



Universidade de Brasília – UnB

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA EM ALIMENTOS DE
ORIGEM ANIMAL (UMA REVISÃO)**

Jussara Ribeiro Barroncas

Profa. Ângela Patrícia Santana

Orientadora

Brasília – DF

2013



Universidade de Brasília – UnB

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV

**STAPHYLOCOCCUS COAGULASE POSITIVA EM ALIMENTOS DE
ORIGEM ANIMAL (UMA REVISÃO)**

Jussara Ribeiro Barroncas

Profa. Ângela Patrícia Santana

Orientadora

Monografia apresentada para a conclusão do
Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade
de Brasília

Brasília – DF

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Barroncas, Jussara Ribeiro

Staphylococcus coagulase positiva em alimentos de origem animal: uma revisão/ Jussara Ribeiro Barroncas; orientação de Ângela Patrícia Santana – Brasília, 2013.

34 f. : il.

Monografia – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

1. Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, intoxicação estafilocócica, enterotoxina, surtos.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Jussara Ribeiro Barroncas

Título da Monografia de Conclusão de Curso: *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos de origem animal: uma revisão

Ano: 2013

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

JUSSARA RIBEIRO BARRONCAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: BARRONCAS, Jussara Ribeiro

Título: *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos de origem animal: uma revisão

Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em:

Banca Examinadora

Profa. Dr^a. Ângela Patrícia Santana Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Profa. Margareti Medeiros Instituição: FACIPLAC

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Profa. Simone Peregmanis Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai, Joaquim Barroncas e minha mãe, Deusa Ribeiro por tornarem este sonho realidade.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu pai, Joaquim Barroncas e minha mãe, Deusa Ribeiro pela educação que me deram, pelo apoio, incentivo, carinho, compreensão, paciência (muita paciência) e sacrifícios. Aos meus irmãos Iara e Ramon Barroncas por estarem sempre ao meu lado. Ao meu sobrinho Ítalo Barroncas, uma criança muito especial que enriquece minha vida cada dia que passa e só me faz feliz. A minha madrastra Ângela Borges por estar sempre presente e torcendo também. E toda a minha família em Manaus, que por mais que esteja um pouquinho longe, ajudaram muito na minha vida acadêmica.

Quero agradecer também a todas as pessoas queridas que fizeram parte de alguma forma desta longa jornada comigo. Ao meu namorado e amigo, Gustavo Siqueira, que tanto me ajudou (e ajuda) e me faz querer ser uma pessoa melhor sempre. A turma XXII, turma do coração que tanto amo e todas as outras turmas que me acolheram com tanto carinho. As amigas de infância e adolescência em especial Raquel Almeida, Elisa Silva, Carol Carvalho e Luiza Lepri. A todos os amigos da Veterinária – Unb, em especial a Nayara Braga, Andréa Perez, Natália Oliveira, Ludmila Taitson, Cyntia Cardoso, Marina Nascente, Tayane Gebien, Kathleen Brandão, José Mario e tantos outros queridos que vão me perdoar se eu esqueci de por o nome.

A todos os meus professores e funcionários da FAV e da UnB. Sem eles este sonho de me tornar veterinária não seria possível. Em especial aos professores Eduardo Mendes Lima e Roberta Ferro Godoy, minha orientadora Ângela Patrícia Santana, que me apresentou e me fez gostar da área de Inspeção. A Nara Rúbia, que apesar de não ser professora, me ensinou muito do que sei.

E finalmente gostaria de agradecer aos animais que serviram para o meu aprendizado. Minha paixão por eles desde a infância me fez querer ser veterinária.

Agradeço muitíssimo a todos de coração e espero poder retribuir todo carinho e amor que recebi.

RESUMO

O *Staphylococcus aureus* são cocos, gram-positivos, coagulase positiva. São habitantes naturais de pele e mucosas de animais e seres humanos e apresentam relevância em saúde pública. Podem causar várias doenças tanto nos humanos quanto nos animais, e entre elas a intoxicação alimentar devido à enterotoxina termoestável que produz no alimento. A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das mais comuns, gerando um quadro de vômito e diarreia. Entre os alimentos mais comuns para contaminação por *S.aureus*, estão os alimentos de origem animal, que por fatores intrínsecos e extrínsecos tornam-se ambiente propício para a multiplicação do microrganismo e consequente formação de enterotoxina. Entre as formas de contaminação do alimento por cepas do *S.aureus*, destacam-se a contaminação durante o processo produtivo por cepas presentes no animal de produção e dos manipuladores de alimento. Esta contaminação pode ser evitada adotando-se boas práticas e higiene no decorrer de todo o processo produtivo do alimento de origem animal. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão a respeito da relação deste microrganismo em alimentos de origem animal.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, intoxicação estafilocócica, enterotoxina, surtos.

ABSTRACT

The *Staphylococcus aureus* are cocci, gram-positive and coagulase positive. They are natural inhabitants of the skin and mucous membranes of humans and animals and it is of great relevance to public health. They may cause diseases in both humans and animals, due to food poisoning heat tolerant. enterotoxin producing in the food. Staphylococcal food poisoning is one of the most common, leading to clinical symptoms such as vomiting and diarrhea. Among the most common food contamination by *S. aureus*, the foods of animal origin are the most common, because of the intrinsic and extrinsic factors that favorable the environment for the multiplication of the microorganism and the consequent formation of enterotoxin. Among the forms of food contamination by strains of *S.aureus*, stand out the contamination during the production process by strains present in the animal production and food handlers. This contamination can be avoided by adopting good hygiene practices and in the course of the entire production process of food of animal origin. So the aim of this work was to realize a revision about the presence of this microorganism in food of animal origin.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, staphylococcal poisoning, enterotoxin, outbreaks.

SUMÁRIO

1 – Introdução.....	9
2 – Taxinomia e Morfologia.....	11
3 – Parede Celular.....	13
4 – Enzimas.....	14
5 – Toxinas.....	15
6 – Epidemiologia.....	18
6.1 – Relação do <i>S. aureus</i> com o alimento.....	18
7 – Detecção no Alimento.....	22
7.1 – Procedimentos.....	22
7.2 – Leituras de Placas.....	22
7.3 – Contagem.....	23
7.4 – Prova da Coagulase.....	23
7.5 – Prova da Tremonuclease.....	24
7.6 – Coloração de Gram.....	24
7.7 – Prova da Catalase.....	25
7.8 – Resultados.....	25
8 – Intoxicação Alimentar.....	26
9 – Considerações Finais.....	27
10 – Referências Bibliográfica.....	28

1. Introdução

Os microrganismos do gênero *Staphylococcus*, que se agrupam de forma semelhante a um cacho de uvas, são cocos gram-positivos, em sua maioria anaeróbicos facultativos e catalase positiva (QUINN, et al. 2005; KONEMAN et al.,2010). Ainda segundo os autores, habitam naturalmente a pele e mucosas dos humanos e animais. São divididos em estafilococos coagulase positiva e coagulase negativa de acordo com a capacidade de coagular plasma de coelho (LE LOIR et al., 2003; EUZÉBY, 2004). Em alguns tipos de produtos alimentícios, como nos embutidos, por exemplo, a presença de estafilococos coagulase negativa é natural e faz parte do processo industrial para garantir um produto seguro e de qualidade (JAY et al., 2005).

Dentre os estafilococos coagulase positiva, o *Staphylococcus aureus* possui grande relevância na saúde humana (KONEMAN et al., 2010), sendo considerada uma das bactérias patogênicas mais importantes, pois atua como agente de inúmeras infecções em várias localidades do corpo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008), entre elas, o trato gastrointestinal, gerando um quadro de intoxicação alimentar.

A intoxicação alimentar estafilocócica em humanos é uma das mais frequentes (TRABULSI; ALTRTHUM, 2008) e resulta da ingestão de alimento contaminado pelas cepas de *S. aureus* que produzem enterotoxinas termoestáveis. Elas aumentam o peristaltismo intestinal, são observadas alterações inflamatórias por todo o trato gastrointestinal, sendo as lesões mais graves no estômago e parte superior do intestino delgado. A ingestão do alimento contendo as enterotoxinas resulta em um quadro clínico de vômito com ou sem diarreia de 2 a 8 horas depois da ingestão (KONEMAN et al., 2010). Geralmente, os indivíduos que manipulam os alimentos são as fontes de contaminação por cepas de *S. aureus*, podendo ser portadores assintomáticos ou apresentar algum tipo de infecção, normalmente cutânea (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Apesar de todo tipo de alimento ser importante fonte carreadora de toxinas capazes de desenvolver quadro de intoxicação (LAMAITA, et al, 2005), um estudo realizado na cidade de Porto Alegre no período de 1995 a 2002 demonstrou que os alimentos mais frequentes nos surtos de intoxicação alimentar continham ingredientes de origem animal, como pratos preparados, produtos de confeitaria,

carne, leite e seus derivados (GOTTARDI, 2003). Estudo realizado na Itália entre 2003 e 2005, com carne, leite e derivados, demonstrou que 12,8% dos produtos analisados estavam contaminados por *S. aureus* e desses, 59,8% sintetizaram uma ou mais enterotoxinas (NORMANNO et al., 2007). De modo geral, os alimentos que requerem manipulação e que permanecem em temperatura inadequada para a conservação são passíveis de causar intoxicação. Treinar os manipuladores de alimento e atentar para a temperatura de conservação são formas de controlar a contaminação por *S. aureus* (GERMANO;GERMANO, 2001).

Devido à grande importância da contaminação por *Staphylococcus aureus* em alimentos de origem animal, sendo relatada a sua enterotoxina responsável por surtos de intoxicação alimentar, o presente trabalho teve por objetivo realizar uma revisão sobre este microrganismo, abordando as formas de contaminação, descrevendo os métodos de detecção deste patógeno e ainda as Legislações Brasileiras existentes para o seu controle nos alimentos de origem animal.

2. Taxonomia e morfologia

Os *Staphylococcus* pertencem ao filo *Firmicutes*, classe Bacilli, ordem *Bacillales* e pertencem à Família *Staphylococcaceae* de acordo com o *Berguey's Manual of Systematic Bacteriology*. O nome do gênero deriva das palavras gregas *staphyle* e *kokkos*, que significam cachos de uva e grão respectivamente (QUINN et al, 2005). São cocos que se agrupam de forma predominantemente semelhante a um cacho de uvas, mas podem ocorrer na forma de células isoladas, pares, tétrades e ainda cadeias curtas (LE LOIR et al., 2003; QUINN et al., 2005). Não formam esporos, são imóveis, oxidase-negativa, gram-positivos, aeróbicos e, em sua maioria, anaeróbicos facultativos e catalase positiva. Possuem a parede resistente a lisoenzima e sensível a lisostafina (LE LOIR et al., 2003; QUINN et al., 2005).

De acordo com a literatura, o grupo é composto por 47 espécies e 24 subespécies (EUZÉBY, 2004), e se dividem em estafilococos coagulase-positiva (ECP) e estafilococos coagulase-negativa (ECN), baseados na capacidade de coagular plasma de coelho (LE LOIR et al., 2003; QUINN et al., 2005).

Em determinados tipos de alimentos, como os embutidos, por exemplo, alguns ECN são componentes naturais e tem papel importante no processo industrial, garantindo um produto seguro e de qualidade (JAY et al., 2005). Por outro lado, os ECN, bem como os ECP, também são conhecidos por sua capacidade de afetar a saúde humana. Em saúde pública, na área de vigilância sanitária de alimentos, o *S. aureus* é um dos microrganismos que mais causam intoxicação alimentar (GERMANO; GERMANO 2001). No decorrer das últimas quatro décadas, os ECN passaram a ter mais importância nas doenças humanas, sendo responsáveis por causar infecções do trato urinário, pediátricas, cutâneas, endocardites entre outras. Porém os ECP, entre eles o *S. aureus*, ainda são mais importantes na saúde humana (KONEMAN et al, 2010).

O *Staphylococcus aureus* foi considerado por anos como a única espécie do gênero que produzia enterotoxina, assim como a coagulase. Entretanto, outras espécies foram identificadas em surtos de intoxicação alimentar, o que levou a mudança na legislação brasileira, que cobra a pesquisa de enumeração de estafilococos coagulase positiva e não mais a enumeração de *S. aureus* (SILVA; et al., 2004).

O *Staphylococcus* resistente a meticilina, MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), tem sido fonte crescente de infecções hospitalares em todo o mundo (TIEMERSMA et al, 2004 citado por DE BOER et al, 2009) e foi recentemente isolado em animais de produção (DE BOER et al, 2009).

O *S. aureus* não forma esporos e é umas das bactérias mais resistente (GERMANO; GERMANO, 2001), com temperatura de crescimento na faixa de 7° C a 47,8° C, sendo ótima entre 40° C e 45° C, e pH na faixa de 4 a 9,8, sendo ótimo entre 6 e 7 (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Sua tolerância ao sal e reduzida atividade de água (a_w), que está entre 0,83 e 0,99, faz com que o *S. aureus* se multiplique com facilidade em meios que contêm 5-75% de cloreto de sódio (GERMANO; GERMANO, 2001).

3. Parede Celular

Os componentes da superfície celular e toxinas são os principais fatores de virulência do *S. aureus*. A maioria possui uma cápsula polissacarídica que protege contra a fagocitose. A parede celular é composta de peptideoglicanos e ácidos teicóicos, que vão estimular a produção de citocinas e promover a ligação do microrganismo às células epiteliais da mucosa nasal do hospedeiro. A proteína A (SpA) se encontra covalentemente ligada ao peptideoglicano na parede celular e, assim como a cápsula, protege contra a fagocitose. Esta proteína é composta de uma cadeia polipeptídica com quatro resíduos de tirosina expostos na superfície que se ligam à porção Fc das IgG e impedem que eles interajam com as células fagocitárias. As proteínas que se ligam à fibronectina, ao colágeno e ao fibrinogênio também estão no peptideoglicano e funcionam como adesinas, promovendo a colonização dos tecidos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

4. Enzimas

O *S. aureus* produz enzimas extracelulares, algumas com participação atribuída na patogênese das infecções. A mais conhecida é coagulase, enzima que caracteriza a espécie. Produz, também, a catalase, lipase, proteases, fibrinolisina, estafiloquinase, hialuronidase e desoxirribonuclease (DNAse). A hidrólise de diferentes proteínas gera nutrientes para o microrganismo e, ao mesmo tempo, facilita sua disseminação pelos tecidos. A coagulase irá promover a coagulação do plasma transformando a protrombina em trombina, que vai ativar a fibrina a partir do fibrinogênio (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

5. Toxinas

São várias as toxinas produzidas pelo *S. aureus*. As toxinas esfoliativas, que degradam moléculas de adesão do epitélio cutâneo, promovem a separação da epiderme da derme. As citotoxinas mais conhecidas são a α -toxina e leucocidina. A α -toxina lisa hemácias e forma poros na membrana celular dos leucócitos, o que promove o extravasamento do conteúdo celular e conseqüentemente a morte da célula. A lesão pode ainda promover liberação de citocinas, que podem contribuir para o choque tóxico. A leucocidina se assemelha a α -toxina na capacidade de matar leucócitos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

As enterotoxinas estafilocócicas (SE - *staphylococcal enterotoxins*) e a TSST-1 (*toxic shock syndrome toxin-1*) são toxinas com atividade de superantígeno, que se ligam simultaneamente às moléculas de MHC (*Major Histocompatibility Complex*), que são moléculas que vão permitir o reconhecimento dos antígenos pelas células T CD8⁺ citotóxicas e T CD4⁺ *helper* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008), na superfície dos macrófagos e aos receptores na superfície dos linfócitos Th, permitindo então que se unam ao mesmo tempo a essas duas células e produzam grande quantidade de Il-2, que estimula a produção de TNF- α (Fator de Necrose Tumoral), que vão promover o recrutamento de leucócitos para a inflamação, e outras citocinas (BENJAMIM, 2001; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Tanto as enterotoxinas estafilocócicas quanto a TSST-1 possuem importante papel nas doenças estafilocócicas (ROBERT et al, 2011), podendo levar a Síndrome do Choque Tóxico.

As enterotoxinas (Figura 1), responsáveis pelas manifestações clínicas de intoxicação alimentar, são toxinas pirogênicas termoestáveis pertencentes ao grupo de superantígenos (KONEMAN et al., 2010). São proteínas simples, com baixo peso molecular (26.000 a 30.000 daltons) e apresentam cadeias polipeptídicas com lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico e tirosina (FRANCO; LANDGRAF, 2005). A estrutura molecular da enterotoxina com proteínas compactadas e não hidratadas confere a ela esta resistência ao calor (CARMO et al, 2002)

As enterotoxinas responsáveis por manifestar intoxicações alimentares são as do tipo A, B, C, D, E, H, I (KONEMAN et al., 2010) e J a U (HENNEKINNE et al., 2010), embora as enterotoxinas A e E sejam responsáveis por 95% dos surtos (VERNOZY-ROZAND, et al, 2004 citado por ZOCHE; SILVA, 2012). Facilmente solúveis em água e soluções salinas, são higroscópicas, possuem ponto isoelétrico

entre 7,0 e 8,6 e absorvência a 277 nm. São resistentes a tripsina, quimiotripsina, renina, papaína, e pepsina, exceto a enterotoxina B que é destruída por pepsina (FRANCO; LANDGRAF, 2005). As enterotoxinas conseguem manter sua atividade no trato digestório após ingestão e absorção, levando ao quadro de intoxicação alimentar. (LE LOIR et al., 2003).

A dose tóxica mínima para gerar uma intoxicação é estimada entre 0,015 e 0,375µg/Kg de peso corpóreo, que pode ser alcançado quando o número de cepas do *S. aureus* está entre 10^5 e 10^6 UFC por grama no alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Em trabalho realizado por Medeiros e colaboradores (2013) em uma micro-usina de queijo Minas frescal, no estado de São Paulo, analisaram-se 140 amostras de queijo no período de junho de 2008 a julho de 2009. Destas, 55,4% foram confirmadas com presença de *S.aureus*. Para a produção de enterotoxina estafilocócica, 61% mostraram-se positivas, sendo a de maior frequência a toxina A.

Em 2012, em estudo realizado por Carvalho e colaboradores, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Fundação Ezequiel Dias, Minas Gerais, envolveu 95 cepas de *S.aureus*, sendo que 31 cepas foram coletadas em leite *in natura* comercializados clandestinamente nos municípios de Betim e Nova Serrana - MG e 64 cepas isolados de um surto de intoxicação alimentar em 28 de julho de 1998 no município de Santana do Manhuaçu – MG. O estudo mostrou que 96,77% das amostras de leite e 95,13% das amostras de alimentos envolvidos no surto, produziram enterotoxinas A, B, C, D ou TSST-1. Entre os alimentos envolvidos no surto, estavam envolvidos cozido de carne bovina, frango, bacon e ovos.

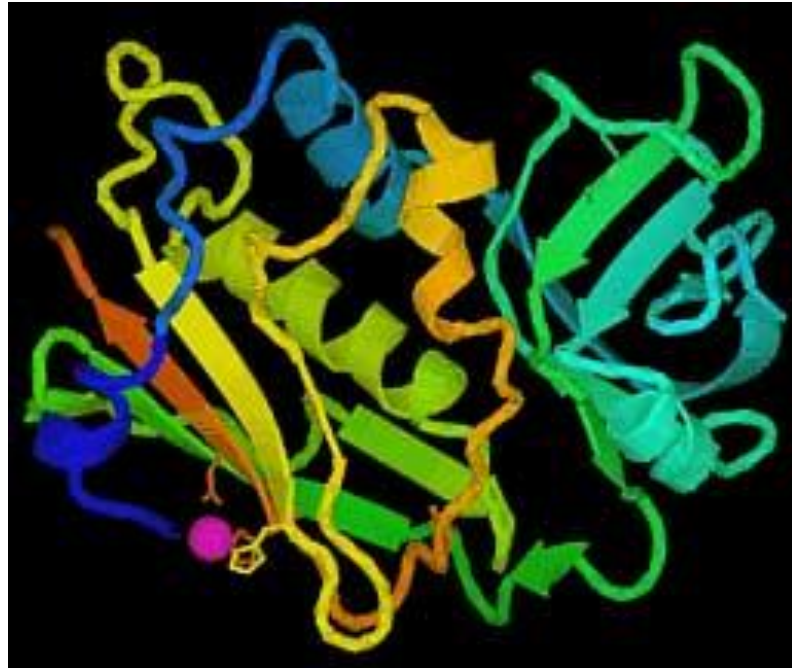


Figura 1 – Modelo tridimensional da enterotoxina. Fonte: http://virus.usal.es/web/demo_microali/enterotoxina/set.html. Acessado em: 13/12/13.

6. Epidemiologia

Infecções estafilocócicas podem ser endógenas, causadas por bactérias do próprio indivíduo, ou exógenas, adquiridas de outros doentes ou portadores sadios. A transmissão pode ser por contato direto ou indireto e a gravidade da infecção irá depender da imunocompetência do indivíduo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Estudos de epidemiologia molecular mostram que cepas multiresistentes do *S. aureus* disseminaram entre diferentes hospitais, cidades, países e continentes e agora são responsáveis por infecções hospitalares em todo o mundo (ENRIGHT et al., 2002 citado por AKLILU; ZUNIT; HASSAN; CHEN, 2013).

O comportamento de transferência dos *Staphylococcus* coagulase positiva do animal para o homem e vice-versa é um campo pouco explorado (INSTITUTO PASTEUR, 2013), um estudo na Malásia mostrou que de 103 estudantes de veterinária, 23,3 % eram portadores de *S.aureus* resistentes a metilina (AKLILU; ZUNIT; HASSAN; CHEN, 2013).

Relativamente estável no meio ambiente, o gênero é considerado membro da microbiota normal do corpo humano e dos animais, sendo distribuído no mundo todo como comensais na pele, mucosas do trato respiratório superior e urogenital inferior e, ainda, como transitórios no trato digestivo. Algumas linhagens exibem afinidade seletiva por algumas espécies de animais (QUINN et al., 2005; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

6.1 Relação do *S. aureus* com o alimento

Alimentos com alto teor de umidade e porcentagem de proteínas como, por exemplo, carnes e produtos derivados de bovinos, suínos e aves, ovos, leite e seus derivados e produtos de confeitaria são frequentemente relatados como fontes de contaminação em surtos (GERMANO; GERMANO, 2001).

A temperatura em que o *S. aureus* produz a enterotoxina está entre 10° C e 46° C, com ótimo entre 40° C e 45° C e tempo de produção de 4 a 6 horas. Alimentos que permanecem em temperatura ideal e tempo necessário para que o *S. aureus* produza a enterotoxina são responsáveis por surtos alimentares (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Por isso a importância de evitar a conservação do alimento entre 7° e 60° C, o que impede não só a produção da enterotoxina, mas como a

multiplicação de *S. aureus*, (GERMANO; GERMANO, 2001) e a velocidade desta multiplicação no alimento (COSTA et al, 2012).

Alguns produtos de origem animal, como carnes, pescados e laticínios possuem pH entre 4,5 e 7,0, sendo alimentos de baixa acidez e por isso mais propícios para a multiplicação microbiana. Quanto à atividade de água, as carnes frescas, curadas, aves, pescados, ovos e queijos, estão entre 0,68 e 1,00, dentro da faixa de multiplicação do *S. aureus*. Uma atenção especial à carne curada, pois o gênero é tolerante a concentrações de 10% a 20% de NaCl e nitrato e possui a_w 0,87 a 0,95 (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A preocupação dos agentes de inspeção sanitária tem sido crescente com relação aos produtos cárneos processados e distribuídos ao consumo (CUNHA; SILVA; STAMFORD, 2002) O *S.aureus* está presente em cerca de 45% das intoxicações alimentares de origem bacteriana segundo Franco e Landgraf, 2005.

O alimento contaminado seja por agente infeccioso específico ou pela toxina por ele produzida, quando ingerido, vai levar a DTA - Doença Transmitida por Alimento (ANVISA, 2001), sendo que o alimento é considerado contaminado quando há a transferência do microrganismo do homem para o alimento, seja pelo favorecimento das condições impróprias para que isso ocorra, como temperatura, instalações, utensílios ou equipamentos mal manipulados ou pela transferência direta (ZANDONADI et al., 2007) e está frequentemente associada a falta de conhecimento ou negligência por parte dos manipuladores (LANGE et al, 2008).

A contaminação do alimento pode ocorrer por várias vias, sendo os principais veículos de contaminação os utensílios, equipamentos e as mãos dos manipuladores de alimentos (BASTOS, 2008).

Os manipuladores de alimentos são responsáveis por 26% dos surtos de intoxicação alimentar (BRASIL, 2005). No município de Guarapuava-PR, em trabalho realizado por Ré e colaboradores (2012), foram coletadas amostras de mãos e narinas de 20 manipuladores de alimentos de uma creche, destes, 40% eram portadores nasais e manuais do *S.aureus*, 35% portadores somente nasais e 20% portadores somente manuais do *S.aureus*.

A contaminação por *S.aureus* nos alimentos de origem animal também pode ocorrer devido à sua presença na pele e mucosa dos animais de produção, como ruminantes, por exemplo, é frequentemente associada à mastite subclínica, levando a contaminação do leite e seus subprodutos (JABLONSKY; BOHACH, 1997),

podendo, ainda, ocorrer durante o abate de animais positivos para *S.aureus*, o que pode levar à contaminação da carcaça e conseqüentemente da carne (DE BOER et al, 2009).

Alguns estudos realizados no Brasil têm demonstrado a presença do microrganismo bem como a presença da enterotoxina estafilocócica em diversos tipos de alimento, dentre eles os de origem animal.

Em estudo realizado por Nascimento em 2013 no município de Porto Alegre no período entre 2003 e 2011, 173 surtos de intoxicação alimentar foram investigados. Destes, 14% foram em decorrência do *S.aureus*.

Outro estudo realizado no estado de Minas Gerais, promovido por Dias em 2012, foi confirmada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva com valor superior de 10^5 UFC/g ou a detecção da enterotoxina estafilocócica em 72 surtos de intoxicação alimentar registrados no período entre janeiro de 2006 e abril de 2007.

A ocorrência nos casos de mastite nos rebanhos por consequência de higiene inadequada e a presença do *S.aureus* entre outros microrganismos no ambiente, são as principais formas de contaminação bacteriana no leite e conseqüentemente, dos seus derivados (HARTMANN, 2005). Tratamentos térmicos utilizados para sanitizar ou conservar o leite asseguram a destruição das células vegetativas, mas não são suficientes para inativar as enterotoxinas estafilocócicas (ZOCHE; SILVA, 2012).

Merussi e colaboradores (2012) realizaram estudo de gastroenterite relacionados ao consumo de leites e derivados no estado de São Paulo no período de 2000 a 2010, sendo que dos 239 surtos notificados, apenas 33% tiveram os agentes etiológicos identificados. Destes, levou destaque o *S.aureus* que foi identificado em 23,9%, sendo o microrganismo mais identificado nos casos de surtos de gastroenterite relacionado ao consumo de leite e derivados.

Outro produto animal que está susceptível à contaminação por *S.aureus* é o peixe, por possuir pH próximo a neutralidade, elevada Atividade de Água e alta disponibilidade de nutrientes. Estes fatores combinados com a baixa qualidade sanitária da matéria-prima e condições inadequadas de higiene nas fases da cadeia produtiva, aumentam as chances de ocorrer contaminação dos pescados (ROCHA et al., 2013).

Rocha e colaboradores (2013) fizeram análises de 15 amostras de tilápias (*Oreochromis nilocutis*), espécie de peixe amplamente consumida na região de

Seridó, Rio Grande do Norte. Das amostras de filé de tilápia, constataram que 100% foi positivo para a presença de *S.aureus*, sendo que 73% estavam com valores acima do padrão estabelecido pela legislação.

Internacionalmente, tem-se verificado a presença do *S.aureus* associados em surtos de intoxicação alimentar, como mostra Kérouanton e colaboradores em 2007 na França, onde 31 casos de surtos de intoxicação foram analisados em um período de 20 anos. Dentre esses casos, em 26 confirmou-se a presença da enterotoxina estafilocócia e 20 dos casos destes surtos continham alimentos de origem animal.

De Boer e colaboradores fizeram estudo na Holanda em 2009 no qual analisaram 2.217 amostras de produtos de origem animal, entre carnes bovinas, carnes de porco, vitela, cordeiro, carneiro, carnes de aves e caça. Das amostras analisadas, 11,9% confirmaram a presença de *Staphylococcus* resistentes a meticilina.

A ocorrência do *S.aureus* em animais de produção e nos alimentos de origem animal pode representar um problema relevante na segurança e qualidade para o consumidor (FEßLER, 2011).

Muitos surtos de doenças veiculadas por alimentos de origem animal contaminados com microrganismo patogênicos têm sido relatados ao longo dos anos, ocasionando prejuízos para saúde do consumidor e na economia (JÚNIOR et al, 2013).

7. Detecção em alimentos

A Instrução Normativa (IN) N° 62 de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicado no Diário Oficial da União em 18 de setembro de 2003, oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. No anexo I, capítulo V desta IN estão os métodos de contagem e detecção do *S. aureus* coagulase positiva.

7.1 Procedimentos

O alimento deverá ser acondicionado em sacos plásticos para homogeneização tipo “stomacher” e levada para balança, que deverá indicar $25 \pm 0,2$ g de amostra. Após pesagem, adicionar 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e homogeneizar por 1 minuto em “stomacher”, que será a diluição 10^{-1} . Em seguida fazer as diluições 10^{-2} e 10^{-3} , que serão feitas a partir da primeira diluição (MAPA, 2003).

Da primeira diluição, pipeta-se 1mL e mistura-se a 9mL de solução salina, fazendo a diluição 1:10. Desta, retira-se 1mL e e mistura-se também a 9 mL de solução salina formando 1:100 e por fim retira-se desta para formar a 1:1000 da mesma forma (MAPA, 2003).

Após as diluições, inocular em ágar Baird-Parker, 0,1 mL de cada diluição selecionada e com auxílio da alça de Drigalski ou bastão tipo “hockey”, espalhar em toda a superfície até completa absorção (MAPA, 2003).

Em casos que a legislação exigir valores menores que 100 UFC/g ou mL, distribuir em duplicata 1 mL da diluição 10^{-1} em 3 placas (0,4 mL, 0,3 mL, 0,3 mL). Em amostras de produtos líquidos, inocular 0,1 da amostra 1:10 e posteriormente, realizar a incubação a $36 \pm 1^\circ$ C por 30 a 40 horas com as placas invertidas (MAPA, 2003).

7.2 Leitura de placas

Para leitura, deve-se selecionar as placas que contenham de 20 a 200 colônias, contar as colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por

halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e as colônias atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes com ou sem halo) e registrar separadamente as contagens (MAPA, 2003).

Selecionar 3 a 5 colônias de cada tipo, atípica ou típica, e semear cada colônia em tubos contendo BHI e incubar a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ por 24 horas (MAPA, 2003).

7.3 Contagem

Inoculação das amostras diluídas em ágar Baird-Parker, composta por 0,01 a 0,05% de telurito de potássio, 0,2 a 0,5% de cloreto de lítio, 0,12 a 1,26% de glicina e suplementado com solução de gema de ovo (MAPA, 2003).

O telurito de potássio será reduzido pelo *S.aureus* anaeróbio e aerobiamente levando a formação de colônias negras. A solução de gema de ovo possibilita atividades proteolíticas e lipolíticas do microrganismo com a formação de um halo transparente ao redor da colônia (MAPA, 2003).

7.4 Prova da coagulase

Será feita a transferência de 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 de plasma de coelho e incubado a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ por 6 horas. (MAPA, 2003).

A capacidade do microrganismo de coagular plasma de coelho por ação enzimática da coagulase (Figura 2) indicará a positividade do teste obedecendo aos critérios de que se a reação não formar coágulo, será negativo, se o coágulo for pequeno, organizado, será reação 1+, se for pequeno e desorganizado, reação 2+, sendo nestes últimos dois casos duvidosos, devendo-se realizar testes complementares (MAPA, 2003).

Coágulos grandes e organizados (reação 3+) e coágulos de todo o conteúdo que não desprendem do tubo (reação 4+), serão consideradas positivos para *Staphylococcus aureus* (MAPA, 2003).

A prova da coagulase apresenta limitações quanto a especificidade, pois algumas espécies de *Staphylococcus* também são coagulase positiva (MAPA, 2003).



Figura 2 - *Staphylococcus coagulase* positiva. Fonte: acervo próprio.

7.5 Prova da termonuclease

Em placas de ágar para ensaio de termonuclease ou azul de toluidina-DNA, serão feitos dois orifícios equidistantes com cerca de 2mm de diâmetro e inocular as culturas mantidas em caldo BHI nos orifícios até preenchimento completo e incubar a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ por 4 horas ou $50 \pm 2^\circ \text{C}$ por 2 horas para que haja a degradação do DNA em oligonucleotídeos pela ação da DNase produzida pelo *S.aureus* (MAPA, 2003).

O aparecimento de um halo rosa em ágar azul de toluidina ou halo de clarificação em ágar para ensaio de DNase com verde de metila, indica reação positiva para a termonuclease, que serão considerados positivos para *Staphylococcus aureus* halos com diâmetro superior a 1 mm (MAPA, 2003).

7.6 Coloração de Gram

Um esfregaço é preparado e corado pelo método de Gram (Figura 3) para a verificação das características tintoriais do microrganismo. A ausência de cocos Gram positivos indica teste negativo para *Staphylococcus aureus* e a presença, indica a necessidade de testes complementares (MAPA, 2003).

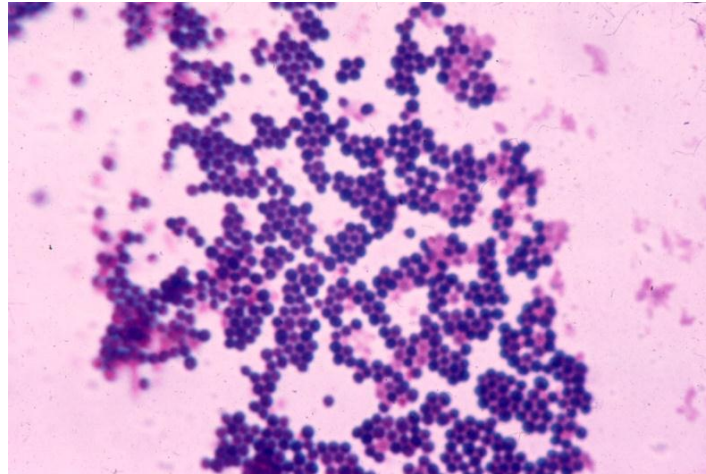


Figura 3 – Coloração Gram positiva *S.aureus*. Fonte: <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=7611>. Acessado em 13/12/13.

7.7 Prova da catalase

Para a prova da catalase, retira-se uma alíquota do cultivo em ágar estoque com auxílio de alça de platina, bastão de vidro, palito de madeira ou Pipeta de Pasteur, estéreis, e transfere-se para uma lâmina ou placa contendo uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% (MAPA, 2003).

Mistura-se e observa-se a capacidade da enzima catalase de decompor o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio, levando a formação de borbulhas que indicará positivo para a prova da catalase (MAPA, 2003).

7.8 Resultados

O resultado de contagem para o *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus coagulase positiva* deverá ser expresso em $X \times 10^y$ UFC/g ou mL, sendo o resultado final a soma de colônias confirmadas típicas e atípicas (MAPA, 2003).

De maneira geral, a detecção deste microrganismo no alimento leva de 5 a 7 dias úteis. Sua presença no alimento é interpretada como estando em condições sanitárias satisfatórias ou condições sanitárias insatisfatórias, determinadas de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos pela Resolução RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA.

8. Intoxicação Alimentar

A intoxicação alimentar é um problema grave em saúde pública, constituindo importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, particularmente nos grupos de risco, tais como idosos, crianças, grávidas e imunocomprometidos (CORREIA, et al. 2013).

São muitos os microrganismos patogênicos que podem ser transmitidos através do alimento e, entre eles o *S.aureus* se destaca quanto a prevalência no alimento e risco de produção de enterotoxinas (ZECCONI; HAHN, 2000).

Intoxicações alimentares são provocadas pela ingestão de toxinas em decorrência da intensa proliferação de microrganismos patogênicos no alimento. Os mecanismos de ação dessas toxinas nem humanos não estão bem esclarecidos, entretanto observações em animais sugerem alterações na permeabilidade vascular e inibição da absorção de água e sódio, levando às diarreias. Os vômitos estão possivelmente associados a ação das toxinas sobre o sistema nervoso central (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A intoxicação alimentar estafilocócica é atribuído à ingestão de toxinas produzidas e liberadas pelo *S.aureus* durante sua multiplicação no alimento, representando um risco a saúde pública (ALCARÃS et al. 1997, citado por STAMFORD et al., 2006). A maior preocupação quanto sua presença é a ocorrência de cepas produtoras de enterotoxinas termotolerantes (ALMEIDA et al., 1997), que irão promover o aumento do peristaltismo intestinal e provocará alterações inflamatórias por todo o trato gastrointestinal, sendo as lesões mais graves no estômago e parte superior do intestino delgado (KONEMAN, 2010).

A ingestão do alimento contendo as enterotoxinas resulta em um quadro clínico predominante nas vias digestivas superiores gerando náuseas e vômitos com ou sem diarreia em um período de incubação de 1 a 8 horas após ingestão do alimento contaminado (KONEMAN, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

9. Considerações finais

Os alimentos desempenham papel nutricional importante para homem, pois são fontes de proteínas, carboidratos, gorduras e sais minerais necessários ao organismo (FONSECA; SANTOS, 2000). O alimento considerado apto para consumo humano deverá atender ao padrão de identidade e qualidade nos aspectos higiênico-sanitários. Para que esse direito possa ser assegurado, é imprescindível que se faça um controle eficaz nas condições higiênico-sanitária dos alimentos e estabelecimentos produtores ou industrializadores de alimentos, visando à proteção da saúde da população (ANVISA, 1997).

Em face aos limitados estudos dos agentes etiológicos, forma de contaminação dos alimentos e quantidade necessária a ser ingerida na alimentação para que possa se tornar um risco a saúde humana, vários países da América Latina estão implantando ou implementando sistemas nacionais de vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Apesar da comprovada relação de várias doenças com a ingestão de alimentos contaminados, do elevado número de internações hospitalares e altos índices de mortalidade infantil por diarreia em algumas regiões do Brasil, pouco se conhece da magnitude do problema, devido à precariedade de informações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A contaminação do alimento por *Staphylococcus aureus* é comum e conseqüentemente a intoxicação alimentar causada pela sua enterotoxina. Apesar de ser difícil conseguir eliminar o *S. aureus* em alimentos de origem animal, por ser um microrganismo presente no ambiente e da microbiota natural de animais e humanos, a contaminação pode ser evitada quando medidas de boas práticas e higiene são adotadas em toda cadeia produtiva do alimento até chegar ao consumidor, incluindo os manipuladores de alimentos.

10. Referências Bibliográficas

ALCARÃS, L. E.; SATORRES, S. E.; SEPULVEDA, L.; CENTORBI, O. N. P. Detección de *Staphylococcus aureus* spp. en manipuladores de alimentos. **La Alimentación Latino Americana**, n. 219, p. 44-47, 1997. Citado por STAMFORD et al., 2006).

ALMEIDA, M. A. C. Prevalência de mastite subclínica em bovinos por *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. na microrregião de Garanhuns. 48 p. 1997. **Mestrado em Medicina Veterinária**. Universidade Federal Rural de Pernambuco.

AKLILU, E.; ZUNITA, Z.; HASSAN, L.; CHEN, C. H. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among veterinary students and personal at a veterinary hospital in Malaysia. **Veterinary Microbiology** 164. 352-358 p. 2013.

BASTOS, C. C. B. **Condições higiênico-sanitárias no preparo de refeições em creches comunitárias de Belo Horizonte, Minas Gerais**. 15 p. Belo Horizonte: UFMG, 2008.

BENJAMIM, C. F. Atualização Sobre Mediadores e Modelos Experimentais de Sepsis. **Simpósio: Medicina Intensiva**, Ribeirão Preto. 34: 18-26, jan./mar. 2001.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology - Bergey's Taxonomic Outlines, Volume 3. Disponível em: <<http://www.bergeys.org/outlines.html>> Acessado em: 28 de Novembro de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instrução Normativa N° 62 de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Conselho Deliberativo. Resolução FNDE/CD n° 32, de 10 de agosto de

2006. **Estabelece as normas para execução do Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE.** Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. RDC 12, de 2 de janeiro de 2001. **Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União.** Poder Executivo. Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997. **Condições Higiênicas-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.** Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos / **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso.** 320 p. Brasília, DF, 2005.

CARMO, L. S.; DIAS, R. S.; LINARDI, V. R. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas Chesse and raw milk in Brasil. **Food Microbiol.** V.19, p.9-14, 2002.

CARVALHO, S. A. et al. TSST-1, enterotoxin and bacteriocin-like substance production by *Staphylococcus aureus* isolated from foods. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** V.65, n.5, p1537-1544, 2013.

CORREIA, C. B. et al. Investigação Laboratorial de Toxinfecções alimentares **(2008-2011).** Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Freitas. Artigos Breves, n.1, 2ª série, n.6, 2013.

COSTA, J. P. N. et al. Condições de armazenamento e acondicionamento de carnes in natura comercializadas em minimercados. **Medicina Veterinária**, Recife, v.6, n.4, p.10-15, 2012.

CUNHA, A. N.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotogênicos em alimentos *in natura* e processados no estado de Pernambuco, Braisl. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, SP. 22(3), p. 263-271, set./dez., 2002.

DE BOER, E. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. **International Journal of Microbiology**, 134 (2009) 52-56.

DIAS, R. S. Surtos de intoxicação alimentar por linhagens enterotogênicas de *Staphylococcus* ocorridos em diferentes municípios mineiros. **Periódico Científico do Núcleo de Biociências** – Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte, MG. v.2, n4, dez/2012.

ENRIGHT, M. C. et al. 2002. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 99, 7687–7692. Citado por AKLILU, 2012.

EUZÉBY, J. P. M. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)**. [Internet]. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/allnamesz.html>> Acesso em: 28 de Novembro de 2013.

FEßLER, A. T. et al. **Appl. Environ. Microbiol.** 2011, 77(20):7151. DOI: 10.1128/AEM.00561-11. Published Ahead of Print 1 July 2011.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. p.39-141. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

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

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária** – 2ª edição. Varela Editora e Livraria LTDA. 655 p. São Paulo, 2001.

GOTTARDI, C. P. T. **Surtos de toxinfecção alimentar notificados e investigados no município de Porto Alegre no período de 1995 a 2002**. 46p. Porto Alegre, 2003.

HARTMANN, W. Curso de Pós-Graduação em Inspeção de Produtos de Origem Animal – Módulo Inspeção Industrial e Sanitária do Leite. 135 p. **Sociedade Paranaense de Medicina Veterinária/Equalis**. 2005.

HENNEKINNE, J. A. et al. How shoul staphylococcal food poisoning outbreaks be characterized?. **Toxinis, postfach**, v. 1, n. 8, pp. 2106-2116, 2010

INSTITUTO PASTEUR. Coagulase-positive staphylococci: my pet two faces. **Research in Microbiology**. 164 (2013) 371 – 374.

JABLONSKY, L. M.; BOHACH, G. *Staphylococcus aureus*. 1997. In: DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTEVILLE, T.J. (Eds.), **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**. ASM Press, Washington DC, pp. 353–357.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. Processed Meats and Seafoods. In: HELDMAN, D. R., editor. **Modern Food Microbiology**. 7ª ed. Springer Science; pp. 101-124. 2005.

JÚNIOR, B. R. C. L.; OLIVEIRA, P. M.; SILVA, F. J. M.; MARTINS, M. L. Qualidade Microbiológica de Origem Animal Comercializados na Região de Minas Gerais. **VÉRTICES**, Campos dos Goytacazes, RJ. V.15, n.2, p. 49-59, maio/ago. 2013.

KÉROUANTON, A. et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. **Internatinal Journal of Food Microbiology** 115. 369-375 p. 2007.

KONEMAN, E. et al. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e atlas colorido**. 6ª edição. Ed. Guanabara Koogan. 1565 p. Rio de Janeiro, 2010.

LANGE, T. N. Ação educativa da vigilância sanitária, como instrumentos de aprimoramento da qualidade dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 165, p. 40-45, 2008.

LAMAITA, H. C. et al. Contagem de *Staphylococcus* sp. E detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V. 57, n.5, Belo Horizonte, outubro de 2005.

LE LOIR, Y. F.; BARON A. N.; GAUTIER, M. S. aureus and food poisoning. **Gen. Mol. res.**, 2; 63-76 p. 2003.

MEDEIROS, M. I. M. et al. Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* na produção de queijo Minas frescal. **Ci. Anim. Bras**. Goiânia, v.4, n.1, p 98-105. jan./mar. 2013.

MERUSSI, G. D.; MAFFEI, D. F.; CTANOZI, M. P. L. M. Surtos de Gastroenterite Relacionados ao Consumo de Laticínios no Estado de São Paulo no Período de 2000 a 2010. **Alim. Nutr.**, Araraquara. V,23,n,4, p.639-645, out./dez. 2012.

NASCIMENTO, C. B. Surtos de Toxinfecção Alimentar Notificados e Investigados no Município de Porto Alegre no Período de 2003 a 2011. 36p. 2013. **Monografia para conclusão de curso (Especialista em Produção, Higiene e tecnologia de produtos de origem animal)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre,RS

NORMANNO, G. et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, Elsevier B.V., 115. 290-296 p, Italy, 2007.

RÉ, L. C., FREIBERGER, J. A., KNOB, A. Incidência da bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em uma creche no município de Guarapuava – PR. **Ambiência Guarapuava (PR)** v. 9, p. 381-393, maio/ago. 2013.

ROBERT, J. et al. Panton-valentine leukocidin-positive and toxic shock syndrome toxin 1-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a french multicenter prospective study in 2008. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.55, p.1734-1739, 2011.

ROCHA, F. A. G. et al. Estafilococos Coagulase Positivos em Filés de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) Comercializados no Mercado Modelo Nerival Araújo, CurraisNovos/RN. **Holos**, Ano 29, Vol 1, 2013.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e doenças infecciosas**. Ed. Artmed.512 p. Porto Alegre, 2005.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.122, p. 32-37, julho, 2004.

STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A.; CUNHA NETO, A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite *in natura*. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 26 (1): 41-45, jan./mar., 2006.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª edição. Editora Atheneu. 760 p. São Paulo 2008.

TIEMERSMA, E.W., ET AL. 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999–2002. **Emerging Infectious Diseases** 10, 1627–1634. 2004. Citado por DE BOER et al., 2009.

VERNOZY-ROZAND, C. et al. Comparison of three immunological methods for detecting staphylococcal enterotoxins from food. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 10, p. 1-5, 2004. Citado por ZOCHE; SILVA, 2012.

ZANDONADI, R. P. et al. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 19-26, 2007.

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

ZOCHE, F.; SILVA, W. P. PCR para Detecção de *Staphylococcus aureus* enterotogênicos em queijo Minas frescal. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 23 p. 187-193, abr./jun/, 2012.