
TOXINFECÇÃO ALIMENTAR POR *Staphylococcus Aureus* ATRAVÉS DO LEITE E SEUS DERIVADOS, BEM COMO O ELEVADO POTENCIAL PATOGÊNICO DE RESISTÊNCIA ÀS DROGAS

ANDERSON DE SOUZA CUNHA¹

MARILENE RODRIGUES DA CUNHA²

¹Instituto de Biociências da UNIGRANRIO; ² Docente Instituto de Biociências – UNIGRANRIO

RESUMO

Neste trabalho, são apresentados os principais problemas decorrentes das Toxinfecções causadas por *Staphylococcus aureus* e as consequências para a saúde humana da veiculação das suas toxinas através dos alimentos. O *S. aureus* destaca-se como um dos microrganismos mais importantes que podem ser transmitidos através dos alimentos. Assim discute-se a possibilidade de veiculação de gastroenterite estafilocócica, não somente através do consumo de leite cru contaminado, mas também do leite tratado termicamente ou de derivados lácteos contendo enterotoxinas termoestáveis. São apresentados alguns aspectos relacionados ao potencial toxigênico das cepas de *S. aureus*, bem como as principais características das enterotoxinas estafilocócicas.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, enterotoxinas, mastites, saúde humana.

INTRODUÇÃO

Os alimentos desempenham papel nutricional muito importante para o homem, uma vez que fornecem proteínas, carboidratos, gorduras e sais minerais necessários ao organismo. Sabe-se que um litro de leite por dia supre todas as necessidades protéicas de crianças com até seis anos de idade e mais de 50% do consumo de proteínas requisitado pelos adultos. Em relação ao cálcio o consumo de um litro de leite diário supre 100% das necessidades diárias deste mineral (FONSECA & SANTOS, 2000). É de se esperar, portanto, uma grande preocupação em assegurar a qualidade dos produtos destinados ao consumo humano.

Dentre os diversos tipos de microrganismos patogênicos que podem ser transmitidos através de alimentos destaca-se o *S. aureus*, cuja importância epidemiológica das doenças veiculadas por alimentos decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares (ZECCONI & HAHN, 2000).

No que se refere às características das toxinas produzidas por *S. aureus*. As enterotoxinas produzidas pertencem a uma grande família de toxinas pirogênicas produzidas tanto por bactérias do gênero *Staphylococcus*, como *Streptococcus*. Estas toxinas podem causar choque tóxico e estão comumente associadas com intoxicações alimentares e diversas formas de alergias e doenças autoimunes (BALABAN & RASOOLY, 2000).

O *S. aureus* é uma bactéria que se apresenta em forma de cocos Gram-positivos, são coagulase positivos, maltose e manitol positivos e formadores de colônias pigmentadas, (JAY, 1994), estando associado também à proteína A ao microrganismo.

Presente no ar e no ambiente, o *S. aureus* também faz parte da microbiota de pele e mucosas e dos tratos respiratório e gastrointestinal, sendo encontrado na orofaringe dos seres humanos com prevalência de 35% a 40% e na boca e saliva de 10% a 35% (HERCEG & PETERSON, 1990). Sua presença, porém, no leite humano pode ser interpretada como contaminação secundária a partir da pele e fossas nasais ou por condições higiênicas insatisfatórias dos utensílios empregados. A maior preocupação quanto à sua presença incide sobre a ocorrência de cepas produtoras de toxinas resistentes à pasteurização (ALMEIDA *et al.*, 1998). PEREIRA *et al.*, (1995), relataram a presença de *Staphylococcus* em todas as amostras de leite materno procedentes de 19 mulheres com sintomas de mastite. Das 19 cepas, oito sintetizavam quantidades detectáveis de enterotoxinas, sendo que algumas além desta capacidade mostraram-se produtoras da toxina da síndrome do choque tóxico.

O *S. aureus* é um importante patógeno nosocomial sendo descrito como agente etiológico significativo em infecções hospitalares, é também o mais freqüente microrganismo associado às mastites caprina e bovina (PEREIRA & SIQUEIRA-JÚNIOR, 1995).

Os mecanismos de patogenicidade atribuídos ao *S. aureus* estão relacionados aos fatores de virulência na forma de toxinas, enzimas e outras proteínas associadas à parede celular, mediadas por genes plasmidiais ou cromossômicos que combinados conduzem à doença. *S. aureus* utiliza extensivas estratégias para sobrepujar as defesas microambientais do hospedeiro infectado e potencialmente colonizar os tecidos. Evidências recentes sugerem que exotoxinas envolvidas na síndrome do choque tóxico e intoxicações alimentares são superantígenos, proteínas multifuncionais que invariavelmente exibem atividade letal, pirogenicidade e a capacidade de induzir

hipersensibilidade a endotoxinas (PEREIRA & SIQUEIRA-JÚNIOR, 1995).

De acordo com PEREIRA (1995), o uso abusivo e indiscriminado de agentes antimicrobianos na prática clínica humana e veterinária, tem um efeito seletivo no surgimento e manutenção de resistência às drogas. Este é o caso de linhagens de *S. aureus* resistentes a metilina (MRSA), um antibiótico do grupo das penicilinas (β - lactâmicos) que age ao nível de parede celular. A metilina foi a primeira penicilina que demonstrou atividade contra estafilococos produtores de penicilinase. É uma penicilina semi-sintética. Curiosamente, os (MRSA) que usualmente, são também resistentes às penicilinas, cefalosporinas e mais recentemente a oxacilina e a vancomicina, apresentam ainda resistência a outros grupos de antibióticos tais como aminoglicosídeos, lincomicinas, tetraciclina, rifampicina. Sendo que estes antibióticos agem em outros alvos dentro da célula.

Os *Staphylococcus* podem produzir doença tanto por sua capacidade de multiplicação e disseminação ampla nos tecidos, como pela produção de muitas substâncias extracelulares, como a enterotoxina, que é uma causa importante de intoxicação alimentar, sendo produzida principalmente, quando certas cepas de *S. aureus* crescem em alimentos, contendo carboidratos e proteínas (FRAZIER & WESTHOFF, 1988). Enquanto as células de *S. aureus* são termolábeis e facilmente eliminadas por processos moderados de temperatura, as enterotoxinas são termoestáveis e resistentes a temperaturas elevadas (FREITAS & MAGALHÃES, 1990). Apesar de ser quase incomum a fatalidade de intoxicação alimentar estafilocócica, ela ocorre ocasionalmente em indivíduos debilitados imunologicamente, idosos e crianças em tenra idade (GONÇALVES & FRANCO 1996).

Os sinais observados na maioria dos casos de gastroenterite estafilocócica inclui náuseas,

vômitos, contrações abdominais, diarreia, sudorese e cefaléia. A intoxicação no que se refere à duração dos sintomas é de 1 a 2 dias, podendo evoluir para quadros mais severos, dependendo da susceptibilidade do indivíduo. O período de incubação varia de 1 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado, com média de 4 horas (BALABAM & RASOOLY, 2000). De acordo com EVENSON *et al.* (1988), a quantidade mínima de enterotoxina estafilocócica necessária para causar sintomatologia em humanos é de 200 ng. Este valor foi estimado a partir de um surto de gastroenterite atribuído a leite achocolatado, cujas amostras revelaram enterotoxina A no nível médio de 144 ng/ embalagem. No episódio, crianças com idade de 5 a 9 anos mostraram maior sensibilidade do que adolescentes de 10 a 19 anos de idade. Calcula-se, que para produzir intoxicação no homem, sejam necessários de 15 a 357 ng de enterotoxina por kg de peso corporal (YI & LEE – WONG, 1997).

A contaminação microbiológica dos alimentos tem sido objeto de preocupação constante em diversos países. Nos Estados Unidos da América (E.U.A.), estima-se que, anualmente, entre 1 a 2 milhões de pessoas são acometidas por gastroenterites provocadas por toxinas de *S. aureus* presentes, sobretudo, em produtos de origem animal (JAY, 1994). No Brasil, segundo dados do Ministério de Saúde, foram registrados 593.212 casos de intoxicação alimentar entre 1984 e 1997, porém sem especificar as toxinas, os microrganismos ou as fontes envolvidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999). Estes dados, possivelmente subestimados devido à falta de notificação dos surtos, demonstram a relevância das medidas de controle sanitário dos alimentos destinados ao consumo humano, particularmente das matérias primas de origem animal.

ASPECTOS GENÉTICOS DA RESISTÊNCIA À DROGAS EM *S. aureus*

O problema da resistência à drogas compreende um sério problema de saúde pública

e precisa de medidas de controle urgentes para reduzir o máximo à pressão dos antimicrobianos no ambiente, tais como a redução do uso de antimicrobianos em hospitais e outros locais, a realização de antibiogramas (teste laboratorial para definir a sensibilidade dos patógenos às drogas), campanhas educativas de conscientização sobre os perigos da auto medicação e o desenvolvimento da resistência a drogas. Essas medidas associadas à pesquisa na busca de novos agentes antimicrobianos seja a partir de microrganismos, produtos animais ou extratos de plantas, poderão contribuir a longo prazo na redução do desenvolvimento a resistência (PEREIRA *et al.*, 1997).

Resistência a drogas antimicrobianas tem sido reconhecida desde a introdução de antibióticos na terapêutica clínica. Quando a penicilina foi introduzida em 1940, menos de 1% dos *S. aureus* eram resistentes; poucos anos depois em 1946, cerca de 60% das linhagens eram produtoras de β – lactamase. A introdução de novos antibióticos como estreptomicinas, tetraciclina, cloranfenicol e eritromicina, também foi seguida pelo surgimento de linhagens resistentes (HIRAMATSU *et al.*, 2001).

A introdução, na prática clínica, de penicilinas resistentes a β – lactamase resultou no declínio da população de estafilococos multiresistente, ou seja, resistentes a vários agentes antimicrobianos. No entanto, já nas décadas de 60-70, a incidência de linhagens resistentes voltaram a aumentar em muitos países (HIRAMATSU *et al.*, 2001).

Os mecanismos pelos quais os genes de resistência se movimentam entre os organismos, são complexos, antigos e fascinantes. Em *S. aureus*, a resistência múltipla resulta da presença de plasmídios, mutações cromossômicas e de elementos transponíveis (HIRAMATSU *et al.*, 2001).

Alvos de ação de drogas antimicrobianas na célula bacteriana

A análise de resistência estafilocócica a agentes antimicrobianos tem revelado alguns mecanismos bioquímicos principais:

- 1) Inativação do agente antimicrobiano por enzimas modificando ou hidrolisando os agentes;
- 2) Alterações nos receptores alvos – por aquisição de um alvo novo com reduzida afinidade para o antimicrobiano;
- 3) Aquisição de enzimas convertendo o alvo nativo, ou mutação de genes codificando este alvo;
- 4) Acesso limitado dos antimicrobianos, principalmente pela atividade de efluxo do antibiótico.

O desenvolvimento de diferentes mecanismos bioquímicos conferindo multiresistência em *S. aureus* requer uma grande versatilidade genética. Estes mecanismos envolvem: a aquisição de novos segmentos de DNA, mutação e recombinação e um eficiente mecanismo de *transferência horizontal* de determinantes de resistência entre linhagens de *Staphylococcus* (PEREIRA *et al.*, 1997).

Epidemiologia

Os estafilococos têm sido isolados esporadicamente de uma grande variedade de fontes que incluem, solo, água, areia da praia, ar e alimentos, entre outras; no entanto podem ser disseminados por portadores animais. Os portadores de *S. aureus* desempenham um papel importante na epidemiologia e patogênese da infecção (PEREIRA & SIQUEIRA-JÚNIOR, 1995).

Portadores de *S. aureus* têm sido identificados como um importante fator de risco para infecções em pacientes cirúrgicos, ou que fazem hemodiálise ou aqueles com infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que é o agente da AIDS. A presença de portadores de *S. aureus* em animais sadios é de grande importância no campo da saúde pública e no da saúde animal. *S. aureus* tem sido isolado de diversas espécies de animais sadios. No estado da Paraíba, Pesquisadores do Laboratório de Genética de Microrganismos da UFPB isolaram linhagens de *S. aureus* de bovinos, aparentemente sadios, em fase de lactação, na pele do úbere e tetas e menos freqüentemente nas fossas nasais (PEREIRA & SIQUEIRA-JÚNIOR, 1995).

CARACTERÍSTICAS DAS TOXINAS PRODUZIDAS POR *S. aureus*

A produção de enterotoxinas não está restrita à espécie *S. aureus*. Estudos evidenciaram espécies coagulase negativas, capazes de produzir toxinas em condições laboratoriais, como *S. xylosum*, *S. haemoliticus*, *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. chomogenes*, *S. warneri*, *S. sciuri* e *S. lentus* (PEREIRA *et al.*, 2001). Este fato demonstrou que outras espécies de *Staphylococcus*, além de *S. aureus*, são capazes de produzir enterotoxinas, embora esta característica já tivesse sido relatada, também para outras espécies coagulase negativas, como *S. hyicus* e *S. intermedius* (VALLE *et al.* 1990).

Com base em métodos sorológicos, identificam-se sete enterotoxinas estafilocócicas, denominadas A, B, C₁, C₂, C₃, D, E, G, H e I (DINGES *et al.*, 2000). São proteínas simples, resistentes à hidrólise pelas enzimas gástricas e jejunais, e são estáveis ao aquecimento a 100°C durante 30 minutos, não sendo inativadas totalmente pela cocção normal, pasteurização e outros tratamentos térmicos usuais (JAY, 1994).

A enterotoxina do tipo A é a mais freqüentemente associada à gastroenterite estafilocócica.

A capacidade de produzir uma ou mais enterotoxinas é encontrada em 30 a 50% das cepas de *S. aureus* (CARDOSO *et al.*, 2000). MASUD *et al.* (1993), ao examinar 48 linhagens enterogênicas de *S. aureus*, isoladas de produtos lácteos, observaram que pelo menos 16 delas produziram mais de um tipo de enterotoxina. A enterotoxina mais comumente encontrada foi a do tipo A (em 37, 7% do total de isolados), seguida pelo tipo B (17, 7%), D (11, 8%) e C (10, 6%). A produção simultânea de diferentes tipos de toxinas pode aumentar os seus efeitos toxigênicos isolados, sugerindo que essa co-produção possa desempenhar um papel importante na patogenia das infecções intramamárias produzidas por esse microrganismo. REFAI *et al.* (1998) demonstraram que existe associação entre a atividade enzimática específica, a enterotoxigenicidade e a resistência de *S. aureus* a vários antibióticos, principalmente naquelas amostras produtoras de mais de um tipo de enterotoxina.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* produzem, também, uma grande variedade de toxinas extracelulares e de fatores de virulência, os quais estão relacionados a patogenicidade e aos mecanismos de resistência aos antimicrobianos disponíveis. Entre esses, destaca-se a toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST – 1), reconhecida como a principal causa da síndrome do choque tóxico (TSS) em seres humanos, caracterizada por febre, Hipotensão, congestão em vários órgãos e choque letal (CARDOSO *et al.*, 2000). A TSST-1 é um polipeptídeo de cadeia simples, com propriedades biológicas comuns a outras exotoxinas pirogênicas e superantigênicas (DINGES *et al.*, 2000), como capacidade de induzir febre, aumentar a letalidade do choque endotóxico, estimular a proliferação inespecífica de células T e induzir a produção de interleucina – 1, de gama interferon e do fator alfa de necrose tumoral (ELLIS *et al.*, 1993).

No que concerne à possibilidade de eliminação das toxinas estafilocócicas dos alimentos contaminados, não foram encontradas referências, na literatura, que atestem a inativação eficiente das mesmas através dos processos usuais de pasteurização ou esterilização industrial do leite e derivados.

Importância do *S. aureus* como agente de mastites

Sabe-se que o principal problema que afeta os rebanhos leiteiros, mundialmente, é a inflamação da glândula mamária ou mastite, a qual, freqüentemente, tem origem bacteriana (COSTA *et al.*, 1995; LANGONI *et al.*, 1998; NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1996). Mais de 80 diferentes microrganismos foram identificados como agentes causadores de mastite bovina, sendo que a espécie mais freqüentemente isolada é o *S. aureus* (HARMON, 1994).

O leite é um meio de cultura ideal para os microrganismos em geral, por apresentar uma composição quase perfeita como alimento. Assim, a multiplicação dos microrganismos é muito rápida, se a temperatura for ideal para o crescimento (COUSINS & BRAMLEY, 1987). A contaminação microbiana do leite pode ocorrer por duas vias principais: através da incorporação de microrganismos que estão presentes no úbere, diretamente para o leite; ou através do contato do leite com utensílios e equipamentos contaminados durante as operações de ordenha ou da coleta e armazenamento (FEHLHABER & JANETSCHKE, 1995). Neste último caso, deve-se ressaltar a importância do homem como reservatório de *S. aureus* e principal veiculador do microrganismo em alimentos, de um modo geral (JAY, 1994). Com relação à identificação da origem do *S. aureus* no leite de consumo, diversos métodos bioquímicos e moleculares têm sido utilizados para diferenciar as cepas provenientes de infecções humanas e animais. A técnica de

PCR associada a ribotipagem tem-se mostrado bastante útil para esta finalidade, devido à sensibilidade e rapidez, possibilitando o monitoramento de cepas e o estudo taxonômico molecular (PEREIRA *et al.*, 2002).

Não existem estudos conclusivos sobre a relação entre características das cepas e sua toxigenicidade. No entanto, MATSUNAGA *et al.*, (1993) sugeriram que a produção de toxinas seria mais freqüentemente observada em cepas de maior patogenicidade.

Medidas de controle de toxinfecções pelo leite

De acordo com ZECCONI & HAHN (2000), para reduzir o risco da presença do *S. aureus* e de outros microrganismos indesejáveis no leite cru é necessário implementar medidas para diminuir a prevalência das infecções intramamárias. Deste modo, compete aos setores de captação de leite das usinas e aos serviços de extensão, incrementar o desenvolvimento das atividades de orientação e apoio aos produtores, com a finalidade de aprimorar as técnicas de produção e obtenção do produto, com destaque para os seguintes aspectos importantes (OLIVEIRA *et al.*, 1999): realização de testes periódicos para o diagnóstico individual de casos de mastite clínica nas vacas leiteiras; colheita de amostras e identificação laboratorial dos agentes infecciosos envolvidos nos casos de mastite; descarte do leite de vacas acometidas com infecções causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus*, bem como de outros agentes infecciosos de importância em saúde humana; limpeza e desinfecção criteriosa do úbere dos animais, antes e depois da ordenha; provisão de quantidades suficientes de água potável para os diversos processos de obtenção do leite; e, manutenção dos cuidados de higiene geral do estábulo leiteiro, incluindo a limpeza e desinfecção das instalações de ordenha, ordenhadeiras e utensílios.

Alimento selecionado como principal fonte de contaminação

O *S. aureus* é freqüentemente pesquisado em alimentos, sendo o queijo, um dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas (REIBNITZ *et al.*, 1998). SABIONI *et al.*, (1994) citam casos de intoxicação estafilocócica causada por queijo Minas Frescal, assim como ANUNCIACÃO *et al.* (1994), relataram a presença de enterotoxina estafilocócica também em queijo Minas Frescal em todas as amostras testadas com contagens de 10^3 UFC/mL. Conclui-se que uma maior atenção deve ser dada pelas autoridades sanitárias em relação à permissão de fabricar e comercializar esse produto, uma vez que ele representa risco à saúde dos consumidores.

BIOSSEGURANÇA

Muitos esforços têm sido empregados por Unidades de Alimentação e Nutrição (UANs), com objetivo de evitar a Ocorrência dessas doenças, tradicionalmente através de visitas de inspeção sanitária e análises microbiológicas das refeições produzidas. Entretanto, os altos índices de ocorrência de surtos de toxinfecção alimentar indicam a ausência de controles sistemáticos que garantam permanentemente a segurança sanitária desejável (FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1997). As visitas de inspeção são úteis para identificação de situações que envolvam riscos de ocorrência de doenças veiculadas por alimentos (DPVA), mas não podem ser realizadas com freqüência e/ou profundidades suficientes para garantir um grau satisfatório de segurança sanitária do alimento produzido. As inspeções podem ainda ocorrer em situações onde não estejam sendo preparados alimentos de alto risco, nem estejam presentes operações críticas. As análises microbiológicas, complementos das inspeções, são limitadas sob o ponto de vista estatístico, e demoradas, de forma que, quando estes resultados ficam prontos, os

alimentos pesquisados já foram consumidos (BRYAN, 1992).

A questão da segurança alimentar tem sido tema pertinente não apenas em estudos científicos, como também nas questões de ordem político econômica dos países de todo mundo. Os últimos debates sobre segurança alimentar têm demonstrado uma grande preocupação com o estudo de alternativas mais eficientes para controle e garantia da inocuidade dos alimentos, especialmente na eliminação de microrganismos patogênicos da cadeia alimentar, já que os métodos convencionais, de inspeção e análises microbiológicas, têm-se mostrado insuficientes para garantir a segurança do alimento (SOLÍS, 1999).

Procedimentos e medidas de controle

Reconhecendo as limitações dessas abordagens tradicionais, as empresas e mais especificamente as UANs, têm buscado desenvolver sistemas de controle, capazes de garantir qualidades em suas refeições, com objetivo de atender um consumidor cada vez mais exigente e consciente de seus direitos. Os programas de gerenciamento da qualidade (TQM – Total Quality Management) vem de encontro a essa necessidade e têm sido adotados com sucesso por várias empresas, inclusive da área hospitalar. Em consonância com a filosofia da qualidade total, o sistema Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP), proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS), representa importante ferramenta no controle da qualidade higiênico-sanitárias das refeições. É necessário dar ênfase à adoção de medidas preventivas para o controle de riscos de situações que caracterizem os perigos de origem microbiológica presentes nas várias etapas do processo de produção de alimentos (VOSE, 1998).

CONCLUSÃO

As toxinfecções alimentares causadas por *S. aureus* apresentam implicações importantes em saúde Pública, tendo em vista que as toxinas podem ser excretadas no leite e permanecer estáveis nos produtos oferecidos ao consumo. A simples presença de cepas toxigênicas de *S. aureus* no alimento não implica, necessariamente, a ocorrência de intoxicações em seres humanos, porém o risco existe e é maior para crianças em tenra idade. A percepção de risco é aumentada, principalmente, ao se considerar que esse é um dos microrganismos mais envolvidos nas toxinfecções alimentares, com prevalência de cepas de elevado potencial toxigênico.

Diante desses fatos, torna-se importante o controle de qualidade dos produtos oferecidos à população. A oferta de alimentos de boa qualidade exige uma série de medidas de controle em todas as etapas da cadeia de produção. Da mesma forma, produtores de alimentos e mercado varejista, devem atender à demanda dos consumidores por qualidade e segurança alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA JAG, NOVAC FR, SILVA IS. Estudo da ocorrência de *Staphylococcus aureus* em amostras de leite humano ordenhado. IN: I congresso Brasileiro de Bancos de leite humano; 8 – 12 de julho 1998. Brasília (DF); p. 10, 1998.
- ANUNCIAÇÃO, L.L.C., LINARDI, W.R., CARMO, L.S. *et al.* Production of *Staphylococcal* Enterotoxin A in White cheese. *R Microbiol.*, São Paulo, v.5, n.1, p.68-71, 1994.
- BALABAN, N; RASOOLY, A. *Staphylococcal* enterotoxins: a review. *Int y Food Microbiol*, V. 61, P. 1 – 10, 2000.
- BRYAN, F. L. . *Hazard analisys critical control point evaluations: a guide to identifying hazards and assessing risks associated with food preparation na storage.* Genebra, Word Healt Organization, 1992.
- CARDOSO, H.F.T. ; CARMO, L.S. ; SILVA, N. Detecção da toxina – 1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. *Arq Bras med Vet Zootec*, v. 52, p.7-10, 2000.
- COSTA, E.O. *et al.* Estudo etiológico da mastite bovina. *Rev Bras Med Vet*, v.17, p.156-158, 1995.
- COUSINS, C.M.; BRAMLEY, A.J. Microbiologia de la leche cruda. In: ROBINSON, R.K. *Microbiologia lactológica.* Zaragoza: Acribia, Cap.4, p.109-150, 1987.
- DINGES, M.M; ORWIN, P.M; SCHLIEVERT, P.M. Enterotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin microbiol Rev*, v. 13, p.16-34, 2000.
- ELLIS, J.A. *et al.* Capture immunoassay for ruminant tumor necrosis factor – alpha: comparasion with bioassay. *Vet Immunol Ummunopathol*, v. 35, p. 289-300, 1993.
- EVENSON, ML. *et al.* Estimation of human dose of *Staphylococcal* enterotoxin A from a large outbreak of *Stafilococcal* food poisoning involving chocolate milk. *In I food microbiol*, v. 7, p. 311 – 316, 1988.
- FEHLHABER, K; JANETSCHKE, P. *Higiene veterinária de los alimentos.* Zaragoza: Acribia, 669p, 1995.
- FONSECA, LFL; SANTOS, M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite.* São Paulo: Lemos Editorial, 175p, 2000.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). *Food code: 1997 Recomendatios of the United States Public Health Service.* Washington, United States Departament of Health an Human Services, 1997.

- FRAZIER, WC; WESTHOFF, D. C. *Food microbiology*. 4 ed. New York: Mc Graw – Hill, 494p, 1988.
- FREITAS, MAQ; MAGALHÃES, H. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus aureus* isolados de vacas com mastite. *R microbiol*. São Paulo, v. 21, n. 4, p. 315 – 319, 1990.
- GONÇALVES, P.M.R., FRANCO, R.M, Coliformes fecais, *Salmonella e Staphylococcus aureus* em queijo Minas Frescal. *Rev Bras Ciência Vet*, v.3, n.1, p.5-9, jan-abr, 1996.
- HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci*, v.77, p.2103-2112, 1994.
- HERCEG RJ, PETERSON LR. Normal flora in health and disease. In: Mandell, Douglas, Bennilt, editors. Principles and practice of infectious disease. 3 ed. New York: Churchill Livingstone; p. 6 – 14, 1990.
- HIRAMATSU, K., Cui, L., Kuroda, M, Ito, T. The emergence and evolution of methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. 9: 486-493, 2001.
- JAY, JM. *Microbiología moderna de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 804 p, 1994.
- LANGONI, H. *et al*. Aspectos etiológicos na mastite bovina. *Rev Bras Med Vet*, v.20, p.204-210, 1998.
- MASUD, T. ; ALI, A.M. ; SHAH, M.A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products. *Aust J Dairy Technol*, n. 48, p.30-32, 1993.
- MATSUNAGA, T. *et al*. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis. *J Vet Med Sci*, v.55, p.297-300, 1993.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Sistema de informações hospitalares*. Brasília: DATASUS, 1999.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *Current concepts of bovine mastitis*. 4.ed. Madison: NMC, 64p, 1996.
- OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção que influenciam a qualidade do leite. *Higiene Alimentar*, v.13, p.10-16, 1999.
- PEREIRA, M.L.; CARMO, L.S. ; PEREIRA, J.L. Comportamento de estafilococos coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas de alimentos experimentalmente inoculados. *Ciênc Tecnol Aliment*, v.21, p.171-175, 2001.
- PEREIRA ML, SANTOS EJ, SELLOS I, BERGDOLL M. *Staphylococci in breast milk from women without mastites*. *Rev microbiol*; 117 – 20, 1995.
- PEREIRA, M. S. V. ; BARRETO, V. P. & SIRQUEIRA JÚNIOR, J. P. Phage-mediated transfer of tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle in Brazil. *Microbios*, 92: 147-155, 1997.
- PEREIRA MSV & SIQUEIRA JÚNIOR, JP. Antimicrobial drug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from cattle in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*, 20: 391 – 395, 1995.
- PEREIRA, M.S.V. *et al*. Typing of human and bovine *Staphylococcus aureus* by RAPDPCR and ribotyping – PCR. *Lett Appl Microbiol*, v.35, p.32-36, 2002.
- REFAI, M. *et al*. Correlation between antibiotic resistance, enterotoxigenicity and enzymatic activities of *Staphylococcus aureus* recovered from foods. *Vet Med J*, v.36, p.107-109, 1998.
- REIBNITZ, M.G.R., TAVARES, L.B.B., GARCÍA, J.A. Presencia de coliformes fecales,

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* coagulasa y DNAsa positivos em queijo. *Revista Argentina de Microbiologia*, Buenos Aires, v. 30, n.1, p.8-12, 1998.

SABIONI, J.G., NASCIMENTO, D., PEREIRA, J.L. Intoxicação estafilocócica causada por queijo tipo Minas em Ouro Preto (MG), 1992. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.8, n.33, p.22-23, set, 1994.

SOLÍS, C. S. Gestão e certificação da qualidade de sistemas alimentares integrados. *Higiene Alimentar*, 13 (61): 91-8, 1999.

VALLE, J. *et al.* Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. *Appl Environ Microbiol*, v.56, p. 1323-1326, 1990.

VOSE, D. J. The application of quantitative risk assessment to microbial food safety. *Journal of Food Protection*, (5): 640-8, 1998.

YI. CS; LEWONG, AC. Current perspectives on detection of *Staphylococcal* enterotoxins. *J Food Protect.* V. 60, p. 195 – 202, 1997.

ZECCONI, A; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and health risk. *Bulletin of IDF*, V. 345, p. 15 – 18, 2000.

Recebido em / Received: Maio de 2007

Aceito em/ Accepted: Junho de 2007