

***Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em alimentos de origem animal: uma revisão sistemática**

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin: A systematic review

RIALA6/1574

Ellayne Souza CERQUEIRA, Rogeria Comastri de Castro ALMEIDA*

*Endereço para correspondência: Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Av. Araújo Pinho n° 32, Canela, Salvador, BA, Brasil, CEP: 40.110-160. Tel.: +55 71 3283 7737; fax: +55 71 3283 7705. E-mail: rogerianut@gmail.com
Recebido: 08.08.2013 - Aceito para publicação: 17.12.2013

RESUMO

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) é uma das principais causas de infecção em humanos, e está bem documentado o acometimento desta bactéria em indivíduos hospitalizados. Contudo, o relato de colonização e infecção de indivíduos na comunidade, sem contato prévio com o ambiente hospitalar, sugere outras fontes de contaminação, como o emprego de fármacos na pecuária, o que induz a colonização por MRSA em animais de produção e consequente contaminação de produtos cárneos. O objetivo do presente estudo foi de compilar e analisar as publicações científicas sobre a ocorrência de MRSA em alimentos. Neste contexto, foi realizada uma revisão de literatura sistemática nas bases de dados Lilacs, Medline e Pubmed, e selecionados os artigos publicados no período de 2000 a 2013. Observou-se número significativo de estudos em que foram analisadas diversas amostras. Foi encontrada grande variação nas prevalências de MRSA, bem como nas metodologias utilizadas para análise. O MLST tipo ST398, comumente encontrado em suínos, foi o mais isolado nas amostras analisadas nos diferentes estudos. No entanto, as linhagens ST8 e ST5, pertencentes à biovariedade humana, foram também frequentemente detectados, o que sugere que os manipuladores de alimentos têm também sido a fonte de contaminação da carne por MRSA.

Palavras-chave. MRSA, alimentos, resistência.

ABSTRACT

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a major cause of infections in humans and onset of this bacterium in hospitalized individuals has been well documented. However, a report on MRSA colonization and infection of individuals in the community, without prior contact with hospital environment, suggests the occurrence of other sources of contamination, such as the use of drugs in livestock, causing colonization of production animals with MRSA, and resulting in contamination of meat products. This study aimed at compiling and analyzing the scientific publications on the occurrence of MRSA in foods. A systematic review of the literature was performed in Lilacs, Medline and Pubmed databases, and the articles published from 2000 to 2013 were selected. A significant number of studies involving different samples was observed. Wide variations on the MRSA prevalence were found, and also on the methodologies used for the analyses. The MLST strain ST398 is commonly detected in pigs, and it was the most isolated bacterium from samples analyzed in different studies. ST8 and ST5 strains, belonging to human biovar, have also been frequently isolated, suggesting that food handlers have been a source for meat contamination with MRSA.

Keywords. MRSA, foods, resistance.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus resistente à metilina (MRSA) é uma das principais causas de infecção para humanos. Até 1980, os relatos de MRSA consistiam em casos isolados, mas após 1982 cepas epidêmicas foram descritas como multirresistentes, com capacidade de colonizar e causar surtos de infecções em todo o mundo, tornando-se uma causa amplamente conhecida de morbimortalidade¹.

O termo MRSA é usado para designar as linhagens de *S. aureus* que não respondem ao tratamento com antibióticos β -lactâmicos². Caracterizam-se como cepas que possuem o gene *mecA* ou demonstram uma concentração inibitória mínima (CIM) à oxacilina mais alta do que 4 mg/L. Entretanto, alguns isolados clínicos são *mecA*-positivos e susceptíveis à oxacilina³. O gene *mecA* é responsável pela codificação da proteína de ligação à penicilina (PBP2a) que funciona como um alvo alternativo resistente à inibição pelo antibiótico, permitindo a formação da camada de peptídeoglicano da parede celular, impedindo a morte bacteriana⁴.

A aquisição de MRSA por indivíduos hospitalizados é bem documentada. Fatores de risco para contaminação nosocomial por MRSA incluem hospitalização prévia, duração da hospitalização, uso prévio de antibiótico, entre outros⁵. Contudo, registros de infecções comunitárias graves, especificamente em indivíduos que não foram hospitalizados e nem estiveram em contato com profissionais da saúde, ou mesmo com doentes colonizados, sugerem outras formas de contaminação por MRSA, como, por exemplo, o emprego desses fármacos na pecuária. O contato direto do homem com os animais, a exposição às fontes ambientais contaminadas com resíduos da produção pecuária e, principalmente, os alimentos de origem animal, constituem meios de transferência de MRSA para humanos^{6,7}.

A maioria dos animais domésticos abriga a espécie *S. aureus*. Esta é uma importante causa de infecções na criação de gado, aves, suínos, entre outros, tornando-se fonte de prejuízos econômicos na agropecuária. Assim, é comum o uso de antibióticos, com fins terapêuticos, profiláticos, ou como estimulador de crescimento. Porém, seu uso indiscriminado na pecuária pode estimular o aparecimento de resistência na população bacteriana⁷.

Como consequência da colonização e infecção por MRSA em animais de produção, destaca-se a possibilidade de contaminação dos produtos cárneos

destinados ao consumo⁸. Estudos recentes relatam o isolamento de linhagens de MRSA em alimentos de origem animal, incluindo carne suína, gado bovino, frango, entre outros, além de queijo bovino, leite e outros produtos derivados⁹.

Devido à semelhança entre os antibióticos utilizados em seres humanos com os utilizados nos animais, torna-se evidente a correlação entre a problemática da resistência bacteriana na pecuária com a saúde humana¹⁰. Se linhagens resistentes a drogas são transferidas para humanos através do consumo de produtos de origem animal contaminados, elas podem colonizá-los e transferir a sua resistência aos antimicrobianos¹¹.

Ações no cuidado com a saúde humana já são realizadas objetivando o uso racional de antibióticos, contudo, o mesmo não acontece no setor da pecuária. No Brasil, a regulamentação do uso de antibióticos em animais compete ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e à Secretaria de Defesa Agropecuária. O Programa Nacional de Controle de Resíduos no Leite (PCRL), criado em 1999 por este Ministério, tem a finalidade de regulamentar o controle e a vigilância dos resíduos em alimentos de origem animal. Suas ações visam evitar a violação dos limites máximos permitidos de resíduos (LMR) e de coibir o uso de substâncias proibidas. Todavia, apesar de todos os esforços, não é possível fiscalizar toda a produção, cabendo aos produtores e às empresas prezarem pela qualidade do produto¹⁰.

Destaca-se a importância em demonstrar a presença cada vez mais frequente de MRSA em alimentos de origem animal, a fim de alertar às autoridades de saúde pública e da agropecuária sobre a necessidade de adoção de medidas de controle. Essas medidas devem ser adotadas tanto no manejo de animais, quanto em toda cadeia produtiva de alimentos, visando à minimização da contaminação dos alimentos com cepas de MRSA, e, conseqüentemente, a diminuição do risco de transmissão desse micro-organismo à espécie humana.

A presente revisão sistemática objetivou compilar e analisar as publicações científicas sobre a presença de MRSA em alimentos de origem animal. A revisão sistemática contribui para entender melhor as rotas de transmissão, prevenção da propagação de MRSA em tais alimentos. Esse tipo de revisão é importante para o campo de estudo – somente com a incorporação de novos conhecimentos/compilação bibliográfica torna-se possível o ajustamento à nova realidade e a busca por melhorias contínuas. A revisão cita fontes fiáveis e atuais.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se uma revisão de literatura sistemática sobre *Staphylococcus aureus* resistente à Metilina (MRSA) em alimentos de origem animal. O recurso prático de análise foi a coleta de artigos publicados em três bases de dados, Lilacs, Medline e Pubmed. A busca foi conduzida no período de dezembro de 2012 a fevereiro de 2013, utilizando a combinação dos descritores MRSA, carne bovina, carne suína, frango, leite, queijos, peixe e seus correspondentes na língua inglesa.

As publicações foram pré-selecionadas a partir dos títulos que mencionassem resistência antimicrobiana em *S. aureus* presentes em algum gênero alimentício de origem animal. Em seguida, procedeu-se com a leitura da metodologia dos diversos estudos, a fim de selecionar aqueles que atendessem aos seguintes critérios, previamente especificados: estudos experimentais cuja metodologia envolvesse isolamento de MRSA em alimentos de origem animal, publicados no período de 2000 a 2013. Foram excluídos estudos repetidos entre as diferentes bases de dados; que não foram publicados em modelo de artigo; revisões e aqueles cuja metodologia incluísse análise de humanos e/ou animais.

A análise dos estudos foi realizada a partir da sumarização das informações em instrumento contendo os itens: autor, ano de publicação, amostra, metodologia utilizada e principais resultados encontrados.

RESULTADOS

Através da pesquisa nas bases de dados, foram identificadas 82 publicações científicas relacionadas à MRSA em alimentos de origem animal (Figura 1), sendo três no Lilacs, 40 no Medline e 39 no Pubmed. Cinquenta e seis artigos foram excluídos por estarem repetidos entre as diferentes bases, porque eram cartas, dissertação ou notas, ou por falta de acesso ao texto completo. O remanescente de 25 artigos foi analisado a partir de leitura das metodologias e sete foram excluídos devido à inclusão de humanos e animais *in vivo* no quadro de amostragem. Assim, um total de 19 artigos foram incluídos nesta revisão.

Descrição dos estudos

Uma sumarização está demonstrada na Tabela 1. A maioria dos estudos foi realizada nos Estados Unidos (3/15; 8 %) e Holanda (3/15; 8 %). Os alimentos de origem animal analisados com maior frequência foram amostras

de carne suína em sete (36,8 %) das 19 pesquisas incluídas nessa revisão, seguidas pelas amostras de carne bovina e de leite, que foram avaliadas em seis estudos (31,6 %), separadamente; frango em cinco (26,3 %); peru e peixe em três estudos (15,8 %), separadamente; produtos cárneos em quatro (21,1 %); produtos lácteos em dois (10,5 %); carne de carneiro em um (5,3 %) e dois estudos (10,5 %) relataram analisar amostras de carne, mas não especificaram a espécie.

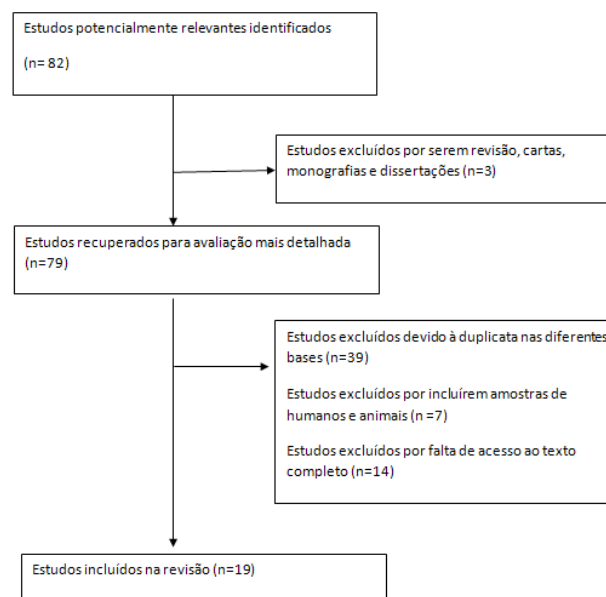


Figura 1. Fluxograma representando o processo de seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática

As técnicas tradicionais de cultura para a detecção de MRSA, representadas pela inoculação em placas de ágar sangue ou de ágar com meio seletivo, seguido de confirmação das colônias características foram amplamente utilizadas. Os métodos de detecção direta, como inoculação em ágar cromogênico, também apresentou uma utilização expressiva.

O método mais utilizado para detecção de estirpes MRSA nos alimentos foi o teste disco-difusão somado a confirmação através de reação de polimerase em cadeia (PCR) para detecção do gene *mecA*, observado em sete (36,8 %) dos artigos analisados. O teste de aglutinação em látex com confirmação através de PCR foi usado em cinco (26,3 %) dos estudos. Esse mesmo quantitativo de estudos (31,6 %) utilizou a técnica de PCR isoladamente para identificação do micro-organismo, mas, quatro destes realizaram teste de susceptibilidade antimicrobiana, como análise complementar dos isolados. No total,

Tabela 1. Sumarização dos estudos incluídos na revisão

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
ATYAH et al, 2010 ¹²	Malásia	Peixe	Semeadura em ágar Sangue, seguida de confirmação usando <i>API STAPH Detection Kit</i> . Os isolados de <i>S. aureus</i> foram submetidos a PCR para confirmação adicional. O fenótipo MRSA foi inicialmente identificado por cultura em ágar a base de oxacilina para o rastreio de resistência (ORSAB; Oxoid Limited, Basingstoke, England). As estirpes de MRSA cultivadas no ORSAB foram então confirmadas por PCR.	98 (50 %) -	-	-	-
De BOER et al, 2009 ⁹	Holanda	Carne de suíno; vitela; carne de carneiro; frango; peru; outros	Foram utilizados 2 meios de enriquecimento (MHB + 6.5 % NaCl e vermelho de fenol contendo cefoxitina e aztreonam). Em seguida, o inóculo foi semeado em ágar MRSA-ID. Para confirmação, colônias típicas foram subcultivadas em TSA e testadas com <i>Staphylect Plus test</i> (Oxoid). Confirmação adicional foi feita por meio da identificação do gene <i>SNUC</i> e do gene <i>mecA</i> , utilizando PCR em tempo real. Foi feita <i>spa</i> -tipagem e MLST.	264 (11,9 %)	-	ST398	t011 t034 t108
CRAGO et al, 2012 ¹³	Canadá	Alimentos preparados com carne; alimentos preparados sem carne; carnes bovina, suína, frango e desconhecidas, laticínio (leite, queijos e sorvete)	As amostras foram examinadas quanto a presença de <i>B. cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Aeromonas</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> spp., e <i>Yersinia</i> spp. Colônias presuntivas de <i>S. aureus</i> foram confirmadas usando um tubo de teste de coagulase com plasma de coelho. PCR foi utilizado para identificar o gene <i>nuc</i> . Os isolados foram examinados para resistência à meticilina usando difusão em disco em ágar MH, usando disco de 1 µg de oxacilina e 30 µg de cefoxitina, e finalmente PCR para detectar o gene <i>mecA</i> .	0 (0,0 %)	-	-	-

Continua

Cont.

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
DIAS et al, 2011 ¹⁴	Brasil	Leite	Utilizou-se a técnica de PCR para detecção do gene <i>femA</i> , que identifica o <i>S. aureus</i> . Dessas amostras, apenas as com amplificação positiva foram submetidas à detecção dos genes <i>sea</i> , <i>seb</i> , <i>sec</i> . Foi também pesquisada a presença do gene <i>mecA</i> , que identifica MRSA.	16 (8,0 %)	-	-	-
FLEBER et al, 2011 ¹⁵	Alemanha	Peru; produtos cárneos de peru; frango; produtos cárneos de frango	Foram utilizados 2 meios de enriquecimento (MH + NaCl e TSB suplementado com 3,5 µg/mL de cefoxitina e 75 µg/mL de aztreonam). Em seguida, plaqueamento em ágar cromogênico MRSA seletivo. Colônias características foram subcultivadas em Columbia Ágar sangue e submetidos a testes de confirmação para <i>S. aureus</i> (teste coagulase e teste de aglutinação em látex). Para a confirmação de MRSA, todos os isolados foram submetidos a PCR. Todos os isolados foram testados para a sua suscetibilidade antimicrobiana por microdiluição em caldo que incluiu 10-12 concentrações de 30 agentes antimicrobianos em série de 2 vezes por diluição. Realizou-se <i>spa</i> -tipagem e MLST.	32 (37,2 %)	Todos os isolados MRSA foram resistentes a oxacilina 20 (62,5 %) dos isolados MRSA apresentaram multiresistência	ST398 ST9 ST5	t1430 t002 t011 t034
HAMMED et al, 2012 ¹⁶	Japão	Peixe cru pronto para o consumo	Utilizou-se TSB + NaCl como meio de enriquecimento. Seguido de semeadura em BP e ágar sal manitol contendo 4 µg/mL de cefoxitina. Supostos estafilococos foram identificados com base na morfologia da colônia, hemólise em ágar sangue, coloração de Gram e testes de coagulação em slidex. A confirmação de <i>S. aureus</i> e MRSA foi conduzida usando PCR. Todos os <i>S. aureus</i> isolados foram caracterizados para genes codificadores de fatores de virulência de enterotoxinas e <i>spa</i> -tipagem e MLST. Foi feita ainda teste de sensibilidade com 19 antibióticos através de disco-difusão.	5 (2,5 %)	3 isolados resistentes a oxacilina não possuíam o gene <i>mecA</i> Todos os MRSA foram multiresistentes	ST8	t1767

Continua

Cont.

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
HANSON et al, 2011 ¹⁷	Estados Unidos	Carne de suíno; carne bovina; frango; peru	As amostras foram coletadas através de swabs na superfície pré-umedecida com caldo enriquecimento contendo triptona, NaCl, manitol e extrato de levedura. O inóculo foi semeado em ágar MRSA e Columbia acrescido de ácido nalidíxico. <i>S. aureus</i> foram confirmados através de coloração de Gram, catalase, coagulase e teste de aglutinação em látex. MRSA foi identificado através do teste de aglutinação em látex, (Oxoid). PCR foi utilizado para identificação do gene <i>mecA</i> e <i>spa</i> -tipagem e MLST foi realizado nos MRSA isolados. Todos os isolados foram testados para sensibilidade antimicrobiana através do método de diluição em caldo.	2 (1,2 %)	Todos os isolados MRSA foram resistente a oxacilina e multiresistentes	ST8 ST398	t008 t034
LIM et al, 2010 ¹⁸	Coreia	Carne bovina; carne suína; frango	Foi feita identificação convencional das cepas de <i>S. aureus</i> ; incluindo testes complementares: Gram, catalase, coagulase. Teste de sensibilidade a antimicrobianos por difusão em ágar; PCR para detecção de <i>mecA</i> e MLST para tipificação.	16 (0,6 %)	Todos isolados MRSA foram resistentes a oxacilina 3 (18,7 %) dos isolados MRSA foram multiresistentes	ST72 ST692	-
NAM et al, 2011 ¹⁹	Coreia	Leite	Os isolados, presumidamente, <i>S. aureus</i> , foram submetidos a <i>VITEK system</i> para identificação da espécie e depois submetidos teste de sensibilidade antimicrobiana por difusão em ágar. Foi feito ainda teste PCR para detecção dos genes <i>mecA</i> e <i>spa</i> -tipagem e MLST para tipificação.	25* (6,2 %)	Todos isolados MRSA foram resistentes a oxacilina 11 (64,7 %) dos isolados MRSA foram multiresistentes	ST72 ST1	t324 t286 NT
NORMANO et al, 2007 ²⁰	Itália	Leite; produtos lácteos; carnes; produtos cárneos	Cepas foram identificadas como <i>S. aureus</i> e confirmadas através de DNase e identificação do gene <i>mecA</i> por PCR. As estirpes <i>mecA</i> positivas foram testadas para a produção de enterotoxinas estafilocócicas por meio de aglutinação em látex reverso passivo (RPLA), utilizando o kit SET-RPLA. Foram também testadas quando à sensibilidade antimicrobiana 12 cepas por meio de disco-difusão em ágar MH.	6 (0,4 %)	3 (50 %) dos isolados MRSA foram multiresistentes	-	-

Continua

Cont.

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
O'BRIEN et al, 2012 ²¹	Estados Unidos	Carne suína	As amostras foram adicionadas a água peptonada e, em seguida, uma alíquota foi transferida para caldo BP com telurito de K. O inóculo foi semeado em ágar BP com gema de ovo e telurito de K e em meio cromogênico específico para MRSA. Colônias características de <i>S. aureus</i> e MRSA, respectivamente, foram examinadas através de coloração de Gram, catalase, teste coagulase em tubo e teste de aglutinação em látex. A resistência à metilina foi avaliada através de teste de aglutinação em látex para MRSA (Oxoid) e confirmada através de PCR para detecção de gene <i>mecA</i> . Os isolados de MRSA foram sujeitos a tipagem molecular e testados quanto à susceptibilidade antimicrobiana através de diluição em caldo para 10 antibióticos.	26 (6,6 %)	4 (15,4 %) isolados MRSA foram sensíveis a oxacilina 10 (38,5 %) dos isolados foram multiresistentes	ST398 ST8 ST5	t034 t002 t008
PEREIRA et al., 2009 ²²	Portugal	Carne crua; produtos cárneos fermentados; queijos; leite; outros produtos alimentares	Detectaram-se as cepas de <i>S. aureus</i> através de métodos convencionais para estafilococos coagulase positiva (ágar Baird-Parker, Gram, catalase, coagulase em tubo e DNA-se). Em seguida, o DNA foi isolado através de PCR, e o mesmo foi utilizado para detecção de <i>mecA</i> , 16S rRNA e <i>nuc</i> . O ensaio de enzima ligada fluorescente (ELFA) foi utilizado para a detecção de enterotoxinas estafilocócicas específicas e teste de sensibilidade antimicrobiana em difusão em ágar. A determinação de genes de enterotoxinas estafilocócicas também foi realizada através de multiplex PCR. As concentrações inibitórias mínimas (CIM (mg/mL) para <i>S. aureus</i> foram determinadas pelo método de diluição em ágar.	1 (0,68 %)	38 % dos isolados foram resistentes a oxacilina	-	-
PU; WANG; GE, 2009 ²³	Estados Unidos	Carne suína e carne bovina	Enriquecimento em TSB + NaCl seguido de plaqueamento em BP com cefoxitina (4 µg/mL), seguido de teste da coagulase em tubo. A confirmação de <i>S. aureus</i> foi feita utilizando multiplex PCR para o fragmento espécie-específico 442 pb e para determinação do gene <i>mecA</i> . Isolados de MRSA foram então caracterizados para susceptibilidade antimicrobiana usando teste de microdiluição em caldo. MLST e <i>spa</i> -tipagem para tipificação.	22 (18,3 %)		ST5 ST8	

Continua

Cont.

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
SHAHRAZ et al, 2012 ²⁴	Irã	Hambúguer	10 g da amostra foi homogeneizada em solução de Ringer e 1 ml da suspensão foi transferido para meio de carne cozida com NaCl. Em seguida, transferido para meio BP suplementado com emulsão de gema de ovo telurito. Colônias com morfologia típica de <i>S. aureus</i> foram submetidas aos testes: coloração de Gram, catalase, coagulase, oxidação e fermentação em ágar Sal Manitol e DNase. Resistência a antibióticos dos isolados de <i>S. aureus</i> foi feita pelo método de difusão em disco em ágar MH. PCR foi feito para detecção do gene <i>mecA</i> .	57 (22,3 %)	Todos os isolados MRSA possuíam o gene <i>mecA</i> Quatro (2 %) isolados MSSA possuíam o gene <i>mecA</i>	-	-
TAVAKOL et al, 2012 ²⁵	Holanda	Leite	As amostras foram inoculadas em ágar sangue, para identificação de MRSA pela sua morfologia (colônias amarelas hemolíticas). Os isolados foram submetidos ao teste <i>Staphaurex Plus</i> , método de difusão em disco com 30 µg de cefoxitina e PCR para gene <i>mecA</i> . Em seguida, foi feito teste de sensibilidade a antibióticos em todas estirpes MRSA, através do método de disco-difusão. Em seguida, foi feita MLST e <i>spa</i> -tipagem para tipificação.	14 (0,04 %)	Todas as estirpes MRSA possuíam o gene <i>mecA</i> e foram multiresistentes	ST398	t011 t899 t108
TÜRKYILMAZ et al, 2010 ²⁶	Turquia	Leite	Estafilococos isolados a partir de amostras de leite bovino foram identificados com base em características das colônias. Estirpes de <i>S. aureus</i> foram testadas para resistência à metilina, utilizando o método de disco-difusão com cefoxitina. Testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram realizados em ágar Mueller-Hinton. Estirpes resistentes foram testadas para gene <i>mecA</i> . Realizou-se ainda tipificação do <i>SSCmec</i> , MLST e <i>spa</i> tipificação.	16 (17,2 %)	Todas as estirpes MRSA possuíam o gene <i>mecA</i> e foram multiresistentes	ST239 ST8	t030 t190

Continua

Cont.

Autores	Local de realização da pesquisa	Amostras analisadas	Metodologia	Total de estirpes MRSA isoladas N (%)	Teste de sensibilidade antimicrobiana para estirpes MRSA	MLST tipos	spa tipos
VAN LOO et al, 2006 ²⁷	Holanda	Carne de porco e carne bovina	Foram feitos dois enriquecimentos (MH + NaCl e caldo vermelho de fenol contendo cefoxitina e aztreonam) seguidos de plaqueamento em ágar cromogênico e Columbia. Colônias características de <i>S. aureus</i> foram confirmadas com teste de aglutinação em látex, teste coagulase em tubo contendo plasma de coelho e DNase. Confirmação da resistência à metilina e identificação de <i>S. aureus</i> foi feito através de PCR duplex em tempo real para gene <i>mecA</i> e fragmentos 442-pb específicos de <i>S. aureus</i> . Sensibilidade a cefoxitina e oxacilina foi determinada usando difusão em disco. Todos os isolados <i>S. aureus</i> foram genotipados por <i>spa</i> -tipagem.	2 (2,5 %)	Todos os isolados MRSA foram resistentes a oxacilina e cefoxitina	-	t108 t024
VÁZQUEZ-SANCHEZ et al, 2012 ²⁸	Espanha	Produtos de Peixe	Realizou-se diluição sérica em água peptonada, seguida de plaqueamento em BP suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito de K. Colônias típicas foram isoladas e cultivadas em BHI. Em seguida, foram submetidos aos testes bioquímicos: coagulase, DNase, e fermentação em manitol. Caracterização genotípica dos isolados foi realizada por RAPD-PC. E PCR também foi utilizado para detecção dos genes <i>seg-sei</i> , <i>sea-see</i> , <i>blaZ</i> e <i>mecA</i> . Teste de diluição em caldo e disco-difusão foram realizados com 12 antibióticos.	0 (0,0 %)	-	-	-
WEESE et al, 2010 ²⁹	Canadá	Carne suína; carne bovina; frango	Inoculação em caldo de enriquecimento (triptona, NaCl, manitol e extrato de levedura). Diluições seriadas de 10 vezes do caldo de enriquecimento foram inoculados em tampão fosfato salino (PBS) e, em seguida, plaqueamento em ágar Cromogênico para MRSA. Isolados foram identificados como <i>S. aureus</i> pela morfologia da colônia, coloração de Gram, catalase, coagulase e teste de aglutinação em látex. Resistência à metilina foi confirmada pelo teste de aglutinação em látex para PBP2a. Isolados foram tipificados por MLST e <i>spa</i> -tipagem.	36 (5,3 %)	-	ST5	t242

* Informaram apenas o número de isolados de *S. aureus*, omitindo o total de amostras analisadas.

17 (89,5 %) publicações utilizaram PCR como método principal ou secundário nas análises.

A maioria das publicações (11/64,7 %) realizou tipificação molecular dos isolados de MRSA como análise complementar, que incluiu tipagem por sequenciamento do *multilocus* (MLST) e sequenciamento da região polimórfica X do gene da proteína A estafilocócica (*spa*-tipagem). Seis estudos avaliaram a presença de genes de enterotoxinas estafilocócicas.

Isolamento de MRSA em alimentos de origem animal

A prevalência de MRSA em alimentos de origem animal variou entre 0 % e 37,2 %. Três artigos informaram apenas o número de isolados de *S. aureus*, omitindo o total de amostras analisadas. A maioria dos estudos observou baixíssimas frequências de isolamento (≤ 8 %), sendo que, apenas quatro pesquisas relataram percentuais superiores a 10 %, enquanto que dois estudos não isolaram estirpes de MRSA nos alimentos investigados.

O maior percentual de isolamento de MRSA por alimento de origem animal foi relatado em amostras de hambúrgueres embalados (22,3 %), seguido de leite de mastite bovina (17,2 %), carne suína *in natura* (14,2 %), peru (12,42 %) e frango (10,2 %). Carne bovina, peixe e queijo apresentaram as menores prevalências.

Genes codificadores de toxinas estafilocócicas foram comumente encontrados abrangendo estirpes de MRSA isoladas.

Entre as publicações que realizaram tipificação molecular das estirpes MRSA isoladas, os principais MLST encontrados foram ST398, ST8 e ST5. Os *spa* mais encontrados através da tipagem foram t011, t108 e t034.

DISCUSSÃO

A presente revisão identificou 19 artigos sobre MRSA em alimentos de origem animal, envolvendo uma ampla variedade de amostras. Esse número expressivo de publicações científicas está associado à preocupação com o evidente aumento de MRSA em animais destinados à produção de alimentos e a suposição de que a colonização destes seria a fonte de contaminação de produtos cárneos por MRSA³⁰.

MRSA foi isolado pela primeira vez em animais criados para alimentação humana em 1972, a partir de casos de mastite em vacas leiteiras na Bélgica. Desde então, este micro-organismo surgiu em uma variedade de populações

animais, tais como gatos, cachorros, cavalos, ovelhas, suínos, bezerros e aves^{8,31}.

No entanto, existe uma distinção explícita entre estirpes de MRSA isoladas em animais de companhia e aquelas isoladas em animais destinados à produção de alimentos. Animais de companhia são geralmente contaminados através de contato com pessoas infectadas ou colonizadas com MRSA, de modo que a sua presença nesses animais ocorre em função da transmissão de um reservatório humano³⁰⁻³². Enquanto que em animais destinados à produção de alimentos, um clone de origem desconhecida emergiu recentemente, sugerindo que o surgimento de MRSA nesses animais estaria associado ao uso de antibióticos na pecuária³⁰.

A carne suína aparece como alimento mais investigado nos diversos estudos, certamente devido ao envolvimento epidemiológico dessa espécie animal com a transmissão de um clone específico de animais de produção para humanos. Estirpes isoladas em casos de infecção por MRSA associadas à comunidade (CA-MRSA), sem conexão epidemiológica com o ambiente hospitalar, foram associadas à MRSA em suínos, e estudos subsequentes têm confirmado que o contato com suínos é um fator de risco para infecção e colonização por esse micro-organismo^{30,31}. Na Holanda, criadores de suínos e seus familiares foram encontrados com MRSA, sendo o contato com essa espécie reconhecido como um fator de risco para a transmissão de MRSA para humanos⁹.

Diferentes métodos foram utilizados para o isolamento de MRSA em alimentos. Poucos estudos utilizaram enriquecimento antes da inoculação em placas, e apenas três estudos utilizaram enriquecimento duplo durante as análises das amostras coletadas. Como o número de MRSA em alimentos pode ser baixo, e como há frequentemente variação da microbiota, o enriquecimento duplo é recomendado nesse tipo de análise, pois pode aumentar a taxa de detecção^{9,32}.

O teste disco-difusão foi amplamente utilizado entre os estudos. Este é um método fenotípico, baseado numa avaliação qualitativa. As pesquisas utilizaram tanto o disco de oxacilina, quanto o de cefoxitina nas análises. A oxacilina é utilizada para os testes de disco-difusão há várias décadas. Contudo, nos últimos anos, diversos autores têm demonstrado uma boa exatidão no teste de disco-difusão com cefoxitina para o diagnóstico de MRSA³³. Destaca-se que a detecção de MRSA baseada em métodos convencionais de

susceptibilidade a antimicrobianos, tanto através de disco-difusão, quanto através de microdiluição em caldo, podem ser trabalhosos, demorados, altamente dependentes das condições de crescimento e pouco discriminatórios²⁴.

O teste de aglutinação em látex, bastante utilizado nos estudos analisados, é um método com exatidão próxima a 100 % baseado na detecção da proteína PBP2a. A técnica PCR para detecção do gene *mecA* foi a mais utilizada nas pesquisas para identificar isolados de MRSA. Esse método é baseado numa caracterização genotípica e constitui método *gold standard* para avaliação qualitativa da resistência à metilina³³. É um método útil e bastante sensível para análises de resistência antimicrobiana²⁴.

Alguns estudos que realizaram teste de sensibilidade antimicrobiana somados à técnica de PCR relataram incompatibilidade entre os resultados obtidos nos métodos, representada por duas situações: 1) isolados apresentavam resistência a oxacilina pelo teste disco-difusão, entretanto, não abrigavam o gene *mecA*; o que pode ocorrer devido a outros mecanismos de resistência, que são raros, não relacionados ao gene *mecA*, como a superprodução de beta-lactamases ou a produção de PBPs habituais, porém com graus variados de afinidade pelos betalactâmicos³³; 2) isolados sensíveis a oxacilina abrigavam o gene *mecA*. Uma possível explicação para este achado é a existência de heteroresistência entre as estirpes. Cada célula na população pode carregar a informação genética para resistência, mas somente uma pequena fração pode realmente expressar o fenótipo resistente sob condições de teste *in vitro*^{20,33}.

A maioria dos estudos utilizou os métodos MLST e *spa*-tipagem para a tipificação molecular das estirpes MRSA isoladas. Ambos correspondem a uma excelente ferramenta para investigação da evolução clonal de MRSA e determinação da estirpe ancestral³⁴.

A prevalência de MRSA variou significativamente nos estudos analisados, entre 0 % e 37,2 %. Comparações de prevalências nesse caso não são recomendadas, devido à variação dos métodos, esquemas de coleta de amostras, e os tipos de amostras^{21,30}. Ainda assim, estes estudos indicam que MRSA está presente em uma ampla variedade de alimentos. A contaminação de alimentos de origem animal pode ocorrer durante o abate de animais, devido à contaminação de carcaças e do meio ambiente com MRSA⁹.

O risco da presença de MRSA em alimentos está relacionado à possibilidade do mesmo ser colonizado com o micro-organismo durante a sua produção, manipulação e/ou consumo^{9,31}. Há também a possibilidade de desenvolvimento de doença invasiva causada pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente em indivíduos imunossuprimidos, cujas respostas das imunidades específicas e não-específicas são incapazes de atuar como barreiras para prevenir a colonização do trato gastrointestinal. Entretanto, este é um evento raro, sendo relatado na literatura apenas uma vez, no contexto de um grande surto hospitalar de MRSA, devido à ingestão de alimento contaminado por um paciente na enfermaria do Erasmus Medical Centre em Roterdã, Holanda, levando o paciente ao desenvolvimento de sepse severa e morte³¹.

A exposição a esses riscos depende muito das medidas de higiene adotadas, da capacidade da estirpe em colonizar o hospedeiro e da quantidade de micro-organismos presentes na amostra. Com relação a esse último aspecto, a prevalência de MRSA em alimentos é geralmente baixa, visto que, a maioria dos estudos observou frequências de isolamento inferiores a 8 %. Além disso, *S. aureus* não é um bom competidor comparado com os micro-organismos de deterioração em carne crua e as condições para o crescimento de MRSA nestes alimentos são muito pobres, o que torna a possibilidade de contaminação humana muito pequena^{9,31,32}.

Curiosamente, entre os alimentos analisados o hambúrguer embalado foi o que apresentou maior frequência de isolamento de MRSA. Este achado pode estar relacionado às condições de processamento, devido à contaminação do alimento por equipamentos ou manipuladores contaminados. Já as amostras de leite apresentaram a segunda maior prevalência de MRSA nos diferentes estudos. Isso mostra que MRSA está comumente associado com a ocorrência de mastite em vacas leiteiras, o que justificaria a presença desse micro-organismo no leite, aspecto relevante em termos de segurança alimentar, quando esse alimento é consumido cru ou usado para a produção de queijos elaborados com leite cru²⁰. O isolamento de MRSA em carnes suína, bovina, peru e frango crus torna-se irrelevante como risco potencial relativo a ingestão, quando tais alimentos são corretamente preparados e submetidos a processamento térmico. Contudo, a manipulação da carne antes de ser cozida envolve um risco de

colonização por MRSA se o manipulador, por exemplo, tocar suas narinas com as mãos contaminadas^{30,31}.

Todos os estudos que realizaram teste de sensibilidade antimicrobiana encontraram perfil de multirresistência entre a maioria ou todos os isolados MRSA avaliados. Esse resultado é preocupante, pois a presença de patógenos multirresistentes em alimentos é reconhecida como um perigo para a saúde humana, uma vez que torna limitada a escolha de princípios-ativos para o controle do micro-organismo e, portanto, mais difícil a sua erradicação^{28,35}.

Alguns estudos relataram a detecção de genes codificadores de enterotoxinas estafilocócicas entre as estirpes de MRSA isoladas. Estes achados fornecem evidências de que MRSA também pode estar envolvido em surtos de intoxicação alimentar²¹. Tal como acontece com *S. aureus* sensível à metilina (MSSA), o alimento contaminado por MRSA pode dar origem a uma intoxicação alimentar estafilocócica pela ingestão de enterotoxinas pré-formadas. Entretanto, é importante considerar que a resistência a metilina não é um fator relevante para a produção de enterotoxinas. Portanto, a presença de MRSA em alimentos pode não representar um risco maior de intoxicação alimentar do que MSSA^{30,31}.

O MLST da linhagem ST398 foi isolado na maior parte das amostras analisadas nos diferentes estudos, bem como os genes *spa* das linhagens t034, t108 e t011. Estas linhagens clonais são atribuídas ao complexo CC398, identificado inicialmente em porcos, sugerindo que esta linhagem tenha emergido nessa espécie animal, sendo subsequentemente disseminada para outros animais, inclusive humanos^{8,30}. A presença dessa linhagem clonal em alimentos ratifica que o uso de antibióticos na pecuária e consequente emergência de MRSA em animais destinados ao consumo humano são a principal fonte de contaminação. A administração de antibióticos em animais para a produção de alimentos, tanto para fins terapêuticos quanto como promotores de crescimento e, principalmente, o uso de agentes antimicrobianos com fraca atividade ou em uma dosagem inapropriada, podem aumentar a oportunidade para o processo de seleção de bactérias resistentes à antibióticos²⁴.

Em um estudo realizado na Holanda, incluído nessa revisão, uma menor prevalência de MRSA foi observada em carnes de frango criado biologicamente (aves selvagens ou criadas sem a utilização de promotores

de crescimento) em comparação a prevalência de MRSA isolados de aves criadas pelo sistema convencional⁹.

As linhagens ST8 e ST5 também estiveram frequentemente presentes nas amostras de alimentos de origem animal. Estas duas estirpes de MRSA pertencem a biovariedade humana, sugerindo que os manipuladores de alimentos são também fonte de contaminação, e levantam a possibilidade destas estirpes serem introduzidas durante o processamento¹⁸, enfatizando o papel dos humanos como um importante reservatório de MRSA^{9,20}.

Pesquisas genômicas adicionais são necessárias para determinar, com maior especificidade, a origem dos isolados de MRSA em alimentos. Mesmo sem a exata compreensão sobre a origem de contaminação de alimentos por MRSA, políticas restritivas sobre o uso de antibióticos na pecuária são necessárias para o controle do micro-organismo²⁴. Além disso, a presença de MRSA em alimentos de origem animal pertencentes à biovariedade humana aponta para a necessidade de melhorias das práticas de higiene na produção alimentar, com a adoção de medidas como implantação de Boas Práticas de Fabricação e do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), com objetivo de evitar a ocorrência, o crescimento e a sobrevivência de MRSA em alimentos prontos para o consumo^{9,24}.

Tendo em vista a ocorrência de cepas de MRSA resistentes a múltiplos antibióticos há possibilidade de, em breve, existirem bactérias resistentes a todos os agentes antimicrobianos disponíveis para tratamento de pacientes, ainda mais levando em consideração que novas classes de antibióticos não têm sido descobertas nos últimos 30 anos. Assim, terapias alternativas já têm sido propostas para o controle deste micro-organismo³⁶.

Uma das tecnologias alternativas para o controle de patógenos é o uso de bacteriófagos, que são componentes da microbiota natural da produção de alimentos, desde o campo até a comercialização do produto final. Além de serem estáveis nesses ambientes são prontamente recuperados do solo, da água, de efluentes, das fezes e dos próprios alimentos. Eles têm sido usados como um tratamento efetivo contra infecções bacterianas por aproximadamente 100 anos, mas o complexo médico-industrial atual recusa-se a reconhecê-los como uma terapêutica válida da medicina³⁷. Existem alguns relatos na literatura sobre

o uso de bacteriófagos para o controle de *S. aureus*. Esses fagos são obrigatoriamente líticos e polivalentes, a exemplo do fago K, que demonstrou capacidade de infectar uma variedade de estirpes MRSA, inclusive aquelas com resistência a vancomicina³⁷. Outro estudo relatou purificação bem sucedida de uma lisina codificada pelo bacteriófago Φ MR11, designada MV-L, que lisou rápida e completamente células de *S. aureus*, incluindo MRSA inoculados artificialmente em narinas de ratos e *S. aureus* com resistência intermediária à vancomicina. A administração intraperitoneal de MV-L também protegeu ratos contra morte séptica, sem quaisquer efeitos prejudiciais³⁸. Esse estudo demonstrou que a fagoterapia constitui uma importante ferramenta para o tratamento de MRSA e várias outras bactérias resistentes a antibióticos, que estão crescendo no ambiente hospitalar e clínicas de saúde em todo o mundo, e cuja cura não tem sido oficialmente reconhecida.

CONCLUSÃO

A presença de MRSA em alimentos, embora reduzida e bastante divergente entre os estudos, indica que esta pode ser uma importante fonte de contaminação para humanos. Entretanto, os diferentes métodos de análise dificultam a realização de comparações e a correta estimativa do risco.

O duplo enriquecimento em caldo e a utilização de PCR são recomendados para a detecção de MRSA em produtos cárneos. A tipificação molecular também demonstra ser bastante importante para determinar a ancestralidade clonal e, portanto, a fonte de contaminação.

Apesar da ocorrência de CA-MRSA relacionada ao cultivo suíno, os estudos evidenciam que outros alimentos de origem animal, além da carne suína, são contaminados com MRSA, necessitando devida atenção.

Estudos longitudinais realizados em toda cadeia alimentar, da produção até o consumo, são necessários para melhor conhecimento das rotas de transmissão, podendo fornecer ferramentas para prevenção da propagação de MRSA. Desde então, medidas devem ser adotadas, como controle do uso de antibióticos na pecuária e práticas de higiene e conservação adequada dos alimentos. Além disso, terapias alternativas para o tratamento de infecções por MRSA tanto em animais, quanto em humanos, necessitam ser elucidadas e reconhecidas, a exemplo da fagoterapia, que demonstra eficácia contra MRSA e outras bactérias resistentes a antibióticos.

REFERÊNCIAS

1. Rana N, Shrivastava S. Comparative study of antimicrobial activity of different plants against multi drug resistant pathogen *Staphylococcus aureus* ATCC242 isolated from burnt patients and the effect of different binary combination of antimicrobial plant extracts. *Int J Food Safety*. 2011;13:88-92.
2. Sturmer FCR. Caracterização parcial do elemento *ccr* em *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina isolados no sul do Brasil [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande Do Sul; 2008.
3. Hososaka Y, Hanaki H, Endo H, Suzuki Y, Nagasawa Z, Otsuka, Y, et al. Characterization of oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*: a new type of MRSA. *J Infect Chemother*. 2007;13:79-86.
4. Rivera-Tapia JA. Antibiotic resistance, public health problem. *Anal Med Asociac Med Amer Brit Cowdray Hosp*. 2003;48(1):42-47.
5. Tacconelli E, Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antim Chemother*. 2008;61:26-38.
6. Ferreira WA, Vasconcelos WS, Ferreira CM, Silva MFP, Gomes JS, Alecrim MGC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) em pacientes atendidos em ambulatório de dermatologia geral em Manaus-Amazonas. *Rev Patol Trop*. 2009; 38(2):83-92.
7. Costa PMRM. Resistências antimicrobianas em avicultura. Congresso de Ciências Veterinárias; 2002; Oeiras; BR, p.251-60.
8. Cuny C, Friedrich A, Kozytska S, Layer F, Nubel U, Ohlsen K, et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) indifferent animal species. *Int J Med Microbiol*. 2010;300 (2-3):109-17.
9. De Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wit B, Huijsdens XW, Neeling AJ, Bosch T, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol*. 2009;134(1-2):52-6.
10. Korb A, Brambilla DK, Teixeira DC, Rodrigues RM. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. *Rev Saúde Pública*. 2011;4(1):21-36.
11. Mota RA, Silva KPC, Freitas MFL, Porto WJN, Silva LB. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2005;42(6):465-70.
12. Atyah MA, Zamri-Saad M, Siti-Zahrah A. First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from cage-cultured tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vet Microbiol*. 2010;144(3-4):502-4.
13. Crago B, Ferrato C, Drews SJ, Svenson LW, Tyrrell G, Louie M. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. *Food Microbiol*. 2012;32(1):202-5.
14. Dias, NL, Silva DCB, Oliveira DCBS, Fonseca Junior AA, Sales, ML, Silva N. Detection of genes of *Staphylococcus aureus*, enterotoxins and methicillin resistance in Milk. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2011;63 (6):1547-52.
15. Fessler AT, Kadlec K, Hassel M, Hauschild T, Eidam C, Ehrlich R. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(20):7151-7.

16. Hammad AM, Watanabe W, Fujii T, Shimamoto T. Occurrence and characteristics of methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Int J Food Microbiol*. 2012;156(3):286-9.
17. Hanson BM, Dressler AE, Harper AL, Scheibel RP, Wardyn SE, Roberts LK, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. *J Infect Public Health*. 2011;4(4):169-74.
18. Lim SK, Nam HM, Park HJ, Lee HS, Choi MJ, Jung SC, et al. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meat in Korea. *J Microbiol Biotechnol*. 2010; 20(4):775-8.
19. Nam HM, Lee AL, Jung SC, Kim MN, Jang GC, Wee SH, et al. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Korea. *Foodborne Pathog Dis*. 2011; 8(2):231-8.
20. Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int J Food Microbiol*. 2007;117(2):219-22.
21. O'Brien AM, Hanson BM, Farina SA, Wu JY, Simmering JE, Wardyn SE, et al. MRSA in conventional and alternative retail pork products. *PLoS One*. 2012;7(1):e30092.
22. Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, Teixeira P. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. *Food Microbiol*. 2009;26(3):278-82.
23. Pu S, Han F, Ge B. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75(1):265-7.
24. Shahraz F, Dadkhah H, Khaksar R, Mahmoudzadeh M, Hosseini H, Kamran M, et al. Analysis of antibiotic resistance patterns and detection of *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from packaged hamburger. *Meat Sci*. 2012;90(3):759-63.
25. Tavakol M, Riekerink RG, Sampimon OC, van Wamel WJ, van Belkum A, Lam TJ. Bovine-associated MRSA ST398 in the Netherlands. *Acta Vet Scand*. 2012;54:28.
26. Türkyilmaz S, Tekbiyik S, Oryasin E, Bozdogan. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoon Public Health*. 2010;57(3):197-203.
27. Van Loo IH, Diederer BM, Savelkoul PH, Woudenberg JH, Roosendaal R, van Belkum A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(11):1753-5.
28. Vázquez-Sánchez D, López-Cabo M, Saá-Ibusquiza P, Rodríguez-Herrera JJ. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). *Int J Food Microbiol*. 2012;157(2):286-96.
29. Weese JS, Avery BP, Reid-Smith RJ. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. *Lett Appl Microbiol*. 2010;51(3):338-42.
30. Weese JS. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Animals. *ILAR J*. 2010;51(3):233-44.
31. Kluytmans JA JW. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency? *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(1):11-5.
32. European Food Safety Authority. Assessment of the Public Health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. *EFSA J*. 2009;993:17-73.
33. Mímica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *J Bras Patol Med Lab*. 2007;43(6):399-406.
34. Teixeira MM. Infecção hospitalar por *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) em um hospital público de ensino: tipagem epidemiológica molecular e fenotípica de amostras isoladas em 1998 e 2008 [tese]. Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2011.
35. Gandra TKV, Oliveira MG, Bassani MT, Silva WP. Perfil de Resistência/Sensibilidade a Antibióticos em Cepas de Estafilococos Coagulase Positiva Isoladas de Embutidos e Queijos. *Anais do XVIII CIC - Congresso de Iniciação Científica II Mostra Científica XI ENPOS. Encontro de Pós-Graduação I Mostra Científica*; 2009, Pelotas, BR.
36. Fiorentin L. O potencial terapêutico dos bacteriófagos. Simpósio sobre alternativas para antimicrobianos em suínos e aves. 2003; Passo Fundo; BR. Mann NH. The potential of phages to prevent MRSA infections. *Res Microbiol*. 2007;159:400-5.
37. Rashel M, Uchiyama J, Ujihara T, Uehara Y, Kuramoto S, Sugihara S, et al. Efficient elimination of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* by cloned lysin derived from bacteriophage Φ MR11. *J Infect Dis*. 2007;196(8):1237-47.