

## PRESENÇA DE *Staphylococcus aureus* EM LINGUIÇA MISTA ENCONTRADAS NO COMÉRCIO E TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

### *Staphylococcus aureus* IN PORK SAUSAGE FOUND IN TRADE AND SENSITIVITY TEST TO ANTIMICROBIALS

<sup>1</sup>SANTOS, Josiellen Aparecida da Silva; <sup>2</sup>NARDOTTO; Rafael dos Santos; <sup>3</sup>FRANCISCO, Odair

<sup>1</sup>Discente do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas -UNIFIO/FEMM

<sup>2e3</sup>Docente do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas -UNIFIO/FEMM

#### RESUMO

*Staphylococcus aureus* são bactérias existentes nas fossais nasais e que também encontram-se presentes na microbiota da pele. Este microrganismo é suscetível em contaminação de alimentos no momento de manuseio, pela forma inadequada de higienização dos manipuladores de alimentos. A intoxicação alimentar ocasionada por *S. aureus* pode apresentar náuseas, diarreia, dor abdominal, cefaleia, sudorese e representa um fator de risco para crianças idosos e imudeprimidos. Neste presente trabalho, por meio de técnicas isolamento em linguiça mista, comprovado pela fermentação do Agar Sal Manitol, Catalase, Coagulase e Coloração de Gram, foi constatada a presença de *Staphylococcus aureus* neste alimento, a partir de 4 amostras colhidas em 4 estabelecimentos comerciais. A partir do isolamento realizada em Meio Agar manitol, as culturas foram ampliadas em meio BHI e passadas para culturas Mueller Hinton, nas quais foram realizados testes de antibiogramas para averiguar a sensibilidade à Gentamicina (10 µg), Amoxicilina (10 µg) e Vancomicina (30 µg). Os testes foram realizados a partir de culturas de *S. aureus* em meios de cultura Mueller Hinton, por meio de discos embebidos de tais antibióticos. A partir da Análise dos Resultados realizados estatisticamente no Programa Minitab Release 19, em ANOVA e Teste de Tukey, em nível menor que 5 % de probabilidade ( $P < 0,05$ ), concluiu-se que para as amostras obtidas de linguiça, houve resistência de *Staphylococcus aureus* para Amoxicilina e por outro lado, a bactéria mostrou sensibilidade para Vancomicina e também para Gentamicina.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*; Antibiograma; Linguiça Mista; Intoxicação Alimentar.

#### ABSTRACT

The *Staphylococcus aureus* bacteria are microorganisms that lives in nasal passages and are also present in skin microbiota. These microorganisms are susceptible to food contamination handling, due to the inadequate way of food handlers hygiene. Food poisoning caused by *S. aureus* can cause nausea, diarrhea, abdominal pain, headache, sweating and represents a risk factor that involves elderly and immunosuppressed children. In this present work, by means of isolation techniques in mixed sausage, proven by the fermentation of Mannitol Salt Agar, Catalase, Coagulase and Gram Stain, the presence of *Staphylococcus aureus* in this food was verified, from 4 samples collected in 4 commercial establishments. From the isolation realized in Mannitol Agar Medium, the cultures were grown in BHI medium and transferred to Mueller Hinton cultures, in which antibiogram tests were performed to verify the sensitivity to Gentamicin (10 µg), Amoxicillin (10 µg) and Vancomycin (30 µg). The tests were performed out from cultures of *S. aureus* in Mueller Hinton culture media, using discs antibiotics soaked. From the Results Analysis statistically performed by Minitab Release 19 Program, in ANOVA and Tukey's Test, in 0,05 level probability ( $p < 0,05$ ), it was concluded that for the samples obtained from sausage, it was noted resistance of *Staphylococcus aureus* to Amoxicillin and, on the other hand, the bacterium showed sensitivity to Vancomycin and also for Gentamicin.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*; Antibiogram; Mixed Sausage; Food Poisoning.

#### INTRODUÇÃO

A estrutura da bactéria *Staphylococcus aureus* Rosembach 1884 (Bacillales: Staphylococcaceae) contém ácido tecoico, glicanopeptídeo, proteína A, cápsula, alexinas e configura-se como uma bactéria *Gram* positiva. Tais bactérias apresentam-

se agrupadas em formato de cacho de uva, classificadas como anaeróbicas facultativas, além de crescer em ambiente com característica aeróbico (SANTOS, 2007; GARCIA *et al.*, 2017).

*S. aureus* classifica-se como microrganismo mesófilo, que multiplica-se em temperatura de 7 °C a 47,8 °C. Suas enterotoxinas são produzidas em temperatura equivalente entre 10 e 46°C, que estabelece uma temperatura ótima entre 40° e 45°C. O pH propício para o desenvolvimento do *S. aureus* varia de 7 a 7.5 e pode potencialmente proliferar em alimentos com pH 4.2 e 9.3 (SANTANA *et al.*, 2010)

*Staphylococcus aureus* contém resistência em se multiplicar em até 15% de concentrações de cloreto de sódio, que pode se desenvolver em alimentos curados com 10% taxa de salinidade. Este microrganismo também apresenta propriedades para aderir à matriz extracelular, que compreende um grupo de bactérias classificadas como *Gram-positivas* (HARRIS, 2002; SANTANA *et al.*, 2010).

Tal bactéria comporta-se como um microrganismo que, em condições favoráveis no alimento, em curto período de tempo se multiplica e que se alastra rapidamente. Por efeito de suas toxinas, esse patógeno apresenta alta virulência, resistência em antibióticos e condiciona o aparecimento de outras enfermidades, dentre elas: infecções cutâneas, infecções oportunistas, intoxicação alimentar e enfermidade sistêmica que por sua vez, pode submeter morte ao indivíduo (BARBOSA, 2014).

De acordo com Santos (2007), *S. aureus* determina desde uma infecção simples como espinhas e furúnculos até as mais severas dentre elas: pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia.

Evidentemente, a presença de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos decorre devida a mau higienização das mãos, fato que viabiliza para que esse patógeno aloje nas fossas nasais e mãos (BRESOLIN, 2005).

As bactérias contidas nas fossas nasais dos manipuladores, disseminam-se pelo contato das mãos e desta maneira, transmitem esse microrganismo ao alimento (RADDI, 1988).

As doenças transmitidas por alimentos, em grande maioria das ocorrências, envolve a ingestão de enterotoxinas provenientes de *Staphylococcus aureus* e assim, causam sérios quadros clínicos, que entre os principais sintomas resultantes dessa intoxicação envolvem: vômitos, quadros de diarreia, náuseas, dores abdominais, cefaleia e sudorese. Considerando a sensibilidade do indivíduo e a quantificação

ingerida juntamente com a concentração da enterotoxina (GOULART, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2004). Conforme Santana *et al.* (2010) a incubação desse microrganismo após sua ingestão é de 2 a 4 horas e pode manifestar-se de forma rápida.

A ingestão de 100 ng de enterotoxina estafilocócica, não resultará na morte do indivíduo, no entanto, crianças, idosos e imunodeprimidos, há possibilidade de desenvolver sintomas mais severos (JÚNIOR, 2019).

Em casos severos de intoxicação, o indivíduo apresenta muco e sangue inserido nas fezes e vômitos, quadro que manifesta-se como quadro letal para recém nascidos e idosos (RADDI, 1988)

As enterotoxinas estafilocócicas são caracterizadas como SEC, SED, SEE, SEG, SEH, além das EEG, EEH, EEI, EEJ, EEK, EEL, EEN, EEO, EEP, EEQ, EER, EEU. (CARMO, 2001; SANTANA 2010).

A averiguação de enterotoxinas no alimento deve ser averiguada, quando obtém-se uma população de *S. aureus* superior a 10<sup>5</sup> UFCs/mL no alimento, além disso, as EEA e EED são enterotoxinas mais observadas, por resultarem maior quantidade de intoxicação alimentar (SANTANA *et al.*, 2010).

Conforme Santana *et al.* (2010) as enterotoxinas são designadas como proteínas de estrutura simples, que contêm baixo peso molecular (27,5 a 30,0 KDa). Os aminoácidos constituintes existentes na estrutura dessas proteínas tóxicas são listados como: lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico e tirosina.

Assim, o presente estudo busca averiguar a presença do *Staphylococcus aureus* em linguiças mista, com a finalidade de alertar a população sobre o risco deste patógeno no organismo humano e que, tal infecção pode ocasionar intoxicação alimentar por meio de contaminação devido as práticas não adequadas de manuseio e na fabricação. Além disso, a partir das colônias obtidas de linguiça compradas no comércio, foram realizados testes antibiogramas em Amoxicilina, Vancomicina e Gentamicina, para verificar qual maior susceptibilidade ou resistência estes tratamentos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os procedimentos das amostras foram baseados de acordo com as Instrução Normativa 62 de 23 de Agosto de 2003 (BRASIL, 2003). Inicialmente, o material objeto de estudo foi obtido por meio de compra em quatro estabelecimentos comerciais

específicos numa cidade do Norte Pioneiro do Estado do Paraná e para tanto, a cada estabelecimento foram recolhidos 250 gramas de linguiça mista.

Em seguida, as amostras foram condicionadas em sacos plásticos de celofane autoclavado, momento em que foram identificadas e rotuladas sobre cada estabelecimento comercial específico. As amostras foram acondicionadas em uma caixa de isopor com gelo para conservar em temperatura adequada. A caixa de isopor foi mantida fechada, até chegar no Laboratório de Microbiologia da UNIFIO.

A partir das amostras, estas foram dissolvidas separadamente em critério de identificação da localidade. Os processos de diluições foram executados nas quatro amostras.

Em seguida, 25 gramas da amostra foram disponibilizadas em 225 mL de água peptonada a 0,1%; de forma a homogeneizar e assim, favorecer a precipitação do microrganismo. As diluições seriadas foram aplicadas em 24 tubos em quatro séries de seis. Seguidamente diluiu-se 1 mL da amostra em um tubo contido de 9 mL de água peptonada, de maneira que obteve-se diluição  $10^{-1}$  mL. Tal operação foi-se realizada com o auxílio de uma pipeta volumétrica com ponteiros autoclavados, foi coletado 1 mL da solução inicial e sequencialmente foi diluída em um tubo com 9 mL de água peptonada, de forma a sequencialmente obter-se  $10^{-2}$  mL.

A partir da diluição  $10^{-2}$  mL, as demais diluições foram realizadas, a partir de 1 mL coletado na diluição anterior e adicionado em tubo com 9 mL de água peptonada, de maneira a torna-la na diluição  $10^{-3}$  mL e assim subsequentemente. Esse procedimento foi realizada até a sexta diluição sequencial, de forma a proporcionar uma diluição fracionada de  $10^{-6}$  mL, com a finalidade de obter uma solução que favoreceu a semeadura e concomitantemente, tornar mais fácil a evidenciação e contagem dos microrganismos.

Por fim, foi pipetado 0,1 mL da solução  $10^{-6}$  mL, das amostras de cada estabelecimento, com o auxílio de uma alça Drigalsky esterilizada e flambada continuamente a cada aplicação, que em seguida foram passadas em meio de Ágar hipertônico manitol, numa concentração de 75% de sal e assim, a fim de obter-se seletivamente *Staphylococcus aureus*. As amostras obtidas dos quatro estabelecimentos, foram inoculadas em três placas de Ágar Sal Manitol, referente a cada respectivo estabelecimento, que totalizaram 12 placas de Petri.

As culturas foram incubadas em estufa microbiológica, por 24 horas em 37°C. Em concordância com Chapman (1945) foram observadas as amostras

cultivadas em Ágar Hipertônico Manitol, de maneira a averiguar as colônias típicas em tom amarelado.

Foi realizado de acordo com Tortora *et al.* (2010), o teste da catalase, para o qual, retirou-se uma colônia da placa Manitol e posteriormente, inseriu-se uma lâmina e adicionou-se uma alíquota de água oxigenada, a fim de observar a formação de bolhas devido a reação e degradação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio por razão das enzimas catalase.

Ao final, sucedeu-se a coloração de *Gram*, com a utilidade e averiguar os microrganismos. Primeiramente foi utilizada uma Alça de Platina estéril em uma lâmina limpa e adicionou-se o esfregaço de uma colônia típica contida no Ágar Manitol e assim, observou-se em microscopia óptica, por meio de objetiva 1000x, com óleo de imersão.

Subsequentemente, em congruência com Tortora *et al.* (2010), realizou-se a prova da coagulase, para comprovação da espécie *Staphylococcus aureus*. Ao averiguar colônias positivas no Manitol, adicionou-se as mesmas em tubo com plasma sanguíneo, para prova bioquímica da coagulase, de maneira a promover uma suspensão homogênea e que foi incubada em 37°C por 24 horas. Posteriormente utilizou-se o caldo BHI, para promover a repicagem da bactéria e seu revigoramento por 24 horas. Seguidamente, com o auxílio de um *swab*, as amostras foram retiradas do tubo de BHI, e em seguida, semeadas no meio Mueller-Hinton, para realização do antibiograma. Para os teste de antibiograma, foram utilizados os discos para testes em amoxicilina, gentamicina e vancomicina.

As amostras divididas em 3 réplicas (sub amostras), foram verificadas para os quatro estabelecimentos comerciais, foram plotados no Programa Estatístico Minitab (Versão 20) e analisados por meio de ANOVA (Análise de Variância em  $P < 0,05$ ) e cada média, também foi comparada em Teste de Tukey (em  $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Ágar Manitol, por caracterizar-se como um meio seletivo, tem capacidade de inibir crescimento de outros microrganismos devido à concentração de 7,5 % de NaCl, fato que favorece a pureza das culturas, sem suscetíveis contaminações. Desta forma, tais ensaios consistem em um método proveniente para o teste bioquímico de *Staphylococcus aureus*, além disso, consta-se que a espécie *S. aureus* pode ser

caracterizado por coagular plasma e que, de forma mais predominante crescem de forma excelente no Agar Manitol (CHAPMAN, 1945).

*Staphylococcus aureus* resiste à pressão osmótica promovida pela concentração de NaCl no Manitol, todavia, as demais bactérias gram-negativas e positivas são inibidas por não suportar (KOCH, 1942).

O meio Ágar sal Manitol provem uma coloração amarela quando fermentado por *Staphylococcus aureus*, devido à produção de ácido e diminuição do pH (MAHON 1995).

De acordo com Chapman (1945), os *Staphylococcus* não patogênicos apresentam zona com coloração vermelha no Manitol, que não progride no crescimento, em contrapartida com as outras bactérias patogênicas.

Nas amostras analisadas neste presente trabalho, todas as placas foram positivas para o Ágar sal Manitol, para as quais observou-se fermentação e coloração amarelada, no Estabelecimento 04, sucedeu-se maior coloração e colônias quando comparados às linguças observadas para os demais estabelecimentos, que mostrou-se assim maior quantidade de bactérias fermentadoras. Concomitantemente, para confirmar a presença do *Staphylococcus aureus*, utilizou-se da prova da catalase e coagulase.

Segundo Pereira (2006), o método catalase é utilizado para reconhecer microrganismos que sucedem a formação da enzima catalase, o qual é suscetível para diferenciar bactérias da família Micrococcacea e Streptococcaceae, para as quais torna-se catalase positiva para os membros pertencentes a família *Micrococcacea*.

A enzima catalase, em contato com o peróxido de hidrogênio, propicia a quebra do mesmo e desta maneira, determina a liberação de água e oxigênio, este por sua vez, quando liberado, promove a formação de bolhas. Na prova da catalase realizada neste trabalho, foi sucedido tal procedimento, para os quais, observou-se nas quatro lâminas, respectivas de cada Linguça obtidas nos 4 estabelecimentos amostrados, a formação de bolhas e desta forma, comprovou-se que a bactéria analisada pertence à família Micrococcaceae.

Outra prova bioquímica para comprovação do *Staphylococcus aureus* é a coagulase, onde sua finalidade é diferenciar *Staphylococcus aureus* coagulase positiva de demais espécies coagulase negativa dentre elas: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*,

*Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus lugdunensis* e *Staphylococcus xylosus* (WASHINGTON *et al.*, 2008; CUNHA *et al.*, 2002).

A enzima coagulase por sua vez, é designada como imprescindíveis, por proceder a coagulação do plasma e depósito de fibrina ao redor dos estafilococos (FERREIRA; SOUZA, 2000).

Após as 24 horas da inoculação da bactéria *Staphylococcus* pertencente a família Micrococcacea em tubos contidos de soro fisiológico, juntamente com plasma sanguíneo, obteve coagulação dos 4 tubos utilizados para cada ponto. Desse modo, por meio dessas análises, verificou-se que a bactéria analisada no presente estudo, apresentou características notáveis do gênero *Staphylococcus* e pertencentes a espécie *aureus*, por favorecer a coagulação, fato ao qual notifica-se que, apenas a *S. aureus*, possui o privilégio de coagular o fibrinogênio, devido à produção da enzima coagulase.

Segundo Ferreira e Souza (2011), espécimes do gênero *Staphylococcus* se estabilizam em forma de cocos em agrupamento semelhante a um cacho de uva, para o qual sua averiguação pode ser realizada na coloração de GRAM, já que este grupo são designados como Gram positivos. Desse modo, a coloração sucedeu resultados significativos, que comprovou possível presença de *Staphylococcus aureus* na amostra, devido à positividade de que nas amostras coradas por tal método, notou-se a coloração roxeada e morfologia semelhante a um agrupamento em forma de cacho de uvas, que assim, de forma inicial, possibilitou suspeita possível inicial para a confirmação da presença do patógeno nas amostras de linguiça mista.

Os manipuladores, ao obterem ferimentos na mão, deve-se fazer o uso de luvas, de forma a proteger o ferimento e assim, evitar a proliferação de bactérias no alimento. Aqueles que suspeitam de estar doentes, ou que apresentem sintomas gastrointestinais, não devem manipular alimentos, até evoluir o tratamento para cura (BAPTISTA, 2005).

Ainda, segundo Baptista (2005), os manipuladores precisam estar com as mãos sempre limpas, entre aos quais, torna-se proibido o uso de anéis, pulseiras, relógios e da mesma forma, manter unhas curtas e limpas, de forma a evitar o alojamento de microrganismos contaminantes.

Conforme Conceição (2014), os manipuladores de alimentos devem ser instruídos a executar uma higienização mais elaborada no momento de manusear os

alimentos, e assim estabelecer maior cuidado no momento de processamento. A lavagem da flora microbiota da pele com água, sabão e detergente é favorável para reduzir a proliferação de *S. aureus* (RADDI, 1998).

*Staphylococcus aureus* apresenta uma grande eficiência para sua proliferação nos mais diversificados alimentos, em comparação com as demais bactérias, além disso, contêm maior adaptação em diversos alimentos (JÚNIOR, 2019)

O fator precursor para o surgimento de doenças alimentares é o controle inadequado da temperatura durante o cozimento, resfriamento a estocagem, higiene pessoal inadequada, contaminação cruzada entre produtos crus e processados, monitoramento inadequado dos processos (FORSYTHE, 2013).

O *S. aureus* obtém produtividade de biofilme que favorece resistência de estresse ambiental, pH, choques osmóticos, processos de sanitização, radiação ultravioleta, força mecânica, que pode permanecer em superfícies (SILVA, 2019).

*S. aureus* manifesta-se como um patógeno oportunista, encontrado na pele e mucosa de seres humanos. As infecções com presença de enterotoxinas advém de histórico do paciente com consumo prévio de carnes, fatiadas, leite e seus derivados, molhos, enlatados, presunto, salame, produtos de panificação, cremes e ovos (FORSYTHE, 2013; JUNIOR, 2019).

De acordo com Santos (2007), o *S. aureus* é caracterizada por ser uma bactéria esférica, que apresenta resistência ao frio, dessecação e que permanece em partículas de poeira por longos períodos.

Ao final, a partir das amostras semeadas em Ágar Sal Manitol, contidas em Placas de Petri, para cada estabelecimento, tais amostras foram semeadas com auxílio de alça bacteriológica estéril em Caldo BHI, que assim, promoveu seu crescimento e semeadas com *swab* em placas de Mueller-Hilton. Verificou-se a colonização completa nas placas e por fim, verificou-se o tamanho dos halos formados para os discos embebidos em Amoxicilina; Vancomicina e Gentamicina, além dos discos controle, embebidos em Água Peptonada.

Após 24 horas, os halos formados foram dimensionados e seus resultados podem ser observados conforme Quadro 1.

Verificou-se ainda conforme Quadro 01, que as médias (n=6) do tamanho dos halos observados para o Antibiótico Amoxicilina, foi sempre menor quando comparados com os Halos medidos para outros antimicrobianos, os quais mostraram médias que variaram entre 0,00 mm e 7,33 mm. Tal fato, indica a possível resistência da bactéria

*Staphylococcus aureus* para este antimicrobiano e por outro lado, uma maior sensibilidade desta bactéria para Vancomicina e Gentamicina.

Segundo Martins *et al.* (2009), a vancomicina, por sua vez, é classificada como antibiótico de grande êxito para combater infecções ocasionadas por *S. aureus*, tornou-se de maneira eficaz por um tempo, o único antibiótico com capacidade de inibir as cepas de *S. aureus* resistente a meticilina. A vancomicina estabelece ponto de ação excepcional contra *S. aureus*, sendo utilizado desde da década de 50. É importante mencionar que a utilização da vancomicina progrediu, após o surgimento das MRSA (*meticilin resistant Staphylococcus aureus*), o qual apresenta-se como o precursor para combater este patógeno com características resistentes (MARINHO, 2005).

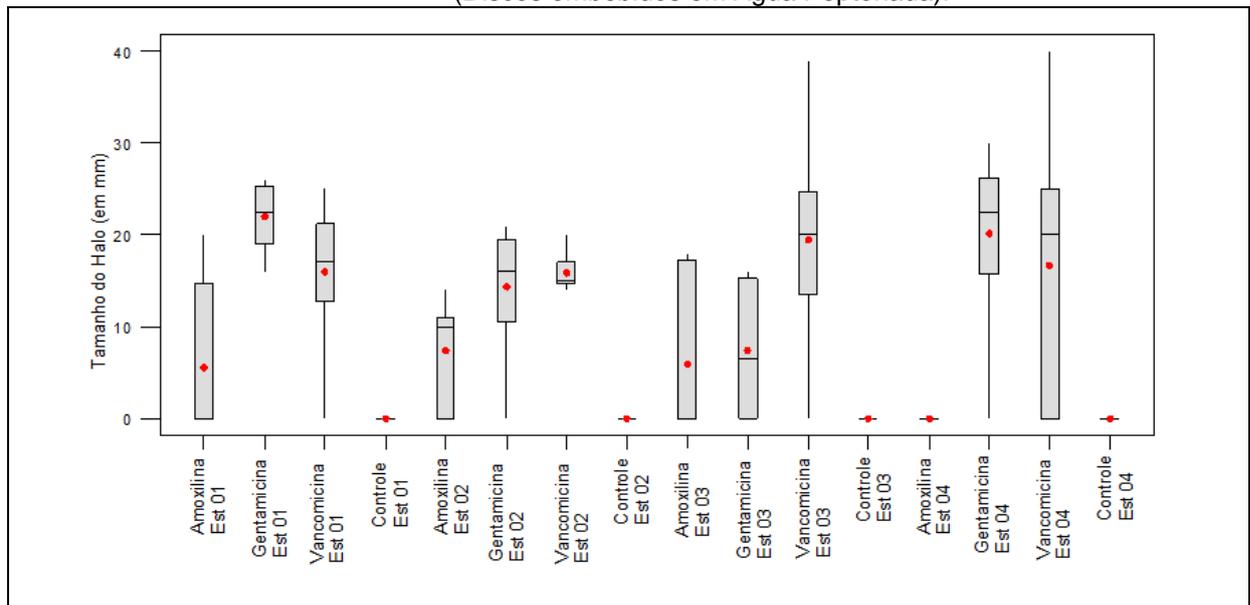
Tais dados corroboram com Arispe *et al.* (2013), que demonstraram uma sensibilidade de *Staphylococcus aureus* ao redor de 100 % de sensibilidade à Vancomicina, mas por outro lado, tal bactéria mostrou uma grande resistência para amoxicilina, fato que mostrou ser esta droga menos útil para o tratamento de infecções causadas por este patógeno.

**Quadro 1** - Análise de Variância para os Valores de Tamanhos (em mm) dos Halos formados entre as amostras de linguiça dos Quatro estabelecimentos, dimensionados para os Antibióticos Amoxicilina, Gentamicina e Vancomicina e Controle (Discos embebidos em Água Peptonada),

Analysis of Variance					
Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	15	6102.3	406.8	7.30	0.000
Error	80	4458.8	55.7		
Total	95	10561.2			

Os dados verificados no Quadro 01, podem ser comparados na Figura 01.

**Figura 1** – Dimensões (em mm) dos Halos formados, observados nas Quatro Amostras de Linguixa e dimensionados para os Antibióticos Amoxicilina, Gentamicina e Vancomicina e Controle (Discos embebidos em Água Peptonada).



Os dados verificados no Quadro 01, quando comparados na Figura 01, denotam uma menor média para os valores dos halos, sempre menores para Amoxicilina, para as amostras coletadas em todos os Estabelecimentos, quando comparados com halos dimensionados para outros antibióticos.

Foi realizada também uma análise de Variância para os valores das dimensões dos Halos (Quadro 2), quando reunidos todos as Amostras dos Quatro Estabelecimentos e suas médias comparadas entre os Tratamentos: Amoxicilina; Gentamicina; Vancomicina e Controle. Quando comparados somente os valores obtidos entre tais antibiótico sem ANOVA, verificou-se um valor significativo entre as médias, com  $F = 28,39$  (com  $P < 0,001$ ), fato que denota que houve diferença altamente significativa entre os Antibióticos.

Denota-se, ainda conforme Quadro 2, que a média dos valores dimensionados para os halos observados para Amoxicilina, foi de 4,667 (SD=7,087) e esta média observada para este antibiótico foi bem inferior, quando comparada com as médias de valores dos diâmetros dos halos formados para os discos que continham Gentamicina ( $\bar{x} = 15,958$ ; SD 9,327) e média com valor semelhante para Vancomicina ( $\bar{x} = 17,000$ ; SD 10,061).



Peptonada) (Ambos Amoxicilina e Grupo Controle com a Letra **b**). Por Outro, nota-se que houve diferença significativa, com  $p < 0,05$ , quando considerados os valores dos diâmetros dos halos (que evidenciam sensibilidade da bactéria ao antibiótico), pois mostraram um letra diferente (Letra a) para ambos Vancomicina e Gentamicina.

**Quadro 3** - Teste de Tukey (em  $p < 0,05$ ), realizado para os Valores de Tamanhos (em mm) dos Halos formados, obtidos para os Antibióticos Amoxicilina, Gentamicina e Vancomicina e Controle (Discos embebidos em Água Peptonada).

Fator	N	Média
Vancomicina	24	17,00 <sup>(a)</sup>
Gentamicina	24	15,96 <sup>(a)</sup>
Amoxicilina	24	4,67 <sup>(b)</sup>
Controle	24	0,00 <sup>(b)</sup>

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes (em  $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

Conforme os valores obtidos, concluiu-se que todas as amostras de Linguíça mista, comercializadas em 4 estabelecimentos de uma cidade do Norte Pioneiro do Estado do Paraná, encontravam-se contaminadas com *Staphylococcus aureus*, detectado por meio dos testes da catalase; coagulase; coloração de Gram e meio de Agar Manitol. Desse modo, faz-se necessário obter mais higienização no momento de manuseio da linguíça mista, já que as mãos dos manipuladores são suscetíveis a conter esse patógeno, devido sua presença na microbiota da pele e fossais nasais humana. Além disso, é necessário a lavagem dos utensílios, removendo o excesso de resíduos, que por sua vez pode desencadear proliferação de microrganismos, seguidamente é de extrema importância proceder-se com a desinfecção através de álcool, hipoclorito de sódio e carbonato de cálcio para promover a eliminação de microrganismos patogênicos.

Verificou-se ainda que, as cepas de *Staphylococcus aureus* obtidas nas quatro amostras de linguíça, encontram-se todas resistentes para Amoxicilina e por outro lado, mais sensíveis para Gentamicina e Vancomicina.

## REFERÊNCIAS

ARISPE, Vargas; AGUILAR, Jhuni Ramiro Camacho; AMPUERO, Oscar Sahonero. Sensibilidad y resistencia en el antibiograma del *Staphylococcus aureus* en pacientes del Hospital Clínico Viedma. **Rev Cient Cienc Méd.** Cochabamba, Bolivia, v. 16, n.12, p. 15-17, 2013.

BAPTISTA, Paulo e LINHARES, Mário, (2005), “**Higiene e Segurança Alimentar na Restauração**”, Volume I – Iniciação, Forvisão – Consultoria em Formação Integrada S.A., Portugal.

BARBOSA, Gabriela Farias. Prevenção e tratamento de intoxicação alimentar por *Staphylococcus aureus* e *Giardia* sp.: revisão literária. **ANAIS...** da X Semana De Estudo Em Saúde E X Semana De E, Gustavo Favio Lazo; FLORES, Esedim Mamani; LOROÑO , Efraín Extensão E Iniciação Científica, João Pessoa/ PB, p. 45, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO; **Instrução Normativa MAPA Nº 62**, DE 26 DE AGOSTO DE 2003.

CHAPMAN, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of Staphylococci. **J. Bacteriol.** Washington, USA, v. 50, p. 201-203, 1945.

CUNHA, M.L.R.S. et al. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from neonates. **J. Pediatr.**, v. 78, n. 8, p. 279-288, 2002.

DE SANTANA, E. H. W. *et al.* Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, p. 545-554, 2020.

DE SOUZA CONCEIÇÃO, Mirza; DO NASCIMENTO, Kamila de Oliveira. Prevenção da transmissão de patógenos por manipuladores de alimentos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal-PB, v 9, n. 5, p. 13, 2014.

FERREIRA, Wanda F. Canas, SOUSA, João Carlos F. **Microbiologia**, Volume 2, Lisboa: Lidel, 2000.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2013.

GARCIA, P.; DA CRUZ, A.; ROSA GONCALVES, C.; FERNANDA PINTO DA COSTA, P. Contagem De *Staphylococcus aureus* Em Alimentos Como Tema Gerador No Ensino De Microbiologia De Alimentos. **Anais...** do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 9, n. 1, 14 fev. 2020.

GOULART, Ana Elisa Resende; LACERDA, Inayara Cristina Alves; DIAS, Ricardo Souza. Potencial risco de intoxicação alimentar por *Staphylococcus* spp. enterotoxigênicos isolados de bolos com cobertura e recheio. **NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, Belo Horizonte-MG, v. 6, n. 11, p. 11-17, 2016.

HARRIS, Llinos G. et al. Uma introdução ao *Staphylococcus aureus* e técnicas para identificar e quantificar as adesinas de *S. aureus* em relação à adesão a biomateriais: revisão. **Eur Cell Mater.**, Davos, Suíça, v. 4, n. 3, pág. 100-20, 2002.

KOCH, F. E. Electivnährboden für Staphylokokken. **Zentr. Bakt. Parasitenk. I Orig.** Berlin, Alemanha, v.149, p.122–124, 1942.

MAGNANI, Ana Lúcia. **Efeito do cravo (*Syzygium aromaticulum*) sobre *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* em salame tipo italiano**. 2001. 42 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia Agrícola) - Universidade de Viçosa, Viçosa. 2001.

MAHON, C. R., MANUSEKIS-JUNIOR. G. **Textbook of diagnostic microbiology**, Philadelphia, Pa, USA: W.B. Saunders Company, 1995.

MARINHO, D. S. **Vancomicina, estudo de utilização com ênfase em suas reações adversas**. 2005. 108 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária)- Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005.

PEREIRA, ANTONIO. FERREIRA *et al.* **Práticas de Microbiologia**. Rio de Janeiro, 2006.

PEREIRA, Maria Lúcia; CARMO, Luiz Simeão; PEREIRA, José Luiz. Comportamento de estafilococos coagulas e negativos pauciprodutores de enterotoxinas, em alimentos experimentalmente inoculados. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 21, p. 171-175, 2001.

PRADO, Renata Resende *et al.* *Staphylococcus* spp.: importantes riscos à saúde pública. **Pubvet**, Maringá, PR, v. 9, p. 348-399, 2015.

RADDI, Maria Stella Gonçalves; LEITE, Clarice Queico Fujimura; MENDONÇA, Clara Peckmann. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, SP, v. 22, p. 36-40, 1988.

RODRIGUES, Kelly Lameiro *et al.* Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 34, p. 297-299, 2004.

SILVA, Julia Rosin da. **Caracterização fenotípica de *Staphylococcus aureus* isolados de alimentos de origem animal e de outras fontes relacionadas**. 2019. 39f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) -Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

SILVA, Wladimir Padilha da *et al.* *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria – RS, v. 34, p. 911-916, 2004.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbial Mechanisms of Pathogenicity. *In: Microbiology: an introduction*. 10th ed. San Francisco: Ed. Pearson, 2010. 810p. Cap. 15.

WASHINGTON, Winn Jr., STEPHEN, Allen, WILLIAM, Janda, ELMER, Koneman, GARY, Procop, PAUL, Schreckenberger, GAIL, Woods, (2008), "**Diagnóstico Microbiológico**", Sexta Edição, Koneman, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.