

Avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* em queijo coalho artesanal elaborado com leite de cabra produzido no estado de Pernambuco

[Evaluation of contamination by *Staphylococcus aureus* in artisanal curd cheese made from goat's milk produced in the state of Pernambuco]

B.B. Aragão¹, S.C. Trajano¹, J.G. Silva¹, J.M.B. Oliveira¹,
A.S. Santos¹, R.P.B. Melo¹, R.M. Peixoto², R.A. Mota¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, PE

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano - Petrolina, PE

RESUMO

A fabricação de queijo coalho artesanal elaborado com leite de cabra é composta pelas etapas de obtenção do leite, refrigeração, manipulação e armazenamento, que aumentam o risco de contaminação do produto. Objetivou-se neste estudo avaliar o nível de contaminação por *Staphylococcus aureus* em amostras de queijo coalho artesanal produzido com leite de cabra cru no estado de Pernambuco, Brasil, bem como avaliar a concordância entre a técnica oficial da Instrução Normativa nº62/2003 (Mapa) e a técnica molecular (gene *nuc*) para identificar *S. aureus* no queijo. Houve crescimento de colônias típicas de *Staphylococcus aureus* em 100% das amostras, e a contagem variou de $7,0 \times 10^3$ a $8,6 \times 10^6$ UFC/g. Das 30 amostras analisadas, 18 (60,0%) apresentaram valores superiores ou iguais a 10^5 UFC/g, e 21 (70,0%) estavam contaminadas por *S. aureus*. A concordância entre os métodos de diagnóstico de *S. aureus* em queijo coalho caprino foi moderada. O nível de contaminação dos queijos revela a necessidade de ações de melhoria das condições de elaboração do produto, a fim de garantir um produto seguro aos consumidores.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, intoxicação alimentar, queijo caprino, legislação

ABSTRACT

The manufacture of artisanal Coalho cheese made from goat's milk is composed of the steps of obtaining milk, refrigeration, handling and storage that increase the risk of product contamination. The objective of this study was to evaluate the level of contamination by *Staphylococcus aureus* in samples of artisanal Coalho cheese produced with raw goat's milk in the state of Pernambuco, Brazil. In addition to evaluating the agreement between the official technique of Normative Instruction nº62/2003 (MAPA) and the molecular technique (*nuc* gene) to identify *S. aureus* in cheese. There was growth of typical *Staphylococcus aureus* colonies in 100% of the samples and the count ranged from $7,0 \times 10^3$ to $8,6 \times 10^6$ CFU/g. Of the 30 analyzed samples, 18 (60.0%) presented values greater than or equal to 10^5 CFU/g and 21 (70.0%) were contaminated by *S. aureus*. The agreement between the diagnostic methods of *S. aureus* in goat cheese was moderate. The level of contamination of cheeses reveals the need for actions to improve the preparation conditions of the product in order to guarantee a safe product to consumers.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, food intoxication, goat cheese, legislation

INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade de destaque na pecuária brasileira. O efetivo nacional de caprinos em 2015 foi de 9,61 milhões de cabeças, com 92,7% desse efetivo na região Nordeste, que apresenta condições climáticas

favoráveis para a atividade, associada à tradição de produção leiteira caprina nas diversas mesorregiões. Entre os maiores produtores brasileiros, a Bahia é o maior, com 27,4%, e Pernambuco ocupa o segundo lugar, com 25,3% do total do efetivo nacional de caprinos (Produção..., 2015).

Recebido em 9 de abril de 2018

Aceito em 7 de junho de 2019

E-mail: breno.aragao100@hotmail.com

No panorama mundial da produção de leite caprino, em 2011 foram produzidos 15,9 milhões de toneladas; em relação à produtividade de queijo elaborado com leite caprino, foram produzidas aproximadamente 368,6 mil toneladas (Production..., 2012). A Índia foi o maior produtor de leite caprino em 2011, com 4.594.000 toneladas, enquanto a França foi o quinto maior produtor de leite, com 657.146 toneladas e o primeiro produtor de queijo com 91.000 toneladas (Production..., 2012). Entre os países da América Latina, o Brasil foi considerado um dos maiores produtores de leite caprino, com produção de 148.149 toneladas, e não há registros em relação à produção de queijos (Production..., 2012).

Apesar de ter ocorrido um impulso na produção de leite de cabra na região Nordeste, ainda existem desafios correntes na produção de leite e seus derivados (Gottardi et al., 2008), uma vez que essa produção possui base familiar sem tecnificação e sem cuidados higiênico-sanitários (Correia et al., 2001). Esse fato representa risco ao consumo, uma vez que o leite de cabra e seus derivados podem veicular microrganismos patogênicos (Necidová et al., 2009; Xing et al., 2016).

O risco de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) é maior quando se trata de leite de cabra cru, pois, na elaboração de queijos artesanais, a matéria-prima não é submetida a tratamento térmico prévio, aumentando o risco de veiculação de microrganismos patogênicos (Rall et al., 2008). Dentre os agentes bacterianos, destaca-se *Staphylococcus aureus*, devido ao seu potencial de produção de enterotoxinas estafilocócicas, que podem causar surtos de intoxicação alimentar (Johler et al., 2015), além da capacidade de formação de biofilme (Akbas; Kokumer, 2015) e resistência a antimicrobianos (Jamali et al., 2015).

A contaminação de leite de cabra e seus derivados por *S. aureus* tem sido cada vez mais relatada por diversos estudos pelo mundo (Xing et al., 2016; Onen et al., 2018). No Brasil, em estudos realizados por Lyra et al. (2013) e Ferreira et al. (2014), foi detectada a presença desse patógeno em leite de cabra. Nesse aspecto, a qualidade do leite influenciará na qualidade final do queijo coalho, que normalmente é consumido cru, assado, frito com ou sem

acompanhamento, sendo considerado um dos derivados lácteos de maior consumo na região Nordeste do Brasil (Duarte et al., 2005).

Apesar da importância da caprinocultura na região Nordeste do Brasil, não foram encontrados, na literatura consultada, estudos que avaliaram o nível de contaminação por *S. aureus* em queijos coalho artesanais elaborados com leite de cabra cru no estado de Pernambuco. Objetivou-se neste estudo avaliar o nível de contaminação por *Staphylococcus aureus* em amostras de queijo coalho artesanal produzido com leite de cabra cru no estado de Pernambuco, além de avaliar a concordância entre as técnicas oficiais da Instrução Normativa nº62/2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) e a técnica molecular (gene *nuc*) para identificar *S. aureus* no queijo.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem utilizada neste estudo foi do tipo não probabilística por conveniência (Sampaio, 1998). Foram coletadas 30 amostras de queijo coalho artesanal produzido com leite de cabra cru, sendo uma amostra por estabelecimento em 11 municípios pernambucanos localizados nas regiões do Agreste e Sertão. As amostras foram coletadas em estabelecimentos comerciais de produtos de origem animal, sendo realizada uma coleta por estabelecimento, sem ocorrer repetições de coleta no mesmo estabelecimento (Tab. 1).

O número de estabelecimentos de coleta por município foi definido com base em observação realizada *in loco*, de acordo com os estabelecimentos que comercializavam o queijo coalho elaborado com leite de cabra cru. Cada uma das amostras pesava aproximadamente 500g. Após adquiridas, foram armazenadas em sacos tipo *zip* (Talge Brasil Ltda., Tailândia), esterilizados e identificados, e, então, acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportadas para a realização das análises microbiológicas. Para a pesquisa de *Staphylococcus aureus*, foi seguida a metodologia recomendada pela Instrução Normativa de nº62/2003 do Mapa (Brasil, 2003). Após o crescimento bacteriano, realizou-se a contagem das placas de ágar *Baird-Parker* que continham entre 20 e 200 colônias, com os resultados expressos em unidade formadora de colônia (UFC/g).

Tabela 1. Número de amostras coletadas em estabelecimentos comerciais e seus respectivos municípios amostrados

Municípios	Nº de estabelecimentos comerciais
Município A	1
Município B	5
Município C	2
Município D	1
Município E	2
Município F	1
Município G	3
Município H	1
Município I	9
Município J	3
Município K	2
Total 11	30

As colônias típicas de *S. aureus* apresentaram coloração enegrecida, aspecto brilhante, com presença de dois halos, sendo um de aspecto opaco, na periferia da colônia, e outro de aspecto claro transparente no ágar (resultante da hidrólise da lipovitelina). Foram consideradas colônias atípicas de *S. aureus* aquelas que apresentaram cor acinzentada ou negra brilhante, sem a presença dos halos opaco e claro ou com apenas um desses halos.

Para a seleção das colônias, seguiu-se a metodologia da IN nº62/2003, adaptada com as seguintes alterações: nas placas que continham apenas colônias atípicas, não foram selecionadas colônias, e nestas foi realizada apenas a contagem de UFC/g. No total, foram selecionadas 158 colônias típicas de *S. aureus*. Nas placas que continham os dois tipos de colônias, foram selecionadas três colônias típicas e duas atípicas ou apenas colônias típicas (cinco colônias típicas) (Brasil, 2003). Após a seleção das colônias, foi realizada a coloração de Gram, de acordo com Stinghen *et al.* (2002), para caracterização morfotintorial de *Staphylococcus* spp. As colônias típicas foram inoculadas isoladamente em tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Difco Laboratories Inc., Detroit, Estados Unidos) e mantidas a 37°C, durante 24h, para a realização da prova da coagulase.

A suspensão bacteriana em caldo BHI foi aliquotada (300µL) em tubo estéril, contendo o mesmo volume de plasma de coelho reconstituído (*Laborclin*, Vargem Grande dos Pinhais, Brasil). Os tubos foram incubados por 24 horas, a 37°C, e, após esse tempo, foi

verificada a presença ou a ausência de coágulo no interior do tubo (Brasil, 2003). Todas as colônias típicas de *S. aureus* em ágar *Baird-Parker* (Difco Laboratories Inc., Detroit, Estados Unidos), positivos ou negativos na prova de coagulase, foram semeadas novamente em ágar *Baird-Parker* para obtenção de uma maior quantidade de bactérias para a extração do DNA genômico, segundo a metodologia de Fan *et al.* (1995). O DNA obtido foi analisado quanto ao grau de pureza e concentração, em espectrofotômetro, com realização das leituras em absorbância de 260nm.

Para a confirmação molecular da espécie *S. aureus*, foi realizada a amplificação da região específica do gene *nuc* de acordo com a técnica descrita por Kateete *et al.* (2010). Como controle positivo para detecção do gene *nuc*, foi utilizada a cepa ATCC® 43300 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Como controle negativo, utilizou-se DNA-Free Water (QIAGEN, Hilden, Alemanha). Os resultados dos testes da PCR e coagulase foram expressos em frequências absolutas e relativas. Já os resultados da contagem de UFC/g foram expressos em valores absolutos. Para a avaliação dos resultados da PCR e coagulase, realizou-se uma análise univariada, utilizando-se os testes de qui-quadrado e exato de Fisher e o teste Kappa para avaliar a concordância entre os dois métodos de diagnóstico (Field, 2009). O programa Epi Info (TM) 3.5.2 (Centers for Disease Control and Prevention-CDC, Atlanta-USA) foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos, e o nível de significância adotado foi de 5,0%.

RESULTADOS

Na análise microbiológica do queijo coalho elaborado com leite de cabra cru, observou-se o crescimento de colônias típicas de *S. aureus* em ágar *Baird-Parker* em 100,0% das amostras analisadas. Quanto à variação na contagem de

UFC/g de colônias típicas e atípicas de *Staphylococcus aureus*, os menores valores ($7,0 \times 10^3$) foram observados no município B, e os maiores ($8,6 \times 10^6$) no município H. Em 60,0% (18/30) das amostras analisadas, as contagens no ágar *Baird-Parker* apresentaram valores iguais ou superiores a 10^5 *UFC/g* (Tab. 2).

Tabela 2. Contagens de *UFC/g* em ágar *Baird-Parker* de colônias típicas e atípicas de *Staphylococcus aureus* nos diferentes municípios e estabelecimentos do estado de Pernambuco

Município	Estabelecimentos	<i>UFC/g</i>
Município A	1	$3,3 \times 10^4$
	2	$7,3 \times 10^5$
	3	$3,3 \times 10^4$
Município B	4	$4,0 \times 10^4$
	5	$8,6 \times 10^5$
	6	$7,0 \times 10^3$
Município C	7	$1,32 \times 10^4$
	8	$8,0 \times 10^3$
Município D	9	$1,06 \times 10^5$
Município E	10	$2,7 \times 10^5$
Município F	11	$9,5 \times 10^4$
Município G	12	$1,1 \times 10^5$
Município H	13	$1,48 \times 10^6$
Município I	14	$2,6 \times 10^6$
Município J	15	$7,0 \times 10^4$
Município I	16	$8,6 \times 10^6$
	17	$4,8 \times 10^4$
	18	$2,7 \times 10^6$
	19	$1,59 \times 10^5$
	20	$2,4 \times 10^4$
	21	$3,0 \times 10^5$
	22	$6,7 \times 10^5$
Município J	23	$2,6 \times 10^6$
	24	$2,0 \times 10^4$
Município K	25	$1,39 \times 10^5$
	26	$3,2 \times 10^5$
	27	$2,05 \times 10^4$
Município K	28	$1,63 \times 10^5$
Município K	29	$9,1 \times 10^5$
Município K	30	$3,4 \times 10^5$

Com base nos resultados na contagem de *UFC/g*, foram selecionadas 158 colônias típicas de *S. aureus*, que foram submetidas a PCR para amplificação do gene *nuc*. Desse total, 34,1% (54/158) foram positivas na PCR. Já em relação à contaminação dos queijos coalhos, por municípios, 81,8% (9/11) estavam contaminados por *S. aureus* e 70,0% (21/30) dos estabelecimentos apresentaram amostras de queijos contaminados com *S. aureus* (Tab. 3).

Quanto à distribuição por região, 19,0% (4/21) das amostras contaminadas foram do Sertão Pernambucano e os outros 81,0% (17/21) eram do Agreste Pernambucano. Observou-se moderada concordância entre os resultados obtidos na prova de coagulase e na técnica de PCR para o gene *nuc* na identificação de *Staphylococcus aureus* (Tab. 4).

Tabela 3. Frequência de estabelecimentos com queijos coalhos caprinos contaminados por *S. aureus* (confirmação: gene *nuc*), comercializados no estado de Pernambuco. Frequência absoluta (F.A.) e frequência relativa (F.R.)

Municípios	Nº de estabelecimentos	Gene <i>nuc</i>	
		Positivas F.A.	F.R. (%)
Município A	1	0	0,0
Município B	5	2	40,0
Município C	2	0	0,0
Município D	1	1	100,0
Município E	2	1	50,0
Município F	1	1	100,0
Município G	3	3	100,0
Município H	1	1	100,0
Município I	9	7	77,78
Município J	3	3	100,0
Município K	2	2	100,0
Total	30	21	

Tabela 4. Resultado da análise de concordância entre os testes de PCR e coagulase das colônias típicas de *Staphylococcus aureus* em amostras de queijo coalho caprino, Pernambuco, 2017

Coagulase	PCR		Total	Valor P	K
	Positivo	Negativo			
Positivo	53,9% (48)	46,1% (41)	100,0% (89)	<0,001*	0,428
Negativo	8,7% (6)	91,3% (63)	100,0% (69)		

PCR – reação em cadeia de polimerase; * associação significativa ao nível de 5,0% no teste exato de Fisher; *k* – teste Kappa. Valores para interpretação de teste Kappa: pobre (<0,20); fraca (0,21 - 0,40); moderada (0,41 - 0,60); boa (0,61 - 0,80) e excelente (>0,80) (Landis e Koch, 1977).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no estudo demonstraram que todas as amostras analisadas se encontram fora dos padrões exigidos na Resolução-RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, que preconiza 5×10^2 UFC/g para queijos de muita alta umidade, como é o caso do queijo tipo coalho elaborado com leite de cabra. Os níveis mais altos de contaminação (UFC/g) foram referentes às amostras coletadas nos municípios G, H e I (Tab. 2). Considerando os valores estabelecidos pela Anvisa (Brasil, 2001), no que se refere à contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo (SCP), pode-se afirmar que todas as amostras obtidas nos estabelecimentos comerciais no estado de Pernambuco deste estudo são impróprias para o consumo humano.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas são preocupantes para a saúde dos consumidores desse tipo de queijo quando se associa o número de UFC/g e a possibilidade de contaminação por *S. aureus*, este sendo a espécie de SCP de maior risco para saúde humana e

animal (Tabatabaei *et al.*, 2019). Quanto maior a contaminação por *Staphylococcus* spp., maior a possibilidade da presença de *S. aureus*. Sessenta por cento (18/30) das amostras de queijo deste estudo apresentaram valores iguais ou superiores a 10^5 UFC/g (Tab. 2), valor esse que é considerado de risco para a intoxicação dos consumidores (European Commission, 2005). Isso foi constado por Johler *et al.* (2015), em um surto de intoxicação alimentar provocado por enterotoxinas estafilocócicas em queijo elaborado com leite de cabra na Suíça. Segundo os autores, foram detectados valores de $6,7 \times 10^6$ UFC/g de *Staphylococcus* spp. O grau de contaminação nas amostras eleva o risco de intoxicação alimentar se os isolados de *S. aureus* possuírem genes codificadores de enterotoxinas e os expressarem na amostra (Seo e Bohach, 2007), além do risco de causar surtos de intoxicação alimentar (Johler *et al.*, 2015).

Dos 11 municípios estudados, 81,8% (9/11) tiveram pelo menos uma amostra contaminada por *S. aureus* (Tab. 3). Sugere-se que a não detecção de *S. aureus* nas amostras de queijo

coalho nos municípios A e C deva estar associada a melhores condições higiênico-sanitárias em relação aos demais municípios, no que concerne à obtenção do leite de cabra, à elaboração e manipulação do queijo, bem como à temperatura de conservação abaixo de 10°C durante o transporte e na comercialização. Picoli *et al.* (2006) relataram que a contaminação por *S. aureus* de queijos elaborados com leite caprino tem como principais responsáveis os manipuladores portadores de *S. aureus*, além de sanitizações inadequadas nos equipamentos e utensílios utilizados na elaboração do queijo caprino que os contaminam. Ainda, a contaminação do queijo coalho pode ocorre devido à veiculação de *S. aureus* através do leite de cabra com mastite (Mota, 2008).

A contaminação do queijo coalho caprino encontrada neste estudo é preocupante, pois está acima da frequência relatada em estudos realizados com leite caprino no Brasil, como descrito por Lyra *et al.* (2013), em cujo estudo, em 74 amostras de *Staphylococcus* spp. isolados em leite de cabra, apenas 9,46% (7/74) foram *S. aureus*, e por Ferreira *et al.* (2014), os quais, em estudo semelhante, analisaram 2.024 amostras de leite de cabra, obtendo uma frequência de 2,71% (55/2.024) de *S. aureus*.

A contaminação ou não das amostras por *S. aureus* em leite ou derivados pode estar associada à epidemiologia do agente infeccioso nos rebanhos de caprinos leiteiros (Mota, 2008), bem como à presença de manipuladores com lesões cutâneas e/ou portadores assintomáticos do agente, já que normalmente a contaminação de alimentos por *S. aureus* ocorre durante a manipulação direta dos alimentos, a higienização dos utensílios e no local de armazenamento dos queijos nos estabelecimentos (Ferreira *et al.*, 2010). Dos 30 estabelecimentos analisados, 70,0% (21/30) tiveram amostras contaminadas com *S. aureus* e apenas 19,0% (4/21) foram oriundos do Sertão Pernambucano (Tab. 3). Um fato observado nos estabelecimentos do Agreste, que pode ter favorecido a contaminação, foi o armazenamento inadequado dos queijos em refrigeradores marcando temperaturas acima de 10°C. Além disso, alguns desses queijos são produzidos no Sertão e muitas vezes são transportados de forma inadequada, em caixas isotérmicas sem refrigeração, para os

estabelecimentos comerciais na região Agreste, para comercialização.

Nos estabelecimentos do Sertão, em relação ao armazenamento dos queijos, importante causa de contaminação dos alimentos, não foram observadas irregularidades. No entanto, em ambas as regiões, foi verificado o uso dos mesmos utensílios para manipulação dos alimentos comercializados (produtos lácteos e cárneos); caso esses não sejam higienizados, podem contribuir para a contaminação cruzada entre os alimentos (Mürmann *et al.*, 2008).

A identificação e a confirmação de *S. aureus* nos queijos analisados seguindo apenas a metodologia proposta pela IN nº62/2003 podem gerar resultados falso-negativos (Brasil, 2003). Apesar de a legislação brasileira propor uma metodologia para enumeração de SCP no ágar *Baird-Parker* e identificação de *S. aureus* por meio da prova complementar de coagulase, esta pode ser falha na identificação de *S. aureus*, pois já se sabe que outras espécies de *Staphylococcus*, como *S. aureus* spp. *anaerobius*, *S. intermedius*, *S. hyicus* e *S. delphini*, também são coagulase positivos (Kloss, 1990). Dessa forma, para confirmar a presença de *S. aureus* nas amostras, também foi realizada uma análise de concordância entre os resultados obtidos na prova da coagulase e na técnica de PCR do gene *nuc*, que é referência mundial na identificação de *S. aureus* (Brakstad *et al.*, 1992).

Os resultados obtidos nesses testes de diagnóstico demonstram uma moderada concordância entre o teste da coagulase e a PCR, confirmando que a técnica molecular foi mais sensível para essa identificação (Tab. 4). Isso deve ter ocorrido devido à possibilidade de outras espécies de *Staphylococcus* coagulase positivo estarem sendo identificadas como *S. aureus* no teste da coagulase (Kloss, 1990). Além disso, outras espécies do gênero *Staphylococcus*, incluindo aqueles coagulase negativos, são apontadas como produtoras de enterotoxinas (Lyra *et al.*, 2013). Assim, é necessário revisar e atualizar a legislação brasileira quanto à confirmação de *S. aureus* somente por meio de prova fenotípica e incluir a pesquisa de outras espécies de *Staphylococcus*, com a finalidade de garantir um produto seguro para os consumidores.

CONCLUSÃO

O grau de contaminação das amostras de queijo coalho caprino por *Staphylococcus aureus* indica falhas na cadeia de obtenção do leite e de elaboração dos queijos. Os resultados obtidos sinalizam a necessidade de avaliação dos métodos empregados para análise de *S. aureus*, uma vez que a PCR se mostrou mais sensível na identificação, como também ações que visem à melhoria nas condições de elaboração do produto e que garantam o cumprimento das exigências higiênico-sanitárias previstas para os estabelecimentos que comercializam esse tipo de queijo nessa região.

REFERÊNCIAS

- AKBAS, M.Y.; KOKUMER, T. The prevention and removal of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk samples by citric acid treatments. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v.50, p.1666-1672, 2015.
- BRAKSTAD, O.; AASBAKK, K.; MAELAND, J.A. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J. Clin. Microbiol.*, v.30, p.1654-1660, 1992.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RDC nº12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acessado em: 23 fev. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acessado em: 5 abr. 2018.
- CORREIA, R.C.; MOREIRA, J.N.; ARAÚJO, J.L.P. *Cadeia produtiva de caprinos ovinos do vale do rio Gavião: elementos para tomada de decisão*. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido, 2001. 39p.
- DUARTE, D.A.M.; SCHUCH, D.M.T.; SANTOS, S.B. et al. Pesquisa de *Listeria Monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. *Arq. Inst. Biol.*, v.72, p.297-302, 2005.
- EUROPEAN COMMISSION. N° 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs Official Journal of the European Union, L 338/1, 2005. Available in: <https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Consol_Reg2073_2005.pdf>. Accessed in: 2 Abr. 2018.
- FAN, H.H.; KLEVEN S.H.; JACKWOOD M.W. Application of polymerase chain reaction with arbitrary primers to strain identification of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.*, v.39, p.729-735, 1995.
- FERREIRA, G.B.; OLIVEIRA, A.C.S.; MARSON, J.M.; TERRA, A.P.S. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo “Minas frescal” comercializados na região do triângulo mineiro. *Rev. Baiana Saúde Pública*, v.34, p.575-589, 2010.
- FERREIRA, D.H.; CARVALHO, M.G.X.; NARDELLI, M.J. et al. Occurrence of enterotoxin-encoding genes in *Staphylococcus aureus* causing mastitis in lactating goats. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.34, p.633-636, 2014.
- FIELD, A. *Descobrindo a estatística usando o SPSS*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- GOTTARDI, C.P.T.; MURICY, R.F.; CARDOSO, M.; SCHIMDT, V. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. *Cienc. Rural*, v.38, p.743-748, 2008.
- JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, v.54, p.384-388, 2015.

- JOHLER, S.; GIANNINI, P.; JERMINI, M. *et al.* further evidence for staphylococcal food poisoning outbreaks caused by egc-encoded enterotoxins. *Toxins*, v.7, p.997-1004, 2015.
- KATEETE, D.P.; KIMANI, C.N.; KATABAZI, F.A. *et al.* Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrobiol.*, v.9, p.23-29, 2010.
- KLOSS, W.E. Systematics and natural history of staphylococci. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Sup.*, v.69, p.25S-37S, 1990.
- LANDIS, J.R.; KOCH, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, v.33, p.159-174, 1977.
- LYRA, D.G.; SOUSA, F.G.C.; BORGES, M.F. *et al.* Enterotoxin-encoding genes in *Staphylococcus* spp. from bulk goat milk. *Foodborne Pathog. Dis.*, v.10, p.126-130, 2013.
- MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. *Rev. Tecnol. Ciênc. Agropecu.*, v.2, p.57-61, 2008.
- MÜRMANN, L.; SANTOS, M.C.; LONGARAY, S.M. *et al.* Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul. Brazil. *Braz. J. Microbiol.* v.39, p.529-534, 2008.
- NECIDOVÁ, L.; ŠTÁSTKOVÁ, Z.; POS PÍSILOVÁ, M. *et al.* Influence of soft cheese technology on the growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. *Czech. J. Food Sci.*, v.27, p.127-133, 2009.
- ONEN, S.P.; CANTEKIN, Z.; MEBKHOUT, F. *et al.* Investigation into toxin and slime genes in staphylococci isolated from goat milk and goat cheese in southern Turkey. *Thai J. Vet. Med.*, v.48, p.339-346, 2018.
- PICOLI, S.U.; BESSA, M.C.; CASTAGNA, S.M.F. *et al.* Quantificação de Coliformes, *Staphylococcus aureus* e Mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v.26, p.64-69, 2006.
- PRODUÇÃO da pecuária municipal. Rio de Janeiro: IBGE, v.43, p.23, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acessado em: 5 abr. 2018.
- PRODUCTION: live animals, livestock primary, livestock processed; trade: countries by commodity (imports and exports) 2012. FAO. Available in: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Accessed in: 5 Jan. 2018.
- RALL, V.L.M.; VIEIRA, F.P.; RALL, R. *et al.* PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strain isolated from raw and pasteurized milk. *Vet. Microbiol.*, v.132, p.408-413, 2008.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. p.221, 1998.
- SEO, K.S.; BOHACH, G.A. IN: DOYLE M, MONTVILLE T. *Staphylococcus aureus*. editors. Washington, D.C: ASM Press. Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers, p.493-518, 2007.
- STINGHEN, A.E.M.; ALBINI C.A.; SOUZA, H.A.P.H.M. *Coloração de Gram: como fazer, interpretar e padronizar*. Curitiba: Microscience, 2002. p.70.
- TABATABAEI, S.; NAJAFIFAR, A.; ASKARI BADOUEI, M. *et al.* Genetic characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in pets and veterinary personnel in Iran: new insights into emerging methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, v.16, p.6-10, 2019.
- XING, X.; ZHANG, Y.; WU, Q. *et al.* Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goat milk powder processing plants. *Food Control*, v.59, p.644-650, 2016.