

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Emmanuelle Bianca Schweiger Dalpiaz

**Pesquisa de resistência a antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus* isoladas de Queijo
Colonial Artesanal**

Florianópolis

2023

Emmanuelle Bianca Schweiger Dalpiaz

Pesquisa de resistência a antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus* isoladas de Queijo Colonial Artesanal

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Silvani Verruck

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dalpiaz, Emmanuelle Bianca Schweiger
Pesquisa de resistência a antimicrobianos em cepas de
Staphylococcus isoladas de Queijo Colonial Artesanal /
Emmanuelle Bianca Schweiger Dalpiaz ; orientadora, Silvani
Verruck, 2023.
59 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias,
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis,
2023.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2. Resistência
Antimicrobiana. 3. Staphylococcus coagulase positiva. 4. Queijo
Colonial Artesanal. 5. Saúde Pública. I. Verruck, Silvani. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. III. Título.

Emmanuelle Bianca Schweiger Dalpiaz

Pesquisa de resistência a antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus* isoladas de Queijo Colonial Artesanal

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos” e aprovado em sua forma final.

Local, 14 de Novembro de 2023.



Documento assinado digitalmente

Ana Carolina de Oliveira Costa

Data: 07/12/2023 15:29:04-0300

CPF: ***.255.740-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Ana Carolina de Oliveira Costa, Dr.

Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente

Silvani Verruck

Data: 07/12/2023 14:52:06-0300

CPF: ***.960.859-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof(a). Dr(a). Silvani Verruck.

Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Marília Miotto

Data: 07/12/2023 14:57:35-0300

CPF: ***.130.689-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Marília Miotto Lindner, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Carmen Maria Olivera Müller

Data: 07/12/2023 13:21:07-0300

CPF: ***.911.660-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Carmen Maria Olivera Müller, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus queridos pais e familiares, cujo amor inabalável e apoio constante me deram força para superar os desafios. Aos meus valiosos professores, que compartilham conhecimento, amizade e orientação, minha profunda gratidão. A todos estudantes que lutam por uma universidade pública e de qualidade, que proporcionam um ambiente de aprendizagem e os recursos necessários para que trabalhos como este se tornem realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir ter sabedoria, discernimento, saúde, força e muita coragem em todos os momentos de minha vida. Aos meus pais, Marcos Vinício Peretto Dalpiaz e a minha mãe Neide Teresinha Schweiger, por todo apoio, incentivo e amor incondicional ao longo de toda a minha jornada acadêmica. O apoio emocional e encorajamento que vocês sempre me deram foram fundamentais para que eu pudesse enfrentar os desafios e superar as adversidades ao longo deste percurso. Agradeço também ao meu amor, Luan Ferreira da Silva, por todos os momentos ao meu lado, sempre me auxiliando em tudo que fosse necessário, não medindo esforços para me ver bem, você é o melhor abrigo e parceiro de vida que eu poderia ter.

À minha querida orientadora Professora. Dra. Silvani Verruck, agradeço por compartilhar seu valioso conhecimento, orientação e paciência ao longo deste trabalho. À Professora Dra. Isabela Maia Toaldo Fedrigo, responsável pela disciplina de trabalho de conclusão de curso, por toda sua compreensão, acolhimento e carinho. À Professora Dra. Carmen Maria Oliveira Müller, Jonas Fedrigo e a Professora Dra. Ana Carolina de Oliveira Costa, que coordenam e acolhem todos os alunos do curso com o maior carinho e amor, vocês são essenciais. A todos professores que contribuíram para o meu desenvolvimento ao longo da minha trajetória na universidade.

Às minhas queridas amigas, Bianca Melo, Letícia Junckes, Júlia Moretti e Esther Laís, quero agradecer pela amizade que cultivamos, conselhos, sorrisos, dificuldades e principalmente, pelos muitos momentos felizes que passamos juntas. Compartilhar experiências e desafios acadêmicos com vocês tornou essa jornada mais significativa, vocês são muito importantes para mim. Sou grata a todos os colegas e amigos que de alguma forma enriqueceram a minha trajetória acadêmica, sempre busquei aprender com vocês.

À minha amiga Fernanda Fogaça, quero agradecer por ser uma pessoa tão maravilhosa, sempre me apoiar e incentivar a ir atrás dos meus sonhos, além de mostrar toda a capacidade que tenho.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), quero agradecer pela oportunidade de adquirir conhecimento e me desenvolver como acadêmica dentro de uma universidade pública e de qualidade. As instalações, recursos e ambiente de aprendizagem fornecidos pela UFSC desempenharam um papel fundamental na minha formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelo apoio financeiro nas análises deste trabalho, sob termos de outorga nº 2021TR001446 e nº 2022TR002005.

Finalmente, agradeço às mestrandas Luísa Lobe e Vanessa Zanetti, que me auxiliaram durante minhas análises microbiológicas no Laboratório de Carnes, com muita paciência, carinho e zelo; Ao Francisco, IC do Laboratório, que esteve sempre disposto a auxiliar em minhas análises, com todo carinho e atenção; A todos aqueles que, de alguma forma, auxiliaram para a realização deste trabalho. Cada um de vocês desempenhou um papel importante em minha trajetória acadêmica e, por isso, expressei minha profunda gratidão.

Não é na ciência que está a felicidade, mas na aquisição da ciência. (Edgar Allan Poe)

RESUMO

O Queijo Colonial Artesanal possui uma grande importância cultural e econômica nas regiões onde é produzido. No entanto, o consumo de produtos à base de leite cru pode trazer riscos à saúde humana devido aos seus riscos microbiológicos. A utilização de antibióticos para tratamentos em bovinos de leite sem o devido controle, acarreta em um aumento da resistência a antimicrobianos, o que se tornou uma grande preocupação para a saúde pública. A presente pesquisa investigou a resistência antimicrobiana em cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) presentes no Queijo Colonial Artesanal, comparando amostras de Dezembro e Janeiro de 2021/2022 e Junho de 2023. No total, foram isoladas 37 cepas de 2021/2022 e 40 cepas de 2023, que após testes bioquímicos, 11 cepas de 8 amostras de queijo artesanal de 2021/2022 e 13 cepas de 8 amostras de queijo de 2023 foram selecionadas para os testes de susceptibilidade a antimicrobianos (TSA). Os TSAs foram realizados pelo método de disco-difusão onde se utilizou 19 diferentes antibióticos de 10 classes distintas. Nos isolados de 2021/2022, a maior resistência foi observada para o antibiótico ciprofloxacina (18,2% - 2/11). Nos isolados de 2023, observou-se resistência a antibióticos em 38,5% (5/13) das amostras, onde os isolados apresentaram resistência para penicilina G (30,8% - 4/13), seguida de tetraciclina (23% - 3/13). Além disso, observou-se em um isolado resistente a oxilina, antibiótico pertencente ao grupo das penicilinas resistentes à betalactamase e penicilinase estafilocócica, que também inclui a meticilina, o que causa grande preocupação visto que este tipo de isolado estão entre os principais causadores de infecções e apresentam altas taxas de mortalidade. Não foram observadas cepas multirresistentes, pois os isolados apresentaram resistência em apenas 2 classes distintas de antibióticos. E para o índice de multirresistência a antibióticos foram obtidos valores abaixo de 0,2, o que não representa risco a saúde do consumidor. Vale ressaltar, que apesar do número pequeno de isolados, pode-se observar um aumento de resistência de 2021/2022 para 2023. Este estudo piloto apresentou dados iniciais a respeito do tema, bem como a pesquisa ressalta a necessidade de monitoramento contínuo e ações específicas para conter a resistência antimicrobiana, visando à preservação da saúde pública e a garantia da segurança do produto no contexto da produção de Queijo Colonial Artesanal.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana, Queijo Colonial Artesanal, *Staphylococcus* coagulase positiva, Saúde Pública, Segurança Alimentar.

ABSTRACT

Artisanal Colonial Cheese holds significant cultural and economic importance in the regions where it is produced. However, the consumption of raw milk products poses considerable health risks due to microbiological hazards. The use of antibiotics in dairy cattle without proper control contributes to increased antimicrobial resistance, posing a major concern for public health. This study investigated antimicrobial resistance in coagulase-positive Staphylococcus (SCP) strains present in Artisanal Colonial Cheese, comparing samples from December and January 2021/2022 and June 2023. In total, 37 strains from 2021/2022 and 40 strains from 2023 were isolated. After biochemical tests, 11 strains from 8 samples of artisanal cheese from 2021/2022 and 13 strains from 8 samples of cheese from 2023 were selected for antimicrobial susceptibility tests (AST). ASTs were conducted using the disc diffusion method with 19 different antibiotics from 10 distinct classes. Isolates from 2021/2022 showed resistance in 18.2% (2/11), with the highest resistance observed for the antibiotic ciprofloxacin, where 18.2% (2/11) of the isolates were resistant. In isolates from 2023, resistance to antibiotics was observed in 380.58% (54/13) of the samples. All resistant isolates showed resistance to penicillin G (30.8% - 4/13), followed by tetracycline (23% - 3/13). Additionally, one isolate showed resistance to oxacillin, an antibiotic belonging to the group of beta-lactam-resistant and staphylococcal penicillinase, including methicillin, raising concerns as such isolates are major contributors to infections with high mortality rates. No multidrug-resistant (MDR) strains were observed as the isolates showed resistance in only 2 distinct classes of antibiotics. The multidrug resistance index (MAR) values were below 0.2, indicating no significant risk to consumer health. It is worth noting that, despite the small number of isolates, an increase in resistance from 2021/2022 to 2023 was observed, warranting careful monitoring due to acquired resistance or zootechnical treatments. Emphasis is placed on the importance of greater control in antimicrobial use for both human and animal herd applications. This pilot study provides initial data on the subject, emphasizing the need for continuous monitoring and specific actions to contain antimicrobial resistance, aiming to preserve public health and ensure the food safety of Artisanal Colonial Cheese.

Keywords: Antimicrobial Resistance, Artisanal Colonial Cheese, Coagulase-Positive Staphylococcus, Public Health, Food Safety.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Produção de Queijo Colonial Artesanal	22
Figura 2: Fluxograma de isolamento realizado para análise de resistência antimicrobiana de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em queijo artesanal	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estudos de investigação de resistência de <i>Staphylococcus</i> spp. isolados de produtos lácteos	22
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informação sobre as cepas de <i>S. coagulase</i> positivas isoladas de Queijo Colonial Artesanal	38
Tabela 2: Resistência das cepas de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva aos antibióticos testados	43
Tabela 3: Percentual de susceptibilidade antimicrobiana de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva isolados de queijo artesanal em 2021/2022	46
Tabela 4: Percentual de susceptibilidade antimicrobiana de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva isolados de queijo artesanal em 2023.....	47
Tabela 5: Índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) em isolados de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
AMI - Amicacina
AMO – Amoxicilina
AMP – Ampicilina
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATB – Antibiótico
ATCC – American type culture collection
AZI – Azitromicina
BPA – Boas Práticas Agropecuárias
BPF – Boas Práticas de Fabricação
BHI – Infusão cabeça-coração
BrCast – Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
CFL – Cefalotina
CFO – Cefoxitina
CIP – Ciprofloxacina
CLI – Clindamicina
CLO – Cloranfenicol
CLSI – Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais
CPM - Cefepime
CTX – Cefotaxima
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DOX – Doxicilina
DTA - Doenças Transmitidas por Alimentos
EE – Enterotoxinas estafilocócicas
ERI – Eritromicina
GEN – Gentamicina
GTQA – Grupo de Trabalhos de Queijos Artesanais
ISO – Organização Internacional de Padronização
LNZ – Linezolida
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MAR – Índice de multirresistência a antibióticos

MDR – Resistencia a múltiplas drogas
MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina
OMS – Organização Mundial de Saúde
OXA – Oxacilina
PBP – Proteínas ligadoras de penicilina
PCA – Ágar padrão contagem
PEN – Penicilina G
RAM – Resistencia aos antibióticos
RTIQ - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
SCP – *Staphylococcus coagulase positiva*
SCN – *Staphylococcus coagulase negativa*
SUT – Sulfazotrim
TET – Tetraciclina
TIG – Tigeciclina
TSA - Testes de susceptibilidade a antimicrobianos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 QUEIJO COLONIAL ARTESANAL	20
3.2 MICROBIOLOGIA DO QUEIJO COLONIAL ARTESANAL.....	23
3.2.1 <i>STAPHYLOCOCCUS</i> EM QUEIJOS	24
3.3 RESISTÊNCIA MICROBIANA	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 AMOSTRAS	38
4.2 ISOLAMENTO DE CEPAS DE <i>STAPHYLOCOCCUS</i> COAGULASE POSITIVA	38
4.3 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS	40
4.4 CEPAS MULTIRRESISTENTES (MDR)	41
4.5 ÍNDICE DE MÚLTIPLA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA (MAR)	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

Os queijos artesanais, reconhecidos por suas características sensoriais únicas, como a utilização de leite cru e a produção em condições específicas de relevo, temperatura e umidade, são elaborados manualmente, utilizando técnicas transmitidas de geração em geração, resultando em propriedades sensoriais específicas (Roldan; Revillion, 2019). A tradição da produção de Queijo Colonial Artesanal, enraizada na cultura brasileira desde períodos históricos passados, destaca-se como um patrimônio gastronômico, valorizado por sua riqueza de sabor e textura singular (De Castro-Cislaghi; Badaró, 2021).

No entanto, por trás da produção desse queijo, a microbiota desempenha um papel crucial na formação de suas características sensoriais e sabor. A microbiota do Queijo Colonial Artesanal é uma combinação de microrganismos presentes no leite e adquiridos do ambiente de ordenha, equipamentos, utensílios e manipuladores, tornando a qualidade microbiológica um aspecto crítico na segurança e aceitação pelos consumidores (Feitosa et al., 2003).

A legislação brasileira, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) por meio da Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, é crucial para regular a elaboração e comercialização de queijos artesanais, especialmente quando consideramos que muitos são produzidos a partir de leite cru, implicando em riscos potenciais de contaminação microbiológica (De Castro-Cislaghi; Badaró, 2021). No estado de Santa Catarina a Lei 17.486 de Janeiro de 2018, refere-se à utilização de leite cru bovino para a produção de queijos artesanais (Santa Catarina 2018; Araújo et al., 2020).

Estudos anteriores destacaram a presença de coliformes e *Staphylococcus* em queijos artesanais brasileiros, sendo estes últimos considerados microrganismos contaminantes, especialmente preocupantes devido à sua capacidade de produzir toxinas termorresistentes, representando um risco para a saúde do consumidor (De Castro-Cislaghi; Badaró, 2021; Johler; Zurfluh; Stephan, 2016). A presença de *Staphylococcus spp.* no Queijo Colonial Artesanal merece atenção especial. Este grupo de microrganismos pode colonizar o produto em todas as etapas da produção, desde a ordenha até o processo de fabricação e maturação. Sua introdução pode ocorrer através do leite utilizado, dos equipamentos e utensílios envolvidos no processo, bem como da interação com os manipuladores (Silva et al., 2011; Forsythe, 2013).

De acordo com Sahin-Tóth et al. (2021), apesar de haver diversas espécies neste gênero, suas principais diferenças são apresentadas através de características bioquímicas, em que se destaca a produção da coagulase como um importante fator de virulência. *Staphylococcus coagulase positivos* (SCP), possuem capacidade de produzir essa enzima que converte o

fibrinogênio plasmático em fibrina, formando um coágulo. Enquanto *Staphylococcus* coagulase negativas (SCN) não produzem coagulase, porém a não formação de coagulase não altera a possibilidade de causar doenças em seres humanos ou animais (Raue et al., 2020; Lawal et al., 2021). *Staphylococcus aureus* (principal representante de SCP) tem destaque entre as espécies por ser a mais virulenta, com grande capacidade de adaptação, adquirir genes de resistência antimicrobiana e ser produtora de enterotoxinas (Santos et al., 2018).

Além disso, o desenvolvimento de resistência antimicrobiana por cepas de *Staphylococcus* é um fenômeno crítico, destacando a importância de investigações detalhadas sobre esse aspecto (Mcewen; Collignon, 2018). Segundo a OMS, a resistência antimicrobiana pode comprometer a eficácia dos tratamentos convencionais e representa um desafio significativo para a segurança dos alimentos (Carvalho et al., 2021). Dessa forma, esta pesquisa se propõe a analisar e sintetizar os principais achados de estudos recentes que abordam a resistência antimicrobiana em cepas de *Staphylococcus* isoladas de queijos artesanais no Brasil e no mundo. Além disso, a abordagem desta pesquisa incluirá a análise da resistência antimicrobiana em cepas isoladas de *Staphylococcus* coagulase positiva, utilizando colônias típicas e atípicas, de Queijo Colonial Artesanal de Seara - SC.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar resistência antimicrobiana em cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas ao longo de dois anos de amostras de Queijo Colonial Artesanal de Seara-SC.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva presentes em amostras de Queijo Colonial Artesanal, obtidas de dois diferentes produtores, em diferentes estágios de maturação;
- Realizar teste de susceptibilidade antimicrobiana através do método disco-difusão a dezenove antibióticos distintos;
- Avaliar a resistência antimicrobiana das cepas isoladas de *Staphylococcus* coagulase positiva, investigando sua sensibilidade a uma ampla gama de antimicrobianos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 QUEIJO COLONIAL ARTESANAL

Os queijos no Brasil exibem uma vasta gama de produtos, caracterizada por uma diversidade de tipos, variações e influências de outras regiões do mundo, além de refletir a disseminação contínua de conhecimento entre os queijeiros (ABIQ, 2023). De maneira tradicional, o queijo artesanal brasileiro é obtido a partir de leite in natura (Souza et al., 2003; Machado et al., 2004; Fachinetto; Souza, 2010; Menezes, 2011). No contexto da agroindústria rural, conforme indicado pelo último censo agropecuário, os estados da região Sul do Brasil se destacam como líderes na ocorrência de agroindústrias dedicadas à produção de queijo e requeijão (IBGE, 2017).

Utilizar expressões como “da colônia” referindo-se a propriedade rural e “colono” para referir-se ao produtor rural são comumente utilizados no Sul do País. Com o uso desses termos, uma variedade de queijo produzido nessa região é denominada de Queijo Colonial Artesanal. Logo, os produtos coloniais são aqueles alimentos que colonos produzem em suas propriedades, como salames, geleias, bolachas e queijos, e estão relacionados diretamente às tradições trazidas dos imigrantes europeus (Dorigon, 2010).

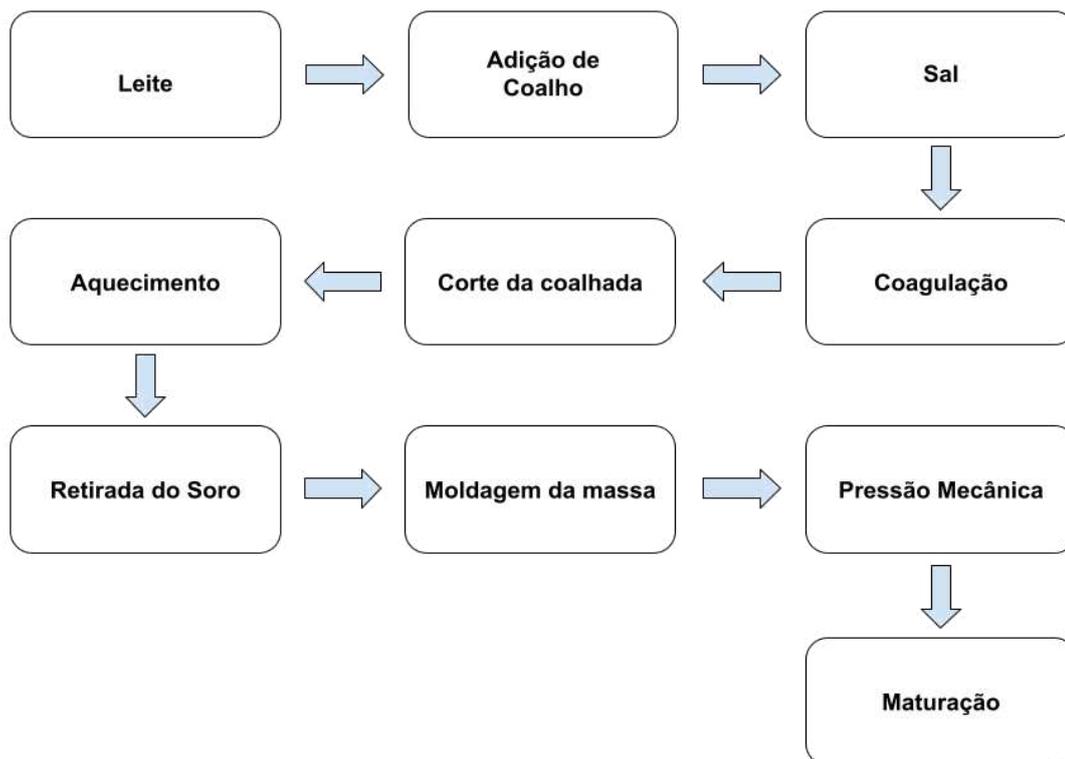
Desde o processo de produção do leite, a ordenha, cuidados com o rebanho, além da produção dos queijos, até o início da década de 1990, era realizado por mulheres. O leite utilizado para o processamento provém de um rebanho variado, com vacas Holandesa e Jersey, que possuem ótimas características genéticas para a região Sul, onde o clima auxilia para a alta produtividade. E a alimentação desses animais, composta por pastagem, milho, mandioca, conferem um sabor diferenciado para o queijo (Dorigon, 2016).

O Queijo Colonial Artesanal se caracteriza pela presença ou não de casca, o formato arredondado, coloração amarelada, apresenta olhaduras e uma certa picância em seu sabor, pode ser consumido em diferentes tempos de maturação. Quando submetido a maior tempo de maturação apresenta uma casca amarela e mais grossa, enquanto quando ainda imaturo, não apresenta casca. A maturação é um processo que ocorre durante um período de tempo, onde o queijo é exposto a temperatura e umidade relativa determinada, o que é essencial para o queijo, pois durante o processo ocorrem alterações químicas e microbiológicas onde se desenvolvem sabor, aroma e textura (Benincá, 2021).

O Queijo Colonial Artesanal é produzido à base de 3 ingredientes principais, entre eles o leite cru, o coalho e sal. A produção de queijo agrega valor ao leite produzido pelos pequenos

produtores rurais, que utilizam o leite excedente para que seja realizada a produção de queijos (Bazzo, 2016). Além disso, a sua produção segue características de cada produtor, mas de maneira geral, a produção do queijo segue as etapas de produção apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Produção de Queijo Colonial Artesanal



Fonte: Adaptado de Kamimura *et al.* (2019a)

A produção de queijos coloniais artesanais frequentemente envolve o uso de leite cru, o que confere ao produto características sensoriais distintas dos queijos produzidos com leite pasteurizado. No entanto, a utilização de leite cru está sujeita a regulamentações rigorosas. A legislação exige um tempo mínimo de maturação de 60 dias a uma temperatura superior a 5°C para reduzir os riscos microbiológicos. Essa flexibilidade no tempo de maturação só é permitida para queijarias que estejam livres de tuberculose e brucelose, cumprindo requisitos como o Programa de Controle de Mastite, análises do leite, Boas Práticas Agropecuárias (BPA), Boas Práticas de Fabricação (BPF), controle da qualidade da água e rastreabilidade de produtos (Brasil, 2013; Brasil, 2017; Brasil, 2019).

Em 2011 foi publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a Instrução Normativa nº 57/2011, onde foi autorizado a fabricação de queijos com período de maturação inferior a 60 dias (Brasil, 2011). Apesar dessa liberação, diversas exigências impediam o processo produtivo a base de leite cru. Cria-se então em 2012 o Grupo de Trabalho de Queijos Artesanais (GTQA), atuando junto ao MAPA, onde estavam participando vários grupos de produtores e de estudos dos queijos artesanais brasileiros, para que fosse possível que se concretizasse a regulamentação da cadeia de produção (Brasil, 2012).

Com o GTQA foi possível realizar os debates necessários e avaliar as mudanças que eram precisas, para que dessa forma o MAPA revogasse a IN 57/2011, estabelecendo a Instrução Normativa 30 de 2013 (Brasil, 2013). A legislação vigente, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), permite que ocorra a comercialização do queijo artesanal com menos de 60 dias de maturação, mas para isso deve-se seguir diversas regras estabelecidas, conforme publicado na Instrução Normativa nº 30 de 2013, garantindo uma produção de qualidade, que atenda a parâmetros de segurança alimentar e saúde pública (Brasil, 2013).

O Decreto nº 9.013 de 29 de março de 2017, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (Brasil, 2017), e a Portaria nº 368 do ano de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que regulamenta as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação – BPF para estabelecimentos que produzem produtos de origem animal (Brasil, 1997), informam que locais onde são fabricados produtos de origem animal necessitam cumprir diversos critérios para garantir a fabricação de produtos com segurança, observado através de critérios higiênico-sanitários. O estabelecimento deve cumprir normas de BPF, que são indispensáveis para que seja realizado um processamento seguro (Brasil, 1997).

Além disso, foi aprovada em novembro de 2021 a Lei Ordinária nº 18.250, que dispõe sobre os requisitos exigidos para a elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru. Nesta lei define-se o queijo colonial artesanal da seguinte maneira: aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação territorial, obtido por coagulação do leite cru, fresco ou não, integral ou parcialmente desnatado, por meio de coalho ou outras enzimas coagulantes, complementada ou não pela adição de fermento lácteo específico e/ou alimento/substância alimentícia”. Além disso, o Art. 7º informa que, o processo de maturação deve ser feito em um período mínimo de 5 (cinco) dias e suficiente para a garantia da inocuidade microbiológica, podendo ser em temperatura ambiente ou em temperaturas de refrigeração (mínima 5°C).

A qualidade do Queijo Colonial Artesanal produzido com leite cru, pode ser afetada por fatores como manejo inadequado do rebanho, armazenagem, processamento, e má higiene nos equipamentos utilizados na produção (Mazzucatto, 2022). Portanto, a segurança e a qualidade do Queijo Colonial Artesanal são questões de preocupação crescente. A produção artesanal pode apresentar desafios higiênico-sanitários, sendo que muitas vezes ocorre em ambientes não controlados, sem o uso de técnicas de higiene adequadas, condições de ordenha e produção do queijo adequadas. O estudo de De Castro (2021) avaliou as condições higiênico-sanitárias da produção de queijo Minas Artesanal fabricado em Sabinópolis, Minas Gerais, ressaltando a importância de monitorar e melhorar essas condições para garantir a segurança do alimento.

3.2 MICROBIOLOGIA DO QUEIJO COLONIAL ARTESANAL

Um aspecto distintivo da microbiologia do Queijo Colonial Artesanal é a diversidade da população microbiana. Esse tipo de queijo é produzido a partir de leite cru e não envolve a adição de culturas iniciadoras reconhecidas, o que resulta em uma variedade de microrganismos presentes. As bactérias ácido-láticas, naturalmente presentes no leite cru, desempenham um papel importante na competição com microrganismos patogênicos e na proteção contra sua multiplicação. Além disso, essas bactérias podem influenciar as características sensoriais do queijo, contribuindo para sabores e aromas distintos (Castro-Cislaghi; Cadaró, 2021; Jordan et al., 2014).

Por outro lado, a microbiologia do Queijo Colonial Artesanal desempenha um papel crítico na qualidade e segurança do produto. A microbiota presente no queijo está diretamente relacionada aos microrganismos encontrados no leite utilizado em sua fabricação e pode ser influenciada por falhas nas Boas Práticas de Fabricação (BPF). As regulamentações brasileiras estabelecem critérios microbiológicos para os queijos comercializados, incluindo a ausência de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*, bem como limites de tolerância para *Staphylococcus coagulase positiva* e *Escherichia coli*, dependendo da umidade do queijo (Brasil, 2019).

Enterobacteriaceae é uma família de microrganismos que inclui os coliformes totais e termotolerantes e podem estar presentes nas mãos dos trabalhadores, em superfícies de equipamentos, no úbere das vacas, na água e nos tanques de armazenamento. A contaminação pode ser reduzida por meio de práticas adequadas de higiene e desinfecção durante a ordenha. O consumo de produtos contaminados por algumas espécies presentes na família *Enterobacteriaceae* pode causar patologias gastrointestinais, como dores abdominais, diarreia, náusea e vômito (Mulinari; Rosolen; Adami, 2017; Wanjala; Nduko; Mwende, 2018).

E. coli se destaca como uma das principais espécies dentro da família *Enterobacteriaceae*. Esta espécie possui forma de bacilo Gram-negativo, não esporulada, e é comumente encontrada no intestino humano e de animais. As cepas patogênicas podem ser agentes causadores de enterites e doenças extra intestinais (Mazzucatto *et al.*, 2021).

Por estar presente na microbiota intestinal, a *E. coli* localiza-se nas fezes destes indivíduos, por este motivo, são utilizadas como indicadores de higiene, quando há exposição do alimento a possíveis riscos, como manipulação incorreta do alimento, águas sem tratamento, falta de limpeza de equipamentos ou contaminação após a fabricação, poderá ocorrer a presença desta bactéria (Mazzucatto, 2022; Carvalho *et al.*, 2021).

Salmonella spp. também pertence à família *Enterobacteriaceae*, é Gram-negativa, em forma de bacilos, catalase positiva e não formadora de esporos. As bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella enterica* são os responsáveis pela maioria das infecções que acometem humanos, devido sua presença no intestino de animais domésticos, silvestres e humanos. Surto de salmonelose são causados pela ingestão de alimentos crus ou mal cozidos, como ovos, leite cru, e carnes, pois esta bactéria é termossensível, não suportando temperaturas acima de 70°C (Moratelli, 2021; Mazzucatto, 2022).

Listeria monocytogenes é uma bactéria patogênica que pode sobreviver em diversos ambientes, como em baixa temperatura, pouca umidade, presença de sal, variações de pH, o que a torna uma grande preocupação para a saúde pública. Geralmente, a contaminação por *L. monocytogenes* está relacionada a alimentos prontos para consumo, que não sofrem tratamento térmico como o queijo artesanal. No entanto, também pode estar presente em queijo produzido com leite pasteurizado, pois tem capacidade de formar biofilmes em superfícies, ganhando maior resistência e contaminando esses ambientes de manipulação de alimentos. Pode ser encontrada ainda no úbere de vacas, mãos de manipuladores, microbiota intestinal de animais e em ambientes que não possuem uma boa rotina de higienização (Schug *et al.*, 2022).

A contaminação microbiológica dos queijos artesanais permanece como uma preocupação constante, pois pode comprometer a qualidade do produto final, levando potencialmente a doenças nos consumidores. Entre os microrganismos contaminantes mais comuns nos queijos artesanais brasileiros, destaca-se *Staphylococcus*, como apontado por Sobral *et al.* (2017) e reforçado por Castro-Cislaghi e Badaró (2019, 2021).

3.2.1 STAPHYLOCOCCUS EM QUEIJOS

De acordo com dados obtidos através da Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde (2022) no Brasil, entre os anos de 2012 a 2021, foram registrados de 6.347 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), que acarretaram em 13.466 hospitalizações. Quando se determinou o agente etiológico, os mais comuns foram as bactérias *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* e *Bacillus cereus*. O leite e seus derivados tiveram grande destaque com uma proporção de 7,1% e *S. aureus* equivaleu a 12,9% dos agentes etiológicos mais identificados nos surtos (Ministério da Saúde, 2022).

Staphylococcus é um gênero de bactérias Gram-positivas cocoides, produzem catalase, e pertencem à família *Micrococcaceae* (Pacha et al., 2021; Roy et al., 2021). De acordo com a pesquisa de Benincá (2021), que investigou o Queijo Colonial Artesanal no Vale do Taquari, a presença de *Staphylococcus* em produtos lácteos é uma preocupação relevante. Em seu estudo, Fachinetto e Souza (2010) avaliaram a qualidade microbiológica do queijo colonial, para *S. aureus*, produzido por pequenos produtores no Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, destacando a necessidade de monitoramento para garantir a segurança dos produtos. Além disso, um estudo publicado na revista Food Control, realizado por Jamal et al. (2015), também é relevante, pois analisou a prevalência e resistência antimicrobiana de *S. aureus* em leite cru e produtos lácteos.

A capacidade de algumas cepas formarem coágulos é um grande fator favorável a sua virulência, pois ao realizar a conversão do fibrinogênio presente no plasma em fibrina com a ativação da protrombina, forma-se o coágulo, que irá desempenhar função de proteger a bactéria do sistema imunológico do indivíduo infectado (Tam; Torres, 2019). Considerando a capacidade de algumas das principais espécies patogênicas apresentarem essa capacidade, o gênero *Staphylococcus* pode ser classificado em *Staphylococcus* coagulase negativa e *Staphylococcus* coagulase positiva. Associado a isso, algumas espécies do gênero, incluindo *S. aureus* (coagulase positiva), podem produzir enterotoxinas (Podkowik et al., 2013).

As enterotoxinas estafilocócicas (EE) são proteínas termoestáveis resistentes ao processo de cozimento, o que significa que mesmo a pasteurização do leite durante a produção de queijos pode não ser suficiente para inativá-las. Essas toxinas são secretadas por cepas de *S. aureus* durante sua multiplicação e, quando presentes em alimentos, podem causar intoxicação alimentar em humanos. Este processo é particularmente preocupante em produtos lácteos, nos quais o ambiente propício à multiplicação bacteriana pode persistir durante a produção e armazenamento. De acordo com Bhati et al. (2016) o mecanismo de ação das enterotoxinas estafilocócicas envolve a interação com receptores específicos no trato gastrointestinal, ativando respostas imunes e neurológicas que levam aos sintomas característicos da intoxicação

alimentar estafilocócica. Além disso, a atuação dessas toxinas pode desencadear uma resposta inflamatória aguda no organismo, causando náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia.

Diversas cepas de *S. aureus* podem produzir as EE, as mais conhecidas são do tipo A, B, C1, C3, D e E (Gouveia, 2023). SEA, SEB, SEC, SED e SEE, principais causadoras de DTAs. Na atualidade, foram identificados novos tipos de EEs, um total de 16, sendo, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEM, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET, SEU e SEV (Feitosa et al., 2017). A nomenclatura atribuída a cada enterotoxina é realizada pela ordem na qual é feita a sua descoberta e também por ordem alfabética, além de ser classificadas por entidades sorológicas distintas (Dias, 2022).

A principal EE é a SEA, que possui ação isolada ou em conjunto com outras EEs, além disso, é encontrada com maior frequência nos alimentos, sendo a principal causadora de intoxicações, acredita-se que prevaleça se dê devido a sua grande resistência a enzimas proteolíticas (Dias, 2022; Prado et al., 2015).

Johler et al. (2015), relataram que na Suíça foi identificado um surto por intoxicação alimentar pela presença de enterotoxinas SED e SEA, que estavam presentes em queijos produzidos a partir de leite cru, causando problemas de saúde a 10 adultos e 4 crianças, além disso, a cepa que acarretou nesse surto possui relação com a mastite bovina.

No que diz respeito ao mecanismo *quorum-sensing* de *S. aureus*, de acordo com Bhati et al. (2016), a regulação da produção de enterotoxinas pode estar sujeita a fatores ambientais e densidade populacional bacteriana. Estudos sugerem que o sistema de *quorum-sensing* de *S. aureus*, que envolve a liberação de moléculas sinalizadoras em resposta à densidade populacional bacteriana, pode influenciar a expressão de genes relacionados à produção de toxinas. Dessa forma, em ambientes onde a densidade bacteriana é elevada, há um aumento na produção de enterotoxinas, intensificando o potencial de intoxicação alimentar.

A presença de *S. aureus* não se limita apenas à produção primária do leite, mas se estende a outras fases críticas da cadeia de produção de queijos artesanais, exigindo uma análise abrangente das fontes de contaminação. Além da questão da mastite, que pode ser uma fonte significativa de *S. aureus* no leite, a contaminação por manipuladores durante o processo de produção também é uma preocupação central. Autores como Bhati et al. (2016) destacam a importância de compreender a prevalência do *S. aureus* em casos de mastite bovina, uma vez que essas infecções podem resultar na presença da bactéria no leite destinado à produção de queijos.

A compreensão da presença do *S. aureus* ao longo da cadeia de produção de queijos artesanais, conforme sugerido por autores como Benincá (2021), implica em estratégias

eficazes para prevenir e controlar a contaminação em todas as etapas. Isso reforça a importância de regulamentações, como a Lei nº 13.860 de 2019, que aborda não apenas a produção primária, mas também estabelece diretrizes para a elaboração e comercialização de queijos artesanais, considerando todas as possíveis fontes de contaminação, incluindo mastites e manipulação inadequada (Brasil, 2019). Essas informações são fundamentais para entender a complexidade da interação entre *S. aureus* e produtos lácteos, destacando a importância de práticas rigorosas de higiene e controle microbiológico na produção de queijos artesanais. Bhati et al. (2016) e Brant et al. (2007) contribuem para esse entendimento ao abordar aspectos genéticos e microbiológicos relacionados a *S. aureus* em contextos específicos.

Pesquisas, como o estudo de Ferreira (2015), têm se concentrado na caracterização fenotípica e genotípica de *S. aureus* isolados de queijo Minas frescal, tanto industrial quanto artesanal. Portanto, o estudo dessas cepas de *S. aureus* é essencial para avaliar os riscos associados ao consumo de queijos, especialmente os artesanais. Outras pesquisas, como o estudo de Tavares et al. (2019), também se concentram na avaliação microbiológica de queijos artesanais, incluindo a suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva. Isso é importante para entender a presença de microrganismos potencialmente patogênicos nos queijos coloniais artesanais e como eles podem ser afetados por tratamentos antimicrobianos.

3.3 RESISTÊNCIA MICROBIANA

Diversas bactérias possuem sensibilidade a antibióticos (ATB), já outras apresentam resistência a eles. A designação de resistência é dada para bactérias que conseguem apresentar crescimento *in vitro* apesar da presença dos antibióticos. Já as chamadas de sensíveis, são inibidas com a presença de antibiótico, não conseguindo multiplicar (Oliveira, 2007). De acordo com a Organização das Nações Unidas (WHO, 2017), a multirresistência a antimicrobianos é uma ameaça à saúde da população, e *Staphylococcus* é um dos patógenos com maior importância a ser observado neste contexto.

As bactérias necessitam de uma adaptação em meios distintos de crescimento, além da necessidade de uma rápida replicação, causando um processo acelerado de evolução (Silveira et al., 2006). Ao longo dos últimos anos, a forma de utilização incorreta dos agentes antimicrobianos em diversas finalidades, como uso terapêuticos e profiláticos, resultou no surgimento de uma inferência indesejada: nomeado de fenômeno de resistência a

antimicrobianos (RAM), presentes em bactérias que preocupam a saúde pública (IMRE et al., 2022).

Variados antimicrobianos que são utilizados na produção de animais para alimentação humana, são os mesmos ou similares aos medicamentos que são usados para tratamentos de saúde humana, e com a disseminação da resistência a esses antimicrobianos, as opções de tratamentos se torna limitada e problemas de saúde podem se tornar mais longos, devido à dificuldade de tratamento (Vasconcelos, 2018).

Com a utilização de antimicrobianos para tratamento de mastites bovinas, a maior ameaça se tornou a resistência e a disseminação de bactérias patogênicas, como é o caso de *Staphylococcus*, que por consequência não serão tratadas com facilidade com antibióticos antes utilizados (Vasconcelos, 2018). A transmissão das bactérias resistentes pode ser facilmente difundida aos seres humanos, por meios de contato com animais, humanos, alimentos ingeridos e até mesmo o ambiente (Harrison et al., 2013; Mole, 2013).

O estudo de Rola et al. (2015) identificou antimicrobianos comumente utilizados no tratamento animal, como tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos e sulfametoxazol. Segundo a pesquisa de Oniciuc et al. (2017), muitas cepas de *Staphylococcus* demonstraram resistência aos β -lactâmicos, além de apresentarem resistência à meticilina ou oxacilina, o que implica resistência a uma ampla variedade de agentes antimicrobianos do grupo β -lactâmico, incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos.

Na pesquisa realizada por Otto e Chatterjee (2013), a resistência de *S. aureus* à meticilina (MRSA) resulta da incorporação de um fragmento de DNA conhecido como Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec), que abriga o gene *mecA*. Esse gene é responsável por codificar a denominada Penicillin Binding Protein 2A (PBP2A), uma proteína com seções reduzidas de ligação ao anel β -lactâmico. A síntese de PBP2a permite que bactérias portadoras de SCCmec sintetizem a parede celular bacteriana mesmo na presença de β -lactâmicos, proporcionando resistência à maioria dos antimicrobianos desta classe. Adicionalmente, o estudo desenvolvido por Baba et al. (2009), descreve que MRSA não está relacionada apenas ao gene *mecA*, mas também por seus homólogos, identificados como, *mecB* e *mecC*.

O foco predominante nos genes de resistência à meticilina em estudos como o de Oniciuc et al. (2017) pode sugerir a necessidade de explorar mais amplamente as resistências a outros antibióticos. Pesquisas adicionais, como as de Bhati et al. (2016), indicam que as resistências podem ser tanto cromossômicas quanto plasmidiais, com a presença de elementos genéticos móveis facilitando a disseminação desses genes de resistência. Essa dinâmica é corroborada pelo estudo de Carvalho et al. (2021), que ressaltam a importância de investigar a natureza

cromossômica ou plasmidial das resistências em diferentes contextos bacterianos para melhor compreensão da disseminação desses mecanismos de resistência antimicrobiana.

No Quadro 1, observa-se uma tabulação de estudos recentes que avaliaram a resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. em produtos lácteos. Segundo o estudo realizado por Rodrigues et al. (2017), identificaram cepas de *Staphylococcus* associados à produção de laticínios que demonstraram resistência a uma variedade de antibióticos, incluindo penicilina, cefoxitina, oxacilina, clindamicina, eritromicina, tetraciclina, tobramicina, gentamicina, ciprofloxacina e cloranfenicol. Além disso, eles observaram a presença de isolados de MRSA obtidos nas amostras de leite cru e queijo no Brasil.

Quadro 1. Estudos de investigação de resistência de *Staphylococcus* spp. isolados de produtos lácteos.

PRODUTO E LOCALIZAÇÃO	TIPO DE ANÁLISE	ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS	RESULTADOS OBTIDOS	REFERÊNCIAS
Queijos, leite cru, queijo de cabra coalho. Estado de São Paulo (Brasil), Nordeste do Brasil, Estado de Pernambuco (Brasil), Sudoeste do Brasil;	Disco Difusão	Ciprofloxacina (5 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg).	Os resultados de resistência a antibióticos mostraram maior resistência à penicilina (25,3%), seguida por oxacilina (21,1%) e clindamicina (11,6%).	AGUIAR <i>et al.</i> , (2022)
Leite cru e sorvete. Cidade de Sadat - Egito	Disco Difusão	Penicilina, Cefoxitina, Cefradina, Tetraciclina, Eritromicina, Ciprofloxacina, Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Gentamicina, Sulfametoxazol/Trimetoprima, Vancomicina, Cefradina e Norfloxacin.	Alta resistência à Cefoxitina, Sulfa/Trimetoprima, Tetraciclina, Penicilina, Norfloxacin e Cefradina, com percentuais de 78,1%, 71,9%, 65,6%, 62,5% e 59,4%, respectivamente.	ABDEEN <i>et al.</i> , (2020)
Queijo Minas Frescal Goiás, Brasil	Disco Difusão	Eritromicina (15 µg), ciprofloxacina (5 µg), tetraciclina (30 µg), gentamicina (10 µg), vancomicina (30 µg), oxacilina (1 µg) e penicilina (10 UI).	Todos os isolados foram suscetíveis à ciprofloxacina, gentamicina e vancomicina. O padrão de resistência foi observado em 51 isolados (69,9%) para penicilina, 18 isolados (24,7%) para tetraciclina e quatro isolados (5,5%) para eritromicina e oxacilina. Nove isolados (12,3%) foram suscetíveis a todos os antibióticos testados e 17 isolados (23,3%) foram resistentes a mais de um antibiótico. Resistências intermediárias para eritromicina em 32 (43,8%) dos 73 isolados, 16 (55,2%) dos 29 isolados de pessoal, 9 (37,5%) dos 24 isolados de leite cru e 7 (35,0%) dos 20 isolados de amostras de queijo. S. aureus isolados de pessoal, leite cru e queijo, 75,9%, 70,8% e 60,0% eram resistentes à penicilina,	ANDRÉ <i>et al.</i> , (2008)

			respectivamente, e 17,2%, 33,3% e 25,0% eram resistentes à tetraciclina. Encontramos quatro isolados (5,5%) com padrão de MRSA.	
Leite cru, queijo Minas (queijo fresco). São Paulo, Brasil	Disco Difusão	Penicilina, cefoxitina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, cloranfenicol, ciprofloxacina, tobramicina, tetraciclina e gentamicina.	A resistência a antibióticos foi observada em 52% dos isolados, sendo a resistência a PEN a mais frequente, seguida por FOX, oxacilina, CLI, ERI, TET, TOB, GEN, CIP e CHL. No total, 18 perfis de resistência a antibióticos foram detectados neste estudo; o perfil mais abundante foi PEN (23%) seguido por OXA, FOX, ERI, CLI e PEN (3%). A multirresistência aos antibióticos foi observada em 27% dos isolados e 45% dos isolados foram susceptíveis a todos os antibióticos testados.	RODRIGUES <i>et al.</i> (2017)
Leite cru de vaca e produtos lácteos tradicionais feitos a partir de leite cru Tizi Ouzou, na Argélia	Disco Difusão	Penicilina G (10 UI), cefoxitina (30 µg), gentamicina (10 µg), ampicilina (30 µg), canamicina (30 µg), tobramicina (10 µg), neomicina (30 µg), tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), espiramicina (100 µg), lincomicina (15 µg), ofloxacina (15 µg), norfloxacina (15 µg), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), sulfametoxazol/trimetoprima (1,25/23,75 µg), fosfomicina (50 µg), ácido fusídico (10 µg), novobiocina (30 µg) e bacitracina (10 UI).	As taxas mais altas de resistência foram observadas para penicilina G (91,3%) e tetraciclina (47,8%);. Todos os isolados foram susceptíveis à gentamicina, ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol/trimetoprim, e novobiocina. Observadas baixas taxas de resistência a cefoxitina/oxacilina (15,9%), ofloxacina/norfloxacina (15,9%), eritromicina (2,9%), espiramicina (1,4%), lincomicina/clindamicina (1,4%), tobramicina (2,9%) e canamicina (1,4%). Dezesesseis isolados de <i>S. aureus</i> (23,18%) foram resistentes a pelo menos 3 classes diferentes de agentes antimicrobianos, e observamos 6 fenótipos de resistência a múltiplas drogas.	TITOUICHE <i>et al.</i> (2019)
Queijos Minas Frescal Rio de Janeiro, Brasil	Disco Difusão	Penicilina G (10 µg), oxacilina (1 µg), neomicina (30 µg), trimetoprima (5 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg),	A resistência das 10 cepas multirresistentes de CNS (MRCNS) estava distribuída da seguinte forma: 6 cepas (60%) eram resistentes ao sulfametoxazol, 5 cepas (50%) a aminoglicosídeos (ciprofloxacina,	NUNES <i>et al.</i> (2016)

		cefetoxina (30 µg), rifampicina (5 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), vancomicina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), sulfazotrim (23 µg), cefepima (30 µg) e linezolida (30 µg).	neomicina ou gentamicina), 6 cepas (60%) ao cloranfenicol, 8 cepas (80%) à vancomicina, 5 cepas (50%) à clindamicina, 10 cepas (100%) aos β-lactâmicos (oxacilina, penicilina ou cefoxitina), 6 cepas (60%) às tetraciclina (tetraciclina ou rifampicina), 3 cepas (30%) à cefepima, 5 cepas à eritromicina (50%), e 3 cepas (30%) à linezolida.	
Queijos artesanais de leite de vaca não pasteurizado Podlasie e Warmia e Mazury, na Polônia	Disco Difusão	Eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg), cefoxitina (30 µg), norfloxacina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), tetraciclina (30 µg), rifampicina (5 µg), penicilina (10U), nitrofurantoína (300 µg), linezolida (30 µg), cloranfenicol (30 µg), trimetoprim (5 µg), trimetoprima/sulfametoxazol (1.25/23.75 µg), tigeciclina (1 µg) e quinupristina/dalfopristina (15 µg).	A maioria deles era resistente a antimicrobianos, como penicilina (84,6%), clindamicina (46,2%), tetraciclina (42,3%), eritromicina (42,3%) e cefoxitina (26,9%). Apenas um isolado foi suscetível a todos os antibióticos utilizados no estudo. Todas as cepas de <i>S. epidermidis</i> resistentes à metilicina (26,9%) abrigavam o gene <i>mecA</i> . Isolados fenotipicamente resistentes à tetraciclina abrigavam pelo menos um determinante de resistência à tetraciclina, sendo o tet(M) o mais frequente.	CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA <i>et al.</i> (2019)
Queijo Minas Frescal orgânico e convencional São Paulo, Brasil	Disco Difusão	Penicilina (10 µg), oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), clindamicina (2 µg) e cloranfenicol (30 µg; todos da Laborclin, Paraná, Brasil)	Das 95 cepas de <i>Staphylococcus</i> spp., 51 não apresentaram resistência a nenhum dos antibióticos, enquanto 44 mostraram resistência a pelo menos 1 antibiótico. O antibiótico com o maior número de isolados resistentes foi a penicilina com 25,3%, seguido por oxacilina (21,1%), clindamicina (11,6%), eritromicina (6,3%), cefoxitina (4,2%), gentamicina (2,1%), tetraciclina (1,1%) e tobramicina (1,1%).	SILVA ABREU <i>et al.</i> (2021)
Leite cru, queijo Talaga (feito a partir de leite pasteurizado) e queijo Kareish (feito a partir de leite cru)	Disco Fusão	Amoxicilina-clavulanato (30µg), clindamicina (2µg), tetraciclina (30µg), ampicilina (10µg),	Os isolados de <i>S. aureus</i> foram altamente resistentes à ampicilina (72%) e tetraciclina (60%), enquanto uma resistência moderada foi registrada contra	ZEINHOM <i>et al.</i> (2021)

Governorato de Beni-Suef, no Egito		estreptomicina (10µg), cefoxitina (30µg), cefotaxima (30µg), florfenicol (30µg), sulfametoxazol-trimetoprima(30µg) e imipenem (10µg).	clindamicina (46%). Por outro lado, eles mostraram alta sensibilidade à estreptomicina (96%), seguida por sulfametoxazol-trimetoprima (84%), florfenicol e cefoxitina (76% para cada), imipenem (72%) e amoxicilina-clavulanato (68%). Quatorze isolados foram MDR (resistentes a múltiplas drogas) (56%).	
Leite cru, leite para queijo (pasteurizado, se aplicável), soro de leite e dois queijos maduros Região Centro-Noruega	Disco Fusão	Cefoxitina (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), fucidina (10 µg), linezolida (10 µg), trimetoprima-sulfametoxazol (1.25-23.75 µg), tetraciclina (30 µg), ceftarolina (5 µg), gentamicina (10 µg), mupirocina (200 µg), norfloxacin (10 µg) e rifampicina (5 µg) (todos da Oxoid).	Todos os isolados foram <i>S. aureus</i> sensíveis à meticilina e sensíveis aos 12 antibióticos testados	MEHLI <i>et al.</i> (2017)
Amostras das cavidades nasais e outra da parte inferior das unhas. São Paulo, Brasil	Disco Fusão	Penicilina (10 mg), oxacilina (1 mg), claritromicina (15 mg), eritromicina (15 mg), cefoxitina (30 mg), tetraciclina (30 mg), levofloxacina (5 mg), amoxicilina (10 mg), clindamicina (2 mg), linezolida (10 mg) e vancomicina (30 mg).	O teste de resistência antimicrobiana mostrou que 31 (83,78%) dos isolados de <i>S. aureus</i> foram resistentes à penicilina, 22 (59,46%) à oxacilina, 24 (64,86%) à claritromicina e 25 (67,57%) à eritromicina. Sete (18,92%) cepas foram resistentes à tetraciclina, 3 (8,11%) às cefoxitinas, 3 (8,11%) à levofloxacina e 2 (4,41%) à amoxicilina. Um (2,70%) isolado foi resistente à clindamicina, e nenhum dos isolados foi resistente à linezolida e à vancomicina.	PEREIRA <i>et al.</i> (2022)
Amostras de leite cru de vaca, leite cru de ovelha, queijo tradicional e kashk (preparado fervendo iogurte por longo período)	Disco Difusão	Cefoxitina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), canamicina (30 µg), lincomicina (15 µg), oxacilina (1 µg), penicilina G (10 U),	Do total de amostras, 328 (12,4%) apresentaram contaminação por <i>S. aureus</i> , sendo 162 (15,7%) provenientes de leite cru de vaca, 86 (9,6%) de leite cru de ovelha, 49 (10,9%) de queijo tradicional e 31 (11,5%) de kashk. Os perfis de resistência de <i>S. aureus</i> aos antimicrobianos testados foram os seguintes: tetraciclina, 56,1%; penicilina, 47,3%;	JAMALI <i>et al.</i> (2015)

		quinupristina-dalfopristina (15 µg), estreptomicina (10 µg), tetraciclina (30 µg), tobramicina (10 µg) e sulfametoxazol/trimetoprima (1,25/23,75 µg)	oxacilina, 16,2%; lincomicina, 11,9%; clindamicina, 11,3%; eritromicina, 7,9%; estreptomicina, 5,8%; cefoxitina, 5,5%; canamicina, 4%; cloranfenicol, 3,7%; e gentamicina, 2,1%. A resistência induzível à clindamicina foi observada em 44% das amostras (11 de 25) que eram sensíveis à eritromicina e resistentes à clindamicina. Todos os isolados de <i>S. aureus</i> resistentes à oxacilina e gentamicina carregavam os genes <i>mecA</i> e <i>aacA-aphD</i> , respectivamente.	
Amostras de laticínios (leite fresco de vaca, leite pasteurizado, leite de cabra, iogurte e queijo) - As amostras foram coletadas em fazendas de laticínios, mercearias e hipermercados. Kedah, Malásia	Disco Difusão	Meticilina, vancomicina, canamicina, cloranfenicol e tetraciclina.	Em geral, 6,0% dos isolados de <i>S. aureus</i> foram suscetíveis a todos os agentes antimicrobianos testados. Todos os isolados de <i>S. aureus</i> das amostras 2, 10 e 14 foram suscetíveis à metilina, vancomicina, canamicina, cloranfenicol e tetraciclina. Dos 5 isolados de <i>S. aureus</i> , o isolado da amostra 29 foi resistente a 2 antimicrobianos (metilina e vancomicina), e o isolado da amostra 18 apresentou resposta intermediária à tetraciclina. A amostra 29 mostrou resistência à metilina e vancomicina. A amostra 18 apresentou resposta intermediária à tetraciclina. As outras amostras foram suscetíveis a todos os antibióticos testados.	SASIDHARAN <i>et al.</i> , (2011)
Leite de vaca, queijo cru e de uma máquina de ordenha em 12 fazendas de laticínios Nordeste do Brasil	Disco Difusão.	Norfloxacina (10 mg), enrofloxacina (5 mg), sulfametoxazol com trimetoprima (23,75/1,25 mg), cloranfenicol (30 mg), tetraciclina (30 mg), eritromicina (15 mg), penicilina G (10 U), amoxicilina (10 mg), novobiocina (5 mg), oxacilina-meticilina (1 mg), vancomicina (30 mg), bacitracina (10 U), lincomicina (2 mg) e gentamicina	Quanto à resistência a antibióticos, os isolados de duas fazendas apresentaram o maior grau de resistência, com 63% das cepas resistentes a nove ou mais antibióticos simultaneamente e 85,2% resistentes à oxacilina-meticilina. Os genes de toxinas mais comumente detectados foram <i>seg</i> e <i>sei</i> , presentes em 93,2% dos isolados toxigênicos. Não foram detectadas cepas de <i>S. aureus</i> resistentes à metilina neste estudo.	SILVEIRA-FILHO <i>et al.</i> , (2014)

		(10 mg).		
<p>Produtos lácteos (queijo macio feito a partir do leite cru de vacas) em seis indústrias de laticínios</p> <p>Jalisco - Mexico</p>	Disco Difusão	<p>Penicilina (10 U); cefalotina (30 mg); ampicilina (10 mg); cefotaxima (30 mg); sulfametoxazol e trimetoprima (2.5/23.75 mg); gentamicina (10 mg); eritromicina (15 mg); dicloxacilina (1 mg); tetraciclina (30 mg); ciprofloxacina (5mg); clindamicina (30 mg); e vancomicina (30 mg).</p>	<p>Clindamicina (20%; 13/63), ciprofloxacino (22%; 14/63), gentamicina (57%; 36/63), tetraciclina (80%; 51/63), sulfametoxazol-trimetoprima (80%; 51/63) e vancomicina (100%; 63/63) foram os agentes antimicrobianos mais efetivos contra <i>S. aureus</i>. Todos os isolados (100%; 63/63) foram resistentes à penicilina, ampicilina, dicloxacilina e cefalotina; 92% (58/63) foram resistentes ao cefotaxima, 82% (52/63) à eritromicina e 65% (41/63) à clindamicina. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa na resistência entre ampicilina e cefalotina, cefotaxima, dicloxacilina, eritromicina e penicilina ($p > 0,05$), com exceção de uma diferença significativa ($p < 0,05$) na resistência ao ciprofloxacino, clindamicina, gentamicina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima e vancomicina.</p>	<p>AVILA-NOVOA <i>et al.</i>, (2021)</p>
<p>Amostras foram coletadas ao longo da cadeia de produção do queijo e incluíram, no total: matéria-prima (leite, coalhada, soro, salmoura), superfícies de contato com alimentos (por exemplo, galões de transporte de leite, baldes, conchas, tanques de processamento, potes, freezer, manipulador, molde de pano), superfícies sem contato com alimentos (por exemplo, piso, pias) queijos individuais prontos para consumo.</p> <p>Centro-Oeste (estado de Goiás)</p>	Disco Difusão	<p>Penicilina (10 U); cefoxitina (30 µg); gentamicina (10 µg); eritromicina (15 µg); tetraciclina (30 µg); ciprofloxacina (5 µg); clindamicina (2 µg); sulfametoxazol-trimetoprima (1,25/23,75 µg) e cloranfenicol (30 µg).</p>	<p>Não foram observadas resistência ou tolerância intermediária a gentamicina, cloranfenicol e vancomicina. Quatro cepas apresentaram tolerância intermediária a um antimicrobiano (ciprofloxacina, clindamicina ou eritromicina), mas foram sensíveis aos outros antibióticos testados. Foi observada resistência a apenas um antibiótico para penicilina (8 cepas), tetraciclina (9 cepas) e trimetoprima-sulfametoxazol (uma cepa). Uma cepa foi tolerante à penicilina e intermediariamente tolerante à ciprofloxacina, enquanto outra cepa foi tolerante à tetraciclina e intermediariamente tolerante à eritromicina. Resistência simultânea a dois antibióticos foi observada em uma cepa (penicilina e tetraciclina). Uma cepa apresentou tolerância</p>	<p>FARIAS ALVES <i>et al.</i>, (2018)</p>

			intermediária à clindamicina e simultaneamente resistência à cefoxitina, trimetoprima-sulfametoxazol e à penicilina, sendo uma <i>S. aureus</i> resistente à metilina (MRSA).	
Queijo artesanal Minas Campo das Vertentes, Minas Gerais, Brasil	Disco Difusão	Sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg), oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), vancomicina (30 µg), eritromicina (15 µg), penicilina G (10 U), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg) e tetraciclina (30 µg).	Todos os isolados estafilocócicos foram sensíveis a sulfametoxazol-trimetoprim, cefoxitina, gentamicina, vancomicina e cloranfenicol no teste de difusão em disco. No entanto, observamos resistência à eritromicina em 4 isolados estafilocócicos (5,26%), à tetraciclina em 21 isolados (27,63%) e à penicilina em 51 isolados (67,11%). No entanto, nenhum isolado estafilocócico apresentou resistência a múltiplas drogas entre os antimicrobianos avaliados.	CASTRO <i>et al.</i> , (2020)

Fonte: Elaborado pela autora (2023)

A avaliação da presença e sensibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus* isolados em produtos lácteos é uma área crucial para entender a dinâmica da resistência bacteriana. Autores como Bhati et al. (2016) ressaltam a importância de investigar a diversidade genética e os mecanismos de resistência presentes nas cepas de *Staphylococcus*, especialmente em contextos de infecções bovinas, como a mastite. No entanto, Benincá (2021) destaca que a avaliação dessas características pode ser influenciada por fatores ambientais e práticas de manejo específicas de cada região, o que pode gerar variações nos padrões de resistência observados.

Em relação à metodologia de avaliação, Brant et al. (2007) argumentam que a abordagem deve incluir tanto testes de presença de genes de resistência quanto testes de sensibilidade *in vitro* a diferentes antimicrobianos. No entanto, Carvalho et al. (2021) discordam, sugerindo que a avaliação da resistência a antimicrobianos deve ser *priorizada in vivo*, considerando as condições reais em que as bactérias interagem com os agentes antimicrobianos no ambiente.

A discussão sobre a sensibilidade a antimicrobianos também envolve debates sobre a interpretação de resultados de testes de susceptibilidade. Rola et al. (2015) enfatizam que a escolha dos pontos de corte para determinar a resistência ou sensibilidade pode variar entre diferentes estudos e laboratórios, o que pode gerar inconsistências nos dados. Oniciuc et al. (2017) corroboram essa preocupação, ressaltando a importância de estabelecer padrões claros e universalmente aceitos para interpretar os resultados de testes de sensibilidade a antimicrobianos.

No Brasil, a partir de Dezembro de 2019, o Ministério da Saúde tornou obrigatório o uso de orientações para a interpretação de antibiogramas, adaptado do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, (EUCAST), que se chama *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST). Em 2018, quando a portaria foi publicada os laboratórios brasileiros estes tiveram 12 meses para se adaptarem. Antes desta portaria não havia uma regulamentação oficial, e a maior parte dos laboratórios utilizavam um padrão americano do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), para que fossem realizados e interpretados os testes de sensibilidade antimicrobiana (Beskow, 2020).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

As amostras de queijo foram coletadas com dois diferentes produtores do estado de Santa Catarina, município de Seara, que foram identificados como C e R. As coletas ocorreram entre Dezembro de 2021 e Janeiro de 2022, e Junho de 2023. Além disso, possuíam diferentes tempos de maturação, entre 1 a 21 dias, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Informação sobre as cepas de *S. coagulase* positivas isoladas de Queijo Colonial Artesanal.

Ano de coleta	Dados da amostra	
	Tempo de maturação	Identificação das cepas
2021/ 2022	1 dia	C1 1T, C1 2T, C1 3T, R1 1T, R1 2T, R1 6T, R1 7T
	7 dias	C7 2A, C7 4A
	14 dias	C14 3A, C14 4A
	21 dias	_*
2023	1 dia	C1 1A, C1 3T, R1 1A, R1 4A
	7 dias	C7 4T, C7 2A, R7 4A
	14 dias	C14 5T, C14 2A, R14 3, R14 5A
	21 dias	C21 1T, C21 9A

Legenda: C: amostra produtor 1; R: amostra produtor 2; Numeral: tempo de maturação; A: colônias atípicas; T: colônias típicas; -*: nenhuma colônia típica ou atípica encontrada.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.2 ISOLAMENTO DE CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE POSITIVA

A norma ISO 6888-1:2019 foi utilizada para enumerar *Staphylococcus* coagulase positiva por meio do uso de BPA (*Baird Parker Agar*) e RPF (*Rabbit Plasma Fibrinogen*) (ISO, 2019). O isolamento foi realizado a partir de alíquotas de 25 gramas de cada Queijo Colonial Artesanal. De cada diluição seriada utilizou-se 0,1 mL, que foram transferidas para as placas de Petri contendo ágar Baird Parker (BP) e espalhadas com auxílio da alça de Drigalski. Após o processo de distribuição em superfície, as placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas.

Foram consideradas colônias típicas de *Staphylococcus* as que se apresentaram com cor negra brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio. E atípicas as que apresentam cor acinzentada ou negras brilhantes, sem halo

ou com apenas um dos halos. Foram selecionadas de forma aleatória, de 3 a 5 colônias, típicas e atípicas, totalizando 37 cepas das amostras de 2021/2022 e 40 cepas das amostras de 2023, e transferidas para tubos com caldo Brain Heart Infusion (BHI) seguidos de incubação por $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

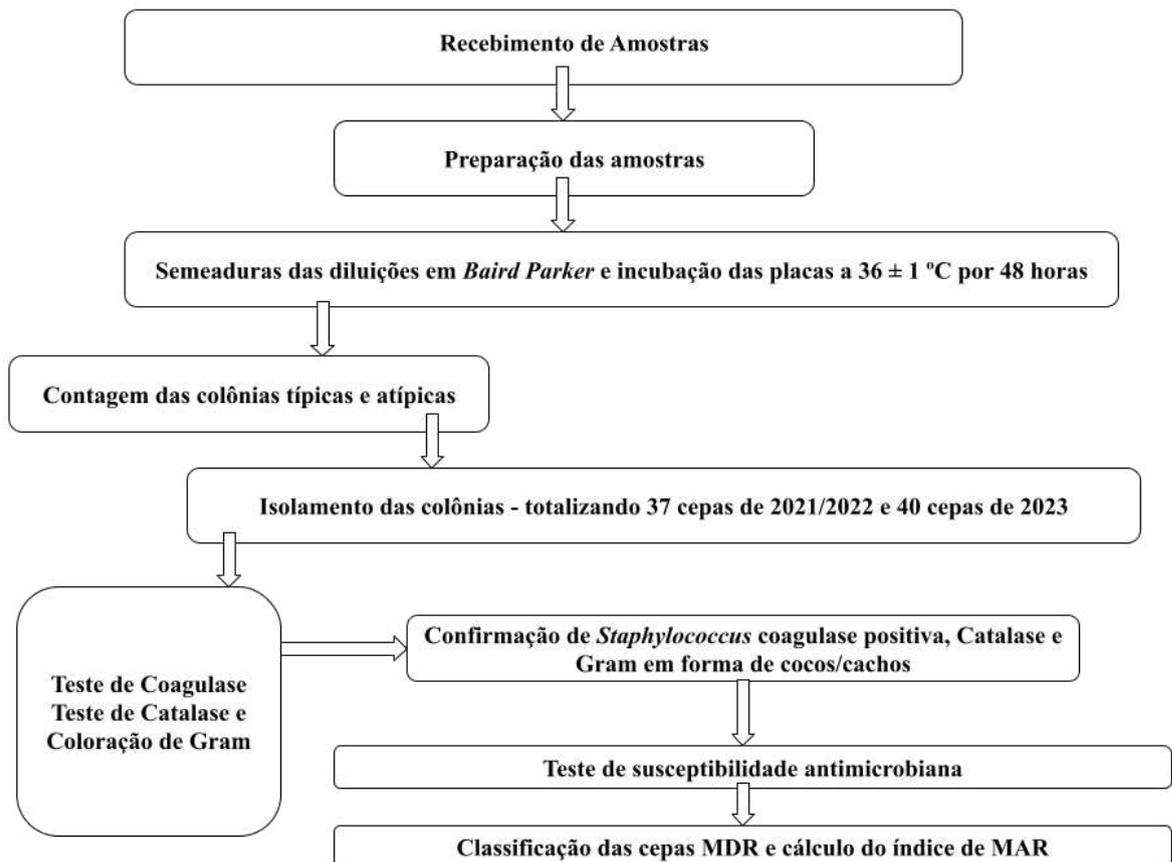
A partir do caldo BHI foram realizados os testes bioquímicos de coagulase, catalase e coloração de Gram para confirmação. Para o teste de coagulase utilizou-se 0,3 mL de BHI com a cultura e adicionou-se 0,3 mL de plasma de coelho. A incubação dos tubos foi realizada à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 horas. A análise dos resultados foi realizada conforme descrito pela ISO 6888-1:2019, assim como a classificação dos coágulos, onde coágulo grande e organizado equivale a 3+, e quando há coagulação de todo o conteúdo do tubo, onde não ocorre desprendimento quando o tubo é invertido refere-se a 4+, tubos classificados como de 2+ e 1+ não foram considerados.

Para o teste da catalase retirou-se uma alíquota de BHI com cultivo, transferiu-se para uma lâmina de vidro estéril, e acrescentou-se em cada alíquota 3 gotas peróxido de hidrogênio 3%. Em seguida foi feita a homogeneização, com o objetivo de observar a formação ou não de borbulhas, onde a não formação comprova catalase negativa, enquanto a formação destas borbulhas indica positivo para catalase e para *Staphylococcus*. (Koneman et al., 2001).

Para o teste de coloração de Gram, conforme descrito por Christian Gram (1884), uma alçada da cultura de cada isolado foi depositada em lâminas microscópicas e a coloração realizada a partir do método Gram. Quando testes resultam em positivos para *Staphylococcus*, podem apresentar-se isolados, em pares, cadeias curtas ou em cachos (Brito et al., 1999; Oliver et al., 2004)

Após os testes, foram selecionadas 11 cepas de amostras de 2021/2022 e 13 cepas de amostras de 2023 que apresentaram as características de coagulase positiva, catalase positiva e características morfológicas que correspondiam a cocos Gram-positivos. A fim de seguir os procedimentos de rastreabilidade, as amostras foram identificadas devidamente, com números de registro, temperatura de incubação, meio de cultura utilizado, data de realização do teste e responsável pela investigação. Todos os resultados foram registrados, bem como as leituras intermediárias (como provas de confirmação, repique, morfologia das colônias, características gerais e outras).

Figura 2: Fluxograma de isolamento realizado para análise de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo artesanal.



Fonte: A autora (2023).

4.3 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Com resultados positivos para *Staphylococcus* coagulase positiva, foram realizados testes de susceptibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco, conforme descrito pelo Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST, 2023). Os inóculos bacterianos foram preparados transferindo as colônias para caldo BHI seguido de incubação por 18 horas à $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Em seguida, o inóculo foi padronizado em solução salina estéril a 0,85% (m/v) a fim de obter suspensão com turbidez em referência a escala de McFarland 0,5, para análise em 625 nm por espectrofotometria. O controle de qualidade dos antimicrobianos foi conduzido em paralelo utilizando a cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

No procedimento de inoculação, foi umedecido um *swab* na parede interna do tubo e retirado

o excesso de líquido, após, foram cultivadas nas placas de ágar Mueller-Hinton. A placa foi submetida a temperatura ambiente por período de 10 a 15 minutos para que os inóculos fossem absorvidos antes de se adicionar os discos contendo os antimicrobianos (BRASIL, 2020). Finda a espera, os discos de antibióticos foram aplicados na superfície da placa inoculada em ambiente estéril.

Foram selecionados para o teste 19 antibióticos de 10 diferentes classes, quais sejam: cefotaxima (30ug - CTX), amoxicilina + ácido clavulânico (20/10ug - AMC), cefoxitina (30ug - CFO), cefepime (30ug - CPM), gentamicina (10ug - GEN), ampicilina (10ug - AMP), ciprofloxacino (5ug - CIP), sulfazotrim (25ug - SUT), amicacina (30ug - AMI), tetraciclina (30ug - TET), cloranfenicol (30ug - CLO), clindamicina (2ug - CLI), penicilina G (10ug - PEN), eritromicina (15ug - ERI), oxacilina (1ug - OXA), cefalotina (30ug - CFL), doxicilina (30ug - DOX), tigeciclina (15ug - TIG), linezolida (10ug - LNZ). Logo após, as placas foram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, conforme normas estabelecidas pelo BrCAST.

Após o período de incubação, foi realizada a medição dos diâmetros da zona inibitória, com o auxílio de paquímetro. As cepas foram classificadas como resistentes, sensíveis com a exposição aumentada ou sensíveis seguindo os padrões de interpretação para os diâmetros de halos de inibição de acordo material disponibilizado no BrCAST (BrCAST, 2023) e do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2022).

4.4 CEPAS MULTIRRESISTENTES (MDR)

Conforme citado por Magiorakos et al. (2012), as cepas foram classificadas como multidrogarresistentes (MDR) quando apresentavam resistência a um antibiótico em pelo menos três classes distintas dos antimicrobianos testados.

4.5 ÍNDICE DE MÚLTIPLA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA (MAR)

Foi realizado o cálculo para a determinação do índice MAR de acordo com a seguinte equação: $MAR_{index} = a/b$ (Ayandele et al., 2020), onde (a) refere-se ao número de isolados resistentes aos antibióticos e (b) o número total de antibióticos usados nos testes de susceptibilidade. Quando o índice MAR apresenta valor igual ou maior 0,2 representa que a cepa provém de uma fonte de contaminação que apresenta risco alto a população.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 37 cepas de 2021/2022 e 40 cepas de 2023 foram testadas a partir do ágar BP, sendo que após testes bioquímicos de confirmação, foram selecionadas respectivamente 11 cepas oriundas de 8 amostras de queijo artesanal, com diferentes tempos de maturação de 2021/2022 e 13 cepas de 8 amostras de queijo de 2023. As cepas selecionadas foram confirmadas para *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo que nas amostras de 2021/2022, a ocorrência de 29,7% (11/37) e nas de 2023, 32,5% (13/40).

Os isolados foram submetidos a testes de sensibilidade a antimicrobianos de 10 diferentes classes e sua susceptibilidade está descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Resistência das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva aos antibióticos testados.

ANO	AMOSTRAS																			
		AMC	AMP	OXA	PEN	CPM	CFO	CTX	CFL	AMI	GEN	CIP	CLO	SUT	TET	DOX	TIG	CLI	LNZ	ERI
2021 /2022	C1 1T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1 2T	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1 3T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C7 2A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C7 4A	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C14 3A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C14 4A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	R1 1T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S
	R1 2T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	R1 6T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	R1 7T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2023	C1 1A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C1 3T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C7 4T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C7 2A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C14 5T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C14 2A	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
	C14 1T	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	C21 9A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	R1 1A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	R1 4A	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
	R7 4A	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
R14 3A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
R14 5A	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	

Legenda: S: sensível; I: Suscetíveis, exposição aumentada; R: resistência; C: amostra produtor 1; R: amostra produtor 2; Numeral: tempo de maturação; A: colônias atípicas; T: colônias típicas; AMC: Amoxicilina-ácido clavulânico; AMP: Ampicilina; OXA: Oxacilina; PEN: Penicilina G; CPM: Cefepime; CFO: Cefoxitina; CTX: Cefotaxima; CFL: Cefalotina; AMI: Amicacina; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; CLO: Cloranfenicol; SUT: Sulfametoxazol; TET: Tetraciclina; DOX: Doxicilina; TIG: Tigeciclina; CLI: Clindamicina; LNZ: Linezolida; ERI: Eritromicina.

Fonte: Elaborada pela autora, 2023.

Analisando os isolados de 2021/2022 observa-se que 18,2% (2/11) apresentaram resistência a antibióticos, sendo que a maior resistência apresentada foi de 18,2% (2/11) para ciprofloxacina, seguido de 9,1% (1/11) para penicilina G. Enquanto isso 9,1% (1/11) das cepas apresentaram susceptibilidade com exposição aumentada para cefotaxima, gentamicina e sulfametoxazol. Dentre as cepas isoladas, 100% (11/11) apresentaram sensibilidade a pelo menos 16 antibióticos, conforme observa-se na Tabela 2. Por outro lado, a cepa C1 2T apresentou resistência a dois antibióticos testados, sendo eles penicilina G e ciprofloxacina, bem como também se apresentou suscetível com exposição aumentada a gentamicina. Nos isolados de 2023, foi observada resistência a antibióticos em 38,5% (5/13), onde todos os isolados que foram resistentes, apresentaram resistência para penicilina G 30,8% (4/13), seguida de tetraciclina 23% (3/13), ampicilina 15,3% (2/13), oxacilina 7,7% (1/13) e tigeciclina 7,7% (1/13). Além disso, assim como no ano de 2022, a sensibilidade dos isolados em pelo menos 16 antibióticos foi de 100% (13/13) (Tabela 2).

No estudo realizado por Wang et al. (2018), 31,3% (30/96) dos isolados de leite cru apresentaram maior incidência da resistência a penicilina G, assim como observado nas análises deste estudo. Em outro estudo desenvolvido por D'amico e Donnelly (2011), 90 cepas isoladas de leite cru também apresentaram resistência a penicilina, representando 17,04% (90/528). A resistência estafilocócica ocorre a diversos antimicrobianos, entre eles a meticilina, isso ocorre por fatores distintos, entre eles a produção de β -lactamases que são codificadas pelo gene *blaZ*, responsável por realizar a hidrólise do anel β -lactâmico presente no núcleo estrutural das penicilinas, além de alterar o sítio de ligação dos antibióticos através da produção de proteína ligadora de penicilina adicional, encontrada apenas em isolados de *S. aureus* que apresentam resistência a meticilina (Aguiar, 2022).

A resistência de penicilinas em *S. aureus* é auxiliada por dois mecanismos distintos, o primeiro possui relação a produção da penicilinase que é codificada por *blaZ*, que possui a capacidade de inativar a penicilina hidrolisando o anel β -lactâmico, já o segundo, devido a proteína de ligação alterada, a PBP2a, que é codificada pelo gene *mecA*. O gene *blaZ* possui dois genes que o regulam, o antirrepressor *blaR1* e o repressor *blaI*, onde após ocorrer a exposição aos β -lactâmicos, *blaR1* sofre clivagem de forma autocatalítica, fazendo com que ocorra a clivagem de *blaI* e causando a transcrição de *blaZ* (Cussolim, 2021; Tasneem et al., 2022; Aguiar 2022).

Sabe-se que o gene *mecA* está presente no cromossomo estafilocócico por um elemento genético móvel, o cassete cromossômico estafilocócico *mec*. As bactérias que possuem PBP2a apresentam resistência a todos os antibióticos da classe dos β -lactâmicos, com exceção das cefalosporinas de 5ª geração (BATISTA et al., 2014). Conforme descrito por Ammar et al. (2016), cepas de MRSA (*S. aureus* resistentes à meticilina) conseguem desenvolver uma proteína ligante à penicilina codificada pelo gene *mecA*, afetando a afinidade às penicilinas semissintéticas (PBP2 e PB2a), logo isso acarreta em uma baixa sensibilidade destas cepas aos antimicrobianos β -lactâmicos. Nos isolados de 2023, foi observada resistência a oxacilina na cepa R7 4A. Este antibiótico pertence ao grupo das penicilinas resistentes à betalactamase e penicilinase estafilocócica, que também inclui a meticilina, o que revela uma preocupação visto que MRSA são os principais causadores de diversas infecções na população, além de promover as taxas de mortalidade (Cussolim, 2021). Conforme descrito por Moreno et al. (2006), MRSA ganhou destaque nos anos 80, período onde se observou diversas infecções graves em hospitais, unidades de terapia intensiva e em berçários devido a ela. E ainda nos dias de hoje cepas MRSA são um dos maiores problemas clínicos e epidemiológicos em infecções hospitalares, estando em primeira posição quando ocorrem infecções ligadas a esses microrganismos (Tasneem et al., 2022). Além disso, de acordo com Nowakiewicz et al. (2015), há uma relação entre a ocorrência de MRSA e resistência a outras classes de antimicrobianos, como aos macrolídeos, tetraciclina ou aminoglicosídeos.

Corroborando para o presente estudo, a pesquisa realizada por Pineta (2022), desenvolveu análises em queijos artesanais da Serra da Canastra, o resultado obtido foi semelhante ao obtido com as cepas isoladas de 2023, pois o segundo antibiótico que apresentou maior resistência foi a tetraciclina 24,1% (13/54). A pesquisa desenvolvida por Guran e Ikani (2015) nos disponibiliza dados semelhantes, onde sua análise foi realizada com 208 isolados de *Staphylococcus spp.* e testadas para 24 antimicrobianos. Os autores obtiveram alta incidência da resistência à tetraciclina e oxitetraciclina 85,5% (178/208), à penicilina 51,4% (113/208), seguidas de ampicilina 39,9% (83/208) e doxiciclina 31,7% (66/208). Os pesquisadores Kumar, Yadav e Singh (2010), realizaram estudos em vacas com mastite, onde foram isolados 128 *Staphylococcus* a partir do leite, com grande prevalência para resistência a tetraciclina, sendo de 36,7%. Estes resultados ocorrem devido à grande utilização desses antibióticos em tratamentos de mastite em bovinos de leite (Pineda, 2022).

Na classe das quinolonas utilizou-se ciprofloxacina, um antimicrobiano que tem como precursor o ácido nalidíxico, que age inibindo a síntese de DNA bacteriano através do bloqueio da atividade enzimática de topoisomerasas, DNA girase e Topoisomerase IV, realizando a

clivagem do DNA. Nos isolados de 2021/2022 observou resistência de 18,2% (2/11) a ciprofloxacina. Resultados semelhantes ao do presente estudo foram encontrados por Abdalrahman et al. (2015), onde 19,7% (15/76) das cepas de *S. aureus* foram resistentes a ciprofloxacina. Vale ressaltar que ciprofloxacina é um dos antimicrobianos com baixa utilização no contexto da medicina veterinária (Vasconcelos, 2018).

Tabela 3. Percentual de susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de queijo artesanal em 2021/2022.

Grupos de antibióticos	Resistente		Suscetíveis, exposição aumentada		Sensível	
	n	%	n	%	n	
<u>Penicilinas</u>						
Amoxicilina - Ácido clavulânico	0	0	0	0	11	100
Ampicilina	0	0	0	0	11	
Oxacilina	0	0	0	0	11	100
Penicilina G	1	9	0	0	10	90
<u>Cefalosporinas</u>						
Cefepime	0	0	0	0	11	100
Cefoxitina	0	0	0	0	11	100
Cefotaxima	0	0	1	9	10	90
Cefalotina	0	0	0	0	11	100
<u>Aminoglicosídeos</u>						
Amicacina	0	0	0	0	11	100
Gentamicina	0	0	1	9	10	90
<u>Quinolonas</u>						
Ciprofloxacina	2	18	0	0	9	82
<u>Anfenicóis</u>						
Cloranfenicol	0	0	0	0	11	100
<u>Sulfonamidas</u>						
Sulfazotrim	0	0	1	9	10	90
<u>Tetraciclinas</u>						
Tetraciclina	0	0	0	0	11	100
Doxiciclina	0	0	0	0	11	100
Tigeciclina	0	0	0	0	11	100
<u>Lincosamidas</u>						
Clindamicina	0	0	0	0	11	100
<u>Oxazolidinonas</u>						
Linezolida	0	0	0	0	11	100
<u>Macrolídeos</u>						
Eritromicina	0	0	0	0	11	100

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Conforme observado na Tabela 3, entre os 24 isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva, constatou-se que nas cepas de 2021/2022 ao menos dois isolados 18,2% (2/11) apresentaram resistência a uma classe de antimicrobiano, e um isolado 9% (1/11) apresentou resistência a mais de uma classe de antibióticos, o que apesar de não ser considerado multirresistência (MDR), deve ser monitorado. Nos isolados de 2023, as quatro cepas 30,8% (4/13) que indicaram resistência, foram resistentes a dois antimicrobianos. De acordo com Mello et al. (2005), quando tratamentos com o mesmo antimicrobiano são feitos de forma frequente e por longos períodos isso pode contribuir para uma resistência adquirida, devido a capacidade de adaptação microbiana.

Na presente pesquisa não foi observado MDR entre os isolados, porém, pode-se observar uma evolução na resistência antimicrobiana, onde ocorreu resistência em uma maior quantidade de cepas 30,8% (4/13) no ano de 2023 (Tabela 4) em comparação ao de 2021/2022, 18,2% (2/11) (Tabela 3). Além disso, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o grande aumento de incidência de cepas MDR é um grave problema de Saúde Pública. Quando se identifica a presença de MDR, há ocorrência de diversos problemas na área da saúde, por conta da ineficiência em protocolos de tratamento frente a doenças bacterianas, além de diversos impactos econômicos, incluindo maiores gastos na saúde para superar estes problemas, acarretando em uma maior letalidade frente a doenças bacterianas (De Carvalho et al., 2021).

Tabela 4. Percentual de susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de queijo artesanal em 2023.

Grupos de antibióticos	Resistente		Suscetíveis, exposição aumentada		Sensível	
	n	%	n	%	n	%
<u>Penicilinas</u>						
Amoxicilina - Ácido clavulânico	0	0	0	0	13	100
Ampicilina	2	15	0	0	11	85
Oxacilina	1	7	0	0	13	93
Penicilina G	4	31	0	0	9	69
<u>Cefalosporinas</u>						
Cefepime	0	0	0	0	13	100
Cefoxitina	0	0	0	0	13	100
Cefotaxima	0	0	0	0	13	100
Cefalotina	0	0	0	0	13	100
<u>Aminoglicosídeos</u>						
Amicacina	0	0	0	0	13	100
Gentamicina	0	0	0	0	13	100

<u>Quinolonas</u>								
Ciprofloxacina	0	0		0	0		13	100
<u>Anfenicóis</u>								
Cloranfenicol	0	0		0	0		13	100
<u>Sulfonamidas</u>								
Sulfazotrim	0	0		0	0		13	100
<u>Tetraciclinas</u>								
Tetraciclina	3	23		0	0		10	77
Doxiciclina	0	0		0	0		13	100
Tigeciclina	1	8		0	0		12	92
<u>Lincosamidas</u>								
Clindamicina	0	0		0	0		13	100
<u>Oxazolidinonas</u>								
Linezolida	0	0		0	0		13	100
<u>Macrolídeos</u>								
Eritromicina	0	0		0	0		13	100

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Em um outro estudo realizado por Castro et al., (2018), a partir de amostras de queijo coalho produzidas com leite cru, no Nordeste do Brasil, identificaram-se além de MDR, os genes que codificam enterotoxinas em dois isolados de *S. aureus*. As toxinas estafilocócicas (SE), são codificadas por genes previamente identificados (sea, seb, sec, see, seh, sek, entre outros) e desempenham um papel crucial na patogênese de intoxicações alimentares. Isso ocorre devido à sua estabilidade térmica, necessitando de uma temperatura de pelo menos 100 °C por 5 a 10 minutos para serem inativados, e à sua resistência a enzimas proteolíticas (GONZALEZ et al., 2017). Além disso, devido as intoxicações bacterianas provocadas por SE, produzidas por *Staphylococcus* coagulase positiva, acarretam em problemas de grande magnitude, sendo eles, econômicos e clínicos. Estima-se que por volta de 700 mil óbitos que ocorrem ao longo do ano, devem-se a infecções acarretadas por MDR, o que se torna mais preocupante são as previsões para 2050, onde estima-se que cerca de 10 milhões de mortes ocorrerão em decorrência desse problema (McLeod et al., 2019; Pacios et al., 2020)

O índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) conforme apresentado na Tabela 5, variou de 0,09 a 0,14 nas cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva. Observa-se que nas cepas de 2021/2022 os valores foram menores se comparados aos resultados obtidos para as cepas de 2023, este resultado corrobora com os dados apresentados nas Tabelas Y e Z, onde se observou que as cepas de 2023 apresentaram maior resistência aos antibióticos quando

comparadas ao ano anterior. Em situações onde o índice MAR possui valor acima de 0,2, caracteriza-se como fontes potenciais de contaminação e riscos à saúde humana.

Tabela 5. Índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) em isolados de *Staphylococcus coagulase positiva*.

Ano	Cepas isoladas	Antimicrobiano	Índice MAR
2021/2022	C1 2T	CIP, PEN	0,09
	R1 1T	CIP	0,04
2023	C14 2A	PEN, TIG	0,09
	R1 4A	AMP, TET, PEN	0,14
	R7 A4	TET, OXA, PEN	0,14
	R14 5A	AMP, TET, PEN	0,14

Fonte: A autora (2023).

Apesar de observado no índice de MAR valor abaixo de 0,2, o aumento de resistência de um ano para outro deve ser analisado com atenção, necessitando de um monitoramento devido à sua resistência adquirida naturalmente ou por conta de tratamentos zootécnicos, além de necessário um controle maior com o uso de antimicrobianos, tanto na utilização humana quanto para rebanhos de animais (Carvalho et al., 2021). Além disso, o queijo artesanal possui grande importância no Brasil, carregando consigo cultura e valorização econômica de pequenos produtores, por este motivo, treinamentos para implementação de BPF no processo produtivo para uma diminuição em casos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), assim como pesquisas, e um controle microbiológico eficiente (Dorigon, 2008).

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, evidenciou-se um aumento na resistência antimicrobiana em cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva em Queijo Colonial Artesanal ao comparar as amostras de 2021/2022 e 2023, onde em 2021/2022 foi observada resistência a dois ATBs, ciprofloxacina e penicilina G e em 2023 a resistência foi identificada em cinco ATBs sendo eles, ampicilina, tetraciclina, oxacilina, penicilina G e tigeciclina. Esse cenário suscita preocupações em relação às implicações para a saúde pública e a segurança do alimento associadas ao consumo desses produtos. A necessidade premente de adotar medidas eficazes para conter a propagação e o desenvolvimento da resistência antimicrobiana nesse contexto específico é clara.

Além disso, é imperativo direcionar esforços para promover práticas agrícolas e de produção de alimentos mais sustentáveis, com o intuito de reduzir a pressão seletiva que impulsiona o desenvolvimento da resistência. Diante dessa realidade preocupante, a colaboração entre a comunidade científica, as autoridades de saúde e os produtores de queijo artesanal é essencial. A implementação de medidas proativas, como a promoção de boas práticas de higiene, a instituição de protocolos de monitoramento mais rigorosos e o estabelecimento de diretrizes claras para o uso responsável de antimicrobianos na produção de leite, é fundamental para mitigar os riscos associados à resistência antimicrobiana e assegurar a qualidade e segurança dos produtos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. R. M. Presença de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em queijos de coalho produzidos no estado do Ceará e seu perfil de resistência e genes de virulência. 2022. 149 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - **Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2022. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/65022>. Acesso em: 11/04/2022.
- AMMAR, A. M. et al. Genetic basis of resistance waves among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from milk and meat products in Egypt. *Cellular and Molecular Biology*. v. 62, n. 10, p. 7-15, 2016.
- ARAÚJO, J. P. A., et al. A critical-historical analysis of the continuous development of Brazilian legislation related to artisanal cheeses. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 72, n. 5, pp. 1845-1860, 2020.
- AYANDELE, A. A. et al. Prevalence of multi-antibiotic resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* species obtained from a tertiary medical institution in Oyo State, Nigeria. **Qatar Medical Journal**, v. 2020, n. 1, 3 abr. 2020.
- BABA, T. et al. Complete genome sequence of *Micrococcus caseolyticus* strain JSCS5402, reflecting the ancestral genome of the human-pathogenic *Staphylococci*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 191, n. 10, p. 1180-1190, 2009.
- BÁNKUTI, F.I; MADRONA, G.S. ; POZZA, M.S. S. ; BÁNKUTI, S. M.S. ; SANTOS, S. S. ; RESSUTTE, J. Potencialidades tecnológicas e qualidade da cadeia produtiva do queijo colonial na região Sul do Brasil: uma revisão. **FTT Journal of Engineering and Business**, São Bernardo do Campo, fev. /jun, 2017. 15p.
- BASANISI, M. G. et al. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. **Food Microbiology**, v. 62, p. 141-146, 2017.
- BATISTA, Bruna et al. Novas cefalosporinas como alternativa no tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, vol. 5, n o 2, abril de 2015, p. 94–99.
- BAZZO, Jacqueline da Conceição Rigon. Caracterização do Queijo Colonial produzido no estado do Rio Grande do Sul. 2016 35 f. Monografia (Faculdade de Veterinária). **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 2016.
- BENINCÁ, T. (2021). Queijo Colonial Artesanal no Vale do Taquari: numa perspectiva social, sanitária e microbiológica. 85 f. Dissertação (Mestrado Profissional). **Universidade Estadual do Rio Grande do Sul**. São Francisco de Paula, RS. Disponível em: https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/1354/_queijo_colonial_artesanal_no_vale_do_taquari_numa_perspectiva.pdf?sequence=-1&isAllowed=y. Acesso em: 29 de set 2023.

BESKOW, Rochele Latrônico. Impacto no perfil de suscetibilidade conforme diferentes padronizações: CLSI x BrCAST-EUCAST. 2020.

BHATI, T.; NATHAWAT, P.; SHARMA, S. K.; YADAV, R.; BISHNOI, J.; KATARIA, A. K. Polymorphism in spa gene of *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis. **Veterinary World**, 2016.

BRANT L M F, FONSECA L M, SILVA, M C C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2007;59(6):1570-1574.

BRASIL. Decreto 9.069, de 31 de maio de 2017. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 mai 2017.

BRASIL. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 19 jul. 2019. Seção 1, n. 138, p. 1. Atos do Poder Legislativo. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=19/07/2019&jornal=515&pagina=1>. Acesso em: 01/08/2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 30, de 7 de agosto de 2013. Estabelece critérios adicionais para elaboração de Queijos Artesanais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 nov. 2013. Seção 1, p. 19.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997. Aprovar o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/ Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 set 1997.

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. **Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**. Versão 13.0; 2023.

BRITO, M. A. V. P. et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 129-135, 1999.

CARVALHO, Juliana Jeanne et al. Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e58810616303-e58810616303, 2021.

CARVALHO, M. M. A Agroindústria Familiar Rural e a Produção de Queijos Artesanais no Município de Seara, Estado de Santa Catarina – Um Estudo de Caso. 2015. 42 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável) – **Campus Marechal Cândido Rondon, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon**, 2015.

CASTRO, R. C. S. et al. Lactic acid bacteria as biological control of *Staphylococcus aureus* in coalho goat cheese. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, p. 431–440, 2018.

CUSSOLIM, Phylipe Adrian. et al. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* A ANTIBIÓTICOS. **Revista Faculdades do Saber**, 06(12): p. 831-843, 2021.

D'AMICO DJ, DONNELLY CW. Caracterização de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de leite cru utilizado na produção artesanal de queijos em pequena escala. **J Alimentos Prot.** Agosto de 2011;74(8):1353-8. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-10-533. PMID: 21819666.

DE CASTRO CISLAGHI, Fabiane Picinin; BADARÓ, Andréa Cátia Leal. Dilemas da produção de Queijo Colonial Artesanal do Sudoeste do Paraná. **Revista Faz Ciência**, v. 23, n. 37, p. 108-124, 2021.

DIAS, Diana Milheiro. Presença de *Staphylococcus aureus* em alimentos. Presença de *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Trabalho Complementar apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciada em Ciências da Nutrição** (Licenciada, Ciências da Nutrição) - Aluno, Porto, 2022. p. 46. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/11603>.

DIASI, G; ARAÚJO, E, A; GOMIDE, J; MAGALHÃES, M, A; FURTADO, M, M. Avaliação das condições higiênico-sanitárias da produção de queijo Minas Artesanal fabricado em Sabinópolis-MG. **II Congresso brasileiro de qualidade de leite**, realizado em Goiânia no período de 23 a 25 de outubro de 2006.

DODÉMONT, M. et al. Emergence of livestock-associated MRSA isolated from cystic fibrosis patients: Result of a Belgian national survey. **J. Cyst. Fibros.**, v. 18, n. 1, p. 86-93 2018.

DORIGON, C. Queijo Colonial. História, cultura e valorização territorial no sul do Brasil, 2016. Disponível em: https://slowfoodbrasil.org/arca_do_gosto/queijo-colonial/ Acesso em: 22/09/2023.

DORIGON, C. Mercados de produtos coloniais da Região Oeste de Santa Catarina: em construção. 2008. 437f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) - **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2008.

DOWNES, F. P.; ITO, K. 4 ed. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **Washington: American Public Health Association**, 2001. 676p.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. Queijos artesanais como veículo de contaminação de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva resistentes a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.10, n.1, p. 55 – 67. 2016.

FACHINETTO, D. B.; SOUZA, C. F. V. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo colonial, produzido e comercializado por pequenos produtores no Vale do Taquari, RS. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 180/181, p. 64-67, 2010.

FERREIRA, Mariana de Andrade. Caracterização Fenotípica e Genotípica de *Staphylococcus aureus* isolados de Queijo Minas Frescal Industrial e Artesanal. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás**. Goiânia, 2015.

FORSYTHE, S. J. Ferramentas de gestão da segurança de alimentos. In: FORSYTHE, S. J. Microbiologia da Segurança dos Alimentos. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. Cap. 8, p. 375-389.

FRANCO BDGM., LANDGRAF M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.182p. Portuguese.

GOMES, H. DE A.; GALLO, G. R. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas, a partir de leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo Minas frescal comercializados em Piracicaba-SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas v.15, n.2, p.158-161, 1995.

GONZALEZ, A. G. M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in minas frescal cheese: evaluation of classic enterotoxin genes, antimicrobial resistance and clonal diversity. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 364, n. 23, p. 1–7, 2017.

GOUVEIA, Amanda Mezete. Efeito do pH e força iônica na atividade antimicrobiana de ramnolipídeos frente à *Staphylococcus aureus*. 2023. **Dissertação (Mestrado em Bioengenharia)** - Bioengenharia, University of São Paulo, São Carlos, 2023. doi:10.11606/D.82.2023.tde-05102023-153925.

GURAN HS, KAHYA S. Species Diversity and Pheno- and Genotypic Antibiotic Resistance Patterns of Staphylococci Isolated from Retail Ground MeatS. **J Food Sci**. 2015 Jun;80(6):M1291-8. doi: 10.1111/1750-3841.12893. Epub 2015 May 5. PMID: 25944650.

HARRISON EM, PATERSON GK, HOLDEN MT, LARSEN J, STEGGER M, LARSEN AR, PETERSEN A, SKOV RL, CHRISTENSEN JM, BAK ZEUTHEN A, HELTBERG O, HARRIS SR, ZADOKS RN, PARKHILL J, PEACOCK SJ, HOLMES MA. Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel mecA homologue mecC. **EMBO Mol Med**. 2013 Apr;5(4):509-15. doi: 10.1002/emmm.201202413. **Epub** 2013 Mar 25. PMID: 23526809; PMCID: PMC3628104.

HIGURASHI, Y.; OKUZUMI, K. Detection methods for drug-resistant bacteria in routine examination—MRSA. **Rinsho Byori**. v. 111, p. 40-7, 2000.

HUTCHINGS, M. I., TRUMAN, A. W., & WILKINSON, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, 51, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>

IBGE. Censo agropecuário 2017: resultados definitivos. 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agro-pecuario/censo-agropecuario-2017>. Acesso em: 26/07/2023.

IMRE, K., et al. Occurrence, Pathogenic Potential and Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk Cheese Commercialized in Banat Region, Romania. **Antibiotics**, 11(6), 2022.

- JAMALI, H.; PAYDAR, M.; RADMEHR, B.; ISMAIL, S. ; DADRASNIA, A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, n. 54, p. 383-388, 2015.
- JARDIM, J. G.; QUIRINO, C. R.; PACHECO, A.; LIMA, G. R. S. Melhoramento genético visando à resistência a mastite em bovinos leiteiros. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 241, p. 199, 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**, v. 98, n. 5, p. 2944–2948, maio 2015.
- KAMIMURA, B. A., DE FILIPPIS, F., SANT’ANA, A. S. , & ERCOLINI, D. (2019). Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, 80, 40–49, 2019b.
- KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 2ª. ed. Rio de Janeiro: **Medicina Pan-americana Editora do Brasil**, 2001.
- KAMIMURA, B. A., et al. Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory AspectS. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, v. 18, n. 5, pp. 1636-1657, 2019a.
- KURODA, M., OHTA, T., UCHIYAMA, I, BABA, T., YUZAWA, H., et al. Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Lancet**, v.357, p.1225–1240, 2001.
- LAWAL, O. U. et al. Foodborne Origin and Local and Global Spread of *Staphylococcus saprophyticus* Causing Human Urinary Tract Infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 3, p. 880-893, 2021.
- LIU, H. et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in northern China. **Journal of Dairy Science**, vol. 100, n. 11, p. 8796–8803. Nov. 2017. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28865851>>.
- MACHADO, E. C. et al. Características físico-químicas e sensoriais do Queijo Minas Artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 24, n. 4, p. 516-521, 2004.
- MAGIORAKOS, A. P. et al . Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology And Infection** , [S. L.], v. 18, n. 3, p. 268-281, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x> .
- MAZZUCATTO, Taila Sabrina. Análise microbiológica e físico-química de Queijo Colonial Artesanal produzido e comercializado no município de Coronel Vivida - Paraná. 2022. **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, Pato Branco, 2022.

- MCEWEN, Scott A.; COLLIGNON, Peter J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 2, p. 1–26, 2018.
- MCLEOD, Monsey et al. A whole-health–economy approach to antimicrobial stewardship: Analysis of current models and future direction. **PLOS Medicine**, v. 16, n. 3, p. e1002774, 29 mar. 2019.
- MENEZES, S. S. M. Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na região Nordeste. **Revista de Geografia (UFPE)**, v. 28, n. 1, p. 40-56, 2011.
- MINISTERIO DA SAÚDE. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil Informe 2018. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, 2022. Disponível em: (http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf).
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Portaria no. 64, de 11 de dezembro de 2018. Expediente norma para interpretação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), tendo como base os documentos da versão brasileira do European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Diário Oficial da União**. 11 Dez 2018; seção 1.; 2018 p. 59.
- MORATELLI, Joares. Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos e comercializados informalmente em Concórdia – SC. 2021. 60f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.**
- Moreno CA, Rosenthal VD, Olarte N, Gomez WV, Sussmann O, Agudelo J, 2006. Device-associated infection rate and mortality in intensive care units of 9 colombian hospitals: findings of the international nosocomial infection control consortium. **Infect Control Hosp Epidemiol** 27:349-56.
- MULINARI, E. L.; ROSOLEN, M. D.; ADAMI, F. S. Avaliação da qualidade microbiológica de leite pasteurizado produzido no Rio Grande do Sul. **Revista Caderno Pedagógico**, v. 14, n. 1, p. 28-35, 2017.
- NOWAKIEWICZ, A.; ZIOLKOWSKA, G.; ZIEBA, P.; GNAT, S.; WOJTANOWICZ-MARKIEWICZ, K.; TROSCIANCZYK, A. Coagulase-positive Staphylococcus isolated from wildlife: Identification, molecular characterization and evaluation of resistance profiles with focus on a methicillin-resistant strain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2015
- OLIVEIRA, Andrea Luiza. Resistência bacteriana a antibióticos: Uma análise da conduta hospitalar. **Revista Cesumar–Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v. 11, n. 1, p. 59-69, 2007.
- OLIVER, S. P. et al. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 8, p. 2393-2400, 2004.

- ONICIUC, E.-A., A. I. NICOLAU, M. HERNÁNDEZ, AND D. RODRÍGUEZ-LÁZARO. 2017. Presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the food chain. **Trends Food Sci. Technol.** 61:49–59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.002>.
- OTTO, M., AND S. S. Chatterjee. 2013. Improved understanding of factors driving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic waves. **Clin. Epidemiol.** 205:205. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S37071>.
- PACIOS, Olga et al. Strategies to Combat Multidrug-Resistant and. Antibiotics, v. 9, n. 65, p. 1–20, 2020.
- PACHA, P. A. et al. Molecular diversity of *Staphylococcus aureus* and the role of milking equipment adherences or biofilm as a source for bulk tank milk contamination. **J. Dairy Sci.** v. 104, n. 3, p. 3522-31, 2021.
- PINEDA, Ana Paulina Arellano. Caracterização molecular de *Staphylococcus aureus* isolados de queijos artesanais da Serra da Canastra. 2022. **Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.** doi:10.11606/T.9.2022.tde-13102022-150737.
- PODKOWIK, M.; PARK, J. Y.; SEO, K. S. et al. Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci. **Int. J. Food Microbiol.** v.163, p.34–40, 2013.
- PRADO, Renata Resende et al. *Staphylococcus* spp.: importantes riscos à saúde pública. **Pubvet, [s. l]**, v. 9, n. 8, p. 363-368, 2015. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/453/staphylococcus-spp-importantes-riscos-agravesauacutedepuacutublica>.
- QIAN, W.; SHEN, L.; LI, X.; WANG, T.; LIU, M.; WANG, W.; FU, Y.; ZENG, Q. Características epidemiológicas de *Staphylococcus aureus* em leite de cabra cru na província de Shaanxi, China. **Antibióticos** 2019 , 8 , 141. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030141>
- RADAELLI IM, PASINATO TL. Legislação na produção e comercialização de queijo colonial de leite cru: a importância para a socioeconomia da região oeste de Santa Catarina. **SIEPE [Internet]**. 2º de setembro de 2020 [acesso em 26 de Julho de 2023]; e25652. Disponível em: <https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/siepe/article/view/25652>.
- RAUE, S. et al. The Genome of *Staphylococcus epidermidis* O47. **Front. Microbiol.**, v. 11, 2020.
- RODRIGUES, M. X. et al. Molecular characterization and antibiotic resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from cheese processing plants. **J. Dairy Sci.** v. 100, n. 7, p. 5167-75, 2017.
- ROLA, J. G., W. KORPYSA-DZIRBA, A. Czubkowska, and J. Osek. 2015. Prevalence of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of coagulase-positive staphylococci recovered from raw cow milk. **J. Dairy Sci.** 98:4273–4278. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9064>.

ROLDAN, B. B.; REVILLION, J. P.P. Convenções de qualidade em queijos artesanais no Brasil, Espanha e Itália. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 108–122, 18 jun. 2019.

ROY, S. et al. Overexpression of Efflux Pumps, Mutations in the Pumps' Regulators, Chromosomal Mutations, and AAC(6')-Ib-cr Are Associated With Fluoroquinolone Resistance in Diverse Sequence Types of Neonatal Septicaemic *Acinetobacter baumannii*: A 7-Year Single Center Study. **Front. Microbiol.**, v. 12, 2021.

SANTA CATARINA. LEI Nº 18.250, de 10 de novembro de 2021. Dispõe sobre os requisitos exigidos para elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru. **Florianópolis: Assembleia Legislativa**, 2021.

SANTOS, D. M.; CUTRIM, B. D. S.; OLIVEIRA, P. V. de; SAMINEZ, W. F. D. S.; CARVALHO JUNIOR, A. R.; DINIZ, R. M.; PEREIRA, J. S.; CALLOU, M. J. A.; DA SILVA, L. C. N. Novas abordagens experimentais para o combate de infecções causadas por *staphylococcus aureus*. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 10, n. 1, p. 92, 31 jul. 2018.

SCHUG, T. S., GANDRA, T. K. V., & GANDRA, E. A. LISTERIA MONOCYTOGENES. EM QUEIJO COLONIAIS COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES NA CIDADE DE PELOTAS-RS, 2022.

SENA, M. J. de. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE. 2000. **Universidade Federal de Minas Gerais**, UFMG, 2000.

SILVA, J. F. Q., FILIZOLA, L. R. S., MAIA, M. M. D. & SENA, M. J. Utilização de coliformes termotolerantes como indicadores higiênico sanitários de queijo Prato comercializado em supermercados e feiras livres de Recife-PE. **Revista de Medicina Veterinária**, 1, 21-25, 2011.

SILVA, Juliana Fonseca Moreira; FEITOSA, Amanda Campos; RODRIGUES, Rosimeire Mendes. STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM ALIMENTOS. **DESAFIOS - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 15–31, 2017. DOI: 10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/3531>.

SILVEIRA, Gustavo Pozza et al. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844, 2006.

SOUZA, C. F. V. et al. Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 206-266, 2003.

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, p. 53–57, 2012.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiol Spectr.**, v. 7, n. 2, 2019.

TAVARES, Alana Borges et al. Queijo artesanal produzido no sul do Rio Grande do Sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus coagulase positiva*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. e47184, 2019.

TASNEEM, Ufaq et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A brief review of virulence and resistance: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* virulence and resistance. **Journal of the Pakistan Medical Association**, vol. 72, n o 3, fevereiro de 2022.

VASCONCELOS, Cristiane de Melo. Resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de produtos de origem animal. 2018. 79 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
VILELA, D. et al. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, n. 1, 2017.

WANJALA, W.N.; NDUKO, J.M.; MWENDE, M.C. Coliforms contamination and hygienic status of milk chain in emerging economies. **Journal of Food Quality and Hazards Control**, v. 5, p. 3-10, 2018.

ZHENG, X. et al. 2018. Combination Antibiotic Exposure Selectively Alters the Development of Vancomycin Intermediate Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, vol. 62, n.2, e02100-17. Jan. 2018. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29158272>>. Accessed Aug 07 2020. doi: 10.1128/AAC.02100-17.