

Identificação das espécies de *Staphylococcus* presentes no leite ovino

Identification of *Staphylococcus* species present in ovine milk

Gabriela V. Silva¹

RESUMO - A produção de leite ovino no Brasil é uma atividade relativamente nova, cuja produção está direcionada para a confecção de queijos, iogurtes e outros derivados. Com isso há um déficit de trabalhos científicos ligados a esta atividade. Considerado um excelente substrato, muitos micro-organismos patogênicos podem ser veiculados ao homem através do consumo de leite e seus derivados, entre eles *Staphylococcus* spp., um dos principais agentes envolvidos em surtos de intoxicações alimentares. Dentro desta problemática, o presente estudo objetivou identificar as espécies de *Staphylococcus* isoladas de leite de origem ovina provenientes de propriedades rurais no Agreste Meridional de Pernambuco. Foram identificadas 13 espécies diferentes, sendo três do grupo *Staphylococcus* coagulase-positivo e 10 de *Staphylococcus* coagulase-negativo e duas cepas identificadas apenas como SCN, destacando-se por sua frequência *Staphylococcus aureus* (29) seguida pelo *S. chromogenes* (15) e *S. intermedius* (9). Os resultados obtidos evidenciam que esta espécie animal é mais uma fonte de infecção e veiculadora, através de seus produtos, de *Staphylococcus* potencialmente patogênicos para o homem.

Palavras-chave: ovelha, microbiologia, alimento

ABSTRACT - The sheep milk production in Brazil is a relatively new activity, whose production is directed towards the manufacture of cheeses, yogurts and other products. Therewith a deficit of scientific papers related to this activity. Considered an excellent substrate, many pathogens can be transmitted to humans through consumption of milk and its derivatives, including *Staphylococcus* spp., one of the main agents involved in outbreaks of food poisoning. Within this problematic, this study aimed to identify the species of *Staphylococcus* and its antimicrobial susceptibility profile of current use in human and veterinary medicine, isolated from milk of sheep origin from rural properties in the Meridional Agreste of Pernambuco. We identified 13 different species, three coagulase-positive and 10 coagulase-negative and two strains identified only as SCN, especially *Staphylococcus aureus* (29) followed by *S. chromogenes* (15) and *S. intermedius* (9) by its frequency. The results show that this species is a source of infection, through its products, *Staphylococcus* potentially pathogenic to humans.

Key-words: sheep, microbiology, food

INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* foi proposto em 1884 por Rosenbach e inserido dentro da família Micrococcaceae. Estudos de biologia molecular, perfis de ácidos graxos, composição de parede celular e, principalmente, estudos com RNA ribossômico 16S promoveram a inclusão do gênero *Staphylococcus* em uma nova família, a Staphylococcaceae (GARRITY, 2006). Atualmente já são descritas 46 espécies e 24 subespécies dentro do gênero (EUZÉBY, 2012).

De uma maneira prática, os estafilococos são divididos em duas categorias: *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP) e *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) de acordo com a resposta ao teste da plasmoglicose. A maioria das espécies são coagulase-negativa, caracterizando-se a exclusividade da síntese da enzima ao *S. aureus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. intermedius*,

S. pseudintermedius, *S. lutrae* e *S. delphini*, enquanto *S. hyicus* e *S. agnetis* são variáveis (EUZÉBY, 2012).

O leite de ovelha difere das demais espécies especialmente pela riqueza dos constituintes, existindo diferença entre os rebanhos (ASSENAT, 1991). A alta concentração de sólidos totais (McKUSICK et al., 2002) e níveis elevados de gordura e de caseína são fatores importantes na elaboração de queijos duros e macios, com características particulares de textura e sabor e com alto valor de mercado (TIMPERLEY & NORMAN, 1997).

O gênero *Staphylococcus* está associado a infecções que acometem tanto humanos quanto animais (ANNEMULLER et al., 1999). Amplamente disseminados no ambiente, diversas espécies pertencentes ao gênero estão presentes na pele e mucosas de mamíferos, sendo que a maioria dos portadores encontra-se na condição de assintomáticos. Portanto, seres humanos e outros animais podem veicular os micro-organismos para os alimentos,

com atenção especial para o leite e seus derivados, a qual surge em diferentes fases da cadeia alimentar. Principais fontes de contaminação de leite cru nas explorações agrícolas são as superfícies mucosas, a pele animal, glândulas infectadas, equipamentos de ordenha, as mãos dos ordenhadores e o meio ambiente visto que vários fatores como uso de ordenha manual, falhas na higiene dos animais e equipamentos, bem como ausência de programas de controle de mastite, ainda ocorrem em muitos rebanhos (ASSUMPÇÃO et al., 2003; BERGONIER et al., 2003).

Considerando a magnitude com que as doenças de origem alimentar ocorrem nos países desenvolvidos e emergentes e a importância que os animais assumem, através de seus produtos, na disseminação deste micro-organismo, torna-se de grande relevância conhecer as espécies circulantes de *Staphylococcus*, em ovinos em nosso país. Assim o presente estudo teve por objetivos identificar as espécies de *Staphylococcus* ocorrentes em leite de ovelhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Identificação preliminar do gênero *Staphylococcus*

Foram analisadas no presente estudo 79 cepas do gênero *Staphylococcus* isoladas previamente de leite de origem ovina proveniente de propriedades rurais do Agreste de Pernambuco.

Para a Identificação preliminar do gênero *Staphylococcus* foi realizada a prova da catalase e coagulase onde utilizou-se a cepa padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 25923) como controle positivo.

As cepas caracterizadas como *Staphylococcus* coagulase negativa foram submetidas à prova da resistência a bacitracina para diferenciação entre *Micrococcus* spp. (sensíveis) e *Staphylococcus* coagulase negativa (resistentes).

Caracterização bioquímica

Para a caracterização de espécies foram empregadas diferentes provas bioquímicas com base nos resultados da prova da coagulase (KONEMAN et al., 2008).

Nesta etapa, as cepas coagulase positivas foram identificadas através das provas de Voges-Proskauer (VP), fermentação da maltose, redução do nitrato e teste da DNase.

Para a caracterização de espécies nas cepas SCN foram empregados os testes de fermentação de açúcares (xilose, celobiose, maltose, sacarose, trealose, frutose, lactose e manose), ornitina descarboxilase, redução de nitrato e produção de urease.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na capacidade de produzir coagulase e em testes bioquímicos complementares, 40 (50,6%) cepas foram identificadas como coagulase-positiva (SCP), correspondendo a três espécies, *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* 39,19% (29/79), *S. intermedius* 12,16% (9/79) e *S. hyicus* a 2,70% (2/79) e 39 cepas (49,4%) totalizando 10 espécies, coagulase negativas (Tabela 1).

Tabela 1 - Frequência e distribuição das espécies de *Staphylococcus* isoladas do leite de ovelha.

Espécies	n	%
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	29	39,19
<i>S. chromogenes</i>	15	20,27
<i>S. intermedius</i>	9	12,16
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	5	6,76
<i>S. pasteurii</i>	4	5,41
<i>S. xylosus</i>	4	5,41
<i>S. equorum</i>	3	4,05
<i>S. hyicus</i>	2	2,70
<i>S. haemolyticus</i>	2	2,70
<i>S. simulans</i>	1	1,35
<i>S. saccharolyticus</i>	1	1,35
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	1	1,35
<i>S. carnosus</i>	1	1,35
SCN	2	2,70
Total	79	100

Entre as espécies coagulase negativas (SCN) identificadas, *S. chromogenes* correspondeu a 20,27% (15/79), seguido de *S. sciuri* subsp. *sciuri*, 6,76% (5/79), *S. pasteurii*, 5,41% (4/79), *S. xylosus*, 5,41% (4/79), *S. equorum*, 4,05% (3/79), *S. haemolyticus*, 2,70% (2/79) e *S. simulans*, *S. saccharolyticus*, *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*, *S. carnosus*, 1,35% (1/79, cada) e duas cepas (2,70%) não classificadas em nível de espécie porém referidas como SCN.

A maioria dos trabalhos não identifica as espécies coagulase-negativas por requerer muitas provas bioquímicas, referindo-se apenas como SCN. Este grupo apresenta algumas características que necessitam diferenciação com o gênero *Micrococcus* o que torna necessária a utilização de provas adicionais como a suscetibilidade a bacitracina, empregada neste estudo, na qual os *Staphylococcus* são resistentes, permitindo separação destes dois gêneros bacterianos (BANNERMAN & PEACOCK, 2008).

Considerando que o número de cepas analisadas não reflete, sob o ponto de vista epidemiológico, a incidência/prevalência de espécies do gênero *Staphylococcus* nesta espécie animal, pelo fato de que as mesmas são oriundas de diferentes propriedades rurais do Agreste de Pernambuco e selecionadas aleatoriamente para o presente estudo, procurou-se fazer uma correlação com os dados apresentados por outros autores quanto às diferentes espécies ocorrentes em ovinos, ressaltando sua importância na cadeia alimentar como animal produtor de alimentos.

A maioria do leite ovino produzido no mundo é transformado em diversos tipos de queijos. Na Grécia, um dos maiores produtores de leite ovino do mundo, o iogurte tem alguma importância no mercado. Por esta razão, a qualidade do leite ovino está relacionada com a sua capacidade de ser transformado em derivados lácteos de alta qualidade com alto rendimento de produção (kg de leite/kg de produto), que por consequência, está relacionado com as propriedades de coagulação do leite, e estas são diretamente afetadas pela composição, qualidade microbiológica e pelo processamento dos produtos lácteos (queijos, iogurtes, doces, sorvetes, etc.) fabricados (EMEDIATO, 2008).

A análise microbiológica do leite cru é de extrema importância na qualidade final dos produtos lácteos garantindo a segurança do consumidor e as características adequadas ao produto. Sabe-se que a microbiota do leite é necessária para a produção de queijos tradicionais, por isso a opção por utilizar leite cru. Porém, a contaminação elevada da matéria prima, por micro-organismos indesejados, afeta sua composição e influencia o crescimento das bactérias desejadas no processo de maturação dos queijos, já que haverá competição pelos nutrientes, alterando atributos de qualidade do produto (PEREIRA et al., 2008; RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2007).

Os micro-organismos patogênicos contaminantes do leite cru podem ter origem fecal ou por excreção direta através do úbere (JAY, 2000; MUEHLHERR et al., 2003). Considerando que o leite não pasteurizado de ovelha e de cabra é utilizado na produção de queijos e que crianças com intolerância ao leite de vaca são consumidores destes produtos, a possibilidade de contaminação torna-se ainda mais preocupante (MUEHLHERR et al., 2003).

A contaminação de produtos lácteos com *Staphylococcus aureus* pode ser de origem animal ou humana (SPANU et al., 2012). Um estudo detectou 12% de cepas positivas para *S. aureus* de 1634 amostras coletadas de 2003 a 2005 em alimentos lácteos e de origem animal na Itália (NORMANO et al., 2007).

Esta espécie bacteriana está entre os maiores agentes causadores de infecção comunitária e hospitalar em todo o mundo, onde a maioria das infecções hospitalares por este micro-organismo pode representar um risco de vida ao indivíduo. Adicionalmente, esta espécie é envolvida em casos de intoxicação alimentar, sendo que numerosos

surtos foram descritos e atribuídos a este micro-organismo (FONSECA & SANTOS, 2000).

Na Europa, no período de 1993 a 1998 este patógeno causou 5,1% dos surtos registrados. Porém a incidência desta bactéria é subestimada, já que a maioria dos surtos de gastroenterite não é relatada.

S. aureus são encontrados em diversas amostras de alimentos, como em locais de produção de leite já que está associado de forma muito intensa à mastite bovina. (PELES et al., 2007) destacando-se por sua maior ocorrência nos rebanhos mundiais, e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos sendo, inclusive, a espécie mais relevante e mais persistente nas mastites ovinas (MOTA, 2007). Adicionalmente é, também, o micro-organismo patogênico mais frequentemente isolado no leite cru (ZECCONI & HAHN, 2000).

Vautor et al., (2003) avaliando leite de ovelha e queijos produzidos artesanalmente na França, obtiveram 5,5% de positividade para *Staphylococcus aureus* entre as amostras de leite. A produção de queijos usando leite cru, particularmente nos casos de acidificação insuficiente ou lenta da coalhada, pode levar a surtos associados com *Staphylococcus* nestes produtos (ARQUÉS et al., 2005).

O isolamento de *S. aureus* em leite de ovelhas sadias vem sendo notificado por vários autores (ABO ELNAGA et al., 1985; ADWAN et al., 2005; HOLEČKOVÁ et al., 2004; TRÁVNÍČEK et al., 2003) revestindo-se de importância na indústria de laticínios.

No Brasil, Guaraná et al. (2011) em cultivo de leite de ovelhas sadias, obtiveram predominância de SCN. Segundo Bergonier et al. (2003), *Staphylococcus* são os principais agentes envolvidos nas infecções mamárias de pequenos ruminantes, sendo o *Staphylococcus aureus* mais frequente nos casos clínicos. A mastite em ovelhas é importante pelas consequências na saúde pública, como o risco de infecção ou intoxicação dos consumidores por estafilococos presentes no leite, através do consumo de produtos lácteos fabricado com leite cru.

A mastite é a inflamação da glândula mamária que ocorre como resposta, na maioria das vezes, a uma infecção causada por micro-organismos. Na forma subclínica, ao contrário da forma clínica, não ocorrem mudanças visíveis na aparência do leite ou do úbere, embora ocorram alterações na composição do leite e deste possam ser isolados micro-organismos patogênicos (BRAMLEY et al., 1996). A mastite subclínica tem grande impacto na produtividade dos rebanhos leiteiros porque sua prevalência é maior que a da forma clínica (PHILPOT & NICKERSON, 1991) e, assim, as medidas para o seu controle têm recebido grande atenção.

Staphylococcus coagulase-negativos tem sido considerados a maior causa em infecções subclínicas, (HUESTON et al., 1989), porém outros autores reportaram a presença desses agentes no leite de ovelhas sem mastite (BATAVANI et al., 2003; FTHENAKIS & JONES, 1990).

Várias espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativas são comumente encontradas nos canais do teto e na pele do teto de ruminantes domésticos e podem ser introduzidas na glândula mamária no ato de sucção, sem, contudo existir infecção do parênquima mamário (BATAVANI et al., 2003; FTHENAKIS & JONES, 1990).

No Brasil, apesar da proibição legal imposta à comercialização de queijos frescos e moles elaborados a partir de leite cru (BRASIL, 1997), a comercialização do queijo Minas Frescal produzido artesanalmente, tem sido constatada (ALMEIDA FILHO & NADER FILHO, 2000). Esses autores obtiveram 50,0% de contagens de *Staphylococcus aureus* acima do valor estabelecido como sendo o limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde para o queijo tipo Minas “frescal” produzido industrialmente com leite bovino.

Em dezoito surtos de DTA ocorridos em Minas Gerais de 1997 a 2002, que tiveram como alimentos implicados o leite e produtos lácteos de origem bovina, *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativa enterotoxigênicos foram os principais agentes identificados. O queijo ocupou lugar de destaque entre os produtos lácteos envolvidos nos surtos o que pode ser explicado pelo fato de esse alimento ser muito manipulado, além de agravantes como condições higiênico-sanitárias inadequadas, principalmente em queijos elaborados de forma artesanal e sem inspeção sanitária (VERAS et al., 2003).

Estabelecendo uma correspondência das espécies identificadas no presente estudo, salienta-se que *S. intermedius*, coagulase positivo e a espécie coagulase variável, *S. hyicus* são de particular importância em infecções em animais (OLIVEIRA, 2000).

S. intermedius é encontrado como parte da microbiota da pele e de cavidades nasais e orais de cães, visons, equinos e gatos, encontrado em infecções cutâneas, urinárias, ósseas e do sistema nervoso central, em várias espécies animais (KONEMAM et al., 2008). Essa bactéria foi isolada de feridas infectadas em seres humanos, causadas por mordeduras de cães, sendo também isolada em casos de mastite bovina (KONEMAM et al., 2008). No homem tem sido implicado em surtos de intoxicação alimentar (BANNERMAN & PEACOCK, 2007; OLIVEIRA, 2000).

Segundo Watts & Owens (1989) e Bandeira (2001), *S. hyicus* vem sendo encontrado em rebanhos leiteiros com problemas de mastite. Jay (1992) ressalta a capacidade enterotoxigênica desta espécie de estafilococos, fato comprovado por Valle et al. (1990), que verificaram em cepas de *S. hyicus* coagulase positiva isoladas em ovinos, a produção de enterotoxina estafilotóxica.

Já entre os SCN, *S. haemolyticus*, *S. simulans*, *S. saccharolyticus* e *S. schleiferi* subsp. *schleiferi* demonstram contaminação do leite pela manipulação do homem, pois essas espécies são encontradas naturalmente na pele e mucosas de humanos e inclusive em infecções

como é o caso do *S. schleiferi* subsp. *schleiferi* (KONEMAN et al., 2008).

Alguns autores relatam a prevalência de *S. epidermidis* em leite de ovelhas (ARIZNABARRETA et al., 2002) e cabras (MORONI et al., 2005). No entanto, Chaffer et al. (1999) e Taponen et al. (2007) relataram abundância de outras espécies, como *S. simulans*, *S. chromogenes* e *S. haemolyticus* em bovinos.

Analisando amostras de leite provenientes de 54 criações de ovinos na região leste da Eslováquia, Pilipčincová et al. (2010) identificaram um total de 240 cepas de *Staphylococcus* coagulase-negativo destacando-se *S. epidermidis* (36,3%), *S. caprae* (21,3%), *S. hominis* (6,6%), *S. chromogenes* (6,3%), *S. xylosus* (5,8%), *S. warneri* (5,0%) e *S. capitis* (4,6%) e, em menor frequência, as espécies *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. simulans*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. kloosii*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. auricularis* e *S. lugdunensis*.

Um estudo realizado por Medeiros et al. (2009) em leite de origem bovina, em Pernambuco, apontou entre as amostras de SCP, o isolamento de *S. aureus* (28,9%), *S. intermedius* (12,80%) e *S. hyicus* (3,23%), corroborando com espécies também identificadas no presente estudo.

Espécies como *S. pasteurii* e *S. xylosus* são isoladas de infecções tanto no homem quanto em animais e também encontradas em alimentos como o leite e queijo de cabra. *S. sciuri* é descrita como uma espécie ambiental, amplamente distribuído na natureza e tem sido associados a alimentos, animais de fazenda, seres humanos e animais de companhia, sendo a subespécie *sciuri* encontrado na natureza e como parte da microbiota transitória da pele em várias espécies de mamíferos e aves (KONEMAN et al., 2008).

S. chromogenes anteriormente era uma subespécie de *S. hyicus*, provoca infecções cutâneas no gado bovino, em suínos e ovinos. *S. equorum* é uma espécie de importância patogênica indeterminada. Tem sido isolada primariamente de equinos, bem como do leite e do queijo de cabra (KONEMAN et al., 2008).

Por fazerem parte da microbiota, SCN foram durante muito tempo considerados de pouca importância clínica, entretanto, durante as últimas duas décadas a incidência desses micro-organismos vem aumentando e eles passaram a ser reconhecidos como agentes oportunistas causadores de infecções nosocomiais e comunitárias (BARRETO & PICOLI, 2008).

CONCLUSÃO

A variedade de espécies de *Staphylococcus* coagulase-positivo (3 espécies) e *Staphylococcus* coagulase-negativo (10) identificadas, evidencia que esta espécie animal é mais uma fonte de infecção e veiculadora, através de seus produtos, de *Staphylococcus* potencialmente patogênicos para o homem;

Entre as espécies identificadas, *S. aureus* (29 cepas), *S. chromogenes* (15) e *S. intermedius* (9) ocorreram em maior número que, junto com *S. hyicus* (2 cepas),

constituem as espécies de maior importância em alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABO ELNAGA, I.G.; HESSAIN, A.; SARHAN, H.R. Bacteria and food poisoning organisms in milk. **Die Nahrung**, v.29, n.4, p.375-380, 1985.

ADWAN, G.; ABU-SHANAB, B.; ADWAN, K. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Raw Milk in the North of Palestin. **Turk J Biol**, v.29, p. 229-232, 2005.

ALMEIDA FILHO, E.S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. **Rev. Saúde Pública**, v.34, n.6, p. 578-580, 2000.

ANNEMULLER, C.; LAMMLER C. GENOTYPING of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.15, n.69, p.217-224, 1999.

ARIZNABARRETA, A.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F. Microbiological quality and somatic cell count of ewe Milk with special reference to *staphylococci*. **J Dairy Sci.**, v.85, n.6, p.1370-1375, 2002.

ARQUÉS, J.L.; RODRÍGUEZ, E.; GAYA, P.; MEDINA, M.; GUAMIS, B.; NUÑEZ, M. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in raw milk cheese by combinations of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. **J. Appl. Microbiol.** vol. 98, n.2, p. 254–260, 2005.

ASSENAT, L. **Composición e propiedades.** In: **Luquet, F.M. Leche e productos lácteos: vaca-oveja-cabra.** Zaragoza: Acribia, 1991. p.277-313.

ASSUMÇÃO, E.G.; VALLE-PICCOLI, R.H.; ABREU, L.R. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n.3, jun, 2003.

BANDEIRA, F. S. **Morfologia e comportamento bioquímico de cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* isoladas em vacas leiteiras.** Pelotas: UFP, 2001. 46f. Dissertação

BANNERMAN, T.L.; PEACOCK, S.J. *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*; In: MURRAY, P.; BARON, E.; JORGENSEN, J.; LANDRY, M.; PFALLER, M. **Manual of Clinical Microbiology**, 9th Edition, ASM Press, Chapter 28, 2008.

BARRETO, M. F.; PICOLI, S.U. *Staphylococcus* em um Hospital de Porto Alegre (RS) **Rev Bras de Anál Clín.**, v.40 Porto Alegre, 2008.

BATAVANI, R.A.; MORTAZ, E.; FALAHIAN, K.; Dawoodi, M.A. Study on frequency, etiology and some enzymatic actives of subclinical ovine mastitis in Urmia, Iran. **Small Rumin. Res.**, v.50, n.1, p.45-50, 2003.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X. New advances in Epizootiology and control of ewe mastitis. **Livestock Production Science**, v.79, n.1, p.1-16, 2003.

BRAMLEY, A.J.; PATEL, H.A. REILLY, M.O. Roles of alpha-toxin and beta-toxin in virulence of *Staphylococcus aureus* for the mouse mammary gland. **Infect Immuno.** v.57,n.8, p.2489, 1989.

BRASIL. Portaria n.352, de 4 de setembro de 1997. O Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento institui o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo Minas frescal. In: SANTOS, J.A., ed. Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais, *diet, light* e enriquecidos. São Paulo: **Fonte Comunicações**, p.76-78, 1997.

CHAFFER, M.; LEITNER, G.; WINKLER, M.; GLICKMAN, A.; KRIFUCKS, O.; EZRA, E.; SARAN, A. Coagulase-negative *staphylococci* and mammary gland infections in cows. **Zentralbl Veterinarmed B.**, v.46, n.10, p. 707-712, 1999.

EMEDIATO, R.M.S. **Qualidade do leite ovino.** www.farmpoint.com.br/.../qualidade/qualidade-do-leite-ovino-43014. 12 Fev. 2012.

EUZÉBY, J.P. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Staphylococcus*.** 2012. <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>. 02 Fev. 2012.

FTHENAKIS, G.C.; JONES, J.E. The effect of inoculation of coagulase negative *Staphylococci* into the ovine mammary gland. **J. Comp. Pathol.**, v.102, n.2, p.211-219, 1990.

FURTADO, M.M. Queijos finos maturados por fungos. São Paulo: Milkbizz, 2003. 128p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo : Lemos Editorial, 2000. 175p.

GARRITY, G.M.; Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology. v.3: The Low G+C Gram positives. **Springer-Verlang**, New York. ISBN 0-387-95041-9, 2006.

GUARANÁ, E.L.S.; SANTOS, R.A.; CAMPOS, A.G.S.S.; SILVA, N.S.; AFONSO J.A.B.; MENDONÇA C.L. Dinâmica celular e microbiológica do leite de ovelhas Santa Inês acompanhadas durante a lactação.

- Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n.10, p.851-858, 2011.
- JAY, J.M. **Modern food microbiology**. New York: Chapman & Hall, 1992. cap.22. p.553-582.
- JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. Maryland: Aspen Publishers, 635 p., 2000.
- HOLEČKOVÁ, B.; KALINÁČOVÁ, V.; GONDOL, J.; FOTTA, M.; HOLODA, E.; BELIČKOVÁ, E. Production of enterotoxins by *Staphylococcus aureus* isolated from sheep milk. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**, v.48, p. 41-45, 2004.
- HUESTON, W.D.; BONER, G.J.; BAERTSCHE, S.L. Intra-mammary antibiotic treatment at the end of the lactation for prophylaxis and treatment of intra-mammary infections in ewes. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 194, n.8, p. 1041-1044, 1989.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Diagnóstico Microbiológico**, Texto e Atlas Colorido, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- MCKUSICK, B.C.; THOMAS, D.L.; BERGER, Y.M. et al. Effect of milking interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, p.2197-2206, 2002.
- MEDEIROS, E.S et al. Avaliação in vitro da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.**, vol.29, n.1 p. 71-75, 2009.
- MORONI, P.; PISONI, G.; VIMERCATI, C.; RINALDI, M.; CASTIGLIONI, B.; CREMONESI, P.; BOETTCHER, P. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from chronically infected dairy goats. **J Dairy Sci.**, v.88, n.10, p. 3500-3509, 2005.
- MOTA, R.A. **Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos**. http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v2_n3_set/tca08_aspectos_epid.pdf 12 Fev. 2012.
- MUEHLHERR, J.E.; ZWEIFEL, C.; CORTI, S.; BLANCO, J.E.; STEPHAN, R. Microbiological Quality of Raw Goat's and Ewe's Bulk-Tank Milk in Switzerland. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, n. 12, p. 3849-3856, 2003.
- NORMANO, G.; CORRENTE, M.; LA SALANDRA, G.; DAMBROSIO, A.; QUAGLIA, N.C.; PARISI, A.; GRECO, G.; BELLACICCO, A.L.; VIRGILIO, S.; CELANO, G.V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food of animal origin product in Italy. **Int J Food Microbiol.**, v.117, n.2, p.219-222, 2007.
- OLIVEIRA, J.J. 2000. A solução é palpar o úbere da Santa Inês. **O Berro**, Uberlândia, nov./dez. <http://www.zebus.com.br/zootecnia3_40_berro.htm> 07 Fev. 2012.
- PELES, F.; WAGNER, M.; VARGA, L.; HEIN, I.; RIECK, P.; GUTSER, K.; KERESZTÚRI, P.; KARDOS, G.; Turcsányi, I.; Béri, B.; Szabó, A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. **Int J Food Microbiol.**, v.118, n.2, p.186-193, 2007.
- PEREIRA, C.I.; GOMES, E.O.; GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Proteolysis in model portuguese cheeses: effects of rennet and starter culture. **Food Chem.**, v.108, n.3, p. 862-868, 2008.
- PILIPČINCOVÁ, I.; BHIDE, M.; DUDRIKOVÁ, E.; Trávníček, M. Genotypic Characterization of Coagulase-negative *Staphylococci* Isolated from Sheep Milk in Slovakia. **Acta vet. brno**, v.79, n.2, p. 269-275, 2010.
- PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: Counter attack**. Country Farm Drive Naparville, 1991. 150 p.
- RAYNAL-LJUTOVAC, K.; PIRISI, A.; CRÉMOUX, R.; GONZALO, C. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. **Small Rum. Res.**, v. 68, n.1-2, p.126-144, 2007.
- SPANU, V.; SPANU, C.; VIRDIS, S.; COSSU, F.; SCARANO, C.; DE SANTIS, E.P.L. Virulence factors and genetic variability of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw sheep's milk cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n.1-3, p. 53-57, 2012.
- TAPONEN, S.; SIMOJOKI, H.; MAARIT, H. et al. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative *staphylococci* identified with API or AFLP. **Vet. Microbiol.**, v. 115, n. 1-3, p. 199-207, 2006.
- TIMPERLEY, C.; NORMAN, C. **O livro de queijos**. São Paulo: Manole, 1997, 119p.
- TRÁVNÍČEK, M.; DUDRÍKOVÁ, E.; PILIPČINCOVÁ, I. Ewes mastitis and their control. **Slov. Vet. Cas**, v.27, p.30-35, 2003.
- VALLE, J. et al. Enterotoxin production by *staphylococci* isolated from healthy goats. **Appl Environ Microbiol**, v.56, n.5, p.1323-1326, 1990.

VAUTOR, E.; ABADIE, G.; GUIBERT, J.M.; HUARD, C.; PEPIN, M. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on farms with dairy sheep using pulsed-field gel electrophoresis. **Vet. Microbiol.**, v.96, n.1, p.69–79, 2003.

VERAS, J.F.; SANTOS, D.A.; CARMO, L.S.; FERNANDES, T.M.G.; AZALIM, C.C.; SILVA, M.C.C.; MARTINS, R.T.; CERQUEIRA, M.M.O. P. **Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e produtos derivados no estado de Minas Gerais**, Brasil. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 1.; CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 7., 2003, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Associações de classe, 2003.

WATTS, J.L.; OWENS, W.E. Prevalence of staphylococcal species in four dairy herds. **Res Vet Sci.**, v.46, n.1, p.1-4, 1989.

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