

Utilização do Antibiograma como Ferramenta de Tipagem Fenotípica de *Staphylococcus aureus* Isolados de Manipuladores, Leite Cru e Queijo Minas Frescal em Laticínio de Goiás, Brasil

Maria Cláudia Dantas
Porfirio Borges ANDRÉ¹
Patrícia Pimentel SANTOS¹
Maria Raquel Hidalgo
CAMPOS²
Liana Jayme BORGES²
Álvaro Bisol SERAFINI¹

1 - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG.
2 - Faculdade de Nutrição/UFG

Resumo

O trabalho teve por objetivo isolar, identificar e caracterizar fenotipicamente utilizando o antibiograma, *Staphylococcus aureus* isolados de manipuladores, leite cru e queijo Minas Frescal, em um laticínio de Goiás. Durante doze meses (Março/2004 a Fevereiro/2005) 140 amostras foram analisadas. As cepas foram isoladas de 75% dos manipuladores resultando em 31 (33,7%) isolados a partir de 92 amostras coletadas (46 de mãos e 46 de nasofaringe). Das 24 amostras de leite cru, 18 (75,0%) foram positivas, resultando em 26 isolados, com média de contagem de $1,1 \times 10^5$ UFC/ml. Das 24 amostras de queijo 17 (70,8%) foram positivas originando 20 isolados, com média de $3,8 \times 10^4$ UFC/g, sendo 13 (54,2%) com população acima do limite estabelecido pela legislação brasileira (10^3 UFC/g). A tipagem das cepas foi feita pelo antibiograma, através do método de difusão em placas. Todos os isolados foram susceptíveis à ciprofloxacina e gentamicina. Foi observada resistência em cinco (6,5%) isolados para eritromicina, 19 (24,7%) para tetraciclina, um (1,3%) para vancomicina, quatro (5,2%) para oxacilina e 53 (68,8%) para penicilina. Onze (14,3%) isolados foram susceptíveis a todos os antibióticos testados e 18 (23,4%) foram resistentes a mais de um antibiótico. O antibiograma permitiu a classificação das cepas em doze perfis diferentes (A-L), porém não foi uma técnica eficiente em determinar a origem da contaminação final do queijo.

Palavras-chave:

Queijo.
Manipuladores.
Susceptibilidade antimicrobiana.
Staphylococcus aureus.

Correspondência para:

MARIA CLÁUDIA DANTAS PORFIRIO
BORGES ANDRÉ
Rua 01, nº 967 - aptº 1301 - Ed. Ilhas
Christmas - Setor Oeste
74115-040 - Goiânia - GO
mcdantas@brturbo.com.br

Recebido para publicação: 13/07/2005
Aprovado para publicação: 10/12/2006

Introdução

Os produtos lácteos são freqüentemente envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares em todo o mundo. Muitos microrganismos patogênicos podem ser veiculados ao homem através do consumo de leite e seus derivados, entre eles a bactéria *Staphylococcus aureus*^{1,2,3}.

O homem e os animais são os principais reservatórios de *S. aureus*. A contaminação de alimentos com *S. aureus* deve-se primariamente à sua presença na matéria-prima², apesar de um grande número de surtos de toxinfecções alimentares envolverem cepas de origem humana como fontes de contaminação⁴. A

cavidade nasal é o principal habitat dos estafilococos no homem e sua presença em manipuladores assintomáticos está bem documentada^{5,6,7,8,9,10,11,12,13} e contribui para a contaminação de produtos lácteos. Os *S. aureus* são considerados os mais importantes na epidemiologia das mastites em vacas de leite e o patógeno mais abundante em leite cru^{14,15,16,17,18}. A mastite bovina é uma doença epidêmica de difícil tratamento e controle, sendo a causa mais freqüente do uso de antimicrobianos em propriedades leiteiras^{17,19}. O uso indiscriminado de antibióticos em alimentos, seja para fins terapêuticos, profilaticamente, ou ainda, incorporados à alimentação como suplemento dietético, facilita a disseminação de microrganismos

designados MDR (multidroga resistentes). Entre os problemas ocasionados por estes resíduos, destaca-se a seleção de cepas resistentes, como também, a possibilidade de transferência de resistência entre espécies, através de mecanismos genéticos²⁰.

Sob condições favoráveis, estas bactérias podem proliferar e constituir risco à Saúde Pública pela sua capacidade de produzir enterotoxinas. A ingestão de alimentos contendo enterotoxinas pré-formadas é responsável pela intoxicação alimentar estafilocócica, que é uma das doenças de origem alimentar mais comuns em vários países do mundo²¹.

O queijo Minas Frescal é um queijo mole, de alta umidade, consumido fresco²². Fatores que influenciam a qualidade do queijo são: a contaminação da matéria-prima (leite) e demais ingredientes, a contaminação a partir de manipuladores, equipamentos e após o processamento industrial e o tempo de exposição a temperaturas que favoreçam a proliferação de microrganismos²³.

A tipagem de *S. aureus* tem sido usada para sugerir a origem desta bactéria em alimentos^{4,9,24}. O antibiograma tem sido um método útil de tipagem bacteriana, contribuindo na investigação de fontes de contaminação, sendo a técnica amplamente disponível e padronizada e podendo ser utilizada com várias espécies microbianas²⁵. Sua principal desvantagem consiste na variabilidade da expressão da resistência, a instabilidade devido à transmissão horizontal e perda dos elementos genéticos extracromossômicos²⁶.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar fenotipicamente, isolados de *S. aureus* obtidos de queijo Minas Frescal, leite cru e manipuladores de um laticínio, utilizando o antibiograma e determinar a similaridade, se presente, entre os isolados do queijo e suas possíveis fontes de contaminação.

Material e Métodos

No período de Março de 2004 a

Fevereiro de 2005 foram coletadas 140 amostras em um laticínio, no estado de Goiás: 24 amostras de leite cru, 24 de queijo (\pm 500g) e 46 amostras de mãos e 46 de nariz a partir de quatro manipuladores, funcionários da área de processamento de queijo. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e de Ambientes da Universidade Federal de Goiás.

A contagem de *S. aureus* para as amostras de leite cru e queijo Minas frescal foi realizada no Ágar Baird-Parker²⁷ e o isolamento de nasofaringe e mãos, após os suabes terem sido previamente inoculados em BHI, foi a partir do ágar Manitol Salgado⁸. Para a identificação utilizou-se: Coloração de Gram, produção de catalase, coagulase, termonuclease e acetoina (VP), fermentação anaeróbica da glicose e manitol^{27,28}. A tipagem fenotípica foi realizada por antibiograma, através da técnica de difusão em placas²⁹. Foram testados os seguintes discos de antimicrobianos: eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina, gentamicina, vancomicina, oxacilina e penicilina. Uma cepa padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foi usada como controle.

Resultados e Discussão

Das 140 amostras de leite cru, queijo Minas Frescal e manipuladores coletadas, 66 (47,1%) foram positivas para *Staphylococcus aureus* e destas foram obtidos 77 isolados (Tabela 1).

Dos quatro manipuladores, três (75%) apresentaram-se contaminados pelo menos duas vezes nas mãos e/ou nariz durante todo o período da coleta. Das 92 amostras coletadas neste período, 31 (33,7%) foram positivas para *S. aureus* sendo 16 (34,8%) isolados obtidos a partir de 46 suabes de nasofaringe e 15 (32,6%) isolados a partir de suabes de mãos (Tabela 1). As amostras foram coletadas em dias diferentes e os isolados foram comparados através do antibiograma. Esses resultados mostram porcentagens de contaminação superiores

Tabela 1 - Contaminação de *S. aureus* em manipuladores, leite cru e queijo Minas Frescal em um laticínio de Goiás, Brasil

Fontes (Nº. de amostras coletadas)	Amostras positivas Nº. (%)	Nº isolados	Média (contagens mínimas e máximas) UFC/ml ou g
Nariz (46)	31 (33,7)	16 (34,8)	ND
Mãos(46)		15 (32,6)	
Leite cru (24)	18 (75,0)	26	$1,1 \times 10^5$ ($< 1,0 \times 10^1$ a $7,5 \times 10^5$)
Queijo(24)	17 (70,8)	20	$3,8 \times 10^4$ ($< 1,0 \times 10^1$ a $3,4 \times 10^5$)
Total (140)	66 (47,1)	77	-

*ND: não determinado

Tabela 2 - Susceptibilidade antimicrobiana de *S. aureus* isolados de manipuladores, leite cru e queijo Minas Frescal em um laticínio de Goiás, Brasil

Amostras Positivas	Nº. de isolados	Resistência a Nº (%)						
		ERI	CIP	TET	GEN	VAN	OXA	PEN
Manipuladores (31)	31	2 (6,4)	0 (0)	5 (16,1)	0 (0)	1 (3,2)	3 (9,7)	23 (74,2)
Leite cru (18)	26	2 (7,7)	0 (0)	9 (34,6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	18 (69,2)
Queijo (17)	20	1 (5,0)	0 (0)	5 (25,0)	0 (0)	0 (0)	1 (5,0)	12 (60,0)
Total (66)	77	5 (6,5)	0 (0)	19 (24,7)	0 (0)	1 (1,3)	4 (5,2)	53 (68,8)

ERI: eritromicina, CIP: ciprofloxacina, TET: tetraciclina, GEN: gentamicina, VAN: vancomicina, OXA: oxacilina, PEN: penicilina

Tabela 3 - Perfis de susceptibilidade antimicrobiana originados de cepas de *S. aureus* isoladas de um laticínio de Goiás, Brasil

Número da amostra e origem ^a	Perfil de susceptibilidade ^b	Fenótipo
2,4M4, 11M1, 12M2, 8LT, 17LT, 18LT, 5QT, 19,QT, 22QT	-AT, SSSSSS	A
6M2, 4N4, 10M4, 12M1, 5L, 14L, 16L, 15Q, 18Q, 21Q	ISSSSS	B
8,12,14,20N4, 8M4, 13,15M1, 8L', 9L', 10L', 12L, 12', 17L', 19L', 20L,20L', 22L, 4Q', 7Q, 8Q, 16Q', 23Q	SSSSSR	C
1N2, 3,5,7,10,15,17N4, 15M4, 6,16N1, 13L', 16L', 6Q, 18Q'	ISSSSR	D
13L, 14L', 3Q	ISRSSS	E
5M4, 19N2, 6L,6L', 11L, 4Q, 10Q, 24Q	SSRSSR	F
13Q	RSSSSR	G
11L', 24L	ISRSSR	H
10N2, 4L, 15L'	RSRSSR	I
16M1, 2Q	ISRSSR	J
1M1	RSSRRR	K
19M2	ISRISR	L

^aM – Mão; N – Nariz; L – Leite; Q – Queijo.^b Resistência (R), Susceptibilidade intermediária (I) e Susceptibilidade (S). Os antibióticos estão organizados na sequência: eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina, gentamicina, vancomicina, oxacilina e penicilina.

aos obtidos em outros países.

No Kuwait, 26,6% dos trabalhadores de um restaurante portavam *S. aureus* na nasofaringe⁵; no Chile, 65,5% dos manipuladores de alimentos apresentaram a bactéria na nasofaringe, orofaringe, mãos e unhas³¹. Na Turquia, 70% dos manipuladores estavam com as mãos contaminadas⁹. No Brasil, estudos demonstram a presença da bactéria em manipuladores em Teresina, PI, com prevalência variando de 43,3% a 49,5%⁷; em Porto Alegre, RS, de 30% a 35,2%^{9,12}. O homem é considerado portador de *S. aureus* na nasofaringe em 37,2% da população em geral³⁰.

Das 24 amostras de leite cru coletadas, 18 (75,0%) apresentaram *S. aureus*, produzindo 26 isolados. Resultados elevados também foram encontrados em Trinidad³¹, onde 97,6% das amostras apresentavam *S. aureus*. A média de contagem no leite cru foi de $1,1 \times 10^5$ UFC/mL (Tabela 1). Isto assume grande importância em Saúde Pública, considerando que as enterotoxinas podem ser detectadas com inóculos de 10^3 UFC/g¹⁰. *S. aureus* é a bactéria mais frequentemente isolada de mastite bovina em todo o mundo^{16,32} e aproximadamente em 20% das amostras de leite de vacas com mastite no Brasil²³. Considerando que o leite foi coletado no tanque de recepção e demonstrou altas contagens, cepas patogênicas podem disseminar para o consumidor a partir da fabricação de derivados do leite, principalmente se este não sofrer processamento adequado.

Cepas de *S. aureus* foram encontradas em 17 (70,8%) das 24 amostras de queijo Minas Frescal coletadas, obtendo-se 20 isolados. A contagem da bactéria variou de $<1,0 \times 10^1$ a $3,4 \times 10^5$, com média de $3,8 \times 10^4$ UFC/g (Tab. 1). Treze amostras (54,2%) estavam acima do limite (10^3 UFC/g) estabelecido pela legislação vigente no Brasil¹¹. Na França, um estudo durante o período de 1988 a 1997 demonstrou que o leite e derivados foram responsáveis por 59% dos surtos de toxinfecção alimentar e

que o *S. aureus* foi o patógeno mais frequentemente associado a surtos devidos ao consumo de queijos fabricados a partir de leite cru ou desconhecido². No Brasil estudos demonstram uma porcentagem maior de contaminação do queijo. Em Blumenau, SC, 95% das amostras de queijo continham *S. aureus*³⁴, em Poços de Caldas, MG, 50% das amostras, com contagens de 10^5 UFC/g em média¹. Em Cuiabá, MT, 96,7% das amostras de queijo estavam fora dos padrões microbiológicos nacionais²³ e no Rio de Janeiro, RJ, 77% das amostras estavam contaminadas e 17,7% delas com contagens acima do limite estabelecido²².

Dos 77 isolados, 53 (68,8%) foram resistentes à penicilina, 19 (24,7%) à tetraciclina, cinco (6,5%) resistentes à eritromicina, quatro (5,2%) à oxacilina e um (1,3%) à vancomicina (Tabela 2). Onze (14,3%) isolados foram susceptíveis a todos os antibióticos testados. Todos os isolados foram sensíveis a ciprofloxacina e gentamicina. Resultado semelhante foi encontrado em manipuladores no Rio Grande do Sul onde todos os isolados foram sensíveis a gentamicina¹².

A resistência à penicilina foi a de maior frequência e foi de 74,2% entre os isolados obtidos dos manipuladores, 69,2% para os de leite cru e 68,8% entre os obtidos a partir do queijo Minas Frescal. Resultados semelhantes para manipuladores (70,0%) foram encontrados por Acco et al.¹². No Chile, 100% das cepas isoladas de manipuladores foram resistentes à penicilina¹¹. Em Porto Alegre, RS, 94,4% das amostras obtidas dos manipuladores, 47,3% do leite cru e 50% do produto final foram resistentes à penicilina⁹. Lange et al.³⁵ observaram 43,9% de *S. aureus* isolados de leite cru resistentes à penicilina no Brasil e Calvino et al (2002)¹³, em 47,6% deste produto, na Argentina.

A utilização do antibiograma permitiu a observação de 18 (23,4%) dos isolados, resistentes a mais de um antibiótico. Atualmente grande importância tem sido dada à multi-resistência antibiótica das bactérias, por sua correlação com virulência

como os *S. aureus* metilicina-resistentes (MRSA)³⁰. Neste estudo, quatro (5,2%) isolados (três dos manipuladores e um de queijo) apresentaram padrão de MRSA. A disseminação de microrganismos resistentes, entre eles MRSA por alimentos e/ou manipuladores de alimentos deve ser considerada preocupante e evitada na cadeia de produção.

De acordo com os padrões de susceptibilidade originados pelo antibiograma, foi possível classificar os 77 isolados em doze perfis diferentes (A – L), como mostrado na tabela 3. Os *S. aureus* isolados de manipuladores foram classificados em nove diferentes perfis (A, B, C, D, F, I, J, K e L), enquanto o leite cru em oito perfis (A, B, C, D, E, F, H e I) e os isolados de queijo em oito perfis diferentes (A, B, C, D, E, F, G, e J), sugerindo diferentes origens de contaminação do produto final. De acordo com a tabela 3, houve predominância de isolados com fenótipos A, B, C e D. Ainda na tabela 3, verifica-se que das 20 cepas de *S. aureus* obtidas a partir do queijo, cinco (25%) possuem o fenótipo C.

Nossos resultados mostraram cepas indistinguíveis pelo antibiograma, colonizando manipuladores, leite e queijo, não permitindo a identificação da fonte destas bactérias para o produto final. Somente as amostras 3Q (perfil E) e 2Q (perfil J) apresentaram perfis correspondentes a somente uma das fontes prováveis, leite (13L, 14L?) e manipulador (16M1), respectivamente.

Nos últimos anos, vários métodos de tipagem bacteriana têm sido usados para comparar cepas e identificar mecanismos de transmissão e fontes de contaminação para várias bactérias patogênicas²⁴. Entre esses métodos, o antibiograma tem sido usado por ser de fácil execução, acessível, permitir controle de qualidade rigoroso e de baixo custo²⁵. Além disso permite o conhecimento acerca da resistência microbiana das bactérias testadas. Entretanto, o antibiograma apresenta limitações, como baixa sensibilidade, o que pode levar à determinação de pontos de controle inadequados ou identificação equivocada de fontes de contaminação^{9,14}.

O elevado percentual de amostras de queijo Minas Frescal apresentando *S. aureus*, inclusive com contagens superiores à permitida pela legislação brasileira é bastante preocupante, pelo risco potencial de produção de enterotoxinas e conseqüente intoxicação alimentar. Além disso, cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos estão presentes em todas as fontes testadas e portanto, comprometendo a segurança da cadeia de produção do queijo, representando risco ao consumidor, inclusive com detecção de MRSA. Apesar de não ter sido eficiente em proceder a tipagem das cepas isoladas, o antibiograma forneceu informações importantes quanto à susceptibilidade das cepas e quanto ao perigo potencial de disseminação de cepas resistentes. Mais uma vez evidenciam-se falhas na produção deste alimento que continua sendo ainda um produto de baixa qualidade microbiológica, prejudicando a indústria nacional.

Antibiogram as Instrument of Phenotypic Typing of *Staphylococcus aureus* Isolated from Personnel, Raw Milk and Minas Frescal Cheese in a Dairy Plant of Goiás, Brazil

Abstract

During a year (March/2004 to February/2005) 140 samples of raw milk, dairy staff, and Minas Frescal cheese were analyzed for the presence of *S. aureus* in a dairy plant in Goiás, Brazil. Strains were isolated from 75% of the personnel investigated resulting in 31 (33.7%) isolates from 92 collected samples (46 from hands and 46 from nasopharynx). The 24 raw milk samples resulted in 18 (75.0%) positive samples and 26 isolates, with mean number: 1.1×10^5 CFU/ml. Among 24 cheese samples 17 (70.8%) were positive resulting in 20 isolates, with mean

Key-words:

Cheese.
Personnel.
Antibiotic susceptibility.
Staphylococcus aureus.

number: 3.8×10^4 CFU/g. Thirteen samples (54.2%) were above the limit established by the Brazilian legislation (10^5 CFU/g). The differentiation of strains was performed by antimicrobial susceptibility test. All isolates were susceptible to ciprofloxacin and gentamicin. Resistance was observed in five (6.5%) isolates for erythromycin, 19 (24.7%) for tetracycline, one (1.3%) for vancomycin, four (5.2%) for oxacillin and 53 (68.8%) isolates for penicillin. Eleven isolates (14.3%) were susceptible to all antibiotics tested and 18 (23.4%) were resistant to more than one antibiotic. The antibiotic susceptibility allowed the discrimination of isolates in 12 different profiles (A-L), but the phenotypic typing failed to determine the source of bacteria for the cheese.

Referências

- 1 ALMEIDA FILHO, E. S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo "frescal". **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p.578-580, 2000.
- 2 DE BUYSER, M. L. et al. 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.
- 3 NAGASE, N. et al. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in Japan. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 64, n. 12, p. 1169-1172, 2002.
- 4 VAUTOR, E. et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on farms with dairy sheep using pulsed-field gel electrophoresis. **Veterinary Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 69-79, 2003.
- 5 AL BUSTAN, M. A.; UDO, E. E.; CHUGH, T. D. Nasal carriage of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* among restaurant workers in Kuwait City. **Epidemiology and Infection**, v. 116, n. 3, p. 319-322, 1996.
- 6 SOTO, A. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* among food handlers from a metropolitan university in Chile. **Revista Médica de Chile**, v. 124, n. 9, p. 1142-1146, 1996.
- 7 SOARES, M. J. S. et al. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* clones and detection of Brazilian epidemic MRSA clone (III::B:A) among isolates from food handlers. **Journal of Medical Microbiology**, v. 46, p. 214-221, 1997.
- 8 SUZUKI, Y.; SAITO, M.; ISHIKAWA, N. Restriction fragment length polymorphisms analysis by pulsed-field gel electrophoresis for discrimination of *Staphylococcus aureus* isolates from foodborne outbreaks. **International Journal of Food Microbiology**, v. 46, p. 271-274, 1999.
- 9 TONDO, E. C. et al. Assessing and analysing contamination of a dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 1108-1114, 2000.
- 10 HATAKKA, M. et al. Genotypes and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 11, p. 1487-1491, 2004.
- 11 FIGUEROA, G. G. et al. Carriage of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food handlers. **Revista Médica de Chile**, v. 130, n. 8, p. 859-864, 2002.
- 12 ACCO, M. et al. Identification of multiple strains of *Staphylococcus aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. **Food Microbiology**, v. 20, p. 489-493, 2003.
- 13 AYCIÇEK, H. et al. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. **Food Control**, v. 15, p. 253-259, 2004.
- 14 AARESTRUP, F. M.; WEGENER, H. C.; ROSDAHL, V. T. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Denmark. **Veterinary Microbiology**, v. 45, p. 139, 1995.
- 15 DE OLIVEIRA, A. P. et al. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 855-862, 2000.
- 16 AKINEDEN, Ö. et al. Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 8, p. 959-964, 2001.
- 17 VINTOV, J. et al. Phage types and antimicrobial resistance among Danish bovine *Staphylococcus aureus* isolates since the 1950s. **Veterinary Microbiology**, v. 97, n. 1-2, p. 63-72, 2003.
- 18 LANGE, C. et al. Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 67, p. 127-141, 1999.
- 19 GOÑI, P. et al. Antibiotic resistance and epidemiological typing of *Staphylococcus aureus* strains from ovine and rabbit mastitis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, n. 3, p. 268-272, 2004.

- 20 SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; NADER FILHO, A. N. Ação de antibióticos e quimioterápicos sobre alguns agentes bacterianos sobre alguns agentes bacterianos de mastite bovina. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 39, n. 233, p. 7-12, 1984.
- 21 BALABAN, N.; RASOOLY A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.
- 22 ARAÚJO, V. S.; PAGLIARES, V. A.; QUEIROZ, M. L.; FREITAS-ALMEIDA, A. C. Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n. 6, p. 1172-1177, 2002.
- 23 LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A. G. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1063-1067, 2001.
- 24 ZADOKS, R. N. et al. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and human skin, milking, equipment, and bovine milk by phage typing, pulsed-field gel electrophoresis, and binary typing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 11, p. 3894-3902, 2002.
- 25 ARBEIT, R. D. Laboratory procedures for the epidemiologic analysis of microorganisms. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999. p. 116-137.
- 26 MONTESINOS, I. et al. Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a University Hospital and comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gene polymorphisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 2119-2125, 2002.
- 27 LANCETTE, G. A.; TATINI, S. R. *Staphylococcus aureus*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 1992. p. 533-559.
- 28 KLOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7ed. Washington: American Society for Microbiology. 1999. p. 264-282.
- 29 NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Approved Standards. M2-A8. 8thed. Wayne, PA: NCCLS, 2003. 31 p.
- 30 KUMARI, D. N. et al. Comparison and application of ribosome spacer DNA amplicon polymorphisms and pulsed-field gel electrophoresis for differentiation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 881-885, 1997.
- 31 ADESIYUN, A. A.; WEBB, L. A.; ROMAIN, H. T. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolates from bulk and composite milk and cattle handlers. **Journal of Food Protection**, v. 61, p. 629-632, 1998.
- 32 BUZZOLA, F. R. et al. Genotypic analysis of *Staphylococcus aureus* from milk of dairy cows with mastitis in Argentina. **Epidemiology and Infection**, v. 126, p. 445-452, 2001.
- 33 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 – DOU de 10/01/2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**, 2001.
- 34 REIBNITZ, M. G.; TAVARES, L. B.; GARCIA, J. A. Presence of fecal coliforms, *Escherichia coli* and DNase- and coagulase-positive *Staphylococcus aureus*, in "colonial" cheese sold in the city of Blumenau, Estado de Santa Catarina, Brazil. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 30, n. 1, p. 8-12, 1998.
- 35 CALVINHO, L. F. et al. Antimicrobial sensitivity of coagulase-positive staphylococcal strains isolated from bovine mastitis in the central dairy cathment area of Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 34, n. 3, p. 171-175, 2002.
- 36 KLUYTMANS, J.; BELKUM, A.; VERBRUGH, H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 505-520, 1997.
- 37 VANDENBERGH, M. F. Q. et al. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 10, p. 3133-3140, 1999.