

CONTAMINAÇÃO POR BACTÉRIAS PATOGÊNICAS NA OBTENÇÃO DE LEITE E PRODUÇÃO DE QUEIJOS TIPO MINAS FRESCAL ELABORADOS A PARTIR DE LEITE CRU REFRIGERADO

Laryssa Freitas Ribeiro^{1*}, Rafael Akira Sato², Andressa de Souza Pollo², Luiz Augusto do Amaral²

RESUMO

O queijo tipo Minas frescal elaborado a partir de leite cru possui alto valor nutritivo, no entanto, por ser um alimento cru, em determinadas condições, este queijo pode veicular uma série de bactérias patogênicas. Assim, a fim de dimensionar os riscos de veiculação bacteriana em tal tipo de alimento, este estudo objetivou fazer uma revisão bibliográfica de importantes bactérias patogênicas que podem ser detectadas na produção de queijos tipo Minas frescal. Portanto, como os alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de serem contaminados pelo uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, além da falta de informação e de treinamento das pessoas que fabricam e manuseiam tais alimentos, as práticas higiênicas devem ser observadas com rigor, para prevenir uma possível contaminação do produto.

Palavras-chave: *E. coli*, *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus*, MRS, saúde pública

ABSTRACT

Minas Frescal cheese made from raw milk has a high nutritional value, however, as it is a raw food, under certain conditions, this cheese can carry a series of pathogenic bacteria. Thus, in order to measure the risks of bacterial transmission in such a type of food, this study aimed to make a bibliographic review of important pathogenic bacteria that can be detected in the production of Minas Frescal cheese. Therefore, as food obtained through artisanal processes has a high chance of being contaminated by the use of raw materials from unsafe sources, poorly sanitized or contaminated utensils, in addition to the lack of information and training for the people who manufacture and handle such food, hygienic practices must be strictly observed to prevent possible contamination of the product.

Keywords: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, MRS, public health

1-¹Centro Universitário Mário Palmério (UniFucamp), Av. Brasil Oeste, s/n, Jardim Zenith, Monte Carmelo, MG, Brazil, CEP 38500-000

2-UNESP – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de acesso Paulo Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, Brazil, CEP 14884-900

1. Introdução

O setor de produção de leite exerce enorme importância econômica e social por ser um gerador de empregos. Mesmo as pequenas propriedades rurais, muitas vezes familiares, possuem grande relevância social tanto pelo número de famílias envolvidas quanto pelo volume de leite produzido. Muitos agricultores sobrevivem integralmente da renda gerada pela atividade leiteira (CARVALHO; OLIVEIRA, 2006) e, para complementar esta renda, investem na produção clandestina de queijos, elaborados a partir de leite cru. A produção destes queijos geralmente é tradicional, passado de geração em geração em muitas regiões brasileiras. E esta diferencia-se da produção industrial pela não utilização de processos mecanizados e pela ausência de pasteurização do leite (EMBRAPA, 2011).

O queijo tipo Minas frescal elaborado a partir de leite cru possui alto valor nutritivo, proteínas, matéria graxa, cálcio e fósforo (ALAIS, 2003). No entanto, por ser um alimento cru, em determinadas condições, este queijo pode veicular uma série de bactérias patogênicas, tais como aquelas pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. A presença de tais bactérias pode indicar contaminação fecal e falta de higiene na elaboração do queijo (HOFFMANN et al., 2004).

Em geral, a presença de microrganismos patogênicos em alimentos deve ser avaliada a fim de se conhecer as condições higiênico-sanitárias da sua produção e, conseqüentemente, da sua qualidade (CARDOSO; ARAÚJO, 2004). Além da contaminação microbiológica, a ingestão de alimentos contendo resíduos de fármacos antimicrobianos pode selecionar microrganismos resistentes que também podem ser utilizados no tratamento de enfermidades infecciosas em seres humanos (MANTILLA et al., 2008; RAPINI et al., 2004). Já foi comprovado que alimentos de origem animal servem como veículo de patógenos resistentes a antimicrobianos que podem, direta ou indiretamente, resultar em infecções em humanos (BARBOSA; JORGE; UENO; 2007).

O queijo tipo Minas frescal elaborado a partir de leite cru faz parte da cultura brasileira, não somente do estado de Minas Gerais, como também de outras regiões do País. Neste contexto, a região de Jaboticabal, no estado de São Paulo, possui várias propriedades que produzem esse tipo de queijo que é comercializado nas próprias propriedades, em supermercados, varejões ou por vendedores ambulantes, tratando-se, assim, de uma economia significativa.

Dada a importância social, cultural e econômica dos queijos elaborados a partir de leite cru e do alto risco de veiculação de microrganismos que tal alimento possui, muitos resultados de pesquisas foram publicados nos últimos anos (GAULIN et al., 2012; VAN CAUTEREN et al., 2009; DOMINGUEZ et al., 2009). Entretanto, grande parte dos estudos visam a identificação de microrganismos por técnicas de microbiologia clássica e testes bioquímicos, os quais podem falhar na identificação acurada de espécies microbianas. Dessa forma, estudos moleculares fazem-se imprescindíveis para a correta identificação de espécies bacterianas e suas relações genéticas. Assim, a fim de dimensionar os riscos de veiculação bacteriana em tal tipo de alimento, este estudo objetivou fazer uma revisão bibliográfica de importantes bactérias patogênicas que podem ser detectadas na produção de queijos tipo Minas frescal.

2. Revisão de literatura

2.1. Leite e a produção de queijo Minas frescal

O leite é considerado um dos alimentos mais ricos nutricionalmente devido à sua composição proteica, de vitaminas e sais minerais, podendo ser consumido na forma original ou como

derivados. Devido à sua composição, este importante alimento constitui um excelente meio de cultura para microrganismos (CHYE et al., 2004). Dessa forma, a obtenção do leite deve ser realizada com máxima higiene e o armazenamento deve ser em baixa temperatura, ao longo de toda a cadeia produtiva, visando garantir suas características físicas, químicas, nutricionais (BONFOH et al., 2003) e, conseqüentemente, a qualidade de seus derivados.

O queijo é um dos alimentos processados mais antigos registrados na história da humanidade. Acredita-se que tenha sido originado na região entre os rios Tigre e Eufrates, no Iraque, há aproximadamente 8.000 anos, época na qual os animais começaram a ser domesticados (FOX, 1993). Os queijos contribuíram significativamente para o desenvolvimento das civilizações. Historicamente, este alimento permitiu a sobrevivência de populações em períodos de fome e forneceu nutrientes vitais à boa saúde, tornando-se, então, desejável na dieta humana diária (KOSIKOWSKY, 1970).

Na antiguidade clássica, povos da Grécia e do Império Romano testemunharam a produção de queijos. Esta era feita, em Roma, pela adição do *coagulum*, extraído do quarto estômago de cordeiro ou cabrito, ao leite. O leite coagulado era, então, espremido para a retirada do soro, salpicado e deixado endurecer ao sol. Atribui-se, então, aos romanos a consolidação da produção de queijos, segundo normas de qualidade e técnicas de produção, o que garantiu ao produto prestígio de alimento nobre (KOSIKOWSKY, 1970).

Posteriormente, durante a Idade Média, a Igreja Católica começou a participar mais ativamente da economia da Europa Ocidental, principalmente com a produção de queijos realizada em mosteiros. Os monges introduziram inovações na fabricação do produto, sendo responsáveis pelo desenvolvimento de muitos tipos de queijo comercializados atualmente (KOSIKOWSKY, 1970).

Já no Brasil, a produção de queijos foi introduzida pelos imigrantes portugueses, no período colonial, com o queijo tipo “Serra da Estrela”, e posteriormente sofreu adaptações devido às condições ambientais de cada região, criando-se o queijo fresco (BORELLI et al., 2006; LIMA et al., 2009). Este é um dos principais derivados do leite no país, e é, em sua maioria, produzido de forma artesanal por pequenos produtores (SALOTTI et al., 2006). No processo de fabricação do queijo, enzimas de coagulação desestabilizam micelas de caseína do leite, e essas são retidas nas proteínas da coalhada, a qual é usada para a fabricação do queijo. Além disso, proteínas menores, hidrossolúveis, são expelidas para a fase aquosa, o soro de leite (CHROMIK et al., 2010).

Desde 2002, o queijo artesanal tem uma legislação específica que regulamenta a sua produção no Estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2002) e posteriormente, em 2008, sua produção foi reconhecida como patrimônio imaterial Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN). No Estado de São Paulo, a lei 10.507, de 2000 (BRASIL, 2000), estabelece normas para a elaboração do queijo tipo Minas frescal e sua comercialização e a Instrução Normativa 16/2015 do MAPA (BRASIL, 2015), estabelece as normas específicas de inspeção e a fiscalização sanitária de produtos de origem animal em todo o território nacional, referente às agroindústrias de pequeno porte.

Devido ao fato de os queijos terem grande significado social, econômico e cultural, e serem tradicionalmente feitos a partir de leite cru, as questões relacionadas com a sua segurança, qualidade e proveniência são preocupantes e visam a proteção dos produtores e consumidores. Os alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de serem contaminados pelo uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados (DUARTE et al., 2005; LEITE et al., 2005). Além disso, a falta de informação e de treinamento das pessoas que fabricam e manuseiam tais alimentos pode acarretar em contaminação por diversos microrganismos, comprometendo a qualidade e a segurança da saúde do consumidor. Por esse motivo, as práticas higiênicas devem ser

observadas com rigor, para prevenir uma possível contaminação do produto. Ademais, o queijo não maturado é um produto perecível e deve ser consumido rapidamente, após curta estocagem e em ambiente refrigerado (LOGUERCIO; ALEIXO, 2001; FEITOSA et al., 2003; SALOTTI et al., 2006; ROCHA; BURITI; SAAD, 2006), caso contrário pode não ser seguro para o consumidor.

Assim, tratando-se de segurança e qualidade de queijos, é importante que o controle de qualidade comece desde a obtenção do leite e envolva todas as etapas de produção, até o produto final. Falha em qualquer fase do processo poderá resultar em contaminação do alimento, que, mesmo apresentando aparência, gosto, consistência e aroma normais, pode veicular diversos microrganismos patogênicos. Dependendo do microrganismo, os primeiros sintomas são evidenciados nas primeiras 36h após o consumo do alimento contaminado (OKURA, 2005). Em países industrializados, o leite e os produtos lácteos estão envolvidos em 2 a 6% de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) relacionados à ingestão de alimentos (CLAEYS et al., 2013).

São importantes causas de DTAs e transmissão de zoonoses os contaminantes de origem exógena, incluídos os microrganismos como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, entre outros. Portanto, a grande preocupação é impedir que esses microrganismos estejam associados à matéria-prima e se multipliquem no alimento (GERMANO; GERMANO, 2008).

Em Minas Gerais, por exemplo, estado com alta produção de queijos elaborados a partir de leite cru no país, Menezes et al. (2009) pesquisaram a qualidade microbiológica deste alimento. Das amostras analisadas, 57% estavam acima dos limites microbiológicos exigidos pela legislação em um ou mais parâmetros. Populações inaceitáveis de *Staphylococcus* coagulase-positivos e coagulase-negativos foram registradas em 42,5% e 51,7% das amostras, respectivamente. Segundo os autores, essa condição é indesejável, uma vez que o queijo Minas tipo Minas frescal não passa por tratamento que vise eliminar esses microrganismos nocivos à saúde pública.

Dessa forma, o queijo tipo Minas frescal constitui-se em risco para a saúde pública e necessita ter sua qualidade microbiológica atestada, principalmente no que diz respeito à pesquisa de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas prejudiciais à saúde humana (FERNANDES et al., 2006).

2.2. Bactérias Gram-negativas veiculadas por leite e derivados

2.2.1. *Escherichia coli*

No Brasil, tem-se evidenciado a presença de microrganismos patogênicos em queijos produzidos a partir de leite cru, sendo amplamente reconhecida a presença de coliformes termotolerantes no produto em vários estudos realizados em diferentes locais, como em Poços de Caldas, MG, por Almeida Filho e Nader Filho (2002), em cidades do interior do Paraná, por Kottwitz e Guimarães (2003), na cidade do Rio de Janeiro, por Barros et al. (2004), em Três Passos, MG, por Almeida e Franco (2003), e no Estado de Goiás, por Campos et al. (2006). Esses estudos mostraram a presença de coliformes nos alimentos, porém nenhum deles aprofundou suas pesquisas em busca de isolados de *E. coli* potencialmente patogênicas e no estudo epidemiológico desses microrganismos.

A presença de *E. coli* nos alimentos em quantidades elevadas é utilizada para indicar a possibilidade de contaminação fecal e a presença de outras bactérias enteropatogênicas. Entretanto, alguns grupos de *E. coli* são patogênicos e podem ser transmitidos por alimentos. Assim, mesmo em quantidades reduzidas, podem tornar-se significativas, em especial quando

as condições do meio no qual se encontram permitem sua multiplicação (FRANCO; LANDGRAF, 2002), como acontece com o leite e seus derivados.

No mundo, alguns surtos de *E. coli* diarreio gênicas foram descritos pelo consumo de leite ou derivados cru. Liptakova et al. (2004) relataram um surto de colite hemorrágica ou síndrome hemolítica urêmica causada por *E. coli* O157, que se encontrava em leite não pasteurizado consumido por uma família na Eslováquia. Galia et al. (2015) descreveram um surto por *E. coli* O26:H11 proveniente de queijos elaborados a partir de leite cru na França, e Ombarak et al. (2016) relataram uma alta prevalência de amostras de *E. coli* patogênicas em leite e queijo cru em alguns países como no Egito. Além disso, foram descritos estudos em países como Canadá (HONISH et al., 2005), Estados Unidos (WILLIAM, 2011) e Escócia (STRACHAN et al., 2006), também com leite e derivados. Um estudo prévio feito com 50 queijos produzidos a partir de leite não pasteurizado no Meio Oeste do Brasil detectou 96% das amostras contaminadas com *E. coli* (PANETO et al., 2007).

E. coli associadas à infecção intestinal e causadoras de diarreia em humanos são conhecidas como *E. coli* diarreio gênicas e são classificadas em seis classes: *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC), subdividida em EPEC típicas e atípicas (tEPEC e aEPEC), shigatoxigênica (STEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroagregativa (EAEC), enteroinvasiva (EIEC) e *Escherichia coli* de aderência difusa (DAEC) (KAPER et al., 2004).

Os diferentes grupos de *E. coli* diarreio gênicas podem estar presentes em derivados de leite, como reportado no México por Canizalez-Roman et al. (2013). De um total de 669 produtos de laticínios analisados, detectou-se 2,84% de *E. coli* diarreio gênicas e, entre essas, 68,42% EPEC, 10,52% EAEC, 15,78% STEC e 5,26% ETEC.

Sabe-se que a dose infectante de STEC é de 10 UFC em pessoas susceptíveis (SCHMID-HEMPEL; FRANK, 2007), então, para um queijo ser seguro à saúde humana, nenhuma STEC deve estar presente. Por isso há tamanha importância no controle de STEC, não somente na produção de leite como também em todas as etapas de fabricação do queijo.

Outros dois grupos em destaques são EPEC e EAEC, que em São Paulo, são as categorias de *E. coli* mais comumente associadas a diarreia infantil (ARAÚJO et al., 2007). Apesar disso, ainda existem poucos estudos com o subgrupo aEPEC (BORGES et al., 2012; STELLA et al., 2012), sendo assim fazem-se necessárias mais pesquisas com o objetivo de detectar estes patótipos em alimentos.

Além disso, existem as *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC), cuja denominação mais frequentemente empregada se refere ao seu sítio de isolamento e não às características que definem um patótipo, particularmente com relação ao conjunto de fatores de virulência que possuem. Dessa forma, as amostras isoladas de infecções urinárias são conhecidas como UPEC (*E. coli* Uropatogênica) e aquelas isoladas de pacientes com meningite como MNEC (*E. coli* associada à meningite neonatal) (SANTOS et al., 2009). As infecções extraintestinais podem acometer o trato urinário, o sistema nervoso central, o sistema circulatório e o sistema respiratório (RUSSO; JOHNSON, 2000). Sabe-se que isolados de um determinado sítio podem causar infecções em outros sítios do hospedeiro e até mesmo em hospedeiros diversos. Devido a tais incongruências, os autores Russo e Johnson (2000) propuseram a denominação de ExPEC, visando englobar todas as amostras de *E. coli* isoladas de infecções extraintestinais, independentemente do hospedeiro e do sítio de isolamento.

A infecção por ExPEC não ocorre de forma epidêmica, mas sim de forma discreta, causando somente um leve comprometimento do hospedeiro. Devido à isso, não há tantas notificações deste grupo (JOHNSON; RUSSO, 2002). Entretanto, cepas de ExPEC já foram isoladas de produtos alimentícios, principalmente de alimentos de origem animal, indicando que tais bactérias constituem uma classe de patógenos alimentares em potencial (SMITH et al., 2007).

Análises de grupos filogenéticas de *E. coli* mostraram que os isolados pertenciam a quatro principais grupos: A, B1, B2 e D (SELANDER et al., 1987; HERZER et al., 1990). As amostras extraintestinais com fatores de virulência pertencem principalmente ao grupo B2 e em menor quantidade ao grupo D (BINGEN et al., 1998; BOYD; HARTL, 1998; PICARD et al., 1999; JOHNSON; STELL, 2000), enquanto a grande maioria das comensais pertencem ao grupo A. *Escherichia coli* pertencentes ao grupo D, e em sua maioria ao grupo B2, tem sido relacionadas com doenças extraintestinais, e as comensais e as causadoras de doença diarreica são membros do grupo A, B1, e D (LECOINTRE et al., 1998; GIRARDEAU et al., 2005; REGUA-MANGIA et al., 2009). Essa análise mostra, ainda, a origem da contaminação fecal, como por exemplo bovinos, humanos, suínos, entre outros (CARLOS et al., 2010).

Ademais, a identificação do sorogrupo ao qual pertencem os isolados de *E. coli* tem importância pois alguns ocasionam doenças em humanos. Por exemplo, Paneto et al. (2007) encontraram os sorogrupos O125, O111, O55 e O119 em 14% de amostras de queijos elaborados com leite cru. Tais sorogrupos foram relatados como envolvidos em doenças humanas (KAPER et al., 2004).

Além do conhecimento do grupo filogenético e do sorogrupo das *E. coli*, é de suma importância, a pesquisa da sua resistência a antimicrobianos. Alimentos de origem animal servem como fonte de patógenos resistentes a antimicrobianos que podem, direta ou indiretamente, resultar em infecções por microrganismos resistentes em humanos (BARBOSA; JORGE; UENO; 2007). No Estado do Paraná, Brasil, por exemplo, 260 amostras de leite pasteurizado foram coletadas em diferentes estabelecimentos comerciais e foram encontrados 47 isolados de *E. coli*, com altos níveis de resistência a agentes antimicrobianos como ampicilina (19,2%), cefalotina (18,9%) e tetraciclina (17,1%) (ZANELLA et al., 2010). Um outro estudo, também no Brasil, mostrou que os grupos beta-lactâmicos são os antimicrobianos mais usados no tratamento para infecções em gado leiteiro, representando 38,22% do total de todos os antibióticos, seguidos pelos aminoglicosídeos (25,19%) e pela tetraciclina (15,41%) (NETTO et al., 2005).

Uma pesquisa que abordou o estudo de frangos e suínos, suas respectivas carnes, humanos saudáveis e pacientes com infecções no trato urinário (ITU) mostrou que os isolados de *E. coli* foram resistentes a ampicilina, estreptomicina e tetraciclina e que a resistência dos isolados provenientes de pacientes com ITU foi similar à daqueles isolados de diferentes tipos de carne e dos animais. Tais resultados indicaram que os alimentos e os animais constituem uma fonte de patógenos resistentes para os pacientes com ITU e para a comunidade em geral (JAKOBSEN et al., 2010).

Além disso, estudos epidemiológicos têm sido utilizados para estabelecer a origem das contaminações dos alimentos, utilizando técnicas de tipagem bacteriológica, pelas quais estabelecem-se relações genéticas entre isolados de diferentes pontos da cadeia produtiva de alimento, animais, manipuladores, equipamentos, entre outros (FOXMAN; RILEY, 2001). Origens clonais comuns entre isolados bacterianos de animais e seres humanos podem identificar animais como fontes de infecção de diferentes patógenos. Para isso, uma técnica que pode ser empregada no estudo de clones é a realização da macrorrestrrição do DNA, seguida pela passagem em gel de agarose por eletroforese em campo pulsado (pulsed field gel electrophoresis - PFGE). Essa técnica é altamente reprodutível, e seu desempenho é igual ou superior ao de outras técnicas disponíveis, sendo aplicada com êxito por um grande número de pesquisadores, principalmente para a tipagem de *E. coli*, sendo esta técnica a mais indicada para este microrganismo (BIDET et al., 2005).

Não obstante, atualmente outros métodos moleculares também têm sido empregados para a tipagem de *E. coli*, dentre eles o “Multilocus Sequence Typing” (MLST). Esta técnica baseia-se no sequenciamento de alguns genes essenciais ao funcionamento da célula, com baixa taxa

de mutação, chamados genes *housekeeping*. Após o sequenciamento dos isolados bacterianos de interesse, as sequências desses genes são alinhadas à demais sequências depositadas em um banco de dados. Para cada gene “*housekeeping*”, sequências diferentes de cada estirpe bacteriana são consideradas alelos distintos e recebem arbitrariamente um número para identificação daquele alelo. O conjunto de alelos de cada amostra bacteriana dá origem ao perfil alélico ou *sequence typing* (ST), que é utilizado para análises filogenéticas de patógenos bacterianos. Tal técnica possibilita a análise comparativa da diversidade genética de bactérias isoladas em diferentes partes do mundo. (MAIDEN et al., 1998; URWIN; MAIDEN, 2003).

2.3. Bactérias Gram-positivos veiculadas por leite e derivados

2.3.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é ubíqua, prevalente em ambientes naturais, e é transmitida na cadeia alimentar de animais e seres humanos, podendo causar morte (JANA et al., 2014). Essa capacidade de ser ubíqua relaciona-se, com a sua capacidade de se multiplicar sob uma ampla faixa de temperatura e sob estresse, tais como pH baixo e alta concentração de sal (INDRAWATTANA; NIBADDHASOBON, 2011). *Listeria monocytogenes* é portadora de genes de virulência, como da fosfolipase (gene *plcA*), de hemolisina (gene *hly*) e gene da invasão à proteína celular (*iap*) (RANTSIOU et al., 2012).

Um trabalho sobre a ecologia de *Listeria* spp. levou os autores a proporem que este microrganismo está amplamente distribuído na natureza e que o solo é um habitat importante para persistência deste gênero bacteriano no mundo (LINKE et al., 2014). Por estar amplamente distribuída no ambiente, *L. monocytogenes* foi descrita sendo veiculada por diferentes alimentos, destacando-se os produtos lácteos, leite cru ou pasteurizado, sorvetes e queijos (GERMANO; GERMANO, 2008), podendo resistir até mesmo à pasteurização do leite (QUINN et al., 2005).

Listeria monocytogenes é um dos principais patógenos envolvidos em surtos pela ingestão de leite e produtos lácteos (KOUSTA et al., 2010). Segundo Silva et al. (2010) *L. monocytogenes* é um dos microrganismos que é patogênico e psicrotrófico. Além disso, em número elevado são responsáveis pela redução da vida de prateleira dos alimentos refrigerados, por constituírem grupos deterioradores (BARTOLOMEU et al., 2011). Normalmente, estão amplamente difundidos na natureza e se multiplicam em alimentos conservados sob refrigeração (0-7°C), no prazo de 7 a 10 dias, mas apresentam temperatura ótima em torno de 20°C (SILVA et al., 2010).

A listeriose é uma doença que acomete principalmente idosos, recém-nascidos, gestantes e pessoas imunocomprometidas (FRECE et al., 2010). Os principais sintomas podem variar desde uma gripe à gastroenterite, meningite, encefalite e até mesmo septicemia (este microrganismo, na sua forma invasiva, atravessa a barreira intestinal, podendo alcançar diversos órgãos) e, em mulheres grávidas infectadas no segundo ou terceiro mês de gestação pode causar aborto, nascimento prematuro ou nascimento do bebê já morto (FORSYTHE, 2010).

Em todo o mundo, 261 casos clínicos e 18 mortes foram causadas por surtos de listeriose associada ao consumo de leite cru ou queijo de leite cru de 2000 a 2010 (HALL; FRENCH, 2011).

Destes 2500 casos graves de listeriose relatados nos Estados Unidos anualmente, aproximadamente 500 evoluíram para óbito (a letalidade pode chegar a 40% em pessoas com mais de 50 anos) (GERMANO; GERMANO, 2008). Nos casos de meningites, essa taxa pode atingir 70%, em quadros de septicemia 50% e, em infecções neonatais a letalidade pode ser

superior a 80%. Além disso, as gestantes devem ter cuidado com a ingestão de certos alimentos, pois, nesta situação, a listeriose pode causar sintomas brandos, como os de uma gripe, porém o feto pode ser infectado pela via placentária, podendo ocorrer morte fetal e aborto. A taxa de letalidade em lactentes, associada a esse tipo de infecção, é de cerca de 60%. Assim, a listeriose deixou de ser uma doença de pouca importância e passou a ser causa de grande preocupação tanto para as autoridades da saúde quanto para a indústria alimentícia (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Além de *L. monocytogenes*, há relatos de algumas infecções humanas ocasionais causadas por *L. innocua* (PERRIN et al., 2003), *L. seeligeri* (ROCOURT et al., 1986) e *L. ivanovii* (GUILLET et al., 2010).

No Brasil, Delgado da Silva et al. (1998) encontraram genes de *L. monocytogenes* em 7 de 17 (41%) das amostras de queijos Minas frescal elaborados a partir de leite cru e também em 1 de 33 (3%) de queijos Minas frescal elaborados a partir de leite pasteurizado. Outra pesquisa mostrou a presença de *L. monocytogenes* em 10% das amostras de queijo Minas frescal de uma das dez marcas testadas, e nenhuma positividade foi encontrada nas 50 amostras de leite avaliadas (BRITO et al., 2008). Apesar da baixa prevalência, este importante patógeno pode encontrar-se presente nos alimentos de origem animal.

O Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo orienta que a ocorrência de surtos de listeriose requer a notificação imediata às autoridades de vigilância epidemiológica municipal, regional ou central, dentre outras medidas que devem ser aplicadas (Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2003). Não há muitos relatos de surtos envolvendo *L. monocytogenes*, o que pode estar relacionado à falta de diagnóstico ou à falta de notificação às autoridades.

Em 2009, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) elaborou a Instrução Normativa N° 9, de 9 de abril, que visa a aplicação dos procedimentos de controle de *L. monocytogenes* em produtos prontos para o consumo (BRASIL, 2009), o que mostra a importância do estudo deste patógeno em queijos produzidos a partir de leite cru.

2.3.2. *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus spp. podem estar associados à intoxicação alimentar pela ingestão de diferentes alimentos (LE LOIR; BARON; GAUTIER, 2003). Leite cru e derivados lácteos, como queijos, são os alimentos mais associados a casos e surtos de intoxicação alimentar estafilocócica (CENCI-GOGA et al., 2003). Tais quadros de intoxicação alimentar estão associados à ingestão de alimentos que foram extensamente manipulados durante ou após o seu preparo e que, além disso, foram acondicionados em temperaturas inadequadas, favorecendo assim a multiplicação do microrganismo e a produção de enterotoxinas (de SANTANA et al., 2010).

Os principais sintomas da intoxicação estafilocócica são náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça e, em alguns casos, quadros febris ou de hipotermia. Em uma compilação realizada com pacientes acometidos por intoxicação estafilocócica, observou-se que o sintoma mais recorrente foi vômito (82%), seguido de náusea (74%), diarreia aquosa (68%) e dores abdominais (64%) (SEO; BOHACH, 2007). O período de incubação varia de 30 min a 8h, sendo em média de 2 h após a ingestão do alimento contaminado, com cura espontânea após 24h (DINGES et al., 2000; LE LOIR; BARON; GAUTIER., 2003). A taxa de letalidade é muito baixa, sendo mais preocupante quando há o acometimento de indivíduos idosos e crianças, devido à possível ocorrência de quadros de desidratação severa (BALABAN; RASOOLY, 2000).

De maneira geral, a intoxicação alimentar estafilocócica é considerada uma doença subnotificada. Devido ao caráter autolimitante da doença, que provoca sintomatologia branda

e de curta duração, os casos e surtos desse tipo de intoxicação raramente levam as pessoas envolvidas a procurarem tratamento clínico, fazendo com que o índice de hospitalização, e consequente notificação, seja relativamente baixo. No Brasil, os dados oficiais são ainda mais limitados, pois, além de ser considerada uma doença de notificação não compulsória, estudos que determinam a incidência dos variados tipos de enterotoxinas e o caráter endêmico e/ou epidêmico da doença ainda são considerados escassos em algumas regiões do país. Além disso, o frequente erro de diagnóstico dos profissionais de saúde, equívocos na coleta das amostras para testes laboratoriais e as investigações epidemiológicas inadequadas ou inconclusivas acabam por agravar este panorama (DIAS et al., 2011).

2.3.2.1. *Staphylococcus aureus*

Os produtos derivados de leite cru podem conter uma alta percentagem de contaminação com *Staphylococcus aureus* (CREMONESI et al., 2007; ROSENGREN et al., 2010). No Brasil, em 1999, houve um surto de intoxicação alimentar por *S. aureus* envolvendo 50 pessoas pela ingestão de queijo tipo Minas contaminado (do CARMO et al., 2002). Também, na Suíça, em 2014, foi relatado um surto de intoxicação alimentar por *S. aureus* envolvendo 14 pessoas (JOHLER et al., 2015). Na França, entre 2006 e 2009, 3.127 surtos de intoxicação alimentar foram reportados às autoridades sanitárias, com acometimento de 33.404 pessoas, dentre as quais 15 foram a óbito. *S. aureus* foi o segundo agente mais prevalente nesses surtos (16%), ficando atrás somente de *Salmonella* spp.. No entanto, *S. aureus* foi considerado o agente mais frequentemente associado aos casos suspeitos e não confirmados de intoxicação alimentar (37,9%). Nesse mesmo estudo, em 2009, as enterotoxinas estafilocócicas foram mais frequentemente associadas à ocorrência de 1.255 surtos de intoxicação alimentar (DELMAS et al., 2010). Em ambos os relatos, os locais de origem dos surtos de intoxicação estafilocócica foram predominantemente ambiente familiar e estabelecimentos comerciais, enquanto os alimentos mais associados foram refeições prontas para o consumo e derivados lácteos.

A presença de *S. aureus* em queijos produzidos a partir de leite cru é uma preocupação de segurança microbiológica somente quando em população maior do que 10^2 UFC/g e/ou quando produz enterotoxinas. As enterotoxinas estafilocócicas são reconhecidas como agentes de intoxicação alimentar e podem estar envolvidas em outros tipos de infecções com sequelas de choque em seres humanos e animais. São nove principais tipos de enterotoxinas estafilocócicas, sendo que as cinco clássicas são *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* e as outras quatro *seg*, *seh*, *sei* e *sej*. A *sec* ainda é subdividida em três subclasses *sec1*, *sec2* e *sec3*, com base em seus pontos isoelétricos (ROSEC; GIGAUD, 2002). Entre as toxinas, *sed* foi a única encontrada em isolados de *S. aureus* de queijos feta e Galotti, ambos produzidos a partir de leite cru de ovinos (PEXARA et al., 2012).

Uma investigação epidemiológica demonstrou, com o auxílio de técnicas moleculares, a primeira ocorrência de um surto alimentar causado pela enterotoxina E, veiculada através de queijos produzidos com leite cru (OSTYN et al., 2010). Um surto alimentar de proporções muito elevadas ocorreu na cidade de Osaka, no Japão, em 2000, com acometimento de 13.420 pessoas, devido ao consumo de leite em pó contaminado com pequenas quantidades de *sea* e *seh* (ASAO et al., 2003; IKEDA et al., 2005). No Paraguai, um surto de intoxicação alimentar causado pela ingestão de leite UAT recontaminado, após o processamento térmico, com *S. aureus* produtor de *sec* e *sed* foi divulgado abrangendo três cidades distintas e afetando mais de 400 pessoas. Neste surto, foi possível verificar a similaridade genética, a capacidade de produção de enterotoxinas *in vitro* e a presença dos genes correspondentes nos isolados de *S.*

aureus obtidos dos indivíduos acometidos pela intoxicação, do alimento incriminado e do funcionário responsável pela origem do surto (WEILER et al., 2011).

2.3.2.2. *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (MRS)

Staphylococcus spp. resistentes à meticilina (MRS) representam risco à saúde pública, pois o uso indiscriminado da meticilina proporcionou a emergência de estirpes resistentes à recém-sintetizada penicilina beta-lactamase precursora do grupo da meticilina e oxacilina. A espécie MRS mais citada é o *Staphylococcus aureus* (MRSA). A detecção da MRS em unidades veterinárias de diferentes países (VAN DUIJKEREN et al., 2004; WEESE et al., 2004) e a probabilidade de transmissão entre os animais e o ser humano (JUHA'SZ-KASZANYITZKY et al., 2007) demonstraram a importância de monitorar tais microrganismos e o seu nível de resistência antimicrobiana.

Embora as linhagens de MRSA não sejam comumente relatadas em animais, sua presença tem sido reportada (RICH et al., 2005). De 90 isolados de *S. aureus* presentes no leite obtido de animais com casos de mastite bovina, 41 apresentaram o gene *mecA*, evidenciando a potencial resistência à meticilina e, dentre os isolados positivos, 21 apresentaram de fato resistência à meticilina no teste de sensibilidade *in vitro* (GUIMARÃES, 2011). A presença desta espécie bacteriana em animais pode ser fonte de contaminação do leite e de seus derivados.

Isolados MRSA obtidos de vários tipos de alimentos, incluindo carne de suínos, bem como no leite bovino e queijo (NORMANNO et al., 2007; PEREIRA et al., 2009.; PU et al., 2009). Normanno et al. (2007), por exemplo, obtiveram 166 isolados de *S. aureus* enterotoxigênicos de alimentos de origem animal (leite, queijos, carne e derivados de carne), e destes, seis isolados de amostras de leite e queijos apresentaram o gene *mecA*. Lee (2003) também encontrou 15 estirpes de *S. aureus* contendo o gene *mecA*, sendo a maioria isolada de leite. O autor concluiu que alimentos de origem animal contaminados representam fonte de contaminação para humano, e uma possível transmissão desses agentes pelos queijos é um fato a ser considerado.

Outros pesquisadores também ressaltaram o risco da presença de *Staphylococcus* resistentes à meticilina para a saúde dos consumidores de leite e seus derivados (DIAS et al., 2011) após identificarem a presença do gene *mecA*, específico de MRS, em 11,0% das amostras de leite analisadas. A importância da presença de MRS e MRSA em ambientes rurais e alimentos se fundamenta na possível infecção de consumidores e pessoas que entram em contato com animais, que acabam se tornando fonte de infecção destes agentes patogênicos. Tal importância foi evidenciada no trabalho de Van Rijen et al. (2008), que sugeriu que produtores que têm contato com suínos e bezerros têm grande risco de serem portadores de MRSA.

Muitos métodos moleculares têm sido empregados em investigações epidemiológicas de isolados de *Staphylococcus* spp. de bovinos e humanos. Dentre os marcadores moleculares utilizados para análise de diversidade, o RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) é uma técnica que pode fornecer resultados muito informativos acerca da diversidade genética de microrganismos (WILLIAMS et al., 1990). Esta técnica é baseada no uso de oligonucleotídeos iniciadores de sequências curtas, geralmente de 10 bases, que são pareados aleatoriamente no genoma, não necessitando do conhecimento prévio da sequência-alvo. A região compreendida entre dois oligonucleotídeos iniciadores hibridizados é amplificada arbitrariamente, gerando diferentes tamanhos de fragmentos amplificados. O número e a localização desses fragmentos variam de acordo com o genoma de cada organismo. Tais fragmentos amplificados são separados em gel de agarose por eletroforese, gerando um perfil

genético característico para cada isolado microbiano ou amostra analisada. Uma única substituição de bases, inserções ou deleções pode alterar o pareamento do primer, tendo como consequência padrões de bandas diferentes (POWER, 1996; TENOVER et al., 1997; OLIVE; BEAN, 1999). Tal técnica é considerada rápida, de baixo custo e de fácil execução, no entanto, deve ser padronizada de forma a manter as mesmas características em todas as reações (ADZITEY et al., 2013).

O RAPD permanece sendo empregado em estudos de diversidade genética de plantas, animais e, principalmente, de microrganismos, incluindo aqueles de origem alimentar e de risco à saúde pública (LAMARE; RAO, 2015; ŞAKALAR; ARMAN, 2015; EFTEKHAR; NOURI, 2015; ZEINALI et al., 2015). Este marcador ainda é considerado um dos mais discriminatórios quando comparados com outros, tais como ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) (LAMARE; RAO, 2015) e PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis) (GHAZI et al., 2016). O RAPD também tem se mostrado discriminatório na análise de diversidade genética de isolados de *Staphylococcus*, inclusive MRS (REINOSO et al., 2004; IDIL; BILKAY, 2014).

A busca de MRS em diferentes pontos da obtenção do leite e produção dos queijos tipo Minas frescal elaborados em propriedades leiteiras e a análise da sua diversidade genética são importantes para a elucidação da sua epidemiologia. Tais análises podem contribuir para a tomada de iniciativas no controle desses patógenos e a implantação de medidas visando evitar sua disseminação.

3. Considerações finais

Alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de serem contaminados pelo uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, além da falta de informação e de treinamento das pessoas que fabricam e manuseiam tais alimentos. Isso pode acarretar em contaminação por diversos microrganismos, comprometendo a qualidade e a segurança da saúde do consumidor. Por esse motivo, as práticas higiênicas devem ser observadas com rigor, para prevenir uma possível contaminação do produto. Assim, tratando-se de segurança e qualidade de queijos, é importante que o controle de qualidade comece desde a obtenção do leite e envolva todas as etapas de produção, até o produto final. Falha em qualquer fase do processo poderá resultar em contaminação do alimento, que, mesmo apresentando aparência, gosto, consistência e aroma normais, pode veicular diversos microrganismos patogênicos.

Dessa forma, o queijo tipo Minas frescal constitui-se em risco para a saúde pública e necessita ter sua qualidade microbiológica atestada, principalmente no que diz respeito à pesquisa de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas prejudiciais à saúde humana.

4. REFERÊNCIAS

- ADZITEY, F., HUDA, N., ALI, G.R.R., Molecular techniques for detecting and typing of bacteria, advantages and application to foodborne pathogens isolated from ducks. **Biotech.** 3, 97–107. 2013.
- ALAIS, C. Ciencia de la leche. **Principios de Técnica Lechera**, Traducido por Don Antonio Lacasa Godina, Barcelona - España, Ed. Reverté, 2003.
- ALMEIDA FILHO, E. S., NADER FILHO, A. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo tipo Minas frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas, MG. São Paulo: **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 102/103, p. 71-73, 2002.

ALMEIDA, P. M. P. de. FRANCO, R. M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à Saúde Pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* e Coliformes Fecais. São Paulo: **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 111, p. 79-85. ago, 2003.

ARAÚJO, J. M., TABARELLI, G. F., ARANDA, K. R. S., FABBRICOTTI, S. H., FAGUNDES- NETO, U., MENDES, C. M. F., SCALETSKY, I. C. A. Typical enteroaggregative and atypical enteropathogenic types of *Escherichia coli* are the most prevalent diarrhea-associated pathotypes among brazilian children. **Journal of Clinical Microbiology**. V. 45 no. 10, p. 3396-3399, 2007.

ASAO, T., KUMEDA, Y., KAWAI, T., SHIBATA, T., ODA, H., HARUKI, K., NAKAZAWA, H., KOZAKI, S. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low- fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. **Epidemiology and Infection** 130, 33-40. 2003.

BALABAN, N., RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology** 61, 1 - 10. 2000.

BARBOSA, L.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Incidência de *Staphylococcus coagulase* positiva em leite tipo C e sensibilidade das cepas aos antibióticos. **Revista Higiene Alimentar**. v. 21, n. 148, p. 105 – 109. jan/fev, 2007.

BARROS, P. C. O. G. de.; NOGUEIRA, L. C.; RODRIGUEZ, E. M.; CHIAPPINI, C. C. de J. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. São Paulo: **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 122, p. 57-61, jul, 2004.

BARTOLOMEU, D.A.F.S.; DALLABONA, B.R.; MACEDO, R.E.F.; KIRSCHNIK, P.G. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v.16, n.1, p. 21-30, 2011.

BIDET, P.; KURKDJIAN, P. M.; GRIMONT, F. et al. Characterization of *Escherichia coli* O 157:H7 isolates causing haemolytic uraemic syndrome in France. **Journal Medical Microbiology**., v. 54, p. 71-75, 2005.

BINGEN, E., B. PICARD, N. BRAHIMI, S. MATHY, P. DESJARDINS, J. ELION, AND E. DENAMUR. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. **Journal Infectious Diseases**. 177: 642–650, 1998.

BONFOH, B., WASEM A., TRAORÉ A.N., FANÉ A., SPILLMANN H., SIMBÉ C.F., ALFAROUKH I.O., NICOLET J., FARAH Z., ZINSSTAG J. Microbiological quality of cow's milk taken at different intervals from the udder to selling point in Bamako (Mali). **Food Control**, v. 14, n. 7, p. 495-500, 2003.

BORELLI, B. M., FERREIRA, E. G., LACERDA, I. C. A., FRANCO, G. R., & ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 22, 1115e1119., 2006.

BORGES, C.A., BERALDO, L. G., MALUTA, R. P., CARDOZO, M. V., GUTH, B. E., RIGOBELLO, E. C., de AVILA, F. A. Shiga toxigenic and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in the feces and carcasses of slaughtered pigs. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 9, n.12, p. 1119-25, 2012.

BOYD, E. F., AND D. L. HARTL. Chromosomal regions specific to pathogenic isolates of *Escherichia coli* have a phylogenetically clustered distribution. **Journal of Bacteriology**. 180:1159 – 1165. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Ofício Circular DIPOA no 12/09. **Diretrizes para a aplicação dos procedimentos de**

controle de *Listeria monocytogenes* em produtos prontos para o consumo, previstos na Instrução Normativa No 9, de 9 de abril de 2009, 2009.

BRITO, J. R.F., SANTOS, E. M. P. ARCURI, E. F., LANGE, C. C., BRITO, M. A.V.P., SOUZA, G., N., CERQUEIRA, M. M. P. O, BELTRAN, J. M. S., CALL, J. E., LIU, Y., PORTO-FETT, A. C. S., LUCHANSKY, J. B. Retail Survey of Brazilian Milk and Minas Frescal Cheese and a Contaminated Dairy Plant To Establish Prevalence, Relatedness, and Sources of *Listeria monocytogenes* Isolates. **Applied and environmental microbiology**, p. 4954–4961 Vol. 74, No. 15, 2008.

CAMPOS, M. R. J. H.; KIPNIS, A.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; VIEIRA, C. A. da. S.; JAYME, L. B., SANTOS, P. P. SERAFINI, A. B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo “Minas Frescal” em um laticínio de Goiás, Brasil. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1221-1227, jul./ago, 2006.

CANIZALEZ-ROMAN, A., A.; GONZALEZ-NUÑEZ, E.; VIDAL, J.E.; FLORES-VILLASEÑOR, H.; LEÓN-SICAIROS, N. Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from food items in northwestern México. **International Journal of Food Microbiology**, v. 164, n. 1, p. 36-45, 2013.

CARDOSO, L., ARAÚJO, W.M.C. Parâmetros de qualidade em queijos comercializados no Distrito Federal, no período de 1997-2001. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**. v. 18, n.123, p. 49-53 ago, 2004.

CARLOS, C., PIRES, M. M., STOPPE, N. C., HACHICH, E. M., SATO, M. I. Z., GOMES, T. A. T., AMARAL, L. A. OTTOBONI, L. M. M. *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. **BMC Microbiology**, 10:161, 2010.

CARVALHO, G.R.; OLIVEIRA, A. F. de O setor lácteo em perspectiva. Boletim de conjuntura agropecuária. Campinas: **Embrapa Monitoramento por Satélite**, 23 p. Setembro de 2006.

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

CHROMIK, C., PARTSCHEFELD, C., JAROS, D., HENLE, T., & ROHM, H. Adjustment of vat milk treatment to optimize whey protein transfer into semi-hard cheese: a case study. **Journal of Food Engineering**, 100(3), 496e503. 2010.

CHYE, F., ABDULLAH, A., AYOB M. K. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia, **Food Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 535–541, 2004.

CLAEYS, W.L., CARDOEN, S., DAUBE, G., BLOCK, J., DEWETTINCK, K., DIERICK, K., ZUTTER, L., HUYGHEBAERT, A., IMBERECHTS, H., THIANGE, P., VANDENPLAS, Y., HERMAN, L.. Raw or heated cow 451 milk consumption: review of risks and benefits. **Food Control**. 452;31:251–262. 2013.

CREMONESI, P., PEREZ, G., PISONI, G., MORONI, P., MORANDI, S., LUZZANA, M., BRASCA, M., CASTIGLIONI, B. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. **Letters in Applied Microbiology**, 45, 586e591. (2007).

de SANTANA, E.H.W., BELOTI, V., ARAGON-ALEGRO, L.C., DE MENDONÇA, M.B.O.C. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico** 77, 545-554. 2010.

DELGADO DA SILVA, M. C., E. HOFER, AND A. TIBANA. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Food Protection** 61:354–356. 1998.

- DELMAS, G., DA SILVA, N.J., PIHIER, N., WEILL, F.-X., VAILLANT, V., DE VALK, H. Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. **Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire** 31-32, 344-348. 2010.
- DIAS, N.L.; SILVA, D.C.B.; OLIVEIRA, A. D.C.B.S.; FONSECA JUNIOR, A.A.; SALES, M.L.; SILVA, N. Detecção dos genes de Staphylococcus aureus, enterotoxinas e de resistência à meticilina em leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1547-1552, 2011.
- DINGES, M.M., ORWIN, P.M., SCHLIEVERT, P.M. Exotoxins of Staphylococcus aureus. **Clinical Microbiology Reviews** 13, 16 - 34. 2000.
- do CARMO, L. S., DIAS, R. S., LINARDI, V. R., DE SENA, M. J., DOS SANTOS, D. A., DE FARIA, M. E., PENA, E. C., JETT, M., HENEINE, L. G. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of Staphylococcus present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, 19, 9e14. 2002
- DOMINGUEZ, M., JOURDAN-DA SILVA, N., VAILLANT, V., PIHIER, N., KERMIN, C., WEILL, F. X., DELMAS G., KEROUANTON A., BRISABOIS A., DE VALK H. Outbreak of Salmonella enterica serotype Montevideo infections in France linked to consumption of cheese made from raw milk. **Foodborne Pathogens and Disease**, 6, 121e128. 2009.
- DUARTE, D. A., SCHUCH, D. M. T.; SANTOS, S. B.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SILVA, J. V. D.; MOTA, R. A. da. Pesquisa de Listeria monocytogenes e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 297-302, jul./set., 2005.
- EFTEKHAR, F.; NOURI, P. Correlation of RAPD-PCR Profiles with ESBL Production in Clinical Isolates of Klebsiella pneumoniae in Tehran. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9, n. 1, 1-3, 2015.
- EMBRAPA. Imprensa. Notícias - 2011. **Embrapa promove simpósio sobre queijos artesanais do Brasil**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 26/07/2016.
- FEITOSA, T.; BORGES, M. de F., NASSU, R. T., AZEVEDO, E. H. I. de., MUNIZ, C. R. Pesquisa de Salmonella sp, Listeria sp e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 23. suppl., p. 162-165, 2003.
- FERNANDES, A.M.; ANDREATTA, E.; OLIVEIRA, C.A.F.de. Ocorrência de bactérias patogênicas em queijos no Brasil: questão de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.144, p.4-56, set., 2006.
- FORSYTHE, S. J. **The Microbiology of Safe Food**. 2nd. ed. Chichester: Wiley- Blackwell, 496p. 2010.
- FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. Vol. 2. 2. ed. London: Chapman & Hall, 601p. 1993.
- FOXMAN, B.; RILEY, L. W. Molecular epidemiology: focus on infection. **American Journal of Epidemiology**, v. 153, p. 1135-1141, 2001.
- FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2002.
- FRECE, J., MARKOV, K., CVEK, D., KOLAREC, K., DELAS, F.. Comparison of conventional and molecular methods for the routine confirmation of Listeria monocytogenes in milk products produced domestically in Croatia. **Journal of Dairy Research**, London, v. 77, n. 1, p. 112-116, fevereiro 2010.
- GALIA, W., MARIANI-KURKDJIAN, M., LOUKIADIS, E., BLANQUET-DIOT, S., LERICHE, F., BRUGÉRE, H., SHIMA, A., OSWALD, E., COURNOYER, B., THEVENOT-SARGENTET, D., Genome sequence and annotation of a human infection

- isolate of *Escherichia coli* O26:H11 involved in a raw milk cheese outbreak. **Genome Announc.** 3, e01568-14. (2015).
- GAULIN, C., RAMSAY, D., BEKAL, S. Widespread listeriosis outbreak attributable to pasteurized cheese, which led to extensive cross-contamination affecting cheese retailers, Quebec, Canada, 2008. **Journal of Food Protection**, 75, 71e78. 2012.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**; 3.ed, Manole, Barueri, p. 310-317, 2008.
- GHAZI, F.; KIHAL, M.; ALTAY; GÜRAKAN, G. C. Comparison of RAPD-PCR and PFGE analysis for the typing of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional Turkish yogurts. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1013-1026, 2016.
- GIRARDEAU, J.P.; DALMASSO, A.; BERTIN, .; Y DUCROT, C.; BORD, S.; LIVRELLI, V.; NERNOZY-ROZAND, C.; MARTIN, C. Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different seropathotypes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolate. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, n.12, p. 6098–6107, 2005.
- GUILLET, C., JOIN-LAMBERT, O., LE MONNIER, A., LCCLERCQ, A., MECHAÏ, F., MAMZER-BRUNEEL, M. F., BIELECKA, M. K., SCORTTI, M., DISSON, O., BERCHE, P., VAZQUEZ-BOLAND, J., LORTHOLARY, O., LECUIT, M. Human Listeriosis Caused by *Listeria ivanovii*. **Emerging Infectious Diseases**. Vol. 16, No. 1, 2010.
- GUIMARÃES, F.F. **Perfil de sensibilidade microbiana, pesquisa de gene meca de resistência à meticilina e detecção molecular de genes codificadores de enterotoxinas, em espécies de estafilococos coagulase positiva e negativa, isolados de mastites bovinas**. Dissertação de Mestrado. FMVZ-Unesp/Botucatu. 2011.
- HALL WF, FRENCH N. **An Assessment of Available Information on 458 Raw Milk Cheeses and Human Disease 2000–2010**. Wellington: 459 Ministry of Agriculture and Forestry; 2011.
- HERZER, P. J., S. INOUYE, M. INOUYE, AND T. S. WHITTAM. Phylogenetic distribution of branched RNA-linked multicopy single-stranded DNA among natural isolates of *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**. v .172, p.6175–6181, 1990.
- HOFFMANN, F.L.; GONÇALVES, T.M.V.; COELHO, A.R.; HIROOKA, E.Y.; HOFFMANN, P. Qualidade microbiologia de queijos ralados de diversas marcas comerciais, obtidos do comércio varejista do município de São José do Rio Preto, SP. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 18, n.122, p. 62-66, jul. 2004.
- HONISH, L., PREDY, G., HISLOP, N., CHUI, L., KOWALEWSKA-GROCHOWSKA, K., TROTTIER, L., KREPLIN C., ZAZULAK I. An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized gouda cheese. **Canadian Journal of Public Health**, 96, 182e184. 2005.
- IDIL, N.; BILKAY, I. S. Application of RAPD-PCR for Determining the Clonality of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Different Hospitals. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.57, n.4, p. 548-553, 2014.
- IKEDA, T., TAMATE, N., YAMAGUCHI, K., MAKINO, S. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. **Applied and Environmental Microbiology** 71, 2793-2795. 2005.
- INDRAWATTANA, N. ; NIBADDHASOBON, T . Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw meats marketed in Bangkok and characterization of the isolates by phenotypic and molecular methods. **Journal Health Population and Nutrition**. 29:26-38, 2011.
- JAKOBSEN, L. KURBASIC, A., SKJØT-RASMUSSEN, L., EJRNÆS, K., PORSBO, L. J., PEDERSEN, K., JENSEN, L. B., EMBORG, H., AGERSØ, Y., OLSEN, K. E. P., AARESTRUP, F. M., FRIMODT-MØLLER, N., HAMMERUM, A. M.. *Escherichia coli* Isolates from Broiler Chicken Meat, Broiler Chickens, Pork, and Pigs Share Phylogroups and

Antimicrobial Resistance with Community-Dwelling Humans and Patients with Urinary Tract Infection. **Foodborne Pathogens And Disease**, v. 7, n. 5, 2010.

JANA, K.H.; XAVIER, D.; MARC, L.; HANNU, K.; MARK, A. The ubiquitous nature of *Listeria monocytogenes* clones: a large-scale Multilocus Sequence Typing study. **Environmental Microbiology** 16(2), 405–416. 2014.

JOHLER, S., WEDER, D., BRIDY, C., HUGUENIN, M. C., ROBERT, L., HUMMERJOHANN, J., Stephan R. Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. **Journal of Dairy Science**, 98, 2944e2948. 2015.

JOHNSON, J. R., RUSSO, T.A. J. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “The other bad *Escherichia coli*”. **Lab, Clin. Med.**, v. 139, n. 3, p. 155-162, 2002.

JOHNSON, J. R.; STELL, A. L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. **Journal of Infectious Disease**. v.18, P.261–272. 2000.

JUHA' SZ-KASZANYITZKY, E' ., S. JA' NOSI, P. SOMOGYI, A. DA' N, L. VAN DER G. BLOOIS, E. VAN DUIJKEREN, AND J. A. WAGENAAR,: MRSA Transmission between Cows and Humans. **Emerging Infections Diseases**. v.13, p.630–632, 2007.

KAPER JB, NATARO JP, MOBLEY HL. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol**; 2:123–140. 2004.

KOSIKOWSKY, F. **Cheese and fermented milk foods**. New York: Cornell University, 429p. 1970.

KOTTWITZ, L. B. M. & GUIMARÃES, I. M. Avaliação microbiológica de queijos coloniais produzidos no Estado do Paraná. São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 114/115, p. 77-80, 2003.

KOUSTA, M., MATARAGAS, M., SKANDAMIS, P., DROSINOS, E. H., Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at the farm and processing levels. **Food Control**. v. 21, p. 805- 815. 2010.

LAMARE, A.; RAO, S. R. Efficacy of RAPD, ISSR and DAMD markers in assessment of genetic variability and population structure of wild *Musa acuminata colla*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 21, n. 3, p. 349–358, 2015.

LE LOIR, Y., BARON, F., GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research** 2, 63-76. 2003.

LECOINTRE, G.; RACHDI, L.; DARLU, P.; DENAMUR, E. *Escherichia coli* molecular phylogeny using the incongruence length difference test. **Molecular Biology and Evolution**,15: 1685-1695, 1998.

LEE, J.H.. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **Applied and Environmental Microbiology** 69, 6489–6494, 2003.

LEITE, M. M. D.; LIMA, M. G.; REIS, R. B. dos. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas tipo Frescal. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 132, p. 89-93, jun. 2005.

LIMA, C. D. C., LIMA, L. A., CERQUEIRA, M. M. O. P., FERREIRA, E. G., ROSA, C. A. Lactic acid bacteria and yeasts associated with the artisanal Minas cheese produced in the region of Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, 61, 266e272, 2009.

LINKE, K.; IRENE RÜCKERL, BRUGGER, K.; KARPISKOVA, R.; WALLAND, J.; MURI- KLINGER, S.; ALEXANDER TICHY, A.; WAGNER, M. ;STESSL, B. Reservoirs of *Listeria* Species in Three Environmental Ecosystems. **Applied Environmental Microbiology**, 80 (18) 2014.

- LIPTAKOVA, A., SIEGFRIED, L., ROSOCHA, J., PODRACKA, L., BOGYIOVA, E., KOTULOVA, D. A family outbreak of haemolytic uraemic syndrome and haemorrhagic colitis caused by verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 from unpasteurized cow's milk in Slovakia. **Clin. Microbiol. Infect.** **10**, 574-592. (2004).
- LOGUERCIO, A.P. & ALEIXO, J.A.G. Microbiologia de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente. **Revista Ciência Rural**, v. 31, n.6, p. 1063-1067, 2001.
- MAIDEN, M.C., [BYGRAVES, J.A.](#), [FEIL, E.](#), [MORELLI, G.](#), [RUSSELL, J.E.](#), [URWIN, R.](#), [ZHANG, Q.](#), [ZHOU, J.](#), [ZURTH, K.](#), [CAUGANT, D.A.](#), [FEAVERS, I.M.](#), [ACHTMAN, M.](#), [SPRATT, B.G.](#) Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. **Proceedings of the National Academic of Sciences**, v. 95, n. 6, p. 3140-5, 1998.
- MANTILLA, S.P.S.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T.de.; GOUVÊA, R. Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listeria* spp isoladas de carne moída bovina. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.45, n.2, p. 116-121, 2008.
- MENEZES, L.D.M.; PENA, E.C.; SOUZA, V.F. et al. Avaliação microbiológica do queijo Minas artesanal produzido em Minas Gerais em 2008. **Anais do XVI Encontro Nacional E li Congresso Latino- Americano De Analistas De Alimentos**. Sociedade Brasileira de Analistas de Alimentos, 2009.
- Minas Gerais, **lei nº 14.185, de 31 de Janeiro de 2002**. Disponível em: http://www.ima20anos.ima.mg.gov.br/intranet/nova/gce/outros_documentos/42645.pdf Acessado em 2 de Junho de 2016.
- NETTO, D. P., LOPES, M. O. OLIVEIRA, M. C. S., NUNES, M. P., JUNIOR, M. M., BOSQUIROLI, S. L., BENATTO, A., BENINI, A., BOMBARDELLI, A. L. C., FILHO, D. V., MACHADO, E., BELMONTE, I. L., ALBERTON, PEDROSO, P. P., SCUCATO, E. S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 27, n. 1, p. 145-151, 2005.
- NORMANNO, G., CORRENTE, M., LA, S.G., DAMBROSIO, A., QUAGLIA, N.C., PARISI, A., GRECO, G., BELLACICCO, A.L., VIRGILIO, S., CELANO, G.V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. **International Journal of Food Microbiology** v.117,p. 219-222, 2007.
- OKURA, M. H. A contaminação em salgados (coxinhas) encontrados no centro da cidade de Uberaba, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 132, Jun. 2005.
- OLIVE, D. M.; BEAN, P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 37, p. 1661- 1669, 1999.
- OMBARAK, R.A., HINENOYA, A., AWASTSHI, S.P., IGUCHI, .A. SHIMA, A., ELBAGORY, A.R.M., YAMASAKI, S. Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. **Int. J. Food Microbiol.** **221**, 69-76. (2016).
- OSTYN, A., DE BUYSER, M.-L., GUILLIER, F., GROULT, J., FÉLIX, B., SALAH, S., DELMAS, G., HENNEKINNE, J.A. First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. **Eurosurveillance** **15**, 1-4. 2010.
- PANETO, B. R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; MACEDO, C.; SANTO, E.; MARIN, J. M.; Occurrence of toxigenic *Escherichia coli* in raw milk cheese in Brazil. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, n. 2, p. 508-512, 2007.
- PEREIRA, V., LOPES, C., CASTRO, A., SILVA, J., GIBBS, P., TEIXEIRA, P.. Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal. **Food Microbiology**. v. 26, p. 278-282, 2009.

- PERRIN, M., BEMER, M., DELAMARE, C. Fatal Case of *Listeria innocua* Bacteremia. **Journal Of Clinical Microbiology**, Nov., v. 41, n. 11, p. 5308–5309, 2003.
- PEXARA, A., SOLOMAKOS, N., SERGELIDIS, D., GOVARIS, A. Fate of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in Feta and Galotyri cheeses. **Journal of Dairy Research**, 79, 405e413. (2012).
- PICARD, B., J. S. GARCIA, S. GOURIOU, P. DURIEZ, N. BRAHIMI, E. BINGEN, J. ELION, AND E. DENAMUR. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. **Infection and Immunity**. v. 67, p.546–553.
- POWER, E. G. M. RAPD typing in microbiology – a technical review. **J. Hosp. Infect.**, London, v. 34, p. 247-265, 1996.
- PU, S., HAN, F., GE, B. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 75, p. 265-267, 2009.
- QUINN, P. J; MARKEY, B. K; CARTER, M.E; DONNELLY, W. J; LEONARD, F. C.; **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Artmed: Porto Alegre, p. 83-86, 2005.
- RANTSIOU, K.; MATARAGAS, M.; ALESSANDRIA, V.; COCOLIN, L. Expression of virulence genes of *Listeria monocytogenes* in food. **Journal of Food Safety**, v. 32, p. 161-168, 2012.
- RAPINI, L.S.; TEIXEIRA, J.P.; MARTINS, S.N.E.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.; PENNA, C.F.A.M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.** Belo Horizonte. v, 56, n.1, p. 130-133, 2004.
- REGUA-MANGIA, A.H.; BEZERRA, R.M.P.; ESPARIS, C.M.; TEIXEIRA, L.M. *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC): filotipagem e resistência a antimicrobianos em um enteropatógeno emergente. **Revista de Patologia Tropical**. 38: 27-34., 2009.
- REINOSO, E.; BETTERA, S.; FRIGERIO, C.; DIRENZO, M.; CALZOLARI, A.; BOGNI, C. RAPD-PCR analysis of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and human hosts. **Microbiology Research**, v. 159, n.3, p. 245-255, 2004.
- RICH, M.; DEIGHTON, L.; ROBERTS, L. Clindamycin resistance in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from animals. **Veterinary Microbiology**, v.111, p.237-240, 2005.
- ROCHA, J. S.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Condições de processamento e comercialização de queijo de Minas Frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 58, n. 2, p. 236-272, 2006.
- ROCOURT, J., H. HOF, A. SCHRETTENBRUNNER, R. MALINVERNI, AND J. BRILLE. Meningite purulente aigüe à *Listeria seeligeri* chez un adulte immunocompetent. **Schweiz. Med. Wochenschr.** 116:248–251. 1986.
- ROSEC, J.P. GIGAUD, O. Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. **International Journal of Food Microbiology**, v. 77, n.1-2: 61-70, 2002.
- ROSENGREN, A., FABRICIUS, A., GUSS, B., SYLVE N, S., LINDQVIST, R. Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. **International Journal of Food Microbiology**, 144, 263 - 269. 2010.
- RUSSO T.A., JOHNSON J. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli* ExPEC. **Journal Infectious Disease**, v. 181, p. 1753–1754, 2000.
- ŞAKALAR, E.; ARMAN, K. A new RAPD-PCR based analytical assay for detection of sea bass and sea bream treated with ionizing radiation. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 1233–1237, 2015.

- SALOTTI, B. M., CARVALHO, A.C.F.B., AMARAL, L.A., VIDAL-MARTINS, A.M.C., CORTEZ, A.L. Qualidade Microbiológica Do Queijo Minas Frescal Comercializado No Município De Jaboticabal, Sp, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, abr./jun., 2006.
- SANTOS, A. C. M., PIGNATARI, A.C.C., SILVA, R.M.; ZIDKO, A.C.M.; GALES, A.C. A Virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **O mundo da Saúde**, v. 33, n. 4, p. 392-400, 2009.
- SCHMID-HEMPEL, P., FRANK, S.A., **Pathogenesis, virulence, and infective dose.** PLoS Pathog. 3 (10), e147. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.0030147>. 2007.
- SELANDER R. K., CAUGANT D. A., WHITTAM T. S. **Genetic structure and variation in natural populations of *Escherichia coli*. in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium: cellular and molecular biology.*** eds Neidhardt F. C., Ingraham K. L., Magasanik B., Low K. (American Society for Microbiology, Washington, D.C.) pp 1625–1648, 1987.
- SEO, K.S., BOHACH, G.A. ***Staphylococcus aureus*.** In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., (Eds.), **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**, 3 ed. American Society for Microbiology Press, Washington, D.C. 493-518. 2007.
- SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos.; GOMES, R. A. R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 624p., 2010.
- SMITH, J. L. FRATAMICO, P.M., GUNTHER, N.W. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. **Foodborne Pathog. Dis.**, v. 2, n. 4, p. 134-163, 2007.
- STELLA, A. E., MALUTA, R. P., RIGOBELLO, E. C., MARIN, J. M., de ÁVILA, F. A., Virulence Genes in Isolates of *Escherichia coli* from Samples of Milk and Feces from Dairy Cattle. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 9, p. 1698-1700, 2012.
- STRACHAN, N. J. C., DUNN, G. M., MARY, E., LOCKING, M. E., REIS, T. M. S., OGDEN, I. D. *Escherichia coli* O157: burger bug or environmental pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, 112, 129e137. 2006.
- TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, New Jersey, v. 18, p. 426-439, 1997.
- TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L.; **Microbiologia**, 8. ed. Artmed, Porto Alegre, p. 619- 620, 2005.
- URWIN, R.; MAIDEN, M. C. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. **Trends in Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 479-87, Oct 2003.
- VAN CAUTEREN, D., JOURDAN-DA SILVA, N., WEILL, F. X., KING, L., BRISABOIS, A., DELMAS, G., VAILLANT, V., VALK, H. Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. **Eurosurveillance**, 14, 19290. 2009.
- VAN DUIJKEREN, E., A. T. BOX, M. E. HECK, W. J. WANNET, AND A. C. FLUIT, Methicillin- resistant *Staphylococci* isolated from animals. **Veterinary Microbiology**. n. 103, p. 91–97. 2004.
- van RIJEN, M. M. L.; VAN KEULEN, P. H.; Kluytmans, J. A. Increase in a Dutch Hospital of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Related to Animal Farming. **Clinical Infectious Diseases**, 46:261–3, 2008.
- WEESE, J. S., T. DACOSTA, L. BUTTON, K. GOTH, M. ETHIER, AND K. BOEHNKE, Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the environment in a veterinary teaching hospital. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 18, p. 468–470, 2004.

WEILER, N., LEOTTA, G.A., ZARATE, M.N., MANFREDI, E., ALVAREZ, M.E., RIVAS, M. Brote de intoxicación alimentaria asociado al consumo de leche ultrapasteurizada en la República del Paraguay. **Revista Argentina de Microbiología** 43, 33-36. 2011.

WILLIAM, F. H. An assessment of available information on raw milk cheeses and human disease. **MAF Technical Paper** No: 2011/58. 2011.

WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. AND TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Res.**, 18, 6531-6535, 1990.

ZANELLA, G. N., MIKCHA, J. M. G., BANDO, E., SIQUEIRA, V. L. D., MACHINSKI M. Occurrence and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria and Antimicrobial Residues in Pasteurized Cow's Milk from Brazil. **Journal of Food Protection**. v. 73, n.9, p. 1684–1687, 2010.

ZEINALI, T.; JAMSHIDI, A.; RAD, M.; BASSAMI, M. A comparison analysis of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from chicken carcasses and human by using RAPD PCR. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 6, p. 10152-10157, 2015.

