



**PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Staphylococcus Aureus* EM AMOSTRAS DE LEITE DE TANQUES DE EXPANSÃO DE PROPRIEDADES DO CENTRO-OESTE PAULISTA**

Pedro Hadime **Hori**<sup>1</sup>; Amanda Bezerra **Bertolini**<sup>2</sup>; Simone Baldini **Lucheis**<sup>3</sup>; Maria Izabel Merino de **Medeiros**<sup>4</sup>

**Nº 18308**

**RESUMO** – Ainda existe a crença, por grande parte da população, de que o leite cru além de mais saboroso é mais saudável, nutritivo e ainda possui menor preço, bem como de que o leite industrializado possui conservantes e produtos químicos que podem afetar a saúde de quem o consome. Esses argumentos são utilizados por pessoas que consomem leite cru em diversos Estados do Brasil. Porém, o leite e seus derivados são ótimos meios para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, havendo a necessidade de cuidados rigorosos com a ordenha, beneficiamento e estocagem. Dentre os diversos grupos de bactérias que podem ser encontrados no leite cru o *Staphylococcus aureus* se destaca mundialmente, por ser responsável por um número elevado de mastite subclínica nos rebanhos, causando problemas em produtos pasteurizados devido a presença de toxinas e pela resistência a antibióticos. O presente trabalho identificou *Staphylococcus aureus* em 58 das 102 amostras de leite bovino procedente de tanques de expansão de propriedades localizadas na região Centro-Oeste Paulista, pelo isolamento em meio de cultura específico, seguido de provas bioquímicas para comprovação. O teste de sensibilidade revelou um perfil de resistência elevado perante aos 12 antibióticos testados em 76 estirpes isoladas, sendo que o melhor perfil de sensibilidade foi frente à oxacilina (32%). Os resultados demonstram a importância das boas práticas de ordenha e fabricação, além do controle da mastite subclínica do rebanho, pois o leite onde foram isolados *Staphylococcus aureus* pode ser um risco potencial à saúde do consumidor.

**Palavras-chaves:** bacteriologia, mastite subclínica, microbiologia, segurança de alimentos.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura), UNESP Campus de Bauru, Bauru-SP; [pedro\\_hadime@hotmail.com](mailto:pedro_hadime@hotmail.com)

2 Colaborador: Pós Graduada (Mestrado), UNESP Campus de Botucatu, Botucatu-SP.

3 Colaborador: PqC VI, APTA/ Polo Regional do Centro-Oeste.

4 Orientador: PqC V, APTA/Polo Regional do Centro-Oeste; [medeiros@apta.sp.gov.br](mailto:medeiros@apta.sp.gov.br)



**ABSTRACT** – *Most of population still believes that raw milk is tastier and healthier, besides its nutritious and cheaper. Also, some people believe that industrialized milk has food additive and chemicals that might affect the health of those who consume it. These arguments are used by people in all regions of Brazil who consumes raw milk. However, milk and dairy products are great substrates for the developing of pathogenic and deteriorating microorganisms. Due to this, some important measures must be taken during milking, improvement and stocking processes. Among the several group of bacteria that could be found in raw milk, Staphylococcus aureus stands out worldwide as one of the main causative agents of subclinical mastitis in herd of cattle, causing problems in pasteurized products due to the presence of toxins and antibiotic resistance. The present study detected Staphylococcus aureus in 58 samples out of 102 samples from bovine milk coming from expansion tanks of properties localized in Centro-Oeste Paulista, employing specific growth medium to isolate the bacteria followed by biochemical tests for confirmation. The sensitivity test revealed a profile of high resistance to the 12 antibiotics tested in 76 isolates. The best sensitivity profile was exposure oxacillin (32%). The results demonstrate the importance of good milking and manufacturing practices and control of subclinical mastitis in the herd because milk with Staphylococcus aureus may be a potential risk to consumer health.*

**Keywords:** bacteriology, food security, microbiology, subclinical mastitis.

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo Medeiros (2011), o leite é considerado um dos alimentos mais nobres devido a sua composição, entretanto apresenta-se como um ótimo substrato para a multiplicação de microrganismos sendo necessária a necessidade de cuidados rigorosos com a ordenha, beneficiamento e estocagem.

O gênero *Staphylococcus* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales, família Staphylococcaceae (GARRITY, BELL E LILBURN, 2004; TORTORA, 2012), e apresenta 36 espécies (GARRITY, BELL E LILBURN, 2004).

Estas bactérias se desenvolvem em meios comuns, caldo ou ágar, em pH neutro, na temperatura ideal de 37°C. Após o período de incubação de 18-24 horas, as colônias apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes (SANTOS et al., 2007). Por meio da microscopia, elas se apresentam na forma esférica e comumente encontram-se arranjadas em cachos (SANTOS et al.,



2007; TORTORA, 2012). São cocos Gram positivo e catalase positivo medindo aproximadamente 0,5 a 1,5µm de diâmetro (SANTOS et al., 2007).

Nos humanos pode ser comumente encontrada na pele e no sistema respiratório superior. Os estafilococos sobrevivem nas secreções nasais devido à tolerância em ambientes de elevada pressão osmótica (TORTORA, 2012). Além do hospedeiro humano, o *Staphylococcus aureus* pode estar presente em outras espécies animais como em bovinos nos quadros de mastite, principalmente subclínica. É considerada uma das principais bactérias responsáveis por intoxicações alimentares (TORTORA, 2012). A intoxicação estafilocócica ocorre com a ingestão de alimentos contendo as enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus* enterotoxigênicos (LE LOIR, BARON E GAUTIER, 2003). Embora o leite seja submetido a processo de pasteurização, as toxinas estafilocócicas previamente produzidas são termorresistentes e permanecem ativas (CARMO et al., 2002).

Segundo dados do IBGE (2015), o Brasil é o maior produtor de leite na América do Sul e ocupa a quinta posição entre os maiores produtores de leite mundiais. Entretanto, sua posição de destaque na produção contrasta com a baixa qualidade, principalmente no quesito microbiológico, em função da falta de boas práticas na ordenha e da elevada presença de quadros de mastite nos rebanhos brasileiros (ARCANJO et al., 2017). A mastite é um processo inflamatório que afeta as glândulas mamárias (COSTA, 1998) e possui etiologia variada. Dos diversos microrganismos identificados nos processos de mastite, frequentemente são isolados das amostras de leite as espécies: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, entre outros (FONSECA E SANTOS, 2000). A ausência de sinais clínicos na mastite ocasionada pelo *Staphylococcus aureus* é considerada um fator de risco para a disseminação no rebanho. Estima-se que para cada caso de mastite clínica, existam 35 casos de mastite subclínica (FONSECA E SANTOS, 2000). Demeu et al.,(2011) levantou em seu estudo vários pontos em que a mastite pode gerar ônus ao produtor, como o custo de perdas no volume de leite, do tratamento com antibióticos, prevenção e descarte. Além dos prejuízos econômicos, o leite mastítico apresenta um risco à saúde humana devido a baixa qualidade microbiológica e a possível presença de toxinas (NADER FILHO et al., 2007a).

Os antibióticos são medicamentos utilizados no tratamento e prevenção de doenças de origem bacteriana e trazem diversos benefícios para a humanidade quando utilizados de forma prudente (OMS, 2017). Humanos e animais não se tornam resistentes aos antibióticos, as bactérias sim. Esse mecanismo de resistência ocorre em função da resposta da bactéria perante a estes medicamentos (OMS, 2017). O fenômeno da emergência de bactérias resistentes é considerado



normal e é fruto do contato das bactérias com os antibióticos (DIAS, MONTEIRO E MENEZES, 2010; OMS, 2017). Entretanto, a utilização errônea destas drogas exerceu uma pressão seletiva acarretando no desenvolvimento, pelas bactérias, de mecanismos de adaptação e resistência aos antibióticos (DIAS, MONTEIRO E MENEZES, 2010). Várias doenças estão se tornando cada vez mais difíceis de tratar devido à baixa eficiência dos antibióticos em face aos mecanismos de resistência adquiridos pelas bactérias (OMS, 2017). Mundialmente, nota-se um aumento da mortalidade e custos referentes aos cuidados médicos devido às bactérias resistentes (DIAS, MONTEIRO E MENEZES, 2010). O uso indiscriminado de antibióticos e a tratamentos inespecíficos devido à falta de testes de sensibilidade microbiana podem contribuir para o surgimento de estirpes resistentes (ROCHA E RESENDE, 2017).

O presente trabalho teve como objetivos detectar a presença de *Staphylococcus aureus* em 102 amostras de leite bovino procedente de tanques de expansão de propriedades localizadas na região Centro-Oeste Paulista, pelo isolamento em meio de cultura específico, seguido de provas bioquímicas para comprovação e posterior realização de testes de sensibilidade aos principais antimicrobianos utilizados tanto nos casos de mastite quanto em infecções humanas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS** (MAC FADDIN, 1980; BAUER, et al., 1966).

### **2.1. Colheita do Leite**

Para a colheita das amostras de leite oriundas dos tanques de expansão foi realizada a homogeneização do leite do tanque acionando-se o agitador por cinco minutos. Após a homogeneização, um volume de 10 mL foi retirado, com o auxílio de uma concha esterilizada, da parte superior e central do tanque e acondicionado em frasco de vidro esterilizado (BRITO et al., 1998). Todas as amostras foram transportadas em caixa de material isotérmico contendo gelo e levadas ao Laboratório de Segurança dos Alimentos – LASA do Polo Regional Centro Oeste – APTA/SAA – Bauru/SP para armazenamento em congelado (-20°C) para posterior isolamento e identificação bacteriana.

### **2.2. Diluição das Amostras de Leite**

Utilizou-se 1 mL da amostra de leite em tubo contendo 9 mL de Água Peptonada (Acumedia – Neogen Corporation, Michigan, EUA) preparada conforme as instruções do fabricante.

### **2.3. Isolamento e Identificação das estirpes de *Staphylococcus***

Utilizou-se 0,1 mL das amostras de leite ( $10^0$  e  $10^{-1}$ ) para serem semeadas sobre a superfície de placas de Petri com Ágar Baird-Parker (BP) (Difco Laboratories, Heidelberg,



Alemanha) e incubadas a 37°C por 24h a 48h. A seguir, três a cinco colônias características foram semeadas em tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Acumedia – Neogen Corporation, Michigan, EUA) e incubadas a 37°C por 24h em estufa bacteriológica. Após, foram preparados esfregaços corados pelo método de Gram. As culturas que se apresentaram em formatos de cocos Gram-positivo e agrupados sob a forma de cachos de uva foram submetidas às provas de catalase, da coagulase livre e manitol.

#### **2.4. Contagem em Placa das Colônias Sugestivas de *Staphylococcus aureus***

Os números de colônias contados foram multiplicados pelo fator 10 e, em seguida, pela recíproca da diluição correspondente à placa de contagem, obtendo-se assim o valor de UFC/mL das amostras estudadas.

#### **2.5. Teste da Catalase**

Após 24h de cultivo em ágar BP, com uma alça bacteriológica flambada, retirou-se uma amostra da colônia para ser colocada sobre uma lâmina de microscopia. Sobre a amostra da colônia foi adicionada uma gota de água oxigenada a 3%. As colônias que apresentaram aborbulhamento eram consideradas catalase-positivas.

#### **2.5. Análise Morfológica**

As lâminas utilizadas na etapa 2.5. foram submetidas à secagem em seguida à coloração. A técnica aplicada para este experimento foi a de Gram. Foi utilizado o Conjunto de Coloração de Gram (Laborclin®). Em sequência foram analisadas em microscópio óptico (Nikon® Eclipse E200) em aumento de 1000X utilizando óleo de imersão para a identificação morfológica dos isolados.

#### **2.6. Prova do Manitol**

Foram preparadas placas contendo meio de cultura Manitol Salt Agar (Acumedia – Neogen Corporation, Michigan, EUA), preparadas conforme orientações do fabricante. As placas foram identificadas e divididas em quatro quadrantes. Foram feitas estrias em cada quadrante utilizando-se uma alçada (10 µL) do caldo BHI de cada isolado. As placas foram armazenadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h antes de serem avaliadas.

#### **2.7. Teste da Coagulase Livre em Tubo**

Para a execução da prova de coagulase, foram adicionadas 0,3 mL da solução BHI + amostra dos isolados em tubos de ensaio (10mm x 70mm). Em seguida, foi adicionado neste tubo, 0,5 mL de uma solução de plasma de coelho (Laborclin®) diluído em solução de cloreto de sódio a



0,85% esterilizada conforme recomendação do fabricante. Após agitação, os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C e as leituras realizadas após 1h, 2h, 3h, 4h e 24h. O resultado foi considerado positivo quando ocorria a coagulação do plasma.

## 2.8. Teste de Sensibilidade Antimicrobiana

Para o teste de sensibilidade foram preparadas placas contendo meio de cultura Mueller Hinton. Foram semados sobre as placas 0,1 mL da solução de BHI com os isolados. O material foi distribuído sobre a placa com o auxílio de alça de Drigalski. Sobre as placas foram posicionados os discos dos seguintes antibióticos: amoxicilina/AMO (20µg), amicacina/AMI (30µg), estreptomicina/EST (10µg), gentamicina/GEN (10µg), tetraciclina/TET (30µg), penicilina G/PEN (10 U.I.), neomicina/NEO (30µg), ampicilina/AMP (10µg), sulfametoxazol-trimetoprim/SUT (25µg), oxacilina/OXA (10µg), cefalexina/CFX (30µg) e ciprofloxacina/CIP (5µg). As placas foram levadas a estufa bacteriológica a 37°C por 24h e em seguida os halos de inibição foram medidos com o auxílio de uma régua.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 102 amostras de leite coletadas de tanques de expansão, apenas duas amostras não apresentaram desenvolvimento bacteriano em meio de cultura *Baird-Parker* seletivo para *Staphylococcus*.

Das 100 placas onde houve o desenvolvimento bacteriano, na contagem de Unidades Formadoras de Colônia – UFC, apenas duas placas apresentaram-se incontáveis, devido ao alto grau de contaminação da amostra o que sugere um número estimado de colônias superior à ordem de  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL extrapolando os valores permitidos pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011), além disso, no caso da presença de *Staphylococcus* enterotoxigênicos, este valor pode ser considerado um risco potencial à saúde humana devido a possível produção de toxinas termorresistentes que não serão inativadas pelo processo de pasteurização.

Em 18 amostras, a contagem de UFC foi superior a  $1,0 \times 10^4$  UFC/mL. Nas demais amostras não houve contagem superior a  $1,0 \times 10^4$  UFC/mL, conforme indica a **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Contagem de UFC/mL em meio de cultura BP.

Contagem de UFC/mL	Frequência Absoluta (FA)	Frequência Relativa (FR) (%)
Inferior a $1,0 \times 10^4$	80	80,0



Entre $1,0 \times 10^4$ – $1,0 \times 10^5$	18	18,0
Superior a $1,0 \times 10^5$	2	2,0

Após a contagem e realização dos testes bioquímicos e morfológicos para a identificação de estirpes de *Staphylococcus aureus*, das 100 amostras de leite, onde houve o desenvolvimento bacteriano, sua presença foi detectada em 58 (58%). Em 39 amostras (39%) positivas na análise morfológica como estafilococos Gram-positivos, as análises bioquímicas revelaram-se negativas para *Staphylococcus aureus*. Três amostras (3%) foram negativas na análise morfológica se apresentando como bastonetes Gram-negativos. Conforme expresso na **Tabela 2**.

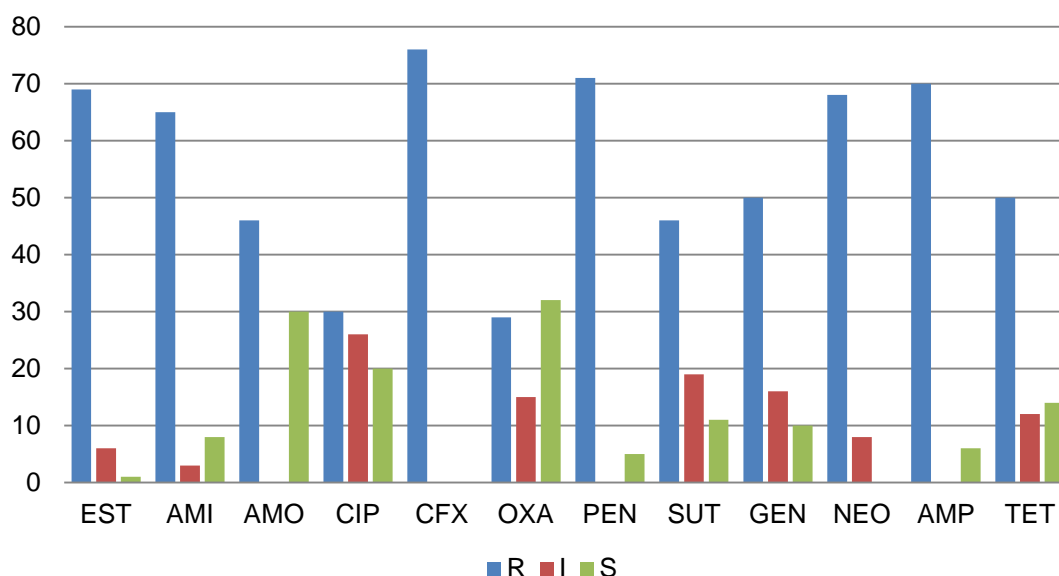
**Tabela 2.** Resultado das 100 amostras com desenvolvimento bacteriano.

Bactéria	FA	FR (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	58	58,0
<i>Staphylococcus spp.</i>	39	39,0
Bastonetes Gram-negativos	3	3,0

Em recente estudo realizado por Do Nascimento Neta et al., (2016), 100% das amostras de leite coletadas em tanques de refrigeração de municípios do Espírito Santo apresentaram contaminação por *Staphylococcus spp.*, valor semelhante ao encontrado neste estudo (97%).

Foram encontrados em estudos realizados na região de Botucatu e São Manuel por Badini et al., (1996) uma taxa de contaminação de leite por estafilococos coagulase positiva de 50% das amostras avaliadas, semelhante aos valores encontrados neste estudo (58%). Na Bahia, em estudo conduzido por Oliveira et al., (2011), 68% das amostras de leite avaliadas estavam contaminadas por *Staphylococcus aureus* demonstrando a importância desta bactéria como um dos principais contaminantes do leite.

No presente estudo, após o isolamento e identificação de 76 estirpes de interesse em 58 amostras de leite (em algumas placas, colônias de *Staphylococcus aureus* apresentaram-se morfológicamente diferenciadas: com halo, sem halo, fosca e fosca pequena) realizou-se a análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana destas 76 estirpes frente a 12 antibióticos. Os resultados estão expressos abaixo na **Figura 1** e **Tabela 3**.



**Figura 1.** Resultados do teste de sensibilidade antimicrobiana das 76 estirpes de *Staphylococcus aureus* frente aos 12 antibióticos testados. As legendas R, I e S significam, respectivamente, Resistente, Intermediário e Sensível.

**Tabela 3.** Resultados do teste de sensibilidade das 76 estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em 58 amostras de tanques de expansão da Região Centro-Oeste Paulista.

Tratamento	Resistente FA (FR)	Intermediário FA (FR)	Sensível FA (FR)
STE	69 (90,8%)	6 (7,9%)	1 (1,3%)
AMI	65 (85,5%)	3 (4,0%)	8 (10,5%)
AMO	46 (60,5%)	-	30 (39,5%)
CIP	30 (39,5%)	26 (34,2%)	20 (26,3%)
CFX	76 (100%)	-	-
OXA	29 (38,2%)	15 (19,8%)	32 (42,0%)
PEN	71 (93,4%)	-	5 (6,6%)
SUT	46 (60,5%)	19 (25,0%)	11 (14,5%)
GEN	50 (65,8%)	16 (21,0%)	10 (13,2%)
NEO	68 (89,5%)	8 (10,5%)	-





12º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2018  
01 a 03 de agosto de 2018 – Campinas, São Paulo  
ISBN 978-85-7029-145-5

<b>AMP</b>	70 (92,1%)	-	6 (7,9%)
<b>TET</b>	50 (65,8%)	12 (15,8%)	14 (18,4%)

**Tabela 4.** Comparação de resultados de sensibilidade frente a cinco antibióticos com pesquisa realizada por Nader Filho et al., (2007b) no estado de São Paulo com *Staphylococcus aureus* isolados a partir de amostras de leite cru refrigerado. Estão expressos os valores da FR encontrada em cada trabalho.

<b>Antibiótico</b>	<b>Presente Estudo</b>	<b>Nader Filho et al. (2007b)</b>
<b>Ampicilina</b>	7,9%	4,2%
<b>Estreptomicina</b>	1,3%	94,4%
<b>Gentamicina</b>	13,2%	98,6%
<b>Oxacilina</b>	42,0%	84,7%
<b>Penicilina</b>	6,6%	2,8%

**Tabela 5.** Comparação de resultados de resistência frente a seis antibióticos com pesquisa realizada por Costa et al., (2013) no estado de Minas Gerais com *Staphylococcus aureus* isolados a partir de amostras de leite cru refrigerado. Estão expressos os valores da FR encontrada em cada trabalho.

<b>Antibiótico</b>	<b>Presente Estudo</b>	<b>Costa et al. (2013)</b>
<b>Ampicilina</b>	92,1%	80,92%
<b>Penicilina</b>	93,4%	80,45%
<b>Tetraciclina</b>	65,8%	18%
<b>Gentamicina</b>	65,8%	1,69%
<b>Neomicina</b>	89,5%	3,35%
<b>Oxacilina</b>	38,2%	2,0%

**Tabela 6.** Comparação de resultados de resistência frente a sete antibióticos com pesquisa realizada por Freitas et al., (2018) no estado do Rio Grande do Sul em 2007 com *Staphylococcus aureus* isolados de quartos mamários acometido por mastite subclínica. Estão expressos os valores da FR



encontrada em cada trabalho.

Antibiótico	Presente Estudo	Freitaset al. (2007)
Tetraciclina	65,8%	96,7%
Neomicina	89,5%	96,7%
Cefalexina	100%	90%
Gentamicina	65,8%	86,7%
Penicilina	93,4%	70%
Amoxicilina	60,5%	50%
Ampicilina	92,1%	43,3%

**Tabela 7.** Comparação de resultados de resistência frente a cinco antibióticos com pesquisa realizada por Almeida et al., (2007) no estado do Paraná com *Staphylococcus aureus* isolados de casos clínicos e infecções hospitalares de 2001 a 2004. Estão expressos os valores da FR encontrada em cada trabalho.

Antibiótico	Presente Estudo	Almeida et al. (2007)
Penicilina	93,4%	98%
Ciprofloxacina	39,5%	63,25%
Sulfametoxazol	60,5%	71,25%
Tetraciclina	65,8%	56%
Amicacina	85,5%	67%

Os resultados comparados na **Tabela 3** (sensibilidade) e nas **Tabelas 5, 6 e 7** (resistência) demonstram diferenças devido à região estudada, material analisado e ano em que ocorreu o estudo, mas compartilham de altos perfis de resistência de *Staphylococcus aureus* à Penicilina, Amoxicilina e Oxacilina, demonstrando que sua presença no leite é um risco potencial à saúde pública.



#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos achados, a presença de bactérias no leite de tanques de expansão estudados mostrou-se elevada (98,04%).

A presença de estirpes de *Staphylococcus aureus* identificadas nas amostras, possivelmente está relacionada com a presença de quadros de mastite subclínica nos rebanhos.

A presença de *Staphylococcus aureus* no leite de 58 tanques de expansão pode ser considerada um risco potencial à saúde pública.

Nos resultados da análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana observaram-se algumas estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas sensíveis à oxacilina e um preocupante perfil de resistência a importantes antibióticos utilizados em animais e humanos, podendo ocasionar sérias implicações econômicas e potencial risco à saúde única.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida e ao Laboratório de Sanidade Animal – APTA/Bauru por colaborar na execução deste projeto de pesquisa.

#### 6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. I. et al. Prevalência e perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos clínicos de infecções hospitalares. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, n. 2, 2007.
- ARCANJO, A. H. M. et al. Programa dos seis pontos de controle da mastite em rebanhos leiteiros. **Global Science and Technology**, v. 10, n. 1, 2017.
- BADINI, K. B. et al. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, p. 549-552, 1996.
- BAUER, A. W., et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.493-496, 1966.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, 30 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?data=30/12/2011&jornal=1&pagina=6&totalArquivos=160>> Acesso em: 27 jan. 2018.
- BRITO, M. A. V. P; BRITO, J. R. F. **Qualidade do leite**. Capítulo 3. 1998.
- DA COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.
- DA COSTA, G. M. et al. Resistência a antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* isolados de mastite em bovinos leiteiros de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 297-302, 2013.
- DEMEU, F. A. Influência da escala de produção no impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Ceres**, v. 62, n. 2, 2015.



- DE OLIVEIRA, L. P. et al. Study of *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. **Journal of Food Processing and Technology**, v. 2, n. 6, 2011.
- DIAS, M.; MONTEIRO, M. S.; MENEZES, M. F. Antibióticos e resistência bacteriana, velhas questões, novos desafios. **Cadernos de Otorrinolaringologia: clínica, investigação e inovação**. Lisboa, 2010.
- DO CARMO, L. S. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. **Food Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 9-14, 2002.
- DO NASCIMENTO NETA, F. C. C. et al. Avaliação da qualidade de leite cru armazenado em tanques de refrigeração no município de Alegre, Espírito Santo. **Brazilian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 6, n. 3, 2016.
- DOS SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.
- FREITAS, C. H. et al. Identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria causing bovine mastitis from dairy farms in Pelotas, Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Biology**, n. AHEAD, p. 0-0, 2018.
- GARRITY, G. M.; BELL, J. A.; LILBURN, T. G. Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, New York, Berlin, Heidelberg, 2004.
- IBGE, **Produção da Pecuária Municipal**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Volume 43, Ano 2015. Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2015\\_v43\\_br.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf)>. Acesso em: 26 jun. 2018.
- LE LOIR, Y. et al. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and molecular research**, v. 2, n. 1, p. 63-76, 2003.
- MACFADDIN, J. F. Gram-Negative Enterobacteriaceae and other intestinal bacteria. **Biochemical tests for identification of medical bacteria. USA, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins**, p. 732-804, 1980.
- MEDEIROS, M. I. M. de et al. Epidemiologia molecular aplicada ao estudo de estirpes de *Staphylococcus aureus* na produção de queijo tipo Minas Frescal, **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, n.1, p. 98-105, jan./mar. 2013
- NADER FILHO, A. et al. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 1316-1318, 2007a.
- NADER FILHO, A. et al. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 74, n. 1, p. 1-4, 2007b.
- ROCHA, T. B.; RESENDE, F. A. Perfil de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções do trato urinário em um laboratório de Curvelo/MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 5, 2017.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri, SP. Ed. Manole. Pirassununga, SP. 2007.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 12ª Edição. Artmed Editora, 2016.
- WHO. **Antibiotic Resistance (AMR)**. World Health Organization. WHO GAP AMR Newsletter n. 32, Nov/2017. Disponível em: <<http://www.who.int/antimicrobial-resistance/en/>>. Acesso em: 26 jun. 2018.