



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de produtos de origem animal

Cristiane de Melo Vasconcelos

Recife

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CRISTIANE DE MELO VASCONCELOS

Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de produtos de origem animal

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Dr.^a Eriane de Castro Lima Machado

CO-ORIENTADORA: Dr.^a Michelle Rose de Oliveira Silva

Recife

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

V331r Vasconcelos, Cristiane de Melo.
Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de produtos de origem animal / Cristiane de Melo Vasconcelos. – Recife, 2018.
78 f.: il.

Orientador(a): Eriane de Castro Lima Machado.
Coorientador(a): Michelle Rose de Oliveira Silva.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências.

1. Microrganismo – Susceptibilidade 2. Antimicrobianos - Susceptibilidade
I. Machado, Eriane de Castro Lima, orient. II. Silva, Michelle Rose de Oliveira, coorient. III. Título.

CDD 640

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS
DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

Por Cristiane de Melo Vasconcelos

Esta dissertação foi julgada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em __/__/__ pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:

Profa Dra. Celiane Gomes Maia da Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Danilo Elias Xavier
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dra. Márcia Maria Camargo Morais
Instituto de Ciências Biológicas/UPE

Dedico este trabalho aos meus amados pais,
por todo apoio, leveza e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar minha vida e mostrar os caminhos nos momentos de dificuldade;

Aos meus queridos pais, Sérgio e Simone, sempre presentes e me apoiando incondicionalmente;

À minha irmã, Priscila, pelos conselhos e incentivo;

Ao meu companheiro da vida, Aroldo, por compartilhar este sonho e entender os momentos de ausência;

À minha orientadora, professora Erilane, pela paciência, compreensão, instrução e confiança em mim depositada;

À minha co-orientadora, Michelle, pela generosidade em dividir seus conhecimentos e pelo direcionamento, e acessibilidade desde o início;

À minha chefe, Adeilza, e à Vânia, por compreenderem e me apoiarem no desenvolvimento deste trabalho; aos queridos colegas de trabalho, em especial Fábria e Helena, que muito me deram suporte nas minhas ausências;

À Rosélia, sempre disponível e essencial no meu aprendizado das práticas laboratoriais;

Ao professor José do Egito, por todo apoio e incentivo;

Aos colegas de turma, em especial Alessandra, Anderson, Lara e Plínio, por dividirem tantos momentos, angústias e conquistas ao longo desta jornada;

Aos amigos, em especial minhas sete meninas (Amanda, Ariadne, Bárbara, Ingrid, Jessica, Klarissa, Renata), Agnes e Naia, por sempre acreditarem em mim;

Ao Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão da Universidade Federal de Pernambuco por ceder o Laboratório de Microbiologia de Alimentos para desenvolvimento deste projeto de pesquisa;

Ao Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de crescimento profissional;

E, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

RESUMO

Staphylococcus aureus é um microrganismo comensal da pele e de membranas mucosas de animais e de seres humanos, sendo considerado um agente oportunista e responsável por intoxicação alimentar. Uma outra ameaça à saúde pública relaciona-se à sua capacidade de resistência antimicrobiana, que tem sido detectada em cepas isoladas de diversos produtos de origem animal e associa-se ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na produção animal, o que alerta sobre o monitoramento da transmissão deste microrganismo através de alimentos. Objetivou-se com o presente estudo pesquisar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistentes a antimicrobianos em queijo de coalho artesanal, carne moída bovina e carnes suína e de frango. De cada produto de origem animal, foram adquiridas 3 amostras de minimercados em Pernambuco, Brasil, que foram submetidas à análise microbiológica para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e de *S. aureus*. Cepas de *S. aureus* foram isoladas, submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana a nove antimicrobianos utilizados nas clínicas humana e veterinária e, posteriormente, avaliou-se a multirresistência antimicrobiana e calculou-se o índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR). Verificou-se contaminação em todos os tipos de produtos por *S. coagulase positiva*, com igual contagem para *S. aureus*, variando de $2,4 \times 10^3$ UFC/g na carne suína a $2,2 \times 10^6$ UFC/g na carne de frango. Entre as cepas isoladas, 37,5% (45/120) foram confirmadas como *S. aureus*, em maior ocorrência na carne suína com 63% (19/45) e no queijo de coalho artesanal com 37% (14/45), seguidos da carne moída bovina com 33% (10/45) e da carne de frango com 6,7% (2/45). Quanto à resistência antimicrobiana, a carne suína, seguida do queijo de coalho e da carne de frango apresentaram o maior número de cepas resistentes. Houve maior resistência à tetraciclina, com 33,3% (15/45) das cepas de *S. aureus*, seguida por penicilina G com 24,4% (11/45), eritromicina com 8,8% (4/45), clindamicina com 6,6% (3/45) e cefoxitina com 2,2% (1/45), sendo 4 (8,8%) cepas consideradas multidrogarresistentes (MDR), 3 (6,6%) MLSc (resistência constitutiva aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina), 1 (2,2%) MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) e 17 (37,7%) provenientes de potenciais fontes de contaminação de alto risco, com índice MAR $\geq 0,2$. Não houve resistência à gentamicina, ciprofloxacina, cloranfenicol e sulfazotrim. Conclui-se que os produtos de origem animal analisados apresentaram contaminação por *S. aureus* e podem ser reservatórios de cepas resistentes a antimicrobianos, representando um potencial risco à saúde da população.

Palavras-chave: Microrganismo, antimicrobianos, susceptibilidade.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a commensal microorganism of the skin and mucous membranes of animals and humans and is considered an opportunistic agent responsible for food poisoning. Another threat to public health relates to its antimicrobial resistance capacity, which has been detected in isolated strains of various animal products and is associated with the indiscriminate use of antimicrobial agents in animal production, which warns of the transmission of this microorganism through food. The objective of this study was to investigate the occurrence of antimicrobial resistant *Staphylococcus aureus* in handmade coalho cheese, beef ground and pork and chicken meat. From each animal product, 3 market samples were acquired in Pernambuco, Brazil, which were submitted to microbiological analysis for coagulase positive *Staphylococcus* and *S. aureus* counts. *S. aureus* strains were isolated, submitted to the antimicrobial susceptibility test to nine antimicrobials used in the human and veterinary clinics, and the antimicrobial multiresistance was then evaluated and the Multiple Antimicrobial Resistance (MAR) index was calculated. Contamination in all types of products was verified by *S. coagulase* positive, with an equal count for *S. aureus*, ranging from 2.4×10^3 CFU/g in the pork meat to 2.2×10^6 CFU/g in chicken meat. Among the isolated strains, 37.5% (45/120) were confirmed as *S. aureus*, with the highest occurrence in pork with 63% (19/45) and handmade coalho cheese with 37% (14/45), followed by ground beef with 33% (10/45) and chicken meat with 6.7% (2/45). Regarding antimicrobial resistance, pork meat, followed by handmade coalho cheese and chicken meat had the highest number of resistant strains. There was a higher resistance to tetracycline, with 33.3% (15/45) of *S. aureus* strains, followed by penicillin G with 24.4% (11/45), erythromycin with 8.8% (4/45), clindamycin with 6.6% (3/45) and cefoxitin with 2.2% (1/45), with 4 (8.8%) strains considered multidrug-resistant (MDR), 3 (6.6%) MLSc (constitutive resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin), 1 (2.2%) MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) and 17 (37.7%) from potential sources of high-risk contamination, with MAR index ≥ 0.2 . There was no resistance to gentamicin, ciprofloxacin, chloramphenicol and sulfazotrim. It is concluded that the products of animal origin analyzed showed contamination by *S. aureus* and may be reservoirs of strains resistant to antimicrobials, representing a potential risk to the health of the population.

Key words: Microorganism, antimicrobial, susceptibility.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios da contagem (UFC/g) de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e de <i>S. aureus</i> nos produtos de origem animal.....	59
Tabela 2 – Frequência da resistência antimicrobiana de cepas de <i>S. aureus</i> isoladas dos produtos de origem animal.....	62
Tabela 3 – Índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) para cepas de <i>S. aureus</i>	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho do estudo para a pesquisa de resistência antimicrobiana de <i>S. aureus</i> isolados de produtos de origem animal.....	56
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE	14
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3.1 Intoxicação estafilocócica.....	15
3.2 Resistência antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i> em produtos de origem animal	18
3.3. Produtos de origem animal	23
3.3.1 Queijo de coalho artesanal	23
3.3.2 Carne moída bovina.....	26
3.3.3 Carne suína	29
3.3.4 Carne de frango	30
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

ARTIGO

1. INTRODUÇÃO.....	53
2. MATERIAL.....	54
3. MÉTODOS.....	54
3.1 Preparo das amostras	54
3.2 Isolamento e contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> e de <i>Staphylococcus aureus</i>	55
3.3 Testes confirmativos para <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	56
3.3.1 Prova da coagulase	56
3.3.2 Prova da catalase	57
3.3.3 Prova do manitol.....	57
3.3.4 Prova de Gram.....	57
3.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos	57
3.5 Classificação das cepas multidrogarresistentes (MDR)	58

3.6 Caracterização das cepas de acordo com o índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR)	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e de <i>Staphylococcus aureus</i> nos produtos de origem animal	59
4.1 Isolamento e Resistência antimicrobiana de <i>S. aureus</i> isolados dos produtos de origem animal.....	62
5. CONCLUSÃO	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1. INTRODUÇÃO

A intoxicação alimentar estafilocócica é um agravo comum que resulta do consumo de alimentos contendo quantidades suficientes de uma ou mais enterotoxinas pré-formadas (ARGUDÍN et al., 2010; LE LOIR, 2013). *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), o agente causal da intoxicação alimentar estafilocócica, é um comensal comum da pele e de membranas mucosas de animais e de seres humanos, mas que também pode agir como microrganismo oportunista. Manipuladores de alimentos que transportam cepas produtoras de enterotoxinas na mucosa nasal ou nas mãos são considerados como a principal fonte de contaminação dos alimentos e podem contaminar matérias-primas, equipamentos e produtos acabados através do contato manual ou por meio de secreções respiratórias (KADARIYA et al., 2014).

Além de *Staphylococcus aureus* constituir um importante perigo sob a perspectiva de segurança dos alimentos por sua habilidade de produzir enterotoxinas pré-formadas em alimentos (ARGUDÍN et al., 2010), estando entre as principais causas de surtos alimentares na União Europeia (EFSA, 2013) e no Brasil (BRASIL, 2016), uma outra preocupação associada a *S. aureus* é a disseminação de cepas resistentes a antimicrobianos em produtos de origem animal, já tendo sido relatada em diferentes tipos de carnes e produtos lácteos (WEESE et al., 2010; MONTAZ et al., 2013, ABDALRAHMAN et al., 2015; ALVES et al., 2018).

A resistência antimicrobiana em produtos de origem animal está associada ao uso extensivo de antimicrobianos na produção animal (GRUNDMANN et al., 2011). Antimicrobianos podem ser utilizados na Medicina Veterinária para o tratamento de animais doentes (fins terapêuticos), na prevenção de doenças (medida profilática) e como promotores de crescimento nos animais de produção. Estes antimicrobianos são ocasionalmente idênticos aos utilizados na medicina humana, sendo muitas vezes de grande importância clínica. Portanto, bactérias resistentes em animais podem ser consideradas como uma ameaça subestimada para a medicina humana (REINTHALER et al., 2010), sendo a resistência antimicrobiana um fator importante para a patogenicidade dos estafilococos (VASCONCELOS et al., 2011; FOWOYO; OGUNBANWO, 2016).

Diferentes espécies do gênero *Staphylococcus* têm sido sugeridas como reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos (CHAJECKA-WIERZCHOWSKA et al., 2014). A maioria das pesquisas dos isolados de alimentos incide sobre *S. aureus*, enquanto uma menor atenção é dada a outras espécies do gênero (GAO et al., 2012).

Diversas cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos já foram detectadas em produtos de origem animal, principalmente em carne crua de suínos, de aves e de bovinos (DE BOER et al., 2009; HARTUNG; KÄSBOHRER, 2012; WANG et al., 2014), também tendo sido relatadas em leite bovino e em queijos (NORMANNO et al., 2007; JAKOBSEN et al., 2011; JAMALI et al., 2015). Apesar disso, a via de transmissão de cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos através dos alimentos tem sido negligenciada. É necessário monitorá-las para melhor compreender o alcance das mudanças na resistência de microrganismos, particularmente aqueles que representam uma ameaça para a saúde pública (KLUYTMANS, 2010; NOWAKIEWICZ et al., 2015; RODRÍGUEZ-LÁZARO et al., 2015).

Diante do exposto, este trabalho foi conduzido para pesquisar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* e de cepas resistentes a antimicrobianos em produtos de origem animal comercializados em Pernambuco, Brasil.

2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

Os antimicrobianos vêm sendo empregados extensivamente e de forma inapropriada na medicina humana, bem como na medicina veterinária. Como resultado, tem-se observado o surgimento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos, um grave problema de saúde pública, dentre os quais destacam-se as cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*. Isso significa que infecções comuns não poderão ser tratadas com antimicrobianos frequentemente utilizados na clínica médica, além da patogenicidade relacionada à capacidade de produção de enterotoxinas características do gênero. As mudanças epidemiológicas desses agentes trazem à luz a necessidade de se monitorar as cepas resistentes circulantes na cadeia de alimentos, uma via de transmissão negligenciada e amplamente discutida devido ao potencial zoonótico das espécies. Diante do exposto, qual o perfil de susceptibilidade de *Staphylococcus aureus* a antimicrobianos em produtos de origem animal comercializados em Pernambuco, no Brasil?

Como hipótese, tem-se que, devido ao mau uso de antimicrobianos na criação de animais de produção e à possibilidade de contaminação por manipuladores de alimentos portadores de *Staphylococcus aureus*, os produtos de origem animal constituem um importante reservatório de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Intoxicação estafilocócica

Staphylococcus é um gênero de bactérias Gram-positivas e membro da família *Staphylococcaceae*. As bactérias são imóveis, com diâmetro variando entre 0,5 a 1,5µm, não formadoras de esporos, podendo aparecer de forma isolada, em pares, cadeias curtas ou em cachos. São formadoras de colônias pigmentadas, em geral não-capsuladas, catalase e termonuclease positivas (RAVEL, 1997; ZECCONI; HAHN, 2000). A maioria é coagulase negativa, com exceção, dentre outras, de *Staphylococcus aureus*. A produção da enzima coagulase confere maior virulência ao patógeno, aumentando sua capacidade enterotoxigênica (PEREIRA; PEREIRA, 2005).

O gênero *Staphylococcus* possui em torno de 54 espécies, sendo o patógeno mais comum *S. aureus*, que possui uma ampla gama de hospedeiros e pode sobreviver em diversos nichos ambientais. Está amplamente distribuído na natureza, sendo comumente encontrado no trato respiratório superior (cavidade nasal, faringe, laringe), no cabelo e na pele de humanos, bem como em animais produtores de alimentos, como bovinos, suínos, aves e caprinos. Aproximadamente 20 a 30% das pessoas saudáveis podem ser colonizadas por esse microrganismo de forma oportunista (JAY, 2005; GRAVELAND et al., 2011; GAO et al., 2012; LORY, 2014; OU et al., 2017; WANG et al., 2017).

S. aureus é um patógeno potencialmente perigoso, pois pode causar uma variedade de doenças localizadas ou invasivas como septicemia, endocardite, fascite e pneumonia necrosantes, bem como ocasionar intoxicação estafilocócica (KRISHNA; MILLERM, 2012; CHEN; HUANG, 2014; RODRÍGUEZ-LÁZARO et al., 2015; VATANSEVER et al., 2016), a intoxicação alimentar mais prevalente em todo o mundo (JOHLER et al., 2015), sendo uma das principais causas mundiais de surtos relacionados ao consumo de alimentos (ARGUDÍN et al., 2010; HYEON et al., 2013).

A intoxicação alimentar estafilocócica resulta do consumo de alimentos com enterotoxinas produzidas durante o crescimento maciço de *S. aureus* (KEROUANTON et al., 2007), já tendo sido descritas 22 destas enterotoxinas, designadas SEA a SELV, na ordem cronológica de sua descoberta

(HENNEKINNE et al., 2010; HYEON et al., 2013). Elas são resistentes às enzimas gástricas e jejunais, e estáveis ao calor (LE LOIR et al., 2003; JAY, 2005; FRASER, 2008; HU; NAKANE, 2014).

As enterotoxinas estafilocócicas provocam sintomas de gastroenterite aguda, com forte vômito (HU; NAKANE, 2014), náuseas e diarreia presente ou ausente (ARDUDÍN et al., 2012). A doença geralmente é autolimitante, mas ocasionalmente pode ser grave o suficiente para justificar uma hospitalização ou provocar a morte, sobretudo se envolver indivíduos do grupo de risco (crianças, idosos e imunodeprimidos) (ARDUDÍN et al., 2012; TAREKGNE et al., 2016).

A intoxicação alimentar causada por enterotoxinas estafilocócicas é uma das principais causas de surtos de origem alimentar na União Europeia (EFSA, 2013). Nos Estados Unidos, em 2011, estimou-se cerca de 241.148 episódios de doenças alimentares adquiridas por *S. aureus* (SCALLAN et al., 2011). Enquanto no Brasil, avaliando-se o perfil epidemiológico de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) entre os anos de 2006 e 2015, foram registrados 886 surtos e 15.700 pessoas doentes no ano de 2014, contra 861 surtos e 17.455 pessoas doentes no ano de 2013 (BRASIL, 2016). Os maiores responsáveis por surtos são os alimentos de origem animal, bem como os preparados para consumo coletivo (RAY, 1996; BRASIL, 2010; BRASIL, 2016). Segundo Eiguer et al. (1990), em um estudo realizado no Brasil, o agente responsável pela maioria dos casos de DTA foi o *Staphylococcus aureus*. Em um estudo mais recente, *S. aureus* foi o segundo agente etiológico mais encontrado em alimentos envolvidos em surtos de DTA no Brasil, seguido apenas de *Salmonella* spp. (BRASIL, 2016).

Apesar disso, para que uma intoxicação estafilocócica ocorra é preciso que existam condições favoráveis ao crescimento de *S. aureus* no alimento, situação em que rapidamente podem ser alcançados níveis elevados de contaminação, sendo um perigo para a saúde pública (MOHAMED et al., 2015). O microrganismo necessita, para seu metabolismo, aminoácidos como fontes de nitrogênio, tiamina e ácido nicotínico dentre as vitaminas do complexo B. Pode crescer em meios sem NaCl, mas também se multiplica em concentrações de 7% a 20% de cloreto de sódio, assim como na presença de nitratos. A temperatura de crescimento está na faixa de 7°C a 48,5°C, com

temperatura ótima de 35°C a 37°C. Já as enterotoxinas são produzidas entre 10°C e 46°C (SMITH, 1983; FRAZIER; WESTHOFF, 2000; JAY, 2005). *S. aureus* é capaz de crescer dentro de uma escala de pH compreendida entre os valores de 4,0 e 9,8, sendo sua faixa ótima entre 6,0 e 7,0 (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Em relação à atividade de água, cresce em valores abaixo de 0,83 sob condições ideais, mas 0,86 é normalmente reconhecido como o valor mínimo para o seu crescimento (JAY, 2005).

Essas características permitem ao microrganismo crescer em uma ampla variedade de alimentos que requerem manipulação durante o processamento, incluindo produtos fermentados, tais como queijos (LE LOIR et al., 2003). Intoxicações por *S. aureus* estão associadas ao consumo de diferentes tipos de alimentos contaminados (HYEON et al., 2013). Alimentos crus de origem animal favorecem o crescimento de bactérias devido às suas características intrínsecas, e produtos como leite, produtos lácteos, carne e produtos cárneos têm sido frequentemente incriminados em surtos de intoxicação alimentar estafilocócica (HENNEKINNE; COLS, 2012). Carne crua e processada, leite cru e produtos lácteos foram relatados como sendo as principais fontes de alimentos associadas à intoxicação alimentar por *S. aureus* (WATERS et al., 2011).

Pessoas que manipulam alimentos, colonizadas com *S. aureus* e que não apresentam os sintomas podem introduzir a bactéria na cadeia de alimentos (ARGUDIN et al., 2010). As fontes humanas mais importantes de contaminação para os alimentos são as fossas nasais, as mãos e os braços de manipuladores de alimentos com lesões e furúnculos, podendo contaminá-los via contato manual ou através de secreções respiratórias (JAY, 2005; STEWART, 2005). Manuseio inadequado dos alimentos aliado a medidas de higiene inapropriadas e armazenamento sem controle de temperatura são condições que podem levar à intoxicação alimentar pelos produtos de cepas enterotoxigênicas nos alimentos (HO et al., 2014).

Quanto aos animais, a maioria dos domésticos abriga *S. aureus*. A transmissão dessas bactérias zoonóticas para humanos pode ocorrer por meio de contatos com animais ou por alimentos contaminados (SCHODER et al., 2015). A mastite (inflamação das glândulas mamárias) estafilocócica acomete bastante os rebanhos leiteiros, sendo o referido microrganismo responsável por

aproximadamente 30% a 40% de todos os casos de mastite. Quando o úbere está infectado, *S. aureus* é excretado no leite com grandes flutuações nas contagens, variando de zero a 10^8 UFC/mL (ASPERGER; ZANGERL, 2003; JAY, 2005; STEWART, 2005). As chances de contrair intoxicação alimentar são grandes se o leite infectado dessas vacas for consumido ou utilizado na fabricação de queijos (JAY, 2005; STEWART, 2005).

Embora os animais produtores de leite sejam as fontes mais importantes de contaminação por *S. aureus*, existem outros fatores que podem afetar os riscos de contaminação. A exemplo disso, tem-se a água, os equipamentos de ordenha e também o ambiente (JORGENSEN et al., 2005; JAMALI et al., 2015). As medidas preventivas se concentram na inibição do crescimento de *S. aureus* no alimento (LE LOIR et al., 2003) e aplicação de tratamentos térmicos adequados para a sua destruição (JAY, 2005).

Em paralelo, *S. aureus* frequentemente abriga determinantes de resistência a antimicrobianos, o que dificulta o seu tratamento e aumenta significativamente os custos associados. Existe uma prevalência relativamente alta de cepas multirresistentes para a espécie (ZELL et al., 2008). Isso é atribuído a várias capacidades genéticas desses microrganismos, sendo importantes, por exemplo, as cepas de *S. aureus* resistentes à metilicina (MRSA), que aumentam a patogênese de *S. aureus* na mastite e evitam a resposta imune do hospedeiro (KENAR et al., 2012). MRSA foi relatado como de importância zoonótica (AVMA, 2014), constituindo uma séria ameaça para o gado (ELHAIG et al., 2016; QAYYUM et al., 2016; YILMAZ et al., 2016). Na literatura, há relatos de 0,4% de prevalência de MRSA em bovinos na Hungria (JUHÁSZ-KASZANYITZKY et al., 2007) e de 47,6% na China (PU et al., 2014).

3.2 Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* em produtos de origem animal

Staphylococcus aureus é conhecido por sua capacidade de se tornar resistente a antimicrobianos (RISEK et al., 2011; SPANU et al., 2012; JAMALI et al., 2015). A resistência antimicrobiana é uma importante preocupação de saúde pública em todo o mundo (BARBER et al., 2003). Como muitos

antimicrobianos usados em animais produtores de alimentos são os mesmos ou intimamente relacionados aos medicamentos importantes utilizados em cuidados com a saúde humana, o surgimento e a disseminação de bactérias resistentes a essas drogas limitam as opções terapêuticas para doenças humanas e podem causar doenças prolongadas, incapacidade grave e até a morte (MARSHALL; LEVY, 2011; MOLE, 2013).

Desse modo, a maior ameaça ao uso de antimicrobianos é o surgimento e a propagação de resistência em bactérias patogênicas, como *S. aureus*, que, conseqüentemente, não poderão ser tratadas com sucesso por agentes anteriormente utilizados (HUGHES; DATTA, 1983).

As bactérias resistentes podem ser transmitidas aos seres humanos através de vários canais como a cadeia de alimentos, o contato entre animais e humanos e pelo meio ambiente (HARRISON et al., 2013; MOLE, 2013). Destas, a cadeia de alimentos pode ser considerada como uma das principais vias de transmissão (WITTE, 1998). Suínos, aves e bovinos criados em um sistema intensivo com alta densidade e confinamento próximo apresentam altos níveis de estresse e tais condições favorecem a ocorrência e a disseminação de doenças infecciosas. Conseqüentemente, os agentes antimicrobianos costumam ser rotineiramente administrados aos animais através de alimentos, ou por meio da água potável para tratamento e prevenção de doenças. Além disso, os antimicrobianos em doses baixas e subterapêuticas são frequentemente utilizados como promotores de crescimento para melhorar a eficiência e a conversão alimentar, promovendo maior ganho de peso do animal a ser abatido (MARSHALL E LEVY, 2011; CLARK et al., 2012; MOLE, 2013). Isso é explicado devido à seleção da microbiota intestinal, o que elimina microrganismos produtores de toxinas e provoca um melhor aproveitamento dos alimentos (BOTTEZINNI, 2003).

Os promotores de crescimento antimicrobianos foram primeiro defendidos em meados da década de 1950, quando descobriu-se que pequenas quantidades, em doses subterapêuticas, de antimicrobianos como penicilina e tetraciclina (1/10 a 1/100 da quantidade de uma dose terapêutica) entregues a animais por meio da ração podiam contribuir com a alimentação de aves de capoeira, de suínos e de bovinos de corte, aumentando seu peso (STOKESTAD; JUKES, 1950). Durante muitos anos, os efeitos positivos desta

prática foram defendidos, enquanto as consequências negativas foram passando despercebidas. Porém, microbiologistas e especialistas em doenças infecciosas que lidam com a resistência a antimicrobianos questionaram o possível dano decorrente desse uso (LEVY, 2002) e há um grande consenso científico de que isso contribui para o surgimento e disseminação de bactérias resistentes (MARSHALL; LEVY, 2011; MOLE, 2013; PRUDEN et al., 2013). O desenvolvimento destas bactérias devido ao mau uso de antimicrobianos na produção de animais é bem comprovado para espécies patogênicas (ARENAS et al., 2017).

Ainda, elementos idênticos de genes de resistência aos antimicrobianos encontrados em bactérias que afetam tanto os animais quanto os humanos demonstram o papel dos produtos de origem animal na disseminação desses genes de resistência através da cadeia de alimentos (O'BRIEN, 2012) e pelo contato ocupacional com bovinos, por exemplo (LEIBLER et al., 2016). *S. aureus* resistente a antimicrobianos foi encontrado em várias espécies de animais produtores de carne, incluindo porcos (HUIJSDENS et al., 2006; KHANNA et al., 2008; SMITH et al., 2009), frangos (PERSOONS et al., 2009) e bovinos (FESSLER et al., 2010).

Diversas cepas de *S. aureus* são resistentes à penicilina, utilizada habitualmente no tratamento de infecções da espécie, devido à produção de uma enzima chamada beta-lactamase ou penicilinase (CHAMBERS, 2001). O nível de resistência elevada de *S. aureus* também foi relatado contra tetraciclina, meticilina, gentamicina, estreptomicina e outros agentes, indicando o alto potencial de *S. aureus* para desenvolver resistência contra antimicrobianos (JAMALI et al., 2015). A alta prevalência de *S. aureus* multirresistentes foi descoberta a partir de alimentos de origem animal na Europa, no Canadá e nos Estados Unidos em inúmeros estudos (KHANNA et al., 2008; SMITH e PEARSON, 2011), o que representa um grande problema na saúde pública (FAWZY et al., 2017).

O desenvolvimento de resistência a agentes antimicrobianos é atribuível a vários mecanismos, como a produção de enzimas que inativam agentes antimicrobianos por degradação ou modificação estrutural, a redução da permeabilidade celular bacteriana aos antimicrobianos, a ativação de bombas de efluxo antimicrobiano e a modificação dos alvos celulares do fármaco

(SEFTON, 2002; SPANU et al., 2014). Dois fatores exercem importante papel na resistência antimicrobiana de bactérias: a presença de genes de resistência e a pressão seletiva pelo uso de antimicrobianos (LEVY, 1992; LAMMIE e HUGHES, 2016). Quando uma população bacteriana mista é exposta a agentes antimicrobianos é provável que haja bactérias resistentes aos respectivos agentes na concentração aplicada. Sob pressão seletiva, o número destas bactérias aumenta e algumas podem passar seus genes de resistência a outros membros da população (AARESTRUP, 1999).

Desse modo, uma bactéria pode não somente ter resistência a um único antimicrobiano, mas a outros compostos estruturalmente relacionados da mesma classe. A exemplo, a resistência à tetraciclina inclui também a resistência à oxitetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina e minociclina (CHOPRA; ROBERTS, 2001). Já quando os antimicrobianos de diferentes classes compartilham o mesmo local alvo e este alvo é modificado pelo produto de um gene de resistência, observa-se resistência cruzada entre antimicrobianos estruturalmente não relacionados, por exemplo a resistência combinada a macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B pelos genes “*erm*” (ROBERTS et al., 1999).

Quanto a isso, foram identificados plasmídeos e outros elementos genéticos móveis como integrons, transposons e cassetes cromossômicos que carregam múltiplos genes de resistência, resultando em transferência horizontal intra e interespécies (LEVY, 1992; NORMANNO et al., 2007; WRIGHT; SUTHERLAND, 2007). A resistência aos antimicrobianos pelas cepas de *S. aureus* é frequentemente adquirida pela troca dos referidos elementos genéticos móveis (SPANU et al., 2010) e pode ser caracterizada por resistência única ou múltipla (SPANU et al., 2014).

Neste contexto, tem-se as cepas coagulase positivas de *Staphylococcus aureus* e, em particular, *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), que pode ser de origem animal (OMS, 2012; CUNY et al., 2010; NOWAKIEWICZ et al., 2015; FOX et al., 2017). Isolados de MRSA frequentemente possuem o gene *mecA*, que codifica uma proteína de ligação à penicilina que funcionalmente exclui os β -lactâmicos, interferindo com a biossíntese da parede celular (DATTA; KONTOMICHALOU, 1965).

Amplamente distribuídas em todo o mundo, MRSA constitui uma grande

preocupação na saúde humana devido à sua complexa epidemiologia e à sua capacidade de adquirir novos mecanismos de resistência aos antimicrobianos (ONICIUC et al., 2015). As cepas de MRSA, inicialmente isoladas de seres humanos como bactérias oportunistas adquiridas no hospital (HA-MRSA) e adquiridas na comunidade (CA-MRSA), começaram a ser detectadas em animais de estimação e em animais de produção (LA-MRSA), sendo uma importante causa de aumento da mortalidade e de perdas econômicas (CUNY et al., 2010; SPANU et al., 2014; NOWAKIEWICZ et al., 2015).

Além disso, não só o MRSA, mas *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) identificados em alimentos vendidos no varejo também apresentaram altos níveis de resistência a vários agentes antimicrobianos, (WANG et al., 2017). Um risco adicional é representado pela resistência a várias drogas que acompanha a resistência à meticilina, que geralmente envolve resistência a macrolídeos, tetraciclina ou aminoglicosídeos (BOUBADOUS; TORRES, 2013; NOWAKIEWICZ et al., 2015).

Diante desse cenário, a Organização Mundial da Saúde (OMS), com a participação da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), dentro do conceito de “Saúde Única” (saúde humana, animal e ambiental), aprovaram o Plano de Ação Global sobre Resistência Antimicrobiana em maio de 2015, que resultou na demanda de elaboração de Planos Nacionais de Ações sobre Resistência aos Antimicrobianos para cada país signatário.

O Brasil, em atendimento a isso, está atuando de forma integrada entre os órgãos da saúde, da pecuária e da agricultura, sob a coordenação do Ministério da Saúde, na elaboração do Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos - PAN-BR. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu o Programa Nacional de Prevenção e Controle de Resistência a Antimicrobianos na Agropecuária (AgroPrevine) por meio da Instrução Normativa Nº 41, de 23 de outubro de 2017. O objetivo é fortalecer as ações de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos na agropecuária (BRASIL, 2017).

3.3. Produtos de origem animal

3.3.1 Queijo de coalho artesanal

A produção de queijos tem grande importância econômica no Brasil, sendo o país o sexto maior produtor de queijos do mundo. Dados de 2013 apontam que 60% dos 35 bilhões de litros de leite produzidos no território nacional foram destinados à produção de queijos (SEBRAE, 2018).

O queijo de coalho é um produto originário do Nordeste brasileiro, sendo produzido há mais de 150 anos. É considerado um produto cultural e popular desta região, sendo fortemente associado à sua culinária (ALMEIDA et al., 2010; MENEZES, 2011; ALMEIDA et al., 2016).

Os Estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará destacam-se como os maiores produtores de queijo de coalho, e, no caso de Pernambuco, a bacia leiteira situada no agreste meridional da região tem o maior volume de produção no Estado (ANDRADE, 2008), no qual houve um aumento acentuado na produção de leite de 173% entre os anos de 1999 e 2008 (SEBRAE, 2010). Em 2010, os cerca de 10 mil produtores de leite em Pernambuco tornaram o Estado o oitavo maior produtor de leite do país e o segundo maior do Nordeste do Brasil (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2008), representando R\$ 81 milhões por mês e sendo vital para o desenvolvimento socioeconômico da região (SEBRAE, 2010).

Entende-se por queijo de coalho o produto que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho ou de outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas e comercializado normalmente com até 10 dias de fabricação. Classifica-se como um queijo de média a alta umidade, de massa semi-cozida ou cozida e apresenta um teor de gordura nos sólidos totais variável entre 35,0% e 60,0% (BRASIL, 2001).

Quanto à sua composição, o queijo de coalho deve ter como ingredientes obrigatórios o leite integral ou padronizado a 3% (m/m) em seu conteúdo de matéria gorda e o coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas. Opcionalmente, poderá conter cloreto de cálcio e de sódio, cultivo de bactérias lácteas selecionadas, sólidos de origem láctea, condimentos e

especiarias (BRASIL, 2001).

Sensorialmente, tem uma consistência semidura e elástica; textura compacta e macia; cor branca amarelada uniforme; sabor brando e ligeiramente ácido, podendo ser salgado; odor ligeiramente ácido, lembrando massa coagulada e pode ter a presença de algumas olhaduras pequenas (semelhantes a orifícios) (BRASIL, 2001). Para sua conservação e comercialização, o queijo de coalho deve manter-se a uma temperatura não superior a 10°C (ADAGRO, 2018).

No processo produtivo, as práticas de higiene para elaboração de produto devem estar de acordo com o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos estabelecido por meio da Portaria N° 368/97 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ocorre que a maior parte da produção de queijo de coalho é fabricada sem infraestrutura e técnica especializadas, em pequenas propriedades (MENEZES, 2011; MENESES et al., 2012) de produtores familiares (SEBRAE, 2010). Neste tipo de produção, artesanal, a qualidade final do produto está diretamente ligada à qualidade do leite, principal matéria-prima utilizada (ALMEIDA et al., 2016).

Dentre os principais microrganismos associados ao consumo de leite cru de vacas está *Staphylococcus aureus*, além de *Bacillus cereus* e *Campylobacter spp.* (CLAEYS et al., 2013; VERRAES et al., 2015; EFSA, 2016). A prevalência de amostras de leite a granel positivas para *S. aureus* varia, com um intervalo reportado de 51% a 91% (MARK et al., 2005; KATHOLM et al., 2012; WALCHER et al., 2014) e sua presença no leite cru representa uma fonte de contaminação para a cadeia de suprimento de produtos lácteos (D'AMICO; DONNELLY, 2011).

A legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, órgão federal de fiscalização de produtos de origem animal no Brasil, somente permitia a utilização de leite pasteurizado para a fabricação de produtos lácteos, no entanto, em 2011, passou a estabelecer condições que permitem a utilização de leite que não passe por tratamento térmico na produção dos lácteos. Para isso, os produtores têm que implantar programas de controle de mastite nos bovinos e programas de Boas Práticas (BP) para a ordenha e a

fabricação dos produtos, dentre outras exigências (BRASIL, 2013).

Estafilococos coagulase positiva, como *S. aureus*, estão associados à mastite bovina (CAPURRO et al., 2010; VERRAES et al., 2015) e podem ser transmitidos para os alimentos lácteos através da cadeia de produção, levando à contaminação dos produtos e possível intoxicação alimentar estafilocócica. O padrão microbiológico do queijo de coalho para estafilococos coagulase positiva (UFC/g) deve atender ao disposto na RDC RESOLUÇÃO ANVISA nº 12, de 02 de janeiro de 2001, tolerando-se 10^3 /g na amostra analisada.

S. aureus pode ser encontrado nos animais (pele, mucosas, glândulas mamárias), nos estábulos, nos próprios trabalhadores rurais e manipuladores de alimentos, assim como nos equipamentos de ordenha, equipamentos de processamento e seus ambientes e, finalmente, no produto final (JORGENSEN et al., 2005; D'AMICO; DONNELLY, 2011; LIM et al., 2013). Práticas de manipulação inadequadas durante as primeiras etapas da fabricação de queijos e o abuso térmico, isto é, a refrigeração a temperaturas superiores a 4°C durante o armazenamento do leite, podem promover um aumento da concentração de *S. aureus* (CAN; CELIK, 2012).

Além disso, queijos moles, como é o caso do queijo de coalho, são considerados produtos de alto risco para a intoxicação estafilocócica pois fornecem excelente substrato nutricional para o crescimento de cepas enterotoxigênicas de *S. aureus* (CARMO et al., 2002; KÜMMEL et al., 2016; NUNES; CALDAS, 2017). Diversos surtos ligados ao consumo de queijos de leite cru já foram relatados devido à ingestão de enterotoxinas estafilocócicas (JOHLER et al., 2015). Cepas enterotoxigênicas também podem conter uma ampla variedade de importantes determinantes de resistência e virulência, incluindo genes *mecA/mecC*, que conferem resistência ao antimicrobiano meticilina (HERRERA et al., 2016).

Apesar disso, o Estado de Pernambuco, considerando características históricas, culturas e sócio-econômicas, possui normas sobre a produção do queijo de coalho artesanal, assim intitulado quando fabricado a partir de leite cru. Através da Portaria Estadual nº 007, de 04 de janeiro de 2018, publicou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo de Coalho no Estado de Pernambuco. Com isso, o antes chamado “queijo de coalho tipo B” passou a ser denominado "queijo de coalho artesanal" e o “queijo de coalho

tipo A” de “queijo de coalho” seguindo, para este último, as normas do MAPA (ADAGRO, 2018).

Neste contexto, considera-se queijo de coalho artesanal o queijo produzido no Estado de Pernambuco, a partir do leite cru integral fresco, o qual não sofrerá qualquer tipo de tratamento térmico e será, para garantia de condições higiênico-sanitárias adequadas, obtido a partir da ordenha sem interrupção de bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos, descansados, bem nutridos e com saúde, beneficiado em propriedade de origem ou de grupo de propriedades com mesmo nível higiênico-sanitário, seguindo o processo de fabricação tradicional e que tenham sido produzidos em queijaria artesanal de pequeno porte, estabelecimento agroindustrial rural de pequeno porte ou pequena fábrica de laticínios (ADAGRO, 2018).

3.3.2 Carne moída bovina

A carne é utilizada pelo homem como uma das mais importantes fontes de alimentação. Seu alto valor nutritivo é devido a sua composição, constituída principalmente por proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais saturados e insaturados, vitaminas do complexo B e minerais como fósforo, sódio, ferro, zinco, magnésio e potássio (OLIVO; OLIVO, 2006).

O Brasil, a Austrália e os Estados Unidos da América (EUA) são os três principais países exportadores de carne bovina do mundo. Essa demanda por proteínas de origem animal continua aumentando, em uma extensão que varia de país para país, de acordo com vários fatores como geografia e cultura (SANS; COMBRIS, 2015).

A exportação de carne bovina corresponde a 3% das exportações brasileiras, com um faturamento de 6 bilhões de reais ao ano. No Brasil, o Produto Interno Bruto (PIB) do setor agropecuário representa 30% (CEPEA, 2017; EMBRAPA, 2018) e, segundo dados do IBGE (2017), o país teve uma produção de 26,35 milhões de toneladas de carne bovina em 2016 (EMBRAPA, 2018). 80% da carne bovina consumida pelos brasileiros é produzida no próprio país - o parque industrial para processamento tem capacidade de abate de quase 200 mil bovinos por dia (EMBRAPA, 2018).

Paralelamente, a produção e o consumo de carne têm sido examinados

pelos seus impactos ambientais, papel na saúde humana e segurança microbiológica (HAJKOWICZ et al., 2012). A carne, devido a propriedades especiais de composição como alta atividade de água, pH e teores de nutrientes é um meio apropriado para o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008). ZHANG et al. 2009; HYGREEVA et al., 2014). Os patógenos bacterianos mais comuns de origem alimentar em carne crua e produtos de carne incluem *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium spp.*, *Aeromonas hydrophila*, algumas cepas de *Escherichia coli*, especialmente *E. coli O157: H7*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum* (TRABULSI, 1999; ALVES et al., 2001; SCARCELLI; PIATTI, 2002; DIAS et al, 2008; JAY, 2005).

Segundo EFSA (2011), em 2,3% dos surtos investigados causados por toxinas estafilocócicas na União Europeia o veículo foi a carne bovina ou os seus produtos. E, destes, cerca de 18% eram produtos cárneos em geral. Para se controlar efetivamente a segurança da carne e seus derivados é preciso compreender as etapas desde a sua produção até o consumo (BRASHEARS; CHAVES, 2017).

Dentre os produtos obtidos da carne bovina, a carne moída é um alimento que se destaca entre os demais, uma vez que é bem aceito pelo consumidor devido a sua praticidade, por apresentar preços acessíveis e ser utilizada de diversas maneiras na culinária (MENDONÇA; SILVA, 2012).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2003), carne moída “é o produto cárneo obtido a partir da moagem de massas musculares de carcaças de bovinos, seguida de imediato resfriamento ou congelamento”. Trata-se de um produto cru, obtido a partir da moagem de massas musculares esqueléticas, sendo proibido o uso de tecidos inferiores como ossos, cartilagens, gordura parcial, aponeuroses, tendões, coágulos, nodos linfáticos.

Os ingredientes obrigatórios da carne moída são as carnes obtidas de massas musculares esqueléticas de bovinos e, como componentes opcionais, pode-se ter a água, no valor máximo de 3%. Não possui coadjuvantes de tecnologia e o requisito físico-químico de gordura é de no máximo 15% (BRASIL, 2003).

Quanto ao armazenamento, deverá ser mantida à temperatura de 0°C a 4°C, quando resfriada, e à temperatura máxima de -18°C, quando congelada. As práticas de higiene para a elaboração do produto deverão estar de acordo com o estabelecido nos Códigos Internacionais de Recomendações para os Produtos Cárneos Elaborados e com a Portaria N° 368/97 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Além disso, o produto deverá ser obtido em local próprio para a moagem, com temperatura ambiente não superior a 10°C. A carne moída deverá sair do equipamento de moagem com temperatura de até 7°C e ser submetida, imediatamente, ao congelamento (rápido ou ultra-rápido) ou ao resfriamento (BRASIL, 2003). No entanto, a maior predisposição à contaminação e o aumento da superfície de contato com o meio ambiente, obtidos no processo de moagem, fazem com que a carne moída seja um produto que se deteriore rapidamente (PARDI et al., 1995; SCARCELLI; PIATTI, 2002; GERMANO; GERMANO, 2008; OLIVEIRA et al, 2008).

Por muitas décadas a carne moída tem apresentado um número maior de microrganismos do que as carnes não-moídas. A carne fresca é um nicho para uma comunidade microbiana que se origina de fontes variadas dentro de instalações de processamento de carne (GARCIA-LÓPEZ et al., 1998; DOULGERAKI et al., 2012;).

Os equipamentos e utensílios utilizados na produção da carne moída, tais como o moedor de carne, as facas e os materiais para estoque com higienização deficiente aumentam a possibilidade de uma contaminação (JAY, 2005; GERMANO; GERMANO, 2008; OLIVEIRA et al, 2008). Uma vez nas instalações de processamento, os microrganismos podem criar biofilmes e formar aerossóis, facilitando a transmissão para lotes múltiplos de carne (BROOKS; FLINT, 2008; DE FILIPPIS et al., 2013; POTHAKOS et al., 2015).

Desse modo, mesmo que os músculos e tecidos internos do animal vivo saudável sejam considerados estéreis, o processo de abate, assim como o seu processamento, criam uma oportunidade para as bactérias colonizarem as superfícies das carnes e análises realizadas na carne fresca comercializada a nível de varejo indicam a presença de diversos tipos e quantidades de microrganismos, o que confirma a contaminação da carne por via exógena (JAY, 2005; OLAOYE, 2011).

3.3.3 Carne suína

O Brasil está na quarta posição como maior produtor e exportador de carne suína, tendo sido Santa Catarina (1026 mil toneladas), Paraná (828 mil toneladas) e Rio Grande do Sul (727 mil toneladas) os locais de maior produção e exportação em 2017. A participação do país nas exportações mundiais cresceu de 9% a 10,5% no período de 2012 a 2016, sendo a China a maior produtora mundial, respondendo por quase a metade da produção, seguida pela União Europeia dos 28 países membros e dos EUA (ABPA, 2018; EMBRAPA, 2018).

Entende-se por “carne” as massas musculares maturadas e demais tecidos que as acompanham, incluindo ou não a base óssea correspondente, procedentes de animais abatidos sob inspeção veterinária (BRASIL, 2017). A carne suína é a carne mais consumida no mundo (OECD-FAO, 2015; FAOSTAT, 2017), sendo, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) rica em proteínas, vitaminas B1, B1, B6 e B12, ácidos graxos e minerais como ferro, selênio, fósforo, potássio e zinco. Apesar disso e da posição de destaque do Brasil na produção, o consumo brasileiro da carne suína é menor quando comparado à carne bovina e à carne de frango (EMBRAPA, 2018).

Especificamente quanto à carne suína, as empresas processadoras devem cumprir integralmente com os padrões de qualidade e segurança, que demandam monitoramento constante durante os diferentes estágios de produção. Apesar disso, a carne suína é frequentemente associada a casos de surtos de origem alimentar devido à contaminação por patógenos diferentes ao longo da cadeia de produção (BORCH et al., 1996).

Diversos estudos realizados nos Estados Unidos identificaram de 2,0 a 6,6% dos produtos da carne suína comercializados com *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) (KADARIYA et al., 2014). Já a presença de MRSA em suínos e em trabalhadores em matadouros industriais no sul da Itália foi de 37,6% (99 de 215 esfregaços de porco) (NORMANNO et al., 2015). A transmissão, para humanos, de MRSA zoonótico pode ocorrer via contato com animais ou com alimentos contaminados (SCHODER et al., 2015).

3.3.4 Carne de frango

Segundo dados da ABPA, o Brasil alcançou a segunda posição no *ranking* mundial de produtores de carne de frango, o equivalente a 13,1 milhões de toneladas de carne de frango. Já quanto à exportação ocupou o 1º lugar, com 4,32 milhões de toneladas exportadas (EMBRAPA, 2018).

A carne de frango é a carne mais consumida no mundo, após a carne suína (FAOSTAT, 2017; OECD-FAO, 2015). O setor de aves é líder no crescimento global da produção de carne em resposta à crescente demanda por este tipo saudável de proteína e baixo teor de gordura. É também fonte de aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B (B1, B2, B5, B6 e B12) e de minerais como ferro, potássio, zinco, fósforo e magnésio (FAO, 2013; OECD-FAO, 2016; ABPA, 2018).

No entanto, a carne de frango, além da carne bovina, também se destaca entre os alimentos que mais frequentemente estão envolvidos em surtos de toxinfecções de origem alimentar, sendo importantes veiculadores de estafilococos, em especial *S. aureus*, *Salmonella spp.* e outras enterobactérias, bem como os clostrídios (GERMANO; GERMANO, 2008). Enterococos e estafilococos são contaminantes frequentes na carne de aves e patógenos oportunistas bem estabelecidos na medicina humana (ARIAS; MURRAY, 2012; TONG et al., 2015), os quais são comensais normais em aves domésticas e em outros animais domésticos (KADARIYA et al., 2014).

Diversos estudos já demonstraram que os produtos de carne de frango crua são predispostos a se tornarem veículos para a transmissão potencial de *S. aureus* patogênico para humanos via cadeia de alimentos (FETSCH et al., 2014; WANG et al., 2018).

Além disso, as indústrias suína e avícola têm sido as principais usuárias da antimicrobianos como promotores de crescimento (DUNSHEA et al., 2014). A carne de frango e os seus derivados são amplamente conhecidos por serem um importante reservatório para *S. aureus* resistente à metilina (KITAI et al., 2005; KWON et al., 2006) e estes alimentos têm sido considerados como veículos potenciais para transmissão de *S. aureus* de frango para a população humana em geral (WIENEKE et al., 1993).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F.M. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 12, p. 279 – 285, 1999.

ABPA, 2018. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Setor de suinocultura no Brasil**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/suinocultura/resumo>>. Acesso em 13 de julho de 2018.

ADAGRO, 2018. Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco. **Portaria nº 007, de 04 de Janeiro de 2018**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo de Coalho no Estado de Pernambuco.

ALMEIDA, S. L.; PAIVA JÚNIOR, F. G.; COSTA, C.; GUERRA, J. R. F. Geographical indication re-signifying artisanal production of curd Cheese in northeastern Brazil. **Revista de Administração Contemporânea**, v. 20, n. 6, p. 715-732, 2016.

ALMEIDA, S. L.; PAIVA, F. G.; GUERRA, J. R. F. A estratégia de internacionalização de negócios na perspectiva da tradução cultural: o caso da indicação geográfica no agronegócio. **Revista Ibero-Americana de Estratégia**, v. 9, n.2, p. 74-97, 2010.

ALVES, V. F.; NIÑO-ARIAS, F. C.; PITONDO-SILVA, A.; FRAZILIO, D. A.; GONÇALVES, L. O.; TOUBAS, L. C.; TORRES, I. M. S.; OXARAN, V.; DITTMANN, K. K.; DE MARTINIS, E. C. P. Molecular characterisation of *Staphylococcus aureus* from some artisanal Brazilian dairies. **International Dairy Journal**, 2018.

ANDRADE, M. C. Queijo de Coalho. **Pesquisa Escolar Online**, Fundação Joaquim Nabuco. Recife, 2008. Disponível em: <<http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>>. Acesso em: 02 de julho de 2018.

ANVISA, 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2011**. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em 10 de julho de 2018.

ARENAS, N.E.; ABRIL, D.A.; VALENCIA, P.; KHANDIGE, S.; SOTO, C.Y.; MORENO-MELO, V. Screening foodborne and zoonotic pathogens associated with livestock practices in the Sumapaz region, Cundinamarca, Colombia. **Tropical Animal Health Production**, v. 49, p. 739-745, 2017.

ARGUDÍN, M. A.; MENDOZA, M. C.; RODICIO, M. R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. **Toxins**, v. 2, p. 1751–1773, 2010.

ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, p. 266– 278, 2012.

ASPERGER, H.; ZANGERL, P. *Staphylococcus aureus*. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, v. 4, 2003.

AVMA, 2014. American Veterinary Medical Association. MRSA and Animals FAQ. Disponível em:<<https://www.avma.org/KB/Resources/FAQs/Pages/MRSAHHP-FAQs.aspx>>. Acesso em 10 de julho de 2018.

BARBER, D.A.; MILLER, G.Y.; MCNAMARA, P.E. Models of antimicrobial resistance and foodborne illness: Examining assumptions and practical applications. **Journal of Food Protection**, v. 66, p. 700–709, 2003.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, p. 9–25, 1996.

BRASHEARS, M. M.; CHAVES, B. D. The diversity of beef safety: A global reason to strengthen our current systems. **Meat Science**, v. 132, p. 59–71, 2017.

BRASIL, 1997. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997.** Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/ Industrializadores de Alimentos. Disponível em:< <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/bra150035.pdf>>. Acesso em 10 de julho de 2018.

BRASIL, 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. **Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003.** Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carnes Bovina em Conserva (Corned Beef) e Carne Moída. Brasília, DF.

BRASIL, 2005. Ministério da Saúde. **Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004.** Boletim Eletrônico Epidemiológico, v. 5, n. 6, dez. 2005. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf> Acesso em: 16 de junho de 2017.

BRASIL, 2011. **Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001.** Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa; queijo de coalho e queijo de manteiga. Disponível em:< <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3onormativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em 10 de Julho de 2018.

BRASIL, 2013. **Instrução Normativa nº 30, de 07 de agosto de 2013.** Estabelece condições para a produção de queijos tradicionalmente artesanais elaborados a partir de leite cru. Disponível em:<http://www.lex.com.br/legis_24684623_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_7_DE_AGOSTO_DE_2013.aspx>. Acesso em 10 de Julho de 2018.

BRASIL, 2016. Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Disponível em:< <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>>. Acesso em 08 de Julho de 2018.

BRASIL, 2017. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

BROOKS, J. D.; FLINT, S. H. Biofilms in the food industry: Problems and potential solutions. **International Journal of Food Science And Technology**, v. 43, p. 2163–2176, 2008.

BOTTEZINI, I.M.P.; CORSO, M.P.; VEIT, V.M. **Uso de Antibióticos na produção de Frango**. Cefet/PR - Unid. Medianeira, 2003.

CAN, H. Y.; CELIK, T. H. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *Staphylococcus aureus* in Turkish cheeses. **Food Control**, v. 24, n.1, p. 100–103, 2012.

CAPURRO, A., ASPAN, A., UNNERSTAD, H. E., WALLER, K. P., & ARTURSSON, K. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 180-191, 2010.

CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, V. R.; SENA, M. J.; SANTOS, D. A.; FARIA, M. E. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, v. 19, p. 9–14, 2002.

CEPEA, 2017. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Brazilian Agribusiness**. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/en/brazilian-agribusiness-gdp.aspx>>. Acesso em 14 de julho de 2018.

CHAJECKA-WIERZCHOWSKA, W.; ZADERNOWSKA, A.; NALEPA, B.; SIERPINSKA, M.; ŁANIEWSKA-TROKENHEIM, L. Retail ready-to-eat food as a potential vehicle for *Staphylococcus* spp. harboring antibiotic resistance genes. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 6, p. 993–998, 2014.

CHAMBERS, H. F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, p. 178-182, 2001.

CHEN, C. J.; HUANG, Y. C. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. **Clinical Microbiology Infections**, v. 20, p. 605–623, 2014.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.65, p. 232 – 260, 2001.

CLAEYS, W.L.; CARDOEN, S.; DAUBE, G.; BLOCK, J. D.; DEWETTINCK, K.; DIERICK, K.; ZUTTER, L. D.; HUYGHEBAERT, A.; MBERECHTS, H.; THIANGE, P.; VANDENPLAS, Y.; HERMAN, L. Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. **Food Control**, v. 31, p. 251-262, 2013.

CLARK, S.; DALY, R.; JORDAN, E.; LEE, J.; MATHEW, A.; EBNER, P. The future of bio-security and antimicrobial use in livestock production in the United States and the role of extension. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2861-2872, 2012.

CUNY, C.; FRIEDRICH, A.; KOZYTSKA, S.; LAYER, F.; NUBEL, U.; OHLSEN, K.; STROMMENGER, B.; WALTHER, B.; WIELER, L.; WITTE, W. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, p.109–117, 2010.

D'AMICO, D. J.; DONNELLY, C. W. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk utilized in small-scale artisan cheese production. **Journal of Food Protection**, v. 74, p. 1353-1358, 2011.

DATTA, N.; KONTOMICHALOU, P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R-factors in *enterobacteriaceae*. **Nature**, v. 208, p. 239–41, 1965.

DE BOER, J.T.M. ZWARTKRUIS-NAHUIS, B. WIT, X.W. HUIJSDENS, A.J. DE NEELING, T. BOSCH, R.A.A. VAN OOSTEROM, A. VILA, A.E. HEUVELINK. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Food Microbiology**, v.134, p. 52-56, 2009.

DE FILIPPIS, F.; LA STORIA, A.; VILLANI, F.; ERCOLINI, D. Exploring the sources of bacterial spoilers in beefsteaks by culture-independent high-throughput sequencing. **PLoS One**, v. 8, 2013.

DUNSHEA, F. R.; D'SOUZA, D.N.; JENSEN, B. B.; ENGBERG, R. M. Meat, animal, poultry and fish production and management. Antibiotic growth promotants. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 2, 2014.

EFSA. European Food Safety Authority. Scientific report of EFSA and ECDC: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. **EFSA Journal**, v. 9, p. 2090, 2011.

EFSA. European Food Safety Authority The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. **EFSA Journal**, p. 3129, 2013.

EFSA. European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. **EFSA Journal**, v.12, p. 3547–859, 2014.

EFSA. European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. **EFSA Journal**, v. 14, p. 231, 2016.

EIGUER, T. Importância de La *Salmonella enteritidis* em brotes de enfermidades transmitidas por alimentos em Argentina, años 1986-1988. **World Health Statistics Quarterly**, p. 51, 1990.

ELHAIG, M.M.; SELIM, A.; MAHMOUD, M.M.; EL-GAYAR, E.K. Molecular confirmation of *Trypanosoma evansi* and *Babesia bigemina* in cattle from lower Egypt. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 36, p.409–414, 2016.

EMBRAPA, 2018. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Estatísticas da produção animal no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>>. Acesso em 13 de julho de 2018.

EMBRAPA, 2018. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Qualidade da carne bovina**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-bovina>>. Acesso em 13 de julho de 2018.

FAO, 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Poultry development review**. Disponível em:<<http://www.fao.org/docrep/019/i3531e/i3531e.pdf>>. Acesso em 13 de julho de 2018.

FAWZY, R.; EL SEEDY, A.; SAMY, A.; HALA, S.; SALAM, H.; EMAN, A.; AYA, K. Polymerase chain reaction detection of genes responsible for multiple antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* isolated from food of animal origin in Egypt. **Veterinary World**, 2017.

FESSLER, A.; SCOTT, C.; KADLEC, K.; EHRICHT, R.; MONECKE, S.; SCHWARZ, S. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n.4, p. 619-625, 2010.

FETSCH, A., CONTZEN, M., HARTELT, K., KLEISER, A., MAASSEN, S., RAU, J. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. **International Journal of Food Microbiology**, v. 187, p. 1-6, 2014.

FOWOYO, P.T.; OGUNBANWO, S. T. Virulence and toxigenicity of coagulase-negative *staphylococci* in Nigerian traditional fermented foods. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 10, p. 1–7, 2016.

FOX, A.; PICHON, B.; WILKINSON, H.; DOUMITH, M.; HILL, R. L.; MCLAUCHLIN, J. Detection and molecular characterization of livestock-associated MRSA in raw meat on retail sale in North West England. **Letters of Applied Microbiology**, v. 64, p. 239–245, 2017.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182, 2005.

FRASER, J. D; PROFT, T. The bacterial superantigen and superantigenlike proteins. **Immunological Reviews**. v. 225, p. 226–243, 2008.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los Alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, p. 681, 2000.

FSA. European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. **EFSA Journal**, v. 11, n. 5, p. 3196, 2013.

GAO, J.; FERRERI, M.; YU, F.; LIU, X.; CHEN, L.; SU, J.; HAN, B. Molecular types and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in a single herd in China. **The Veterinary Journal**, v. 192, p. 550–552, 2012.

GAYÁN, E. D.; GARCÍA-GONZALO, L.; ÁLVAREZ, S. Resistance of *Staphylococcus aureus* to UV-C light and combined UV-heat treatments at mild temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 172, p. 30–39, 2014.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2008.

GRAVELAND, H.; DUIM, B.; VAN DUIJKEREN, E.; HEEDERIK, D.; WAGENAAR, J. A. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals and humans. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 1, p. 630–634, 2011.

GULLBERG, E.; CAO, S.; BERG, O.G.; ILBACK, C.; SANDEGREN, L.; HUGHES, D. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. **PLoS Pathogens**, v. 7, 2011.

HAJKOWICZ, S.; COOK, H.; LITTLEBOY, A. Our future world: Global megatrends that will change the way we live. **CSIRO**, 2012.

HARRISON, E. M.; PATERSON, G. K.; HOLDEN, M. T. Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the *medA* homologue *mecC*. **EMBO Molecular Medicine**, v. 5, n. 4, p. 509-15, 2013.

HARTUNG, M. M. KÄSBOHRER, A. Erreger von zoonosen in Deutschland im jahr 2010. **Bfr wissenschaft**, v. 6, p. 226-234, 2012.

HENNEKINNE, J.A.; DE BUYSER, M. L. DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v.36, p. 815–836, 2012.

HENNEKINNE, J.A.; OSTYN, A.; GUILLIER, F.; HERBIN, S.; PRUFER, A.L.; DRAGACCI, S. How should staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized? **Toxins**, p. 2106–2116, 2010.

HERRERA, F. C.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L.; SANTOS, J. A. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk fresh cheese in Colombia. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 7872–7876, 2016.

HO, J.; O'DONOGHUE M. M.; BOOS, M. V. Occupational exposure to raw meat: a newly-recognized risk factor for *Staphylococcus aureus* nasal colonization amongst food handlers. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, p. 347–353, 2014.

HU, D. L.; NAKANE, A. Mechanisms of staphylococcal enterotoxin-induced emesis. **European Journal of Pharmacology**, v. 722, p. 95–107, 2014.

HU, Y.; CHENG, H. Use of veterinary antimicrobials in China and efforts to improve their rational use. **The Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 3, p. 144-146, 2015.

HUGHES, V.M.; DATTA, N. Conjugative plasmids in bacteria of the dpre-antibiotic era., **Nature**, v. 302, p. 725 – 726, 1983.

HUIJSDENS, X.W.; VAN DIJKE, B.J.; SPALBURG, E.; VAN SANTEN-VERHEUVEL, M.G.; HECK, M.E.; PLUISTER, G.N. Community-acquired MRSA and pig-farming. Ann. **Clinical Microbiology Antimicrobial**, v. 5, n. 26, 2006.

HYEON, J, K.; BING, S. H.; LEE, H. H.; JEON, S. E.; KIM, J. Y. A foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* associated with fried chicken in Republic f Korea. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 85-87, 2013.

HYGREEVA, D., PANDEY, M.; RADHAKRISHNA, K. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. **Meat Science**, v. 98, p. 47–57, 2014.

IBGE, 2008. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**. Disponível em:<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2008_v36_br.pdf>. Acesso em 18 de julho de 2018.

JACKSON, C.R.; DAVIS, J.A.; BARRETT, J.B. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1199-1207, 2013.

JAKOBSEN, R. A.; HEGGEBØ R.; SUNDE, E. B.; SKJERVHEIM, M. *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. **Food Microbiology**, v. 28, p. 492-496, 2011.

JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B.; ISMAIL, S.; DADRASNIA, A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, 2015.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 711, 2005.

JOHLER, S. P.; GIANNINI, M.; JERMINI, J.; HUMMERJOHANN, A.; BAUMGARTNER; STEPHAN, R. Further evidence for staphylococcal food poisoning outbreaks caused by *egc*-encoded enterotoxins. **Toxins**, v. 7, p. 997–1004, 2015.

JORGENSEN, M.; LOVSETH, A., OMOE, K.; QVALE, K. S.; LONCAREVIC, S. An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk. **FEMS Microbiology Letters**, v. 252, p. 267-272, 2005.

JUHÁSZ-KASZANYITZKY, E.; JÁNOSI, S.; SOMOGYI, P.; DÁN, Á.; VANDERGRAAF-VAN BLOOIS, L.; VAN DULIJKEREN, E., WAGENAAR, J.A.

MRSA transmission between cows and humans. **Emergency Infection Diseases**, v. 4, p. 630–632, 2007.

KADARIYA, J.; SMITH, T.C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal foodborne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 827- 965, 2014.

KADARIYA, J.; SMITH, T.C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **Biomed Research International**, article 827965, 2014.

KATHOLM, J.; BENNEDSGAARD, T. W.; KOSKINEN, M. T.; RATTENBORG, E. Quality of bulk tank milk samples from Danish dairy herds based on real-time polymerase chain reaction identification of mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5702-5708, 2012.

KENAR, B.; KUYUCUOĞLU, Y.; ŞEKER, E. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative *staphylococci* isolated from bovine subclinical mastitis in Turkey. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, p. 390–393, 2012.

KEROUANTON, A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, p. 369–375, 2007.

KHANNA, T.; FRIENDSHIP, R.; DEWEY, C.; WEESE, J.S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. **Veterinary Microbiology**, v.128, p. 298-303, 2008.

KITAI, S.; SHIMIZU, A.; KAWANO, J.; SATO, E.; NAKANO, C.; UJI, T. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, p. 107-110, 2005.

KLUYTMANS, J. A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency? **Clinical Microbiology Infection**, v. 16, p.11–15, 2010.

KRISHNA, S.; MILLER, L. S. Host-pathogen interactions between the skin and *Staphylococcus aureus*. **Current Opinion in Microbiology**, v.15, p. 28–3, 2012.

KÜMMEL, J.; STESSL, B.; GONANO, M.; WALCHER, G.; BEREUTER, O.; FRICKER, M. *Staphylococcus aureus* entrance into the dairy chain: tracking *S. aureus* from dairy cow to cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p.1–11, 2016.

KWON, N. H.; PARK, K. T.; JUNG, W. K.; YOUN, H. Y.; LEE, Y.; KIM, S. H. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. **Veterinary Microbiology**, v. 117, p. 304-312, 2006.

LAMMIE, S. L.; HUGHES, J. M. Antimicrobial Resistance, Food Safety, and One Health: The Need for Convergence. **Food Science Technology**, v. 7, p. 287–312, 2016.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.

LEIBLER, J.H.; JORDAN, J.A.; BROWNSTEIN, K.; LANDER, L.; PRICE, L.B.; PERRY, M.J. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among beef packing workers in a Midwestern United States slaughterhouse. **Plos One**, v. 11, 2016.

LEVY, S. B. The antibiotic paradox: How the misuse of antibiotics destroys their curative powers. **Perseus Publishing**, 2002.

LEVY, S.B. The antibiotic paradox: How miracle drugs are destroying the miracle. **Plenum Press**, 1992.

LIM, S. K.; NAM, H. M.; JANG, G. C.; LEE, H. S.; JUNG, S. C.; KIM, T. S. Transmission and persistence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in milk, environment, and workers in dairy cattle farms. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p. 731-736, 2013.

LORY, S. **The Family Staphylococcaceae**. Rosenberg E (ed) *The Prokaryotes—Firmicutes and Tenericutes*, 4th edn. Springer, Berlin, 2014.

MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, p. 718–733, 2011.

MARSHALL, B.M., LEVY, S.B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology**. v. 24, p. 718-733, 2011.

MENDONÇA B. S.; SILVA C.S. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada na cidade Cariacica, ES. **Higiene Alimentar**, v. 26, n.208/209, p. 101-105, 2012.

MENESES, R. B.; CARDOSO, R. C. V.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, J. A. W.; SILVA, S. A.; ARGOLO, S. V. O comércio de queijo de coalho na orla de Salvador, Bahia: trabalho infantil e segurança de alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 3, p. 381-392, 2012.

MENEZES, S. S. M. Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na Região Nordeste. **Revista de Geografia**, v. 28, n. 1, p. 40-56, 2011.

MOHAMED, M.A.; ZEINHOM, G.; JORDAN, K. The use of multiplex PCR to determine the prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*, isolated from raw milk, fet cheese and hand Swabs. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 12, 2015.

MOLE, B. MRSA: farming up trouble. **Nature**, v. 499, p. 398-400, 2013.

MONTAZ, H.; DEHKORDI, F. S.; RAHIMIM, E.; ASGARIFAR, A.; MOMENI, M. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. **Poultry Science Association**, 2013.

NORMANNO, G.; CORRENTE, M.; LA SALANDRA, G.; DAMBROSIO, A.; QUAGLIA, N. C.; PARISI, G.; GRECO, A.L.; BELLACICCO, S. V.; CELANO, G.V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, p. 219 – 222, 2007.

NORMANNO, G.; CORRENTE, M.; LA SALANDRA, G.; DAMBROSIO, A.; QUAGLIA, N.C.C; PARISI, A.; GRECO, G.; BELLACICCO, A.L.; VIRGILIO, S.; CELANO, G. V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, p. 219–222, 2007.

NORMANNO, G.; DAMBROSIO, A.; LORUSSO, V.; SAMOILIS, G.; DI TARANTO, P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in slaughtered pigs and abattoir workers in Italy. **Food Microbiology**, 51, 51-56, 2015.

NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. Existing and emergin foodborne diseases. **International Journal of Food Microbiology**, v. 15, p. 197-205, 1992.

NOWAKIEWICZ, A.; ZIOLKOWSKA, G.; ZIEBA, P.; GNAT, S.; WOJTANOWICZ-MARKIEWICZ, K.; TROSCIANCZYK, A. Coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from wildlife: Identification, molecular characterization and evaluation of resistance profiles with focus on a methicillin-resistant strain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2015.

NUNES, M. M.; CALDAS, E. D. Preliminary quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus* enterotoxins in fresh Minas cheese, a popular food in Brazil. **Food Control**, v. 73, p. 524–531, 2017.

O'BRIEN, A.M.; HANSON, B.M.; FARINA, S.A.; WU, J.Y.; SIMMERING, J.E.; WARDYN, S.E. MRSA in conventional and alternative retail pork products. **Plos One**, v. 7, p. 30092, 2012.

OECD-FAO, 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **OECD-FAO Agricultural outlook 2016-2025**. Disponível em:<<http://www.fao.org/3/a-i5778e.pdf>>. Acesso em 13 de julho de 2018.

OLAOYE, O. A. Meat: An overview of its composition, biochemical changes and associated microbial agents. **International Food Research Journal**, v. 18, p. 877–885, 2011.

OLIVEIRA, M. M. M. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos de manipuladores e qualidade microbiológica da carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, 2008.

OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das carnes**. 3. ed. Criciúma: Varela, 2006.

OMS, 2012. World Health Organization. **The Evolving Threat of Antimicrobial Resistance-Options for Action**. Disponível em:< http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44812/1/9789241503181_eng.pdf> Acesso em 30 de junho de 2018.

ONICIUC, E-A.; ARIZA-MIGUEL, J.; ANDREI-SORIN, B, M. D.; ROVIRA, J., HERNÁNDEZ, M.; FERNÁNDEZ-NATAL, I.; NICOLAU, A. I.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D. Foods from black market at EU border as a neglected route of potential methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. **International Journal of Food Microbiology**, v. 209, p. 34–38, 2015.

OU, Q.; PENG, Y.; LIN, D.; BAI, C.; ZHANG, T.; LIN, J. A meta-analysis of the global prevalence rates of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* contamination of different raw meat products. **Journal of Food Protection**, v. 80, p. 763-774, 2017.

PARDI, M. C. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF-UFF/Niterói: EDUFF, 1995.

PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 32-34, 2005.

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 Microbiology**, v. 26, p. 278–282, 2009.

PERSOONS, D.; VAN HOOREBEKE, S.; HERMANS, K.; BUTAYE, P.; DE KRUIF, A.; HAESBROUCK, F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry. **Emergency Infections Disease**, v. 15, n. 3, p. 452-453, 2009.

POTHAKOS, V.; DEVLIEGHERE, F.; VILLANI, F.; BJÖRKROTH, J.; ERCOLINI, D. Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. **Meat Science**, v. 109, p. 66–74, 2015.

PRUDEN, A.; LARSSON, D.G.J.; AMEZQUITA, A.; COLLIGNON, P.; BRANDT, K.K.; GRAHAM, D.W. Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment. **Environmental Health Perspectives Journal**, v. 121, 878-885, 2013.

PU, W.; SU, Y.; LI, J.; LI, C.; YANG, Z.; DENG, H.; NI, C. High incidence of oxacillin susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) associated with bovine mastitis in China. **PLoS One**, v. 9, 2014.

QAYYUM, A.; KHAN, J.A.; HUSSAIN, R.; AWAIS, M.; AHMAD, N.; KHAN, M.S.; Investigation of milk and blood serum biochemical profile as an indicator of subclinical mastitis in Cholistani cattle. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 36, p. 275–279, 2016.

RAVEL, R. Laboratório Clínico: **Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 162-163, 1997.

RAY, B. **Fundamental Food Microbiology**. USA: Library of Congress, 1996.

REINTHALER, F.F.; FEIERL, G.; GALLER, H.; HAAS, D.; LEITNER, E.; MASCHER, F.; MARTH, E. ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. **Water Research**, v. 44, p. 1981–1985, 2010.

ROBERTS, M.C.; SUTCLIFFE, J.; COURVALIN, P.; JENSEN, L.B.; ROOD, J.; SEPPALA, H. Nomenclature for macrolide and macrolide– lincosamide– streptogramin B resistance determinants. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 43, p. 2823 – 2830, 1999.

RODRÍGUEZ-LÁZARO, D. ARIZA-MIGUEL, J. DIEZ-VALCARCE, M. FERNÁNDEZ-NATAL, I. HERNÁNDEZ, M. ROVIRA, J. Foods confiscated from non-EU flights as a neglected route of potential methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. **International Journal of Food Microbiology**, v. 209, p. 29-33, 2015.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R.M.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.V.; WIDDOWSON, M.A.; ROY, S.L.; JONES, J.L.; GRIFFIN, P.M. Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. **Emergency Infections Disease**, v. 17, p. 7–15, 2011.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M. Patógenos emergentes relacionados à contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 123-127, 2002.

SCHODER, D.; STRAUB, A.; SZAKMARY-BRÄNDLE, K.; STESSL, B.; SCHLAGER, S.; WAGNER, M. Prevalence of major foodborne pathogens in food confiscated from air passenger luggage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 209, p. 3–12, 2015.

SCHODER, D.; STRAUß, A.; SZAKMARY- BREANDLE, K.; STESSL, B.; SCHLAGER, S.; WAGNER, M. Prevalence of major foodborne pathogens in food confiscated from air passenger luggage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 209, p. 3-12, 2015.

SEBRAE, 2010. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Boletim setorial do agronegócio: bovinocultura leiteira**. Disponível em:<<http://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/BoletimBovinocultura.pdf>>. Acesso em 18 de julho de 2018.

SEBRAE, 2018. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Como montar uma fábrica de queijo artesanal: coalho e manteiga. Disponível em:<[http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/Comomontar-uma-f%C3%A1brica-de-queijo-artesanal-\(coalho-e-manteiga\)](http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/Comomontar-uma-f%C3%A1brica-de-queijo-artesanal-(coalho-e-manteiga))>. Acesso em 02 de julho de 2018.

SEFTON, A. M. Mechanisms of antimicrobial resistance: Their clinical relevance in the new millennium. **Drugs**, v. 62, p. 557–566, 2002.

SMITH, J. L.; BUCHANAN, R. L.; PALUMBO, S. A. Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: A review. **Journal of Food Protection**, v. 46, p. 545-555, 1983.

SMITH, T.C.; MALE, M.J.; HARPER, A.L.; KROEGER, J.S.; TINKLER, G.P.; MORITZ, E.D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. **PLoS ONE**, v. 4, n.1, p. 4258, 2009.

SMITH, T.C.; PEARSON, N. The emergence of *Staphylococcus aureus* ST398. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 11, p. 327-339, 2011.

STEWART, G. C. 2005. Foodborne pathogens: Microbiology and molecular biology. **Caister Academic Press**, p 273–284, 2005.

STOKESTAD, E. L. R.; JUKES, T. H. Further observations on the “animal protein factor”. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 73, p. 523–528, 1950.

TAREKGNE, E. K.; SKJERDAL, T.; SKEIE, S.; RUDI, K.; PORCELLATO, D.; FÉLIX, B. Enterotoxin gene profile and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine bulk milk and milk products of Tigray region, northern Ethiopia. **Journal of Food Protection**, v. 79, p. 1387–1395, 2016.

TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, J. R. V. G. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, p. 603– 661, 2015.

VASCONCELOS, N.G.; PEREIRA, V.C.; ARAUJO, J.P.; DA CUNHA, M. Molecular detection of enterotoxins E, G, H and I in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *staphylococci* isolated from clinical samples of newborns in Brazil. **Journal Applied Microbiology**, v.111, p. 749–762, 2011.

VATANSEVER, L.; SEZER, Ç.; BILGE, N. Carriage rate and methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* in food handlers in Kars City, Turkey. **Springer Plus**, v.5, p. 608, 2016.

VERRAES, C.; VLAEMYNCK, G.; WEYENBERG, S.V.; ZUTTER, L. D.; DAUBE, G.; SINDIC, M.; UYTENDAELE, M.; HERMAN, L. A review of the

microbiological hazards of dairy products made from raw milk. **International Dairy Journal**, v. 50, p. 32-44, 2015.

XU, J.; SHI, C.; SONG, M.; BIN, X.; XU, P.; YANG, G. P.; SHI, X. M. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance traits of foodborne *staphylococcus aureus* isolates from Shanghai. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 4, 2014.

WALCHER, G.; GONANO, M.; KÜMMEL, J.; BARKER, G. C.; LEBL, K.; BEREUTER, O. *Staphylococcus aureus* reservoirs during traditional Austrian raw milk cheese production. **Journal of Dairy Research**, v. 81, p. 462-470, 2014.

WANG, H.; LIANG, L.; XU, X.; ZHOU, G. Prevalence, genetic characterization and biofilm formation in vitro of *Staphylococcus aureus* isolated from raw chicken meat at retail level in Nanjing, China. **Food Control**, v. 86, p. 11-18, 2018.

WANG, W.; LIU, F.; BALOCH, Z.; ZHANG, C. S.; MA, K.; PENG, Z. X. Genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pigs and retail foods in China. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 30, p. 570–58, 2017.

WANG, X. LI, G. XIA, X. YANG, B. XI, M. MENG, J. Antimicrobial susceptibility and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and retail foods in Shaanxi, China. **Foodborne Pathogens and Diseases**, 11, 281-286, 2014.

WATERS, A.E.; CONTENTE-CUOMO, T.; BUCHHAGEN, J.; LIU, C.M.; WATSON, L.; PEARCE, K.; FOSTER, J.T.; BOWERS, J.; DRIEBE, E.M.; ENGELTHALER, D.M.; KEIM, P.S.; PRICE, L.B. Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in US Meat and Poultry. **Clinical Infection Disease**, v. 52, n. 10, p. 1227-30. 2011.

WEESE, A. J. S.; AVERY, B. P.; REID-SMITH, R. J. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. **Letters in Applied Microbiology**, v. 51, p. 338–342, 2010.

WHO (World Health Organization). World Health Statistics Quarterly. **WHO Publications**, v. 50, n. ½, 1997.

WIENEKE, A. A.; ROBERTS, D.; GILBERT, R. J. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969 e 1990. **Epidemiology and Infection**, v. 110, p. 519-531, 1993.

WITTE, W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. **Science**, v. 279, p. 996 – 997, 1998.

WRIGHT, G. D.; SUTHERLAND, A. D. New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. **Trends Molecular Medicine**, v. 13, p. 260–267, 2007.

YILMAZ, R., CANGUL, I.T., ONAT, K., AKKOC, A., OZYIGIT, M.O., AKDESIR, E. Histopathological, immunohistochemical and bacteriological characterization of *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 36, p. 316–321, 2016.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Bruxelles, v. 345, p.15-18, 2000.

ZELL, C.; RESCH, M.; ROSENSTEIN, R.; ALBRECHT, T.; HERTEL, C.; GÖTZ, F. Characterization of toxin production of coagulase-negative *staphylococci* isolated from food and starter cultures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127 p. 246- 251, 2008.

ZHANG, H., KONG, B., XIONG, Y.L. and SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4C. **Meat Science**, v. 81, p. 686–692, 2009.

ARTIGO

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

Vasconcelos CM¹, Da Silva ROJ², De Souza AF³, Silva MRO⁴, Machado ECL⁵

RESUMO

A resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, microrganismo comensal da pele e mucosas de animais e seres humanos que pode provocar intoxicação alimentar, já foi identificada em diversos produtos de origem animal, sendo a cadeia de alimentos uma importante via de transmissão de cepas resistentes a se analisar. O objetivo do presente estudo foi pesquisar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistentes a antimicrobianos em queijo de coalho artesanal, carne moída bovina e carnes suína e de frango. De cada produto de origem animal, foram adquiridas 3 amostras de minimercados em Pernambuco, Brasil, que foram submetidas à análise microbiológica para contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* e de *S. aureus*. Cepas de *S. aureus* foram isoladas, submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana a nove antimicrobianos utilizados nas clínicas humana e veterinária e, posteriormente, avaliou-se a multirresistência antimicrobiana e calculou-se o índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR). Verificou-se contaminação em todos os tipos de produtos por *S. coagulase positiva*, com igual contagem para *S. aureus*, variando de $2,4 \times 10^3$ UFC/g na carne suína a $2,2 \times 10^6$ UFC/g na carne de frango. Entre as cepas selecionadas, 37,5% (45/120) foram confirmadas como *S. aureus*, em maior ocorrência na carne suína com 63% (19/45) e no queijo de coalho artesanal com 37% (14/45), seguidos da carne moída bovina com 33% (10/45) e da carne de frango com 6,7% (2/45). Quanto à resistência antimicrobiana, a carne suína, seguida do queijo de coalho e da carne de frango apresentaram o maior número de cepas resistentes. Houve maior resistência à tetraciclina, com 33,3% (15/45) das cepas de *S. aureus*, seguida por penicilina G com 24,4% (11/45), eritromicina com 8,8% (4/45), clindamicina com 6,6% (3/45) e cefoxitina com 2,2% (1/45), sendo 4 (8,8%) cepas consideradas multidrogarresistentes (MDR), 3 (6,6%) MLSc (resistência constitutiva aos macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina), 1 (2,2%) MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) e 17 (37,7%) provenientes de potenciais fontes de contaminação de alto risco, com índice MAR $\geq 0,2$. Não houve resistência à gentamicina, ciprofloxacina, cloranfenicol e sulfazotrim. Conclui-se que os produtos de origem animal analisados apresentaram contaminação por *S. aureus* e podem ser reservatórios de cepas resistentes a antimicrobianos, representando um potencial risco à saúde da população.

Palavras-chave: Microrganismo, antimicrobianos, susceptibilidade.

ABSTRACT

The antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*, a commensal microorganism of the skin and mucous of animals and humans that can cause food poisoning, has already been identified in several products of animal origin, the food chain being an important route of transmission of resistant strains to be analyzed. The objective of the present study was to investigate the occurrence of antimicrobial resistant *Staphylococcus aureus* in handmade coalho cheese, ground beef, and pork and chicken meat. From each animal product, 3 market samples were acquired in Pernambuco, Brazil, which were submitted to microbiological analysis for coagulase positive *Staphylococcus* and *S. aureus* counts. *S. aureus* strains were isolated, submitted to the antimicrobial susceptibility test to nine antimicrobials used in the human and veterinary clinics, and the antimicrobial multiresistance was then evaluated and the Multiple Antimicrobial Resistance (MAR) index was calculated. Contamination in all types of products was verified by *S. coagulase* positive, with an equal count for *S. aureus*, ranging from 2.4×10^3 CFU/g in the pork meat to 2.2×10^6 CFU/g in chicken meat. Among the selected strains, 37.5% (45/120) were confirmed as *S. aureus*, with the highest occurrence in pork with 63% (19/45) and handmade coalho cheese with 37% (14/45), followed by ground beef with 33% (10/45) and chicken meat with 6.7% (2/45). Regarding antimicrobial resistance, pork meat, followed by handmade coalho cheese and chicken meat had the highest number of resistant strains. There was a higher resistance to tetracycline, with 33.3% (15/45) of *S. aureus* strains, followed by penicillin G with 24.4% (11/45), erythromycin with 8.8% (4/45), clindamycin with 6.6% (3/45) and cefoxitin with 2.2% (1/45), with 4 (8.8%) strains considered multidrug-resistant (MDR), 3 (6.6%) MLSc (constitutive resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin), 1 (2.2%) MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) and 17 (37.7%) from potential sources of high-risk contamination, with MAR index ≥ 0.2 . There was no resistance to gentamicin, ciprofloxacin, chloramphenicol and sulfazotrim. It is concluded that the products of animal origin analyzed showed contamination by *S. aureus* and may be reservoirs of strains resistant to antimicrobials, representing a potential risk to the health of the population.

Key words: Microorganism, antimicrobial, susceptibility.

1. INTRODUÇÃO

A intoxicação alimentar estafilocócica é um agravo comum que resulta do consumo de alimentos contendo quantidades suficientes de uma ou mais enterotoxinas pré-formadas pela bactéria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (ARGUDÍN et al., 2010; LE LOIR, 2013). Este microrganismo é um comensal comum da pele e de membranas mucosas de animais e de seres humanos, mas que também pode agir como microrganismo oportunista (KADARIYA et al., 2014), estando entre as principais causas de surtos alimentares na União Europeia (EFSA, 2013) e no Brasil (BRASIL, 2016).

Uma outra preocupação associada a *S. aureus* envolve o uso extensivo de antimicrobianos na produção animal (GRUNDMANN et al., 2011), os quais, além das finalidades terapêutica e profilática, podem ser empregados como promotores de crescimento. Nesta situação, os agentes são aplicados em doses baixas e subterapêuticas, com o objetivo de melhorar a eficiência e a conversão alimentar, promovendo maior ganho de peso do animal a ser abatido (MARSHALL; LEVY, 2011; CLARK et al., 2012; MOLE, 2013).

Ocorre que os antimicrobianos utilizados na medicina veterinária são ocasionalmente idênticos aos utilizados na medicina humana, sendo muitas vezes de grande importância clínica. Portanto, bactérias resistentes em animais podem ser consideradas como uma ameaça subestimada para a medicina humana (REINTHALER et al., 2010), sendo a resistência antimicrobiana um fator importante para a patogenicidade dos estafilococos (VASCONCELOS et al., 2011; FOWOYO; OGUNBANWO, 2016).

Diferentes espécies do gênero *Staphylococcus* têm sido sugeridas como reservatórios de genes de resistência aos antimicrobianos (CHAJECKA-WIERZCHOWSKA et al., 2014), mas a maioria das pesquisas dos isolados de alimentos incide sobre *S. aureus*, enquanto uma menor atenção é dada a outras espécies do gênero (GAO et al., 2012).

Diversas cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos já foram detectadas em produtos de origem animal, principalmente em carne crua de suínos, de aves e de bovinos (DE BOER et al., 2009; HARTUNG; KÄSBOHRER, 2012; WANG et al., 2014), tendo sido relatadas em leite bovino e em queijos (NORMANNO et al., 2007; JAKOBSEN et al., 2011; JAMALI et al.

2015). Apesar disso, a via de transmissão de cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos através dos alimentos tem sido negligenciada. É necessário monitorá-las para melhor compreender o alcance das mudanças na resistência de microrganismos, particularmente aqueles que representam uma ameaça para a saúde pública (KLUYTMANS, 2010; NOWAKIEWICZ et al., 2015; RODRÍGUEZ-LÁZARO et al., 2015).

Dessa forma, este trabalho foi conduzido para pesquisar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* e de cepas resistentes a antimicrobianos em produtos de origem animal comercializados em Pernambuco, Brasil.

2. MATERIAL

Os produtos de origem animal foram adquiridos, ao acaso, de minimercados nos municípios de Recife, Jaboatão dos Guararapes e Vitória de Santo Antão, em Pernambuco, Brasil, no período de fevereiro de 2017 a maio de 2018. Foram coletadas 12 (doze) amostras, de marcas diferentes, sendo 03 (três) de queijo de coalho artesanal, 03 (três) de carne de frango *in natura*, 03 (três) de carne moída bovina *in natura* e 03 (três) de carne suína *in natura*, as quais foram transportadas em caixas isotérmicas contendo baterias de gelo do tipo gel e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Centro Acadêmico de Vitória de Santo Antão, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde foram mantidas sob refrigeração à temperatura de $\pm 4^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises, no mesmo dia da coleta.

3. MÉTODOS

3.1 Preparo das amostras

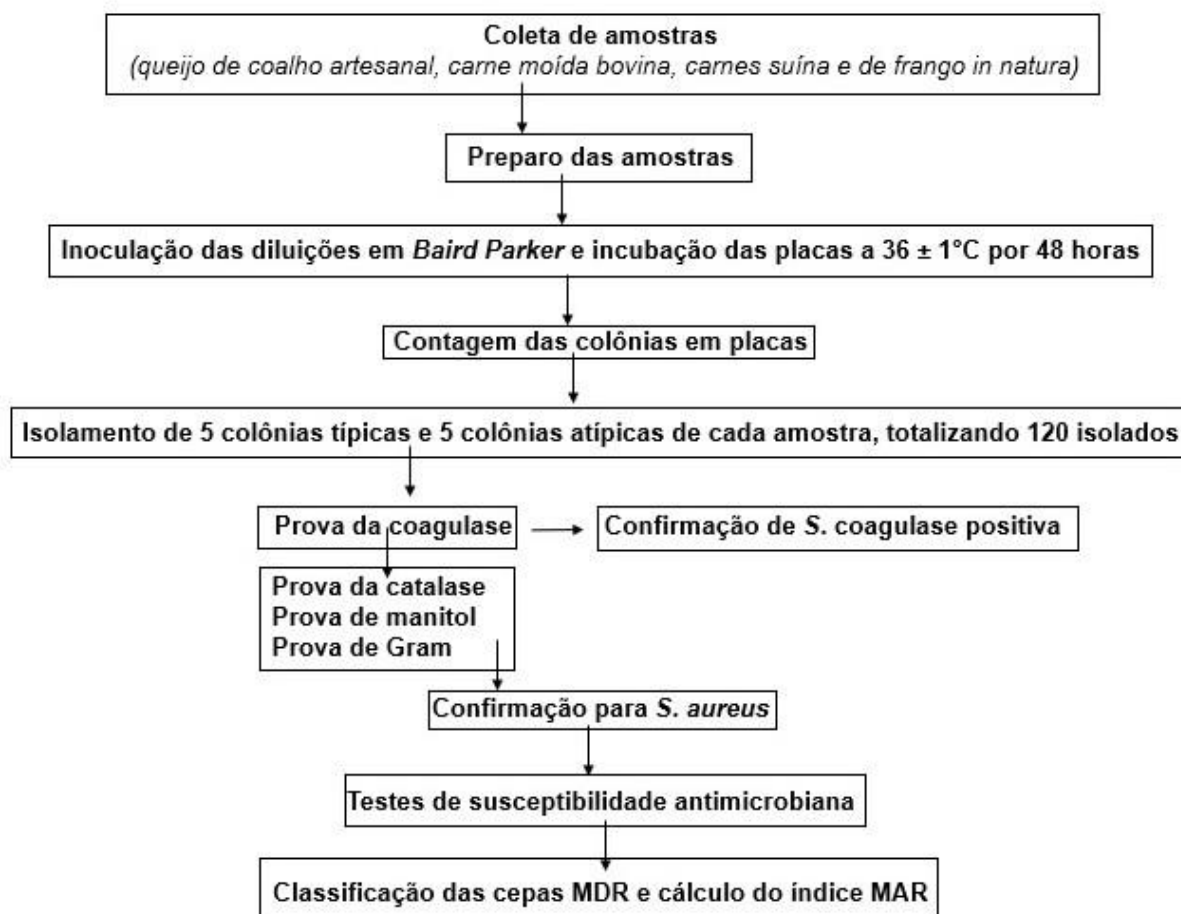
Foram pesados 25 gramas de cada amostra de produto de origem animal, em seguida foram homogeneizados em 225 mL de solução salina peptonada 0,1% no Stomacher (Stomax©) e submetidos a diluições decimais sucessivas até 10^{-6} .

3.2 Isolamento e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* e de *Staphylococcus aureus*

O delineamento experimental do presente estudo foi conduzido com base na Figura 1. Para a contagem de *Staphylococcus aureus* foi adotado o método de cultivo “*spread plate*”, utilizando-se o meio de cultura Ágar *Baird Parker*, conforme Instrução Normativa (IN) Nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003). Para cada diluição decimal, alíquotas de 0,1 ml foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar *Baird-Parker* acrescido de gema de ovo e telurito de potássio 3,5%. Com o auxílio de uma alça de *Drigalski*, as alíquotas foram espalhadas sobre as superfícies do meio de cultura para a obtenção do crescimento homogêneo e em seguida as placas foram incubadas em estufa tipo BOD (Tecnal©) à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

Após esse período, a contagem das colônias foi realizada em placas que continham entre 20 – 200 colônias, de acordo com o anexo IV da IN Nº 62 do MAPA (BRASIL, 2003), e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g). Para a confirmação dos isolados como *Staphylococcus coagulase positiva* e *Staphylococcus aureus*, foram transferidas de cada uma das 12 (doze) amostras, com o auxílio de uma alça de platina, cinco colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e cinco colônias atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos) para tubos de ensaio contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), totalizando 120 isolados. Os tubos foram incubados à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas e, após o período de incubação, as culturas foram submetidas aos testes confirmativos (BRASIL, 2003).

Figura 1: Desenho de estudo para a pesquisa de resistência antimicrobiana de *S. aureus* isolados de produtos de origem animal.



3.3 Testes confirmativos para *Staphylococcus coagulase positiva* e *Staphylococcus aureus*

3.3.1 Prova da coagulase

Para a confirmação de *Staphylococcus coagulase positiva* foi realizada a prova da coagulase. Um volume de 0,3 mL dos cultivos em BHI foi transferido para tubos de ensaio esterilizados e, em seguida, adicionados 0,3 mL de plasma liofilizado de coelho. Após homogeneização do cultivo com o plasma, os tubos foram incubados à temperatura de 36 ± 1°C por 6 horas. A leitura dos tubos foi realizada de acordo com a classificação dos coágulos pela IN nº 62 do MAPA (BRASIL, 2003), conforme escala crescente: 1+, 2+, 3+ e 4+, sendo os coágulos de grau 4+ os de maior consistência. Foram considerados *Staphylococcus coagulase positiva* quando a reação de coagulação foi do tipo 3+ e 4+.

3.3.2 Prova da catalase

Alíquotas dos cultivos em BHI foram repicadas em tubos de ensaio contendo o meio Ágar Nutriente (AN), os quais foram incubados à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após o período de incubação, foram acrescentadas em cada tubo de três e cinco gotas de peróxido de hidrogênio 3%. A formação de borbulhas indicou prova positiva para catalase e confirmativa para *S. aureus*.

3.3.3 Prova do manitol

A partir do cultivo em caldo BHI, os isolados foram repicados em placas de Petri contendo o meio Ágar Sal Manitol e incubados à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após o período de incubação, foi verificada a mudança de coloração do meio de cultura de vermelho para amarelo. *Staphylococcus aureus* é manitol positivo.

3.3.4 Prova de Gram

A partir do cultivo em caldo BHI, uma alçada de cada isolado foi depositada em lâmina de microscópio e submetida ao método de coloração de Gram. *Staphylococcus aureus* são cocos Gram positivos, podendo aparecer de forma isolada, em pares, cadeias curtas ou em cachos.

3.4 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

Após a confirmação das cepas de *S. aureus*, as mesmas foram submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco (BAUER *et al.*, 1966) conforme CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2015). Esse método constitui na obtenção de um inóculo bacteriano contendo aproximadamente 10^8 UFC/mL, que corresponde à escala 0,5 de McFarland.

O inóculo, com o auxílio do um *swab* esterilizado, foi semeado em placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Müeller–Hinton. Posteriormente, a fim de se verificar o principal fenótipo de resistência para *Staphylococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), os discos de cefoxitina 30 μg foram depositados na superfície da placa de Petri, com o auxílio de uma pinça esterilizada, enquanto que, para o fenótipo de

resistência a macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas (MLS), foram utilizados os discos de eritromicina 15 µg e de clindamicina 2 µg, pelo teste de aproximação. Outros antimicrobianos de importância clínica também foram utilizados como penicilina G 10U, tetraciclina 30 µg, gentamicina 10µg, ciprofloxacina 5 µg, cloranfenicol 30 µg e sulfazotrim 25µg, recomendados pelo CSLI (2015). Em seguida, as placas de Petri foram incubadas em estufa tipo BOD (Tecnal©) à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

A leitura dos resultados do perfil de susceptibilidade foi realizada medindo-se os tamanhos dos halos de inibição com um paquímetro e expressos em milímetros, sendo classificados como resistente, intermediário ou sensível de acordo com a tabela de referência estabelecida pelo CLSI (2018) para cada antimicrobiano.

3.5 Classificação das cepas multidrogarresistentes (MDR)

Determinou-se a classificação das cepas como multidrogarresistentes (MDR) a partir da resistência dos isolados a no mínimo três classes distintas dos antimicrobianos testados, conforme citado por Magiorakos et al. (2012).

3.6 Caracterização das cepas de acordo com o índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR)

Foi utilizado, como parâmetro complementar à classificação das cepas multidrogarresistentes, o índice de Múltipla Resistência a Antimicrobianos (MAR), descrito por Krumperman (1985), com o objetivo de avaliar o grau de risco da fonte de contaminação das cepas analisadas. Um índice MAR igual ou maior que 0,2 indica que a cepa é proveniente de uma potencial fonte de contaminação de alto risco para a saúde da população.

Calculou-se o índice MAR com base na relação a/b, onde (a) refere-se ao número de antimicrobianos aos quais os isolados foram resistentes e (b) ao número total de antimicrobianos ao qual o isolado foi exposto (KRUMPERMAN, 1985).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e de *Staphylococcus aureus* nos produtos de origem animal

O resultado das contagens (UFC/g) de *Staphylococcus* coagulase positiva e de *S. aureus* por tipo de produto de origem animal está expresso na Tabela 1. Salienta-se que a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi a mesma para *S. aureus*, uma vez que todas as unidades formadoras de colônia selecionadas e confirmadas como *S. coagulase* positiva também se comprovaram *S. aureus* nos demais testes confirmativos.

Entre os produtos analisados, apenas para o queijo de coalho a norma regulamentar (BRASIL, 2001) padroniza a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva como controle de qualidade, no entanto, discute-se na literatura a importância da pesquisa de *S. aureus* e do seu grau de contaminação nos produtos alimentícios que podem servir de veículo para a disseminação deste patógeno. A formação de enterotoxinas, necessárias para causar intoxicação alimentar, está fortemente associada à produção de coagulase e cepas de *S. coagulase* positivas já foram evidenciadas em diversos incidentes de intoxicação alimentar (HENNEKINE et al., 2012).

Todas as amostras de queijo de coalho artesanal analisadas apresentaram contaminação por *S. aureus* (Tabela 1), o que é coerente com Spanu et al. (2014), quando afirmam que a presença de *S. aureus* em queijos crus frescos ou não amadurecidos é um achado frequente. Além disso, um estudo de vigilância com queijos de leite cru mostrou que as amostras estavam usualmente contaminadas com *S. aureus* (JAKOBSEN et al., 2011). No presente estudo, a contagem de *S. aureus* nas amostras 1, 2 e 3 do queijo de coalho artesanal estavam em desacordo com a Resolução RDC Nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001), que preconiza um limite de tolerância máxima de 10^3 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva neste tipo de produto. *Staphylococcus* coagulase positiva está associado à mastite bovina e pode ser transmitido para os alimentos lácteos através da cadeia de produção, levando à possível intoxicação alimentar estafilocócica (CAPURRO et al., 2010; VERRAES et al., 2015).

Segundo ERTAS et al. (2010) e Fetsch et al. (2014), a produção de

enterotoxinas requer um crescimento de *S. aureus* acima de 10^5 UFC/g nos alimentos, o que implica dizer que as amostras 2 e 3 do queijo de coalho artesanal (Tabela 1), assim como as amostras 8 e 9 da carne suína (Tabela 1) têm o potencial para causar intoxicação alimentar estafilocócica nos consumidores. Como as enterotoxinas são termoestáveis e mantêm sua estabilidade mesmo após os tratamentos térmicos tipicamente empregados nas indústrias alimentícias, torna-se necessário o controle do agente causador para prevenir a doença (VIÇOSA et al., 2010).

Tabela 1 – Valores médios da contagem (UFC/g) de *Staphylococcus coagulase* positiva e de *S. aureus* nos produtos de origem animal

Fonte da amostra analisada	N. da amostra analisada	Contagem de <i>S. coagulase</i> positiva e de <i>S. aureus</i> (UFC/g)
Queijo de coalho artesanal	Amostra 1	$1,0 \times 10^4$
	Amostra 2	$1,9 \times 10^6$
	Amostra 3	$1,6 \times 10^5$
Carne moída bovina	Amostra 4	-*
	Amostra 5	$8,5 \times 10^4$
	Amostra 6	-*
	Amostra 7	$6,0 \times 10^3$
Carne suína	Amostra 8	$4,0 \times 10^5$
	Amostra 9	$2,2 \times 10^6$
	Amostra 10	$2,4 \times 10^1$
Carne de frango	Amostra 11	-*
	Amostra 12	-*

-*Nenhuma cepa *S. coagulase* positiva ou confirmada de *S. aureus*

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) permite a fabricação de queijos a partir de leite cru, embora diversos estudos relatem que o leite cru é um potencial reservatório para *S. aureus* (FUSCO; QUERO, 2014). A contaminação do leite cru com *S. aureus* e de seus derivados lácteos pode surgir em diferentes fases da cadeia de alimentos, sendo um dos agentes

causadores mais comuns de intoxicação alimentar associado ao consumo de queijos de leite cru (DE BUYSER et al., 2001). As principais fontes de contaminação do leite cru nas fazendas são a pele de animal, superfícies mucosas, glândulas mamárias infectadas, equipamento de ordenha, mãos de ordenhadores e meio ambiente (BERGONIER et al., 2003).

Ainda, nos laticínios, a contaminação do produto origina-se de manipuladores de alimentos, superfícies de contato com alimentos e armazenamento sob temperatura inadequada (CHARLIER et al., 2009; SPANU et al., 2012). Por isso, os produtores brasileiros devem atender às Boas Práticas de Fabricação preconizadas na Portaria N° 368/97 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

De Boer et al. (2009) e Jackson et al. (2013) relataram que *S. aureus* pode ser encontrado comumente em alimentos como a carne. No presente estudo, das 03 amostras da carne moída bovina e da carne de frango, apenas 1 amostra de cada tipo de carne apresentou contaminação por este patógeno (Tabela 1), o que, no entanto, pode ter sido influenciado pela amostragem. Ademais, este resultado também difere do encontrado por Rosina e Monejo (2013), que constaram 95% de positividade para *S. aureus* em 40 amostras averiguadas de carne moída bovina.

A RDC da ANVISA N° 12 de 02 de janeiro de 2001, norma brasileira que padroniza parâmetros microbiológicos para os alimentos, não prevê limite de tolerância de *Staphylococcus* coagulase positiva para carne moída e carnes *in natura* de suínos e de aves, o que indica que a contaminação de *S. aureus* nesses tipos de produtos não tinha relevância epidemiológica quando da elaboração da referida norma.

Apesar disso, o nível de contaminação de *S. aureus* na amostra 5, da carne moída bovina (Tabela 1), representa um risco à saúde pública devido à proximidade com o crescimento necessário ao início da produção de enterotoxinas (ERTAS et al., 2010). Ainda, carnes moídas originárias de vários cortes e excessivamente manipuladas possuem maior contaminação do que aquelas provenientes de grandes cortes (GARCIA-LÓPEZ et al., 1998; DOULGERAKI et al., 2012), além dos moedores e utensílios de corte serem importantes fontes de contaminação pois geralmente não passam por limpeza e sanitização adequadamente (FERREIRA; SIMM, 2012). Isso pode explicar a

contaminação da amostra 5 em detrimento das demais de carne moída, uma vez que foram adquiridas de comércios distintos.

No que se refere à carne crua de aves, com base nos poucos dados disponíveis na literatura científica, a carga de *Staphylococcus aureus* está geralmente abaixo de 10^2 UFC/g (AL-DUGHAYM; ALTABARI, 2010; MALPASS, 2010; VOIDAROU et al., 2011; BORTOLAIA et al., 2016). Estes achados estão de acordo com a contagem de *S. aureus* na amostra 10 da carne de frango (Tabela 1).

Um maior grau de contaminação encontrado na amostra 7 (carne *suína in natura*) indica condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o seu processamento. *S. aureus* pode entrar na cadeia de alimentos por meio de matéria-prima contaminada, manuseio inadequado de alimentos processados e falha na manutenção da cadeia de frio dos produtos (ARGUDÍN et al., 2010; GOMES et al., 2013; KADARIYA et al., 2014).

4.1 Isolamento e resistência antimicrobiana de *S. aureus* isolados dos produtos de origem animal

Do total de 120 cepas isoladas das 12 amostras analisadas, 45 (37,5%) foram confirmadas para *Staphylococcus aureus*. A maior ocorrência foi verificada entre as cepas de carne suína com 63% (19/45) e de queijo de coalho artesanal com 37% (14/45), seguidos da carne moída bovina com 33% (10/45) e da carne de frango com 6,7% (2/45). A prevalência de *S. aureus* nas carnes bovina e suína em um estudo realizado por Abdalrahman et al. (2015) foi de 50% e 43%, respectivamente, enquanto que em outras pesquisas encontraram 31% na carne moída bovina (GURAN; IKANI, 2015), 75% na carne de frango e 60% na carne suína (TANG et al., 2017), 24,2% na carne de frango (WANG et al., 2013) e 33,3% na carne bovina (VAN LOO et al., 2007). Quanto ao queijo, Jamali et al. (2015) isolaram 10,9% de *S. aureus* naqueles fabricados com leite cru e outros pesquisadores entre 10 % e 69% (ROSENGREN et al., 2010; JAKOBSEN et al., 2011; BROOKS et al., 2012). Tais variações podem ser devido a diferenças no tamanho da amostragem, das instalações de processamento e marcas dos produtos, e dos métodos de isolamento do agente biológico.

S. aureus é uma bactéria de grande preocupação em todo o mundo

devido à sua resistência a diferentes tipos de antimicrobianos (DAVID; DAUM, 2010). No presente estudo, verificou-se maior resistência das cepas de *S. aureus* à tetraciclina (33,3%), seguida de penicilina G (24,4%), eritromicina (8,8%), clindamicina (6,6%) e cefoxitina (2,2%), distribuídas de acordo com a Tabela 2. Resultados semelhantes foram encontrados por Abdalrahman et al. (2015), que identificaram uma maior resistência de *S. aureus* à tetraciclina (43,4%), seguida da penicilina (63,2%), eritromicina (40,8%), clindamicina (11,8%) e cefoxitina (10,5%), em uma pesquisa com diferentes tipos de carne.

Os pesquisadores Guran e Ikani (2015) também relataram uma maior frequência de resistência à tetraciclina e oxitetraciclina (85,5%), e à penicilina (51,4%) entre cepas de *Staphylococcus spp.* testadas para 24 antimicrobianos. Tetraciclina, agentes de amplo espectro, bem como as penicilinas, são amplamente utilizadas na medicina veterinária para o tratamento de infecções bacterianas de bovinos de corte e de leite (STOLKER; BRINKMAN, 2005), tendo sido observada a resistência de *Staphylococcus aureus* a penicilinas ainda na década de noventa (RANGEL et al., 1995).

Tabela 2 - Frequência da resistência antimicrobiana de cepas de *S. aureus* isoladas dos produtos de origem animal

Classe antimicrobiana	Agente antimicrobiano	Concentração	Resistência antimicrobiana Número de cepas (%)			
			Queijo de coalho artesanal (n=14/30)	Carne moída bovina (n=10/30)	Carne suína (n=19/30)	Carne de frango (n=2/30)
Beta-lactâmicos	Penicilina G	10 U	2 (14,2%)	0	7 (37%)	2 (100%)
	Cefoxitina	30 µg	1 (7,1%)	0	0	0
Tetraciclina	Tetraciclina	30 µg	0	0	13 (68%)	2 (100%)
Macrolídeos	Eritromicina	15 µg	0	0	2 (10,6%)	2 (100%)
Lincosaminas	Clindamicina	2 µg	1 (7,1%)	0	0	2 (100%)
Aminoglicosídeos	Gentamicina	10 µg	0	0	0	0
Fluorquinolonas	Ciprofloxacina	5 µg	0	0	0	0
Fenicóis	Cloranfenicol	30 µg	0	0	0	0
Antimetabólicos (antagonista da via do ácido fólico)	Sulfametoxazol/ Trimetoprim (Sulfazotrim)	1.25/23.75 µg	0	0	0	0

As cepas resistentes a antimicrobianos dificultam o tratamento de infecções, representando uma séria ameaça à saúde pública (GURAN; IKANI, 2015) e o uso destes agentes como promotores de crescimento na produção animal tem um papel importante no desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Por esse motivo, no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) proíbe o uso de cloranfenicóis, tetraciclinas, beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), quinolonas, sulfonamidas sistêmicas, eritromicinas, dentre outros, como promotores de crescimento na produção animal, ou seja, com a finalidade de promover uma melhor conversão alimentar, crescimento e desempenho reprodutivo nos animais através da administração de doses subterapêuticas (DUNSHEA et al, 2014). Ainda assim, não há proibição para os usos profilático e terapêutico destes antimicrobianos, os quais devem ser administrados de maneira adequada.

No presente estudo, todas as cepas de *S. aureus* foram sensíveis à gentamicina, ciprofloxacina, cloranfenicol e sulfazotrim, que são antimicrobianos menos utilizados na medicina veterinária em comparação com as tetraciclinas e os beta-lactâmicos. Porém, resultados divergentes foram relatados por Abdalrahman et al. (2015), em que as cepas de *S. aureus* foram resistentes a ciprofloxacina (19,7%), gentamicina (28,9%), cloranfenicol (7,9%) e sulfazotrim (2,6%) em carnes suína e bovina.

Em termos de quantidade, neste estudo, a maior proporção de cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos foi encontrada na carne suína, com 13 (68%) resistentes à tetraciclina e 7 (37%) resistentes à penicilina G, além de 2 (10,6%) cepas resistentes à eritromicina. Neste caso, os achados foram compatíveis com os de Abdalrahman et al. (2015), cuja porcentagem de resistência dos isolados de carne suína foi maior quando comparada com outros produtos de origem animal analisados.

Na carne moída bovina, todas as cepas de *S. aureus* foram sensíveis aos antimicrobianos testados (Tabela 2). Embora em um estudo realizado por Guran e Ikani (2015) as cepas testadas também tenham sido sensíveis à gentamicina, elas foram altamente resistentes à tetraciclina, penicilina, quinolonas e macrolídeos.

Os queijos, especialmente aqueles feitos a partir de leite cru, já foram relatados por conterem altas cargas de bactérias resistentes (FLOREZ et al., 2014). Nesta pesquisa, a maior frequência de resistência dos isolados de *S. aureus* para a penicilina no queijo de coalho artesanal pode ser devido à administração disseminada desses antimicrobianos a fim de controlar e tratar infecções em fazendas leiteiras (JAMALI et al., 2013). A alta prevalência de *S. aureus* resistente à penicilina em queijo de coalho fabricado com leite cru está de acordo com achados de Gao et al. (2012) e Jamali et al. (2013; 2014).

Em relação à presença de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), amplamente discutido na literatura científica, apenas 1 cepa (2,2%) (Tabela 2) foi encontrada, no queijo de coalho artesanal. Isso indica uma baixa prevalência de MRSA nos produtos analisados e resultados semelhantes foram relatados na pesquisa de Jamali et al. (2015), com 2% das cepas de MRSA em queijos fabricados com leite cru, e em outras investigações anteriores com queijos artesanais e com o próprio leite cru, principal matéria-prima utilizada na sua fabricação (FEBLER et al., 2012; KREAUSUKON et al., 2010). Os estudos mostram que a distribuição do MRSA varia com base na região geográfica e com o método desenvolvido para o isolamento (WANG et al., 2014). A resistência à meticilina é mediada pelo gene *mecA*, que codifica a proteína 2a de ligação à penicilina (PBP2a), com baixa afinidade para os antimicrobianos beta-lactâmicos (PINHO et al., 2001; HERRERA et al., 2016) e o consumo de alimentos de origem animal com MRSA pode constituir um veículo potencial de transmissão para humanos (OGATA et al., 2012).

A cepa que foi resistente à meticilina no queijo de coalho artesanal também apresentou resistência à eritromicina e à clindamicina (Tabela 2) e estes antimicrobianos podem ser utilizados como alternativas no tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e na prática clínica da criação de bovinos e de frangos. Desse modo, o perfil fenotípico de resistência antimicrobiana da cepa 1 dificultaria o tratamento de infecção estafilocócica por diminuir as possibilidades terapêuticas (DAUREL et al., 2007; FIEBELKORN et al., 2003; PRABHU et., 2011; JECHALKE et al., 2014; GELBAND et al., 2015. ba et al., 2016).

A forma de expressão da resistência à eritromicina e à clindamicina encontrada no presente estudo representa o fenótipo MLSc (resistência

constitutiva de Macrolídeos, Lincosamidas e Estreptogramina), também identificada nas cepas de *S. aureus* da carne de frango (Tabela 2), o que totaliza 6,6% de fenótipo MLS_c neste estudo. Um dos mecanismos de resistência cruzada entre macrolídeos e lincosaminas consiste na modificação do alvo do ribossomo e da ativação da bomba de efluxo, cuja expressão constitutiva é codificada pelos genes “ermC” (erythromycin ribosome methylase) ou “ermA”, respectivamente, sendo os principais determinantes nos estafilococos (FIEBELKORN et al., 2003; MAHESH et al., 2013).

A resistência antimicrobiana encontrada na carne de frango, embora representada por uma menor quantidade de cepas, 100% delas foram resistentes à tetraciclina, penicilina G, eritromicina e clindamicina. Perfis de resistência antimicrobiana em *S. aureus* isolados de carnes de frango no Irã mostraram que as cepas tiveram igual resistência alta à tetraciclina (97,56%), mas também à meticilina (75,60%) e ao trimetoprim (31,70%) (MONTAZ et al., 2013). A alta prevalência de resistência à tetraciclina (tão alta quanto 100%) também foi relatada em isolados de carnes de frango na Coréia (LIM et al., 2010), na Alemanha (FESSLER et al., 2011), na Polônia (KRUPA et al., 2014) e em Hong Kong (BOOST et al., 2013).

Os produtos de origem animal podem ser uma fonte de exposição a cepas de *S. aureus* multirresistentes, como resultado do uso indevido de antimicrobianos no manejo de animais (ARENAS et al., 2017). As cepas de *S. aureus* multidrogarresistentes, consideradas aqui como no mínimo a três classes antimicrobianas distintas (MAGIORAKOS et al., 2012), foram identificadas em três dos quatro produtos de origem animal testados, sendo 2 cepas na carne de frango, 1 no queijo de coalho (a cepa MRSA) e 1 na carne suína, totalizando 8,8%. Esta frequência aproxima-se da encontrada por Ge et al. (2017) que identificaram 10,4% de *S. aureus* resistentes a múltiplos antimicrobianos isolados em diferentes tipos de carnes, como as de suíno e de frango, e Jamali et al. (2015) com 14,3% em queijos produzidos com leite não pasteurizado.

O índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) neste estudo, exibido na Tabela 3, variou de 0,1 a 0,4 nas cepas de *S. aureus*. Das 45 cepas analisadas, 17 (37,7%) apresentaram resistência antimicrobiana com valor igual ou maior que 0,2, sendo caracterizadas como provenientes de potenciais

fontes de contaminação de alto risco à saúde da população, segundo Krumperman (1983). A maioria dessas cepas, com 82,25% (14/17), foi encontrada na carne suína, no entanto, o maior índice MAR (0,4) foi identificado nas cepas da carne de frango e do queijo de coalho, as quais teriam o potencial de serem mais patogênicas, segundo o parâmetro adicional que representa o índice MAR (KRUMPERMAN, 1983).

Tabela 3: Índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) para cepas de *S. aureus*

Fonte da amostra analisada	N. de cepas <i>S. aureus</i>	Agentes antimicrobianos	Índice MAR
Carne de frango	2	Penicilina, tetracilina, clindamicina e eritromicina	0,4
Queijo de coalho artesanal	1	Penicilina, clindamicina, eritromicina e cefoxitina	0,4
Queijo de coalho artesanal	1	Penicilina	0,1
Carne suína	1	Penicilina, tetraciclina e eritromicina	0,3
Carne suína	12	Penicilina e tetracilina	0,2
Carne suína	1	Penicilina e eritromicina	0,2
Carne suína	2	Tetraciclina	0,1

Assim, verifica-se a relevância do monitoramento e da vigilância da ocorrência de *Staphylococcus aureus* em produtos de origem animal, o que deve ser aprimorado pelos órgãos reguladores da saúde e da agricultura e pecuária a fim de promover o uso racional de antimicrobianos na produção animal e consequente proteção da saúde pública. Estudos genéticos devem ser desenvolvidos para melhor estabelecer as relações entre o uso de antimicrobianos na produção animal e o desenvolvimento de patógenos resistentes, assim como, a fim de melhor avaliar a transmissão zoonótica de cepas resistentes de *S. aureus*, são necessários estudos do perfil genético dos

isolados em produtos de origem animal e em amostras clínicas de animais e de seres humanos.

Além disso, a adoção de Boas Práticas na produção animal diminui a incidência de infecções estafilocócicas e, por conseguinte, a necessidade de se fazer uso de antimicrobianos para tratá-las ou preveni-las, assim como as Boas Práticas implementadas na fabricação e na manipulação de produtos de origem animal evita e/ou reduz o risco de intoxicação alimentar estafilocócica.

5. CONCLUSÃO

Todos os tipos de produtos de origem animal analisados apresentaram contaminação por *Staphylococcus aureus*, sendo maior em número de amostras e em nível de contaminação (UFC/g) no queijo de coalho e na carne suína. A resistência aos antimicrobianos em ordem decrescente foi identificada para tetraciclina, penicilina G, eritromicina, clindamicina e cefoxitina entre as cepas isoladas dos produtos queijo de coalho artesanal, carnes suína *in natura* e carne de frango *in natura*. Estes produtos apresentaram cepas de *S. aureus* com múltipla resistência, sendo o queijo de coalho e a carne de frango os principais potenciais reservatórios de contaminação de alto risco à saúde da população, apesar a carne suína apresentar o maior número de cepas com resistência a antimicrobianos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALRAHMAN, L. S.; WELLS, H.; FAKHR, M. K. *Staphylococcus aureus* is more prevalent in retail beef livers than in pork and other beef cuts. **Pathogens**, v. 4, p. 182-198, 2015.

AL-DUGHAYM, A.M.; ALTABARI G, F. Safety and quality of some chicken meat products in Al-Ahsa markets-Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.17, p. 37– 42, 2010.

ARENAS, N.E.; ABRIL, D.A.; VALENCIA, P.; KHANDIGE, S.; SOTO, C.Y.; MORENO-MELO, V. Screening foodborne and zoonotic pathogens associated with livestock practices in the Sumapaz region, Cundinamarca, Colombia. **Tropical Animal Health Production**, v. 49, p. 739-745, 2017.

AREZOO, D. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, v. 54, p. 383-388, 2015.

ARGUDÍN, M.A.; MENDOZA, M.C.; RODICIO, M.R. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. **Toxins**, p. 1751–1773, 2010.

BAUER, A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 2413-5, 1966.

BERGONIER, D.; DE CRÉMOUX, R., RUPP, R.; LAGRIFFOUL, G., BERTHELOT, X. Mastitis of dairy small ruminants. **Veterinary Research** v. 34, p. 689–716, 2003.

BOOST M.V.; WONG A.; HO, J.; O'DONOGHUE, M. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from retail meats in Hong Kong. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p.705– 10, 2013.

BORTOLAIA, V.; ESPINOSA-GONGORA, C.; GUARDABASSI, L. Human health risks associated with antimicrobial-resistant enterococci and

Staphylococcus aureus on poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, p. 130– 140, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC no 12, de 2 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 de janeiro, 2001. Seção I, 45-53, 2001.

BRASIL, 2011. **Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa; queijo de coalho e queijo de manteiga. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3onormativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em 10 de julho de 2018.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, p.14, 18 set. 2003, Seção 1, 2003.

BRASIL, 2016. Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>>. Acesso em 08 de Julho de 2018.

BROOKS, J. C.; MARTINEZ, B.; STRATTON, J.; BIANCHINI, A.; KROKSTROM, R.; HUTKINS, R. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. **Food Microbiology**, v. 31, p. 154-158, 2012.

CAPURRO, A.; ASPAN, A.; UNNERSTAD, H. E.; WALLER, K. P.; ARTURSSON, K. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p.180-191, 2010.

CHARLIER, C.; CRETENET, M.; EVEN, S.; LE LOIR, Y. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with

new perspectives. **International Journal of Food Microbiology** v. 131, p. 30–39, 2009.

CLSI. Clinical e Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing** (25th edn.). Clinical and Laboratory Standards Institute, Harrisburg, PA, USA, 2015.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 28th ed. CSLI supplement M100 (ISBN 1-56238-838-X [Print]; ISBN 1-56238-839-8 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950, West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2018.

DUNSHEA, F. R.; D'SOUZA, D.N.; JENSEN, B. B.; ENGBERG, R. M. Meat, animal, poultry and fish production and management. Antibiotic growth promotants. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 2, 2014.

DAUREL, C. Differences in potential for selection of clindamycin-resistant mutants between inducible *erm(A)* and *erm(C)* *Staphylococcus aureus* genes, **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 546-550, 2007.

DAVID, M.Z.; DAUM, R.S. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, p. 616–687, 2013.

DE BUYSER, M.L.; DUFOUR, B.; MAIRE, M.; LAFARGE, V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 1–17, 2001.

ERTAS, N.; GONULALAN, Z.; YILDIRIM, Y.; KUM, E. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, p. 74–77, 2010.

FEBLER, A.T.; OLDE, R.R.G.; ROTHKAMPS, A.; KADLEC, L; SAMPINON, O.C.; LAM, T.J. Characterization of methicillin-resistant

Staphylococcus aureus CC398 obtained from humans and animals on dairy farms. **Veterinary microbiology**, v. 160, p. 11-84, 2012.

FERREIRA, R. S.; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **Revista Digital FAPAM- Synthesis**, v.3, p. 37 - 61, 2012.

FESSLER, A. T.; 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. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77:7151– 7157, 2011.

FETSCH, A.; CONTZEN, M.; HARTELT, K.; KLEISER, A.; MAASSEN, S.; RAU, J. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. **International Journal of Food Microbiology**, v.187, p.1-6, 2014.

FIEBELKORN, K. R. et al. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *staphylococci*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 10, p. 4740-4744, 2003.

FLOREZ, A. B.; ALEGRÍA, A.; ROSSI, F.; DELGADO, S.; FELIS, G. E.; TORRIANI, S. Molecular identification and quantification of tetracycline and erythromycin resistance genes in Spanish and Italian retail cheeses. **BioMed Research International**, v.10, 2014.

FUSCO, V.; QUERO, G. M. Culture-dependent and culture-independent nucleic-acid-based methods used in the microbial safety assessment of milk and dairy products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 493-537, 2014.

GE, B.; MUKHERJEE, S.; HSU, C.; DAVIS, J.A.; , TRAN, T.T.; YANG, Q.; ABBOTT, J. W.; AYERS, H. L.; YOUNG, S. R.; CRAREY, E. T.; WOMACK, N. A.; ZHAO, S.; MCDERMOTT, P. F. MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats, 2010-2011. **Food Microbiology**, v. 62, p. 289-297, 2017.

GELBAND, H.; MOLLY, M. P.; PANT, S.; GANDRA, S.; LEVINSON, J.; BARTER, D.; WHITE, A.; LAXMIKARAYAN, R. The state of the world's antibiotics. **Wound Healing Southern Africa - SA ePublications**, v. 8, p. 30-34, 2015.

GOMES, B. C.; FRANCO, B. D. G. M.; DE MARTINIS, E. C. P. Microbiological food safety issues in Brazil: bacterial pathogens. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p. 197–205, 2013.

GURAN, H. S.; LKAHY, S. Species Diversity and Pheno- and genotypic antibiotic resistance patterns of *Staphylococci* Isolated from retail ground meats. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 6, 2015.

HASSAN, M.; Farhad, S. D.; EBRAHIM, R.; AMIN, A.; MAHMOOD M. Virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat in Isfahan province, Iran. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 22, p. 913–921, 2013.

HENNEKINE, J. A.; DE BUYSER, M. L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 4, p. 815-36, 2012.

HERRERA, F. C.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L.; SANTOS, J. A. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk fresh cheese in Colombia. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 7872–7876, 2016.

JAMALI, H., MOHAMMADJAVAD, P.; BEHRAD, R., SALMAH, I.; JAKOBSEN, R. A., HEGGEBØ, R., SUNDE, E. B.; SKJERVHEIM, M. *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. **Food Microbiology**, v. 28, p. 492-496, 2011.

JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B.; ISMAIL, S.; DADRASNIA, A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, n. 54, p. 383-388, 2015.

JAMALI, H.; RADMEHR, B. Frequency, virulence genes and antimicrobial resistance of *Listeria spp.* isolated from bovine clinical mastitis. **The Veterinary Journal**, v. 198, p.541-542, 2013.

JAMALI, H.; RADMEHR, B.; THONG, K. L. Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. **Food Control**, v. 34, p.121-125, 2013.

JECHALKE, S.; HEUER, H.; SIEMENS, J.; AMELUNG, W.; SMALLA, K. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil. **Trends Microbiology**, v. 22, p. 536-545, 2014.

KADARIYA, J.; SMITH, T.C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 827-965, 2014.

KREASUKON, K.; FETSCH, A.; KRAUSHAAR, B.; ALT, K.; MÜLLER, K.; KRÖMBER, V. Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy farms. **Journal of dairy Science**, v. 95, p. 4382-4388, 2012.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 165-170, 1983.

KRUPA, P.; BYSTRON, J.; BANIA, J.; PODKOWIK, M.; EMPEL, J.; MROCZKOWSKA, A. Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland. **Poultry Science Journal**, v. 93, p. 3179– 86, 2014.

LIM, S.K.; NAM, H.M.; PARK, H.J.; LEE, H.S.; CHOI, M.J.; JUNG, S.C. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

in raw meat in Korea. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p. 775– 778, 2010.

MAGIORAKOS, A. P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B.; CARMELI, M. E.; FALAGAS, C. G.; GISKE, C. G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J. F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST-OLSSON, B.; PATERSON, D. L.; RICE, L. B.; STELLING, J.; STRUELENS, M. J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J. T.; MONNET, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, p. 268-281, 2012.

MAHESH, C. B.; RAMAKANT, B. K.; JAGADEESH, V. S. The prevalence of inducible and constitutive clindamycin resistance among the nasal isolates of *Staphylococci*. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 8, p. 1620-1622, 2013.

MALPASS, M.C.; WILLIAMS, A.P.; JONES, D.L.; OMED, H.M. Microbiological quality of chicken wings damaged on the farm or in the processing plant. **Food Microbiology**, v. 27, p. 521– 525, 2010.

OGATA, K.; NARIMATSU, H.; SUZUKI, M.; HIGUCHI, W.; YAMAMOTO, T.; TANIGUCHI, H. Commercially distributed meat as a potential vehicle for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 2797-2802, 2012.

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

PRABHU, K.; RAO, S.; RAO, V. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 3, n. 1, p. 25-27, 2011.

RANGEL, E.; FURTADO, A.; FURTADO, W.; MACEDO, J.; CUNHA JÚNIOR, A. C.; MACEDO, V.; MORETTO, D. Avaliação das culturas de secreções do laboratório do Hospital Universitário de Brasília (HUB)-DF e do perfil de resistência aos antimicrobianos, de outubro/93 a março/94. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 28, p. 263, 1995.

ROSENGREN, A.; FABRICIUS, A.; GUSS, B.; SYLVEN, S.; LINDQVIST, R. Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm dairies. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, 263-269, 2010.

ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercados de Canoinhas/SC. **Revista interdisciplinar saúde e meio ambiente**, v. 2, n. 2, p. 55-64, 2013.

SPANU, V.; SPANU, C.; VIRDIS, S.; COSSU, F.; SCARANO, C.; DE SANTIS, E. P. L. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1, p. 53–57, 2012.

STOLKER, A.A.M.; BRINKMAN, U.A.T. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in foodproducing animals—a review. **Journal of Chromatography A**, v.1067, p. 15-53, 2005.

TANG, D. Y.; LARSEN, J.; JETTE, K.; PAAL, S. A.; ROBERT, S.; HANNE, I. Methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 249, p. 72–76, 2017.

VAN LOO, I.H.; DIEDEREN, B.M.; SAVELKOUL, P.H.; WOUDEBERG, J.H.; ROOSEDAAL, R.; VAN BELKUM, A.; LEMMENS-DEN TOOM, N.; VERHULST, C.; VAN KEULEN, P.H.; KLUYTMANS, J.A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 13, p. 1753–1755, 2007.

VERRAES, C.; VLAEMYNCK, G.; VAN WEYENBERG, S.; DE ZUTTER, L.; DAUBE, G.; SINDIC, M. A review of the microbiological hazards of dairy

products made from raw milk. **International Dairy Journal**, v. 50, p. 32-44, 2015.

VIÇOSA, G. N.; MORAES, P. M.; YAMAZI, A. K.; NERO, L. A. Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus spp.* in raw milk and fresh soft cheese: An evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma Fibrinogen agar and the Petrifilm Staph. Express count system. **Food Microbiology**, v.27, p. 447-452, 2010.

VOIDAROU, C.; VASSOS, D.; ROZOS, G.; ALEXOPOULOS, A.; PLESSAS, S.; TSINAS, A.I. Microbial challenges of poultry meat production. **Anaerobe**, v. 17, p. 341– 343, 2011.

WANG, X.; TAO, X.; XIAODONG, X.; YANG, B.; XI, M.; MENG, J.; ZHANG, J.; XU, B. *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken in China. **Food Control**, v. 29, p. 103-106, 2013.