

MARIANA MORAES DIONYSIO DE SOUZA

**STAPHYLOCOCCUS SP. NA PRODUÇÃO PRIMÁRIA DE LEITE – ASPECTOS
DE SAÚDE PÚBLICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de Médica Veterinária.

Área de concentração: Higiene Veterinária e Saúde Pública.

Preceptor: Professor Ass. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Botucatu

2010

MARIANA MORAES DIONYSIO DE SOUZA

**STAPHYLOCOCCUS SP. NA PRODUÇÃO PRIMÁRIA DE LEITE – ASPECTOS
DE SAÚDE PÚBLICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP,
para obtenção do grau de Médica Veterinária.

Área de concentração: Higiene Veterinária e Saúde Pública.

Preceptor: Professor Ass. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Botucatu

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Souza, Mariana Moraes Dionysio.

Staphylococcus sp na produção primária de leite : aspectos de saúde pública / Mariana Moraes Dionysio de Souza. - Botucatu, 2010

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2010

Orientador: José Paes de Almeida Nogueira Pinto
Capes: 40602001

1. Leite. 2. Estafilococos. 3. Saúde Pública.

Palavras-chave: Leite; Saúde pública; *Staphylococcus sp*.

SOUZA, MARIANA M. D. *Staphylococcus* sp. na produção primária de leite : aspectos de saúde pública. Botucatu, 2010. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Saúde Pública Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Staphylococcus é uma das causas mais importantes das chamadas Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA), sendo que das 40 espécies já descritas do gênero, a mais importante é *Staphylococcus aureus*. Durante anos acreditava-se que a *S. aureus* era única espécie do gênero capaz de produzir enterotoxinas, responsáveis pelo quadro clínico em humanos, mas estudos mais recentes relatam o isolamento de outras espécies tanto coagulase positiva (SCP) como negativa (SCN) com potencial enterotoxigênico. Os sintomas dessa intoxicação aparecem após um curto período de incubação (2-6 horas) e geralmente se caracterizam por náusea, vômito, dor abdominal e diarreia, e raramente é fatal. Para que a toxina seja formada no alimento é necessário que a população bacteriana seja de pelo menos 10^5 UFC/g, sendo que tais toxinas caracterizam-se por apresentarem grande resistência frente às proteases gastrintestinais e a tratamentos térmicos caseiros. Entre os principais alimentos que podem veicular o micro-organismo, o leite e seus derivados possuem destaque. A contaminação do produto pode acontecer desde a produção primária até o momento de seu consumo pela população. No caso da produção primária, a contaminação pode se dar a partir do leite proveniente de vacas com mastite clínica e/ou subclínica, já que o gênero *Staphylococcus* é um dos principais agentes etiológicos dessa enfermidade, equipamentos e utensílios mal higienizados e dos manipuladores. O controle de todos esses fatores configura-se como condição fundamental para a obtenção de um produto de qualidade, seguro, que não ofereça riscos aos consumidores.

Palavras chave: Leite; Saúde pública; *Staphylococcus* sp.

SOUZA, MARIANA M. D. *Staphylococcus sp in primary production of milk: public health aspects*. Botucatu, 2010. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Saúde Pública Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Staphylococcus is one of the more important causes of the called Foodborne Disease(FD), being that from the 40 species described from genus, the more important is *Staphylococcus aureus*. During years believed that the *S. aureus* was the only specie from genus able to produce enterotoxins, responsible for the clinical frame in humans, but latest studies report the isolation of other species both positive coagulase (PC) as negative with enterotoxigenic potential. The symptoms of this intoxication appear after a short period of incubation (2-6 hours) and usually characterized by nausea, vomits, abdominal ache, diarrhea, and rarely is fatal. For the toxin to be formed in food is necessary that bacteria population to be at least 10^5 UFC/g, being that such toxins characterized by presenting great resistance front of gastrointestinal proteases and of homemade termical treatment. Among the main foods that might carry the microorganism, the milk and its derivatives have highlights. The contamination of the product might happen as from the milk from cows with clinical and/or subclinical mastitis, as the *Staphylococcus* genus is one of the main agents etiologic from this disease, equipments utensils badly sanitized equipments and utensils and from the manipulators. The control of these factors configures as fundamental condition for the achievement of a safe, quality product, which doesn't offer risk to the consumers.

Key Words: Milk; Public health; *Staphylococcus sp*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. REVISÃO.....	07
2.1 <i>Staphylococcus</i> enterotoxigênicos.....	07
2.2 Intoxicação estafilocócica.....	08
2.3 <i>Staphylococcus</i> enterotoxigênicos em leite.....	09
2.4 Mastite bovina.....	09
2.5 Manipuladores.....	12
2.6 Intoxicações estafilocócicas relacionadas ao consumo de leite e derivados.....	13
3. CONCLUSÃO.....	14
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

1. INTRODUÇÃO

Mundialmente conhecidas como agentes causadoras de várias doenças piogênicas, tanto em humanos como nos animais, as espécies do gênero *Staphylococcus* também são consideradas agentes etiológicos importantes de intoxicação alimentar, devido à produção de várias enterotoxinas, sendo consideradas a 3ª causa mais importante de Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA), depois de *Salmonella* sp. e *Clostridium perfringens* (ASPERGER & ZANGERL, 2003; NORMANNO et al., 2005).

O gênero, pertencente à família Staphylococcaceae, abrange 40 espécies, a maioria coagulase-negativa (GARRITY & HOLT, 2001). São cocos Gram-positivos, com um diâmetro variando de 0,5 a 1,5µm, não formadores de esporos, catalase positiva e anaeróbios facultativos. Ao se dividirem em diferentes planos quando visualizados em microscópio, aparecem em forma de cachos de uva (ICMFS, 1996; GARRITY & HOLT, 2001).

São halo-tolerantes, podendo crescer em concentrações de cloreto de sódio compreendidas entre 7 e 10%, sendo que algumas cepas são capazes de suportar concentrações de até 20% (JAY, 2004). Resistem à dessecação, ao congelamento - sobrevivem a temperaturas iguais ou menores que - 20°C, porém são destruídos pela pasteurização ou cocção normais (HALPINDO-HNALEK & MARTH, 1989).

Entre as várias espécies do gênero, *Staphylococcus aureus* é a mais importante, estando relacionada com uma série de infecções e intoxicações no homem e nos animais (BANNERMAN, 2003). No caso das intoxicações alimentares causadas pela ingestão de toxinas pré-formadas por cepas de *Staphylococcus*, o leite e derivados estão entre os alimentos mais envolvidos nos surtos identificados e estudados (CENCI-GOGA ET al., 2003; FUEYO ET al., 2005).

A presente revisão tem como objetivo apresentar os principais fatores relacionados à participação do gênero *Staphylococcus* na etiologia de surtos de ETA e o papel do leite como veículo do agente ao homem.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Staphylococcus enterotoxigênicos*

A intoxicação alimentar estafilocócica dá-se pela ingestão de alimentos contendo enterotoxinas pré-formadas por algumas linhagens de *Staphylococcus enterotoxigênicos* (BALABAN & RASOOLY, 2000).

Dentre as espécies responsáveis pelo quadro de intoxicação, destaca-se *Staphylococcus aureus*, já que segundo alguns estudos, esta espécie é responsável por mais de 98% dos surtos envolvendo o gênero (PEREIRA ET al., 2000).

Durante muitos anos *S. aureus* foi considerado a única espécie do gênero capaz de produzir enterotoxinas. Entretanto, alguns autores têm relatado o isolamento de outras espécies coagulase positiva (SCP) e negativa (SCN) com potencial enterotoxigênico. Entre os SCP, pode-se citar *S. intermedius* e *S. hyicus* (HIROOKA ET al., 1988) e, entre os SCN, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. chromogenes*, *S. lentus*, *S. xylosus* (VERNOZY ET al., 1996; CUNHA ET al., 2006).

A legislação brasileira, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, através da resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), determina limites apenas para a presença de SCP em alimentos, considerando aqueles com altas contagens do micro-organismo impróprios para o consumo e potencialmente capazes de causar a enfermidade (ZOCCHÉ ET al., 2007).

2.2 Intoxicação estafilocócica

De acordo com estimativas do Center for Disease Control and Prevention (CDC), *S. aureus* foi a 4ª causa de surtos de ETA nos Estados Unidos no período de 1988 a 2002, sendo suplantado apenas por *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (LYNCH, 2002).

Estima-se que, a cada ano nos EUA, o número de casos de intoxicação alimentar estafilocócica seja de 185.000 (com cerca de 1.750 hospitalizações), com custos médicos e perda de produtividade na ordem de 1,5 bilhões de dólares (CENCI-GOGA et al., 2003). Entretanto, a real incidência de intoxicações alimentares causadas por *Staphylococcus* sp. é subestimada, pois apenas 10% dos indivíduos afetados procuram atendimento médico, já que os sintomas geralmente são brandos e de curta duração (BALABAN & RASOOLY, 2000; SMYTH et al., 2004).

Na intoxicação alimentar estafilocócica, os sintomas aparecem após um curto período de incubação (2-6 horas) e geralmente se caracterizam por náusea, vômito, dor abdominal e diarreia. Duram aproximadamente de 24 a 48 horas, com uma completa recuperação do indivíduo num período de 1 a 3 dias (PINTO et al., 2005). A doença raramente é fatal (0,03% dos casos), entretanto casos mais graves podem ocorrer em recém-nascidos, idosos e pessoas acometidas por doenças crônicas imunossupressoras (CLIVER, 1994).

Conforme Franco & Landgraf (2002), é necessário que a população de *Staphylococcus* sp. seja de pelo menos 10^5 UFC/g no alimento para que a toxina seja formada em uma concentração capaz de provocar intoxicação alimentar. Segundo os mesmos autores, não existe uma concordância sobre a dose necessária de toxina, para causar sintomatologia em seres humanos, porém, de maneira geral, estima-se que esteja entre 0,015 e 0,375 mg de enterotoxina por quilo de peso corpóreo. Para Varnam & Evans (apud SILVA, 1998) a quantidade mínima requerida para causar intoxicação seria em torno de 1 mg/100g de alimento, entretanto para Jay (2004), 200µg já seriam suficientes para causar a enfermidade.

2.3 *Staphylococcus* enterotoxigênicos em leite

A presença de *Staphylococcus* enterotoxigênicos e suas enterotoxinas têm sido constatada com frequência em leite in natura (ROSEC & GIGAUD, 2002; LE LOIR et al., 2003).

O leite cru obtido de animais com infecção estafilocócica nas glândulas mamárias tem sido considerado a principal fonte de *Staphylococcus* sp. Por outro lado, a higienização deficiente de equipamentos na sala de ordenha e de beneficiamento, e uma conservação inadequada tornam o leite suscetível à contaminação por estes micro-organismos (FRANCO et al., 2000).

No Brasil, conforme Ataíde et al., (2008) a média das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite cru foi $3,9 \times 10^4$ UFC/mL, estando abaixo do intervalo considerado significativo (10^5 - 10^6 UFC/mL) para causar intoxicação alimentar.

2.4 Mastite bovina

As infecções intramamárias causadas pelos *Staphylococcus* apresentam implicações importantes em saúde pública, tendo em vista que as toxinas podem ser produzidas no leite e permanecer estáveis nos produtos oferecidos ao consumo (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004).

A mastite é a infecção mais freqüente dos animais destinados à produção de leite e a que mais onera a pecuária leiteira. As perdas econômicas são causadas tanto na fazenda, pela diminuição da produção de leite, custo com mão-de-obra, honorários profissionais, medicamentos, morte ou descarte precoce de animais, quanto nos laticínios, pela queda na qualidade do produto final, diminuição do rendimento industrial para fabricação de derivados e pelas alterações na composição do leite mastítico (LANGONI, 1999).

A inflamação da glândula mamária pode ser classificada como mastite subclínica ou clínica. As mastites clínicas caracterizam-se por leite visivelmente anormal, e pela evidência de graus variáveis de inflamação do úbere (rubor, tumefação, calor e dor). Já nas formas subclínicas, que correspondem a 11 a 70% das mastites bovinas, não há sinais visíveis de inflamação no úbere e o leite tem aspecto macroscópico normal, embora sua composição esteja alterada (diminuição na gordura, lactose, caseína, cálcio e fósforo) e micro-organismos possam ser isolados do mesmo (REIS et al., 2003).

A etiologia da mastite é complexa e multifatorial, podendo ser resultado de um trauma ou injúria do úbere, irritação química ou a partir de uma infecção causada por diferentes micro-organismos. A literatura relaciona o envolvimento de diversos grupos de micro-organismos na etiologia das infecções intramamárias de bovinos, representados por vírus, algas, fungos, micoplasmas e, principalmente, as bactérias. Estas podem ser classificadas em patógenos contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp., *Corynebacterium bovis*) e ambientais (coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus* spp., fungos, entre outros) (BRITO et al., 1998; SANTOS & FONSECA, 2007).

Na mastite contagiosa, a transmissão se dá geralmente durante a ordenha, sendo necessário um elemento de ligação entre o quarto infectado e o quarto sadio, como mãos dos ordenhadores, panos usados na secagem dos tetos ou teteiras. A mastite ambiental é causada por agentes que vivem no habitat da vaca, em locais que apresentam esterco, urina,

barro e camas orgânicas. Nesse caso, a maioria das infecções ocorre durante o período entre as ordenhas (FONSECA & SANTOS, 2000).

Embora cerca de 140 micro-organismos diferentes possam estar envolvidos na etiologia da mastite bovina, *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* são responsáveis por cerca de 80% dos casos (RANJAN et al., 2006).

Atualmente, *S. aureus* destaca-se como um dos micro-organismos mais freqüentemente associados à mastite bovina em todos os continentes e o agente que isoladamente determina as maiores perdas na pecuária leiteira (ANNEMÜLLER et al., 1999; SCHLEGELOVÁ et al., 2003; VASUDEVAN et al., 2003). Fitzgerald et al. (1997) relataram que a mastite clínica e subclínica de causa estafilocócica é de considerável relevância na Suíça, onde o agente representa cerca de 40% dos isolamentos.

De acordo com Giannechini et al. (2002), entre os casos de mastite clínica no Uruguai, *S. aureus* foi isolado em 37,5% dos casos, seguido da *Escherichia coli* (12,5%) e dos *Staphylococcus coagulase negativa* (7,5%). Quanto à etiologia das mastites subclínicas, os patógenos mais isolados foram *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* sp., *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus hyicus*.

No Brasil, *S. aureus* é considerado, há tempos, o principal agente causal da mastite bovina, com taxas de isolamento variáveis entre 8,3% e 49,23% (LANGONI 1997; LAFFRANCHI et al., 2001; DONATELE et al., 2002).

Pereira et al. (2007), avaliaram a ocorrência de mastite subclínica em 31 rebanhos no sul do estado de Minas Gerais e verificaram que entre as 2.368 vacas, os principais patógenos isolados foram: *Staphylococcus coagulase-positivos* (35,57%), *Streptococcus agalactiae* (21,33%), *Staphylococcus coagulase-negativos* (7,37%), *Corynebacterium* sp. (15,53%) e outros (20,2%).

Almeida et al. (2005), em propriedades na região do sul de Minas Gerais analisaram amostras de leite provenientes de 96 rebanhos, sendo que as maiores freqüências de isolamentos foram de *S. aureus* (64,55%) seguido do *Streptococcus agalactiae* (52%).

Os *Staphylococcus* coagulase negativa são agentes que colonizam a pele dos tetos e causam infecções oportunistas. Trata-se de um grupo bastante heterogêneo que embora apresente comportamento predominantemente contagioso possui espécies que podem ser encontradas em altas contagens no ambiente e nas camas dos animais e ter disseminação ambiental. Estudos têm demonstrado que estes agentes apresentam grande importância na etiologia da mastite em vacas primíparas (LAFFRANCHI et al., 2001) e em rebanhos nos quais as infecções por *S. aureus* e *Streptococcus agalactiae* foram controladas (SILVA, 1999; SEARS & MCCARTHY, 2003).

De acordo com Huxley et al. (2002), os *Staphylococcus* coagulase-negativa que eram tradicionalmente considerados os patógenos de mastite de menor importância, têm-se tornado cada vez mais comum.

Para Brabes (2005) apesar dos quartos mamários infectados, a pele do úbere e dos tetos serem considerados os principais sítios de localização dos *Staphylococcus*, o micro-organismo pode ainda ser isolado em outros locais, tanto em vacas e novilhas, quanto no alimento, na sala de ordenha e nos bocais das ordenhadeiras, ressaltando a importância do manejo durante a ordenha na prevenção de sua transmissão.

2.5 Manipuladores

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2005), os manipuladores de alimentos representam uma das principais fontes de contaminação, sendo a causa de aproximadamente, 26% dos surtos.

O leite e seus derivados, por sua vez, podem ser contaminados por *Staphylococcus* sp. durante ou após a ordenha ou ainda sofrer uma contaminação durante o processamento e estocagem, principalmente nos casos em que há grande manipulação do produto (NOUT, 1994).

André et al. (2008) em pesquisas sobre a prevalência de *S. aureus* em uma unidade de produção de leite e derivados em Goiás, detectaram que 75% de funcionários, de um total de 140, apresentavam este micro-organismo em suas mãos.

Como fazem parte da microbiota do homem, além das mãos, os *Staphylococcus* podem ser encontrados na superfície da pele dos braços e rosto, inclusive nas feridas, no conduto nasal, olhos, garganta e trato gastrointestinal. Estudos relatam que 20 a 50% das

peessoas normais apresentam esses micro-organismo no vestíbulo nasal e orofaringe (HUY, 1994). A partir dessas localizações, quando existem inadequadas condições de higiene, o micro-organismo pode, direta ou indiretamente, contaminar o alimento (JAY, 2004). Dessa forma, o portador de *Staphylococcus* enterotoxigênicos, enquanto manipulador de alimentos, representa indiscutível elo na cadeia epidemiológica da intoxicação alimentar (CRUICKSHANK, 1990; TRANTER, 1990).

O uso de luvas de borracha, látex ou silicone é questionável, pois elas não necessariamente ajudam a melhorar as condições bacteriológicas dos alimentos, principalmente pelo fato de que o uso de luvas pode levar os manipuladores a negligenciar a lavagem correta das mãos. Estudos comprovam que a higienização adequada das mãos é mais eficiente do que o uso das luvas (CARMO et al., 2003).

As unhas devem ser curtas e minuciosamente limpas, uma vez que diversas bactérias já foram isoladas de swabs esfregados sob as unhas (CARMO et al., 2003). Segundo McGinley et al. 1988, os espaços subungueais têm em média 5,39 log UFC comparado com outros lugares das mãos que apresentam de 2,55 a 3,53 log UFC, sendo o *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. homnis* as espécies mais freqüentes.

Tradicionalmente, as medidas de controle incluem a implementação de técnicas de lavagem das mãos, treinamento e conscientização dos profissionais envolvidos no preparo, armazenamento e distribuição de alimentos (BRODY, 1965).

2.6 Intoxicações estafilocócicas relacionadas ao consumo de leite e derivados

Leite e derivados são ótimos substratos para o crescimento dos *Staphylococcus* e importantes veículos deste micro-organismo e, por isso, estão entre os alimentos mais envolvidos em surtos de intoxicação alimentar estafilocócica (CENCI-GOGA et al., 2003; FUEYO et al., 2005).

Na Europa, surtos de intoxicações estafilocócicas foram monitorados em vários países no período de 1993-1998. Os produtos lácteos foram responsáveis por 3,9% dos surtos na Alemanha, 6,7% na Noruega, 5,4% na Bélgica, 9,1% na Escócia, 1,6% na Espanha, 3,0% na Inglaterra e País de Gales, 3,6% na Itália; 5,0% na Holanda, 1,7% em Portugal e 1,7% na Suécia (FAO/WHO, 2002).

No Brasil, os surtos investigados têm sido associados principalmente ao consumo de queijos do tipo minas frescal, queijo minas padrão e de queijo de coalho (CARMO et al., 2002).

No período de 1997 a 2002, vários surtos de intoxicação alimentar ocorridos em Minas Gerais foram investigados pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED). Leite e produtos derivados (queijos canastra, minas, mussarela e ralado, requeijão e bebida láctea) estiveram envolvidos em muitos casos. Conforme relatórios da FUNED, no período de 1995 a 2001, alimentos contaminados com enterotoxinas estafilocócicas produzidas por *S. aureus* causaram 112 surtos com o envolvimento de 12.820 pessoas e 17 mortes. Diversos tipos de queijos foram responsáveis por 23 desses surtos, com 600 pessoas acometidas e um óbito (CARMO, 2002).

O Núcleo de Epidemiologia da Secretária de Saúde do Estado do Ceará, no Informe Anual de Surtos de ETA em 2003, notificou cinco surtos de ETA envolvendo 311 pessoas, sendo um por intoxicação estafilocócica atribuído ao consumo de queijo minas frescal e queijo coalho, sendo 11 pessoas acometidas (CEARÁ, 2004).

Carmo et al. (2002) verificaram 2 surtos relacionados à cepas de *S. aureus* enterotoxigênicos em Manhuaçu e Passa-Quatro, MG. No primeiro surto, 50 indivíduos ficaram doentes pelo consumo de queijo minas e no segundo, 328 indivíduos foram afetados após consumirem leite cru. As enterotoxinas específicas encontradas em cada surto levaram a concluir que a contaminação do primeiro surto estava relacionada com os manipuladores de alimentos, e o segundo, com mastite bovina.

3. CONCLUSÃO

A contaminação do leite e derivados por cepas de *Staphylococcus* enterotoxigênicos possui um papel de destaque no campo da saúde pública, sendo que os cuidados para evitá-la devem ser tomados ainda na produção primária. Um controle efetivo das mastites do rebanho leiteiro, a adoção de práticas higiênicas durante o processo de ordenha, não só em relação aos animais, equipamentos e utensílios, mas também no tocante aos trabalhadores encarregados de efetuá-la, são condições fundamentais para a obtenção de um produto de qualidade, seguro, que não ofereça riscos aos consumidores.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. C.; MENDES, C.P.A.; SILVA, D. B. Fatores determinantes da ocorrência de mastite bovina, detectada em rebanhos através da análise de leite em latões. **Revista Higiene Alimentar.**, v.19, n.134. Agosto, 2005
- ANDRÉ, M. C. D. P. B.; CAMPOS, M. R. H.; BORGES, L. J.; KIPNIS, A.; PIMENTA, F. C.; SERAFINI, A. B. Comparison os *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine Milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. **Food Control**, Guildford, v. 19, n. 2, p. 200-207, 2008.
- ANNEMÜLLER, C.; LÄMMLER, C.; ZSCHÖCK, M. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 217-224, 1999.
- ASPERGER, H.; ZANGERL, P. *Staphylococcus aureus*. In: ROGINSKI, H.; FUQUAY, J.W.; FOX, P.F. (Eds). **Encyclopedia of dairy sciences**. Amsterdam : Academic Press and Elsevier Science, 2003, p.2563–2569.
- ATAÍDE, W.S. ; MACIEL, J.F.; LIMA, P.L.A.; LIMA, A.R.C.; SILVA, F.V.G, SILVA, J.A Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n.1, p. 73-77, 2008.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology** v.61, p.1-10, 2000.
- BANNERMAN, T.L.; MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; PFALLER M.A.; YOLKEN, R.H. *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase-positive cocci that grow aerobically. **The American Society of Microbiology**, p.384-404, 2003.
- BRABES, K. C. S. **Identificação e capacidade de adesão de *Staphylococcus* spp isolados de manipuladores, superfícies e ar de ambiente de uma indústria de laticínios**. 2005. 81p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre

padrões microbiológicos para alimentos... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.13, 02 jan. 2001. Seção 1.

BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., VEIGA, V.M.O. et al. Udder infection patterns in hand and machine milked dairy herds under subtropical conditions. In: **PANAMERICAN CONGRESS ON MASTITIS CONTROL AND MILK QUALITY**, 1998, Mérida. **Proc...** México: 1998. p.148-151.

BRODYE, J. Hand hygiene. **J. Scot. Med.**, v.10, p.115-25, 1965.

CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, V. R.; SENA, M. J.; SANTOS, D. A.; FARIA, M. E.; PENA, E. C.; JETT, M.; HENEINE, L. G. 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.

CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R An outbreak of staphylococcal food poisoning in the Municipality of Passos, MG, Brazil. **Brazilian Archives Biological Technology**, v. 46, n. 4, p. 581-586, 2003.

CEARÁ. Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. Núcleo de Epidemiologia. Célula de Vigilância Epidemiológica. **Informe anual de surtos das doenças transmitidas por alimentos**. Fortaleza, 2004. 4p.

CENCI-GOGA, B.T.; KARAMA, M.; ROSSITTO, P.V.; MORGANTE, R.A.; CULLOR, J.S. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis cows. **Journal of Food Protection**, v.66, p.1693-1696, 2003.

CLIVER, D.O. **Foodborne disease handbook: diseases caused by bacteria**. New York: Marcel Dekker, 1994. 613p.

CRUICKSHANK, J. G. Food handlers and food poisoning. Training programmes are the best. **British Medical Journal.**, v. 300, p. 207-208, 1990.

CUNHA, M.L.R.S et al. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 37, p. 64- 69, 2006.

DONATELE, D.M.; MOTTA, O.V.; FOLLY, M.M. Perfil antimicrobiano de linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva na mastite subclínica de vacas leiteiras nas regiões norte e noroeste do Estado do Rio de Janeiro. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, v. 5, n. 2, p. 3-6, 2002.

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

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Statistical information on food-borne disease in Europe microbiological and chemical hazards. In: PAN-EUROPEAN CONFERENCE ON FOOD SAFETY AND QUALITY, 1, 2002, Budapest. [Proceeding]. Roma: WHO, 2002. 15p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/004/y369e/y369e00.pdf>>. Acesso em: 17 Jul. 2010.

FITZGERALD, J.R.; MEANEY, W.J.; HARTIGAN, P.J. et al. Fine-structure molecular epidemiological analysis of *Staphylococcus aureus* recovered cows. **Epidemiology and Infection**, v. 119, p. 261- 269, 1997.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastites**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000, 175 p.

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68-69, p.70-77, 2000.

FUEYO, J.M.; MENDOZA, M.C.; MARTIN, M.C. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. **Microbes and Infections**, v.7, p.187-194, 2005.

GARRITY, G.M.; HOLT, J.G. The road map to the manual. In: Boone, DR, Castenholz, RW (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, New York: Berlin: Springer-Verlag, 2001, v.1, p. 119-166.

GIANNECHINI, R. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Littoral- Region in Uruguay. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 43, p. 221-230, 2002.

HALPIN-DOHNALEK, M.I., MARTH, E.H. *Staphylococcus aureus*: production extracellular compounds and behavior in foods – a review. **Journal of Food Protection**, v. 52, p. 267-82, 1989.

HIROOKA, E.Y. et al. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* of canine origin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 7, p. 185-91. 1988.

HUXLEY, J.N.; GREENT, M.J.; GREEN, L.E.; BRADLEY, A.J. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.551-561, 2002.

HUY, Y.H. **Foodborne disease handbook-diseases caused by bacteria**. New York: Marcel Dekker; 1994.

ICMSF. **Microorganisms in foods 5: Characteristics of Microbial Pathogens**. London: Blackel Academic & Professional, 1996. 513p.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna dos alimentos**. 6.ed. Acribia , 2004. 712p.

LAFFRANCHI, A.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C. et al.. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1027- 1032, 2001.

LANGONI, H. Agentes emergentes na etiologia da mastite bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 6, p. 238-240, 1997

LANGONI, H. Complexidade etiológica da mastite bovina. . In: III ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 3., 1999, Botucatu. **Anais do III Encontro de Pesquisadores de Mastites**. : FMVZ/UNESP – Campus Botucatu, 1999, v.1, p. 3-18

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

LYNCH, M.; PAINTER, J.; WOODRUFF, R.; BRADEN, C. **Surveillance for foodborne-disease outbreaks - 1998 – 2002, United States**. . Disponível em: < <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm> >. Acesso em: 1 ago 2010.

McGINLEY, K. J.; LARSON, E. L.; LAYEDEN, J.J. Composition and density of the microflora in the subungal space of the hnad. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 26, p. 950-953, 1988.

NORMANNO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; MULA, G.; DAMBROSIO, A.; POGGIU, A.; DECASTELLI, L.; MIONI, R.; SUCUOTA, S.; BOLZONI, G.; Di GIANNATALE, E.; SALINETTI, A. P.; La SALANDRA, G.; BARTOLI, M.; ZUCCON, F.; PIRINO, T.; SIAS, S.; PARISI, A.; QUAGLIA, N.C.; CELANO, G. V. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in foods products marketed in Italy. **Food Microbiology** v. 98, p. 73-79, 2005.

NOUT, M. J. R. Fermented foods and food safety. Food Research **International**., v. 27, p. 291-298, 1994.

PEREIRA, M.L.; PEREIRA, J.L.; SERRANO, A.M.; BERGDOLL, M.S Estafilococos: até onde sua importância nos alimentos? **Higiene Alimentar**, v.14, n.68, p.32-40, 2000.

PEREIRA, U. P. et al. Mastite subclínica em bovinos leiteiros do sul de Minas Gerais. **Anais do IV Encontro de Pesquisadores em Mastites**, p.92, Botucatu. Junho, 2007

PINTO, B.; CHENOLL, E.; AZNAR R. Identification and typing of food-borne *Staphylococcus aureus* by PCR-based techniques. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 28, p.340–352, 2005.

RANJAN, R.; SWARUP, D.; PATRA, R.C. et al. Bovine protothecal mastitis: a review. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Sciences, Nutrition and Natural Resources**, v. 1, n. 17, p. 1-7, 2006.

REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia**, v. 55, n. 6, p. 651-658, 2003.

ROSEC, J.P.; GIGAUD, O. Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. **International Journal of Food Microbiology**, v. 77, p. 61-70, 2002.

SANTOS, M.V; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole Ltda, 2007, 314p.

SCHLEGLOVÁ, J.; DENDIS, M.; BENEDÍK, J. et al. *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows and humans on farms differ in coagulase genotype. **Veterinary Microbiology**, v. 92, p. 327-334, 2003.

SEARS, P.H.; MCCARTHY, K.K. Management and treatment of staphylococcal mastitis. **Veterinary Clinical of North American Food Animal Practice**, .v. 19, n. 1, p. 171-185, 2003.

SILVA, W.P. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica e de outras fontes em propriedades

produtoras de leite. 1998. 112p. Tese (Doutorado)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVA, N. Diagnóstico de mamite em animais de importância econômica. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 3, 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FMVZ UNESP, 1999. p.51-55.

SMYTH, C.I.; SMYTH, D.A.; KENNEDY, J.; TWOHIG, J.; BOLTON, D. *Staphylococcus aureus*: from man or animals – an enterotoxin iceberg? In: INTERNATIONAL EU-RAIN CONFERENCE, FOOD PATHOGENS EPIDEMIOLOGY: MICROBES, MALADIES AND METHODS, 2004, Padua. **Proceedings...** Padua, 2004, pp. 85–102.

TRANTER, H. S. Food borne illness. Foodborne staphylococcal illness. **Lancet**, v. 27, p. 1044-1046, 1990.

VASUDEVAN, P.; NAIR, M.K.M.; ANNAMALAI, T.; VENKITANARAYANAN, K.S. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. **Veterinary Microbiology**, v. 92, p.179–185, 2003.

VERNOZY, R.C. et al. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats milk and cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, p. 271-280, 1996.

ZOCHE, F.; FRANÇA, R.C.; SILVA, W.P. Enterotoxinas e intoxicação alimentar estafilocócica. **Higiene Alimentar**, v.21, n. 156, p. 63-70, 2007.