochemical (7)

presented the resistance gene *mecA* and enterotoxin A, an establishment (4) the resistance gene *mecC* and enterotoxin A, an establishment (5) presented both resistance genes and enterotoxins and an establishment (1) did not show any resistance and enterotoxin production genes. The resistance profile evaluated by the antibiogram of the four establishments showed resistance to five of the nine antibiotics tested. The presence of *Staphylococcus aureus* with resistance genes to some clinical antibiotics and enterotoxin production genes is alarming, since these characteristics negatively influence the clinical picture of the patient affected by staphylococcal intoxication.

Key-words: *Staphylococcus aureus*, Public health, Microbial resistance.

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças transmitidas por alimentos vem aumentando com o passar do tempo gerando problemas que afeta a saúde pública, o bem-estar, a economia, a sociedade e a própria indústria de alimentos e essa crescente ocorrência está ligada diretamente ao processamento, armazenamento e principalmente à manipulação inadequada (SOUSA et al., 2018).

Dentre os alimentos propícios à veiculação de doenças microbianas, o hambúrguer, alimento bastante popular devido à sua praticidade, tanto no preparo quanto na aquisição, e por possuir nutrientes que além de nutrir, saciam a fome, apresenta um cuidado redobrado em seu processamento e manipulação, pois, semelhantes a carne moída, possui elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento de microrganismos e elevado percentual de proteínas, minerais e vitaminas, tornando-os excelentes meios nutricionais para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, acarretando o aumento das chances de surtos de infecção, intoxicação e toxinfecções alimentares, bem como alterações das características organolépticas e de qualidade do produto por ação de microrganismos deteriorantes (CARDOSO; ARAÚJO, 2003; ARISSETO, 2003; COSTA, 2004; SILVA JUNIOR, 2005).

Na microbiologia de alimentos, em termos gerais, as contaminações alimentares por microrganismos diversos são indesejados e inclusive nocivos ao consumidor. Tendo em vista isso, é notável a importância que esse aspecto é encarado com rigor que, para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas, as quais influenciam direta ou indiretamente em contaminações alimentares, os estudos voltados à compreensão e caracterização de grupos

de microrganismos, desde aqueles considerados indicadores fecais, como também para os patogênicos até mesmo a liberação de substâncias tóxicas é de suma relevância (MELO; COSTA, 2009).

Dentre os microrganismos envolvidos nos surtos alimentares, o *Staphylococcus aureus* apresenta uma grande importância de caráter higiênico-sanitário e de saúde pública, uma vez que, esses microrganismos, quando presentes em populações elevadas (10^5 - 10^6 UFC/mL⁻¹ ou g⁻¹) e sob condições adequadas (temperatura, pH, atividade de água e O₂), produzem e liberam nos alimentos uma ou mais toxinas, as quais depois de ingeridas podem causar intoxicação (BORGES et al., 2008).

Frente a tal importância, os Órgãos de Saúde Pública, preconizaram o quantitativo de 5×10^3 estafilococos coagulase positiva por grama de alimento (BRASIL, 2001). Contudo, esse microrganismo pode apresentar resistência à uma série de antibióticos e produzir enterotoxinas, dificultando o tratamento do paciente acometido por esse microrganismo. E para fins de diagnóstico e aplicação de um antimicrobiano adequado é importante traçar o perfil desses microrganismos frente a sua presença e sua resistência à antibioticoterapia. (CASTRO et al., 2002; RAPINI et al., 2004).

Diante do exposto, avaliar o risco de intoxicação e resistência estafilocócica a partir do perfil de contaminação, da presença de genes de produção de enterotoxinas e de genes de resistência microbiana de *Staphylococcus aureus* em hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN é de suma importância.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Laboratórios da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Campus Mossoró e no Laboratório da Universidade Estadual de Campinas. Todas as análises foram realizadas em triplicata e em períodos diferentes. Os dados foram expressos em tabelas e a unidade representativa foi de log de unidades formadoras de colônia por grama (logUFC/g).

2.1 Obtenção e processamentos das amostras

Foram obtidos hambúrguer artesanal mal passado de 9 estabelecimentos distintos, especializados ou não em produção de hambúrguer artesanal, totalizando 27 hambúrguer. Após a coleta do material, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Campus

Mossoró, em suas embalagens originais, acondicionadas em uma caixa térmica estéril. No laboratório foram realizados os testes microbiológicos para detecção e quantificação de microrganismos mesófilos e estafilococos coagulase positiva.

2.2 Análise microbiológica

2.2.1 Análise de microrganismos mesófilos

Inicialmente, o hambúrguer, passou por um processo de homogeneização em sacos plásticos estéreis, posteriormente foram pesados 25 gramas da carne e homogeneizadas em 225mL de Água Peptonada para obtermos a diluição 10^{-1} e a partir desta, foram realizadas diluições seriadas até a diluição 10^{-4} . Posteriormente, foi adicionado 0,1 mL de cada diluição em placas de Petri contendo cerca de 20 mL de meio *Plate Count Agar* (PCA), previamente esterilizado e fundido conforme o método de *Spread-plate*. Após esse processo, as placas foram incubadas em estufa para cultura bacteriológica, a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas e feita a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, sendo os resultados expressos em logUFC/g (BRASIL, 2003).

2.2.2 Análise microbiológica de estafilococos coagulase positiva.

Os hambúrguer, após processo de homogeneização em sacos plásticos estéreis, foram pesados, 25 gramas, e homogeneizados em 225mL de Água Peptonada para obtermos a diluição 10^{-1} e a partir desta, foram realizadas diluições seriadas até a diluição 10^{-4} . Posteriormente, foi adicionado 0,1 mL de cada diluição em placas de Petri contendo cerca de 20 mL de meio *Baird Parker* (BP), previamente esterilizado e fundido conforme o método de *Spread-plate*. Após esse processo, as placas foram incubadas em estufa para cultura bacteriológica, a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas e feita a contagem da colônias típicas e atípicas, sendo os resultados expressos em logUFC/g (SANTANA; AZEREDO, 2005).

2.2.2.1 Provas bioquímicas para estafilococos coagulase positiva

Após a contagem das colônias típicas, aquelas circulares, lisas, convexas, 2-3mm de diâmetro, negras com textura úmida, bordas esbranquiçadas e rodeadas por uma zona opaca e frequentemente com um halo transparente e das colônias atípicas, aquelas negras ou acinzentadas com um, dois ou sem halos, selecionou-se cerca de 5 colônias típicas e 5 colônias atípicas e transferiu-se essas colônias para tubos contendo caldo BHI (*Brain Heart*

Infusion) e incubou-se a 35-37°C/24h (SANTANA; AZEREDO, 2005). Decorrida as 24 horas, foram realizados os teste de Catalase, Coagulase, DNase, observação morfológica e Coloração de Gram conforme as metodologias de Zurita, Mejía, Guzmán-Blanco (2010) e Sunita e colaboradores (2015).

2.2.2.2 *Análise molecular*

As amostras de estafilococos isolados foram encaminhadas para um laboratório da Universidade Estadual de Campinas, no qual foram realizadas análises moleculares para identificação dos microrganismos enviados, a fim de avaliar a presença de *Staphylococcus aureus*. As amostras contendo *Staphylococcus aureus*, foram submetidas a uma análise molecular para identificação do gene de resistência a antimicrobianos (MecA e MecC), bem como o gene de produção de enterotoxinas A, C, D e E conforme metodologia de Candido (2018).

2.2.2.3 *Análise de resistência antimicrobiana*

As colônias positivas para *Staphylococcus aureus* foram submetidas ao teste de antibiograma em difusão de disco (Kirby e Bauer), conforme metodologia de Laborclin (2011) para detectar a resistência microbiana para os antibióticos penicilina, cefoxitina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, cloranfenicol, tobramicina, tetraciclina e gentamicina.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após a avaliação e tabulação dos dados, obtivemos a Tabela 1 a qual descreve a média da contagem microbiana das colônias de microrganismos aeróbios mesófilos das amostras de hambúrguer artesanal mal passado comercializados em Mossoró, Rio Grande do Norte (RN).

Tabela 1. Média dos dados da contagem de microrganismos mesófilos de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN

	Estabelecimentos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Mesófilos (log UFC/g)	6,7	6,7	6,7	5,4	6,7	5,2	6,2	6,7	6,7

Ao analisar os dados tabelados, percebe-se que todas as amostras dos nove estabelecimentos apresentaram elevadas quantidades de colônias de microrganismos aeróbios mesófilos, contudo a legislação não preconiza seus valores máximos.

Em contra partida, alguns autores relatam que quantidades a partir de 5 log UFC/g de bactérias aeróbias mesófilas em alimentos indica estado de deterioração desse alimento, o que torna o alimento inviável para seu consumo, uma vez, que há uma alteração nas características organolépticas do alimento, sendo ele mais passível de rejeição (SANTANA; VIEIRA; PINTO, 2015) e como todos os estabelecimentos apresentaram uma média de contaminação microbiana acima de 5 log UFC/g (Tabela 1) a qualidade do produto, possivelmente, está bastante depreciada, já que, mesmo após a cocção, o quantitativo de microrganismos mesófilos apresentam-se elevados.

Na Tabela 2 estão descritas a contagem microbiana das colônias de estafilococos e as provas bioquímicas de triagem para confirmação de estafilococos coagulase positiva e presuntivas para *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, Rio Grande do Norte (RN).

Tabela 2. Contagem e provas bioquímicas de triagem para confirmação de estafilococos coagulase positiva e presuntivas para *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN

Estabelecimentos	Estafilococos (log UFC/g)	Catalase	DNase	Coagulase	Morfologia	Coloração
1	2,9	+	+	3+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
2	2,0	+	-	2+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
3	5,4	+	+	2+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
4	3,7	+	+	3+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
5	5,4	+	+	3+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
6	2,4	+	-	2+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
7	4,3	+	+	3+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
8	1,4	+	-	2+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻
9	4,4	+	-	2+	Cocos em cachos Bacilos	G ⁺ G ⁻

* G⁺: Gram positivo; G⁻: Gram negativo.

A legislação brasileira preconiza um quantitativo de 3,6 log UFC/g ou mL de estafilococos coagulase positiva, e ao verificar os dados dispostos na Tabela 2 dos 9 estabelecimentos, 5 deles (3; 4; 5; 7 e 9) apresentaram-se acima do permitido pela legislação, contudo ao realizarmos as provas bioquímicas de triagem para estafilococos coagulase positiva, quatro estabelecimentos (1, 4, 5 e 7) apresentaram amostras positivas para o microrganismo pesquisado.

A amostra 1, apesar de ser presuntiva para estafilococos coagulase positiva, estava dentro do quantitativo permitido pela legislação. As amostras de estafilococos coagulase positivo (1, 4, 5 e 7) ao serem submetidas à análise molecular confirmou-se que esses microrganismos são *Staphylococcus aureus*.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positivo em algumas amostras podem representar indício de condições inadequada de processamento e/ou armazenamento do hambúrguer, pois esses microrganismos fazem parte da microbiota normal das mucosas, da pele e cabelos de humanos e podem ser transmitido aos alimentos por contato direto ou indireto (GERMANO; GERMANO, 2015), já um armazenamento inadequado pode conferir temperatura e umidade adequadas para o crescimento desse microrganismo (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Oliveira e colaboradores (2008) justificam que a contaminação por esses microrganismos indicam que higienização inadequada das máquinas de moer e das mão dos manipuladores, estaria sendo responsável pelo significativo aumento da contagem de microrganismos deteriorantes e patogênicos na maioria das amostras das carnes após a moagem e manipulação tornando-os, muitas vezes, impróprios para o consumo humano.

Já Silva Junior (2005), em suas pesquisas relatou que são diversas as fontes de contaminação microbiana de alimentos, dentre elas ele frisa o dos tocar dos alimentos após a cocção ou alimentos já desinfetados, higiene pessoal precária, tossir e espirar sob os alimentos, aquecimento inadequado ou utilizar panos para o contato com os alimentos.

Na Tabela 3 pode-se observar os dados referentes a avaliação da presença das enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus aureus* das classes A, C, D e E, bem como a presença dos genes de resistência microbiana mecA e mecC.

Tabela 3. Avaliação da presença de enterotoxinas A, C, D e E e presença de gene de resistência microbiana *mecA* e *mecC* de *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN

Estabelecimentos	Enterotoxinas				Gene de resistência	
	A	C	D	E	<i>mecA</i>	<i>mecC</i>
1	-	-	-	-	-	-
4	-	X	-	-	-	X
5	X	X	-	-	X	X
7	X	-	-	-	X	-

Dos genes avaliados, as amostras do estabelecimento 1 não apresentaram nenhum gene de resistência, tampouco de produção de enterotoxinas. As amostras do estabelecimento 4 apresentaram genes de produção da enterotoxinas C e gene de resistência *mecC*, as amostras do estabelecimento 7 apresentaram genes de produção de enterotoxinas A e de resistência *mecA*, já as amostras do estabelecimento 5 apresentaram dois genes de produção de enterotoxinas (A e C) e apresentou dupla resistência (*mecA* e *mecC*).

Como as amostras do estabelecimento 1 continham poucos microrganismos, quando comparado aos outros estabelecimentos, possivelmente não havia dentre os microrganismos avaliados um produtor de enterotoxina tipo A, já que ela é a mais comum de ser encontrada em cepas de *Staphylococcus aureus* seguida pelo tipo B, D, C e E. Já a dupla expressão de enterotoxinas e de genes de resistência *MecA* e *C* é mais difícil de encontrar e essa condição faz com que aumente os efeitos tóxicos do microrganismo, bem como aumenta a resistência aos antibióticos de uso clínico e dificulta o diagnóstico de *Staphylococcus aureus* metilinas resistentes (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; KIM et al. 2012; DUPIEUX et al., 2017).

Na Tabela 4 os dados descritos demonstram o teste antibiograma para avaliação do perfil de resistência à antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN.

Tabela 4. Avaliação do perfil de resistência à antibióticos de *Staphylococcus aureus* isolados das amostras de hambúrguer artesanal comercializados em Mossoró, RN. Dados em halos em mm

Amostra	Resistência à antibióticos								
	TET	CLO	CEF	PEN	OXA	GEN	TOB	ERI	CLI
1	30 ^S	30 ^S	0 ^R	0 ^R	0 ^R	14 ^I	16 ^S	12 ^R	0 ^R
4	32 ^S	27 ^S	19 ^R	25 ^R	0 ^R	23 ^S	25 ^S	30 ^S	21 ^S
5	27 ^S	28 ^S	0 ^R	0 ^R	0 ^R	18 ^S	20 ^S	0 ^R	0 ^R
7	27 ^S	28 ^S	15 ^R	0 ^R	0 ^R	21 ^S	23 ^S	0 ^R	0 ^R

S: Sensível; R: Resistente; I: Intermediário. TET: Tetraciclina; CLO: Cloranfenicol; CEF: Cefoxitina; PEN: Penicilina; OXA: Oxacilina; GEN: Gentamicina; TOB: Tobramicina; ERI: Eritromicina; CLI: clindamicina.

Todas as amostras apresentaram perfil de resistência aos antibióticos semelhantes, havendo diferença só na amostra 5, a qual apresentou sensibilidade para eritromicina e clindamicina, enquanto que as amostras 1, 6 e 8 apresentaram resistência a esses antibióticos.

Tais dados vão de encontro com o perfil do gene de resistência *mecA* e *mecC* descrito na literatura, porém percebe-se que a amostra 1, embora não apresente tais genes também mostrou-se resistente aos mesmos antibióticos, possivelmente por mecanismos diferentes da síntese de PBP_{2A} (SOUZA et al., 2006).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a importância de se ter um alimento de qualidade, a presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes nas amostras coletadas reflete que os mesmos não estão sendo processados e/ou manipulados de forma adequada. Com isso é importante o emprego de boas práticas de manipulação de alimentos mais rigorosas, bem como a realização do processo de cocção mais adequadamente.

Embora a Legislação permita uma quantidade mínima da presença de *Staphylococcus*, foi visto que os mesmos, além de resistência à alguns antibióticos de uso clínico, produzem enterotoxinas, podendo gerar problemas na antibioticoterapia do paciente acometido por doenças veiculadas por alimentos, bem como gerar quadros de intoxicação grave.

REFERÊNCIAS

ARISSETO, A. P. **Avaliação da qualidade global do hambúrguer tipo calabresa com reduzidos teores de nitrito**. São Paulo, 2003. 145 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2003.

BORGES, M. F.; et al. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1431 - 1438, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Diário Oficial da União, Brasília, p.14, 26/ago, seção 1, 2003.

CANDIDO, T. J. S. **Fatores de virulência e subtipagem de *Staphylococcus aureus* isolados de laticínios orgânicos e convencionais no Estado de São Paulo**. Campinas, 2018. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2018.

CARDOSO, L.; ARAUJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em carnes comercializadas no Distrito Federal no período de 1997 – 2001. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 113, p.12 - 19, 2003.

CASTRO, M. S.; et al. Tendências na utilização de antimicrobianos em um hospital universitário, 1990-1996. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 5, p. 553 - 558, 2002.

COSTA, L. O. **Processamento e diminuição do reprocesso do hambúrguer bovino**. Goiás, 2004. 127 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Católica de Goiás, 2004.

DUPIEUX, C.; et al. Detection of *mecC*-Positive *Staphylococcus aureus*: What To Expect from Immunological Tests Targeting PBP2a. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 1961 - 1963, 2017.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1315 - 1320, 2004.

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

GERMANO, M. P. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2015. 1112 p.

KIM, C.; et al. Properties of a novel PBP2A protein homolog from *Staphylococcus aureus* strain LGA251 and its contribution to the β -lactam-resistant phenotype. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 44, p. 36854 – 36863, 2012.

LABORCLIN, 2011. **Manual para antibiograma: Difusão em disco (Kirby & Bauer)**. Disponível em: < <https://bit.ly/2p66q3E>>. Acesso em 20 de janeiro de 2019.

MELO, A. C. M.; COSTA, A. F. N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo minas padrão comercializado na cidade de São Luis, MA, **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 547 – 551, 2009.

OLIVEIRA, M. M. M.; et al. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 8, n. 6, p. 1893 – 1898, 2008.

RAPINI, L.S.; et al. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**, v. 56, n. 1, p. 130 - 133, 2004.

SANTANA, A. S.; AZEREDO, D. R. P. Comparação entre o sistema Petrifilm RSA e a metodologia convencional para a enumeração de estafilococos coagulase positiva em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 531 - 535, 2005.

SANTANA, F. A.; VIEIRA, M. C.; PINTO, U. M. Qualidade microbiológica de sanduíches de estabelecimentos com serviço tipo *delivery*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 156 – 61, 2015.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**, 6. ed. São Paulo: Varela, 2005. 623 p.

SOUSA, T. M. G.; et al. Gênero *Staphylococcus* spp.: Presença e Transmissão Via Manipuladores de Alimentos. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. 1, p. 24 – 327, 2018.

SOUZA, L. H. L. A manipulação inadequada dos alimentos: Fator de contaminação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 146, n. 20, p. 32- 39, 2006.

SUNITA, S. C.; et al. Demonstration of Deoxyribonuclease Activity for *Bacillus anthracis* and its Comparison with other DNase Producing Bacteria. **Journal of Veterinary Public Health**, v. 13, n. 1, p. 1 - 4, 2015.

ZURITA, J.; MEJÍA, C.; GUZMÁN-BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, supl. 2, p. 97 - 107, 2010.