

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

Frequência de enterotoxinas estafilocócicas em produtos cárneos

Anderciane Giaretta

Concórdia, 2022

Anderciane Giaretta

Frequência de enterotoxinas estafilocócicas em produtos cárneos

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Diogenes Dezen

Coorientador (es): Marcella Zampoli Troncarelli

Elton Rodrigo Cê

Concórdia, 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e adaptado pela
CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia

G435f Giaretta, Anderciane
Frequência de enterotoxinas estafilocócicas em
produtos cárneos / Anderciane Giaretta; orientador
Diogenes Dezen; coorientadora Marcela Zampoli
Troncarelli; coorientador Elton Rodrigo Cê. --
Concórdia, 2022.
33 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, , Concórdia, 2022.

Inclui referências.

1. Doenças transmitidas por alimentos (DTAs). 2.
Intoxicação alimentar. 3. Staphylococcus aureus. 4.
Estafilococos coagulase positiva. I. Dezen, Diogenes,
II. Troncarelli, Marcela Zampoli. III. Cê, Elton
Rodrigo. IV. Instituto Federal Catarinense. . V.
Título.

Anderciane Giaretta

Incidência de enterotoxinas estafilocócicas em produtos cárneos

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 03/08/2022.

2) Banca examinadora:

Prof. Dr. Diogenes Dezen (Orientador)

Doutor em Microbiologia Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Instituição de vínculo Instituto Federal Catarinense (IFC)

Prof. Dr. Soraya Regina Sacco Surian

Doutor em Clínica Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

Instituição de vínculo Instituto Federal Catarinense (IFC)

Prof. Dr. Francielli Cordeiro Zimmermann

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Instituição de vínculo Universidade Federal Santa Catarina (UFSC)



Emitido em 03/08/2022

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 21/2022 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 14/04/2023 07:44)

DIOGENES DEZEN

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

CPESIN/CON (11.01.04.14)

Matrícula: ###560#6

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **21**, ano: **2022**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: **12/04/2023** e o código de verificação: **1d9cf4e77f**

**Pelo carinho, afeto e dedicação que meus pais me deram durante toda a minha existência,
dedico este trabalho a eles.**

Agradecimentos

A Deus, pela minha vida, e por me permitir alcançar meus objetivos. Aos meus pais José e Antônia, que me incentivaram nos momentos difíceis. Ao meu namorado Paulo pela paciência, apoio e compreensão. Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado.

A agroindústria e a equipe do laboratório, sem esta contribuição não seria possível realizar este trabalho.

Ao meu professor Diogenes Dezen, por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação e pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo.

Aos meus coorientadores Marcella Zampoli Troncarelli e Elton Rodrigo Cê, cujo conhecimentos fizeram grande diferença no resultado deste trabalho.

Também quero agradecer ao IFC e o seu corpo docente que demonstrou estar comprometido com a qualidade e excelência do ensino.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

“O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”

Max Weber

Resumo

GIARETTA, Anderciane. **Frequência de enterotoxinas estafilocócicas em produtos cárneos.** 2022. 33f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2022.

Staphylococcus aureus é um dos principais causadores de contaminações alimentares em todo o mundo, ocasionadas por enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas em carnes processadas e/ou laticínios. Uma característica importante das enterotoxinas estafilocócicas é sua grande resistência ao calor, congelamento, secagem, enzimas proteolíticas e baixo pH, isto permite que estas persistam após o processamento e tratamento dos alimentos, mesmo quando as bactérias produtoras da toxina tenham sido inativadas. No presente estudo, foi examinada a frequência de enterotoxinas estafilocócicas em produtos cárneos. Para isso, foram avaliadas 130 amostras de produtos cárneos: Prontos para consumo (presunto, apresuntado, salame, lombo defumado, linguiça calabresa, linguiça paio defumada e patê), semielaborados (frango defumado, pizza, lasanha, *stroganoff* e macarrão), linguiça frescal e matéria prima (Carne Mecanicamente Separada - CMS - de frango). As amostras foram submetidas à contagem de estafilococos coagulase positiva, utilizando placas de contagem rápida (Petrifilm™ Staph Express 3M) e a detecção de enterotoxinas estafilocócicas, empregando um método de imunoensaio enzimático (RIDASCREEN® SET Total). No total, 26 amostras (20%) apresentaram contagens de Estafilococos coagulase positiva e nenhuma das amostras apresentou positividade para enterotoxinas estafilocócicas. Essa baixa incidência evidencia o baixo risco de infecção a partir do consumo deste tipo de alimentos, desde que seguidas as medidas de higiene e controle na produção.

Palavras-chave: Doenças transmitidas por alimentos (DTAs); Intoxicação alimentar; *Staphylococcus aureus*; Estafilococos coagulase positiva.

Abstract

GIARETTA, Anderciane. **Frequency of staphylococcal enterotoxins in meat products**. 2022. 34f. Dissertation (Master degree in Science) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2012.

Staphylococcus aureus is one of the main causes of food contamination worldwide, caused by preformed staphylococcal enterotoxins in processed meats and/or dairy products. An important feature of staphylococcal enterotoxins is their great resistance to heat, freezing, drying, proteolytic enzymes and low pH, this allows them to persist after processing and treatment of food, even when the toxin-producing bacteria have been inactivated. In the present study, the frequency of staphylococcal enterotoxins in meat products was examined. For this, 130 samples of meat products were evaluated: ready-to-eat (ham, salami, smoked loin, calabrese sausage, smoked paio sausage and pâté), semi-prepared (smoked chicken, pizza, lasagna, stroganoff and pasta), fresh sausage and raw material (Mechanically Separated Meat - MSM - from chicken). The samples were submitted to coagulase positive staphylococci counting using rapid counting plates (Petrifilm™ Staph Express 3M) and the detection of staphylococcal enterotoxins using an enzyme immunoassay method (RIDASCREEN® SET Total). In total, 26 samples (20%) had coagulase positive *Staphylococcus* counts and none of the samples were positive for staphylococcal enterotoxins. This low incidence shows the low risk of infection from the consumption of this type of food, as long as hygiene and control measures are followed in production.

Keywords: Foodborne diseases (FBD); Food poisoning; *Staphylococcus aureus*; coagulase positive *Staphylococcus*.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Prevalência de SEs e ECP nos produtos avaliados.	23
Tabela 2: Contagens de ECP nos produtos avaliados	24

Lista de Abreviaturas e Siglas

AFNOR	Association Française de Normalisation
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATCC	American Type Culture Collection
BPF	Boas Práticas de Fabricação
DTAs	Doenças transmitidas por alimentos
ECN	Estafilococos coagulase negativa
ECP	Estafilococos coagulase positiva
IFC	Instituto Federal Catarinense
IN	Instrução Normativa
ISO	Organização Internacional de Normalização
kDa	Kilodalton
n°	Número
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
mg	Miligrama
OD	Densidade Óptica
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEs	Enterotoxinas estafilocócicas
Sinam	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
CMS	Carne mecanicamente separada
UFC/g	Unidade formadora de colônias por grama

Lista de Símbolos

°C	Grau celsius
®	Marca registrada
™	Marca Comercial

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	13
1.1	Doenças transmitidas por alimentos	13
1.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	13
1.3	Enterotoxinas estafilocócicas	14
2	OBJETIVOS	18
2.1	Geral	18
2.2	Específicos	18
3	FREQUÊNCIA DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS EM PRODUTOS CÁRNEOS... 19	
3.1	Introdução	19
3.2	Material e Métodos	20
3.2.1	Seleção das amostras para estudo	20
3.2.2	Detecção de enterotoxinas estafilocócicas	21
3.2.3	Enumeração de Estafilococos coagulase positiva	22
3.3	Resultados	23
3.4	Discussão	24
3.5	Conclusão	26

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

1.1 Doenças transmitidas por alimentos

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são um problema de saúde pública crescente em todo o mundo, derivando em considerável morbidade, mortalidade e custos econômicos (LI *et al.*, 2020). A ocorrência de DTAs relaciona-se com diversos fatores, como: condições de saneamento e qualidade da água para consumo humano impróprios; práticas inadequadas de higiene pessoal e consumo de alimentos contaminados. De acordo com dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), no Brasil, anualmente são notificados em média 700 surtos de DTA, acometendo 13 mil pessoas e causando o óbito de 10 pacientes (BRASIL, 2021).

1.2 *Staphylococcus aureus*

No Brasil, a maioria das DTAs são causadas por bactérias, principalmente por *Salmonella*, *Escherichia coli* e estafilococos (BRASIL, 2021). Os estafilococos coagulase positiva (ECP) produzem coagulase livre, enzima capaz de coagular plasma, sendo considerada um importante fator de virulência. Este grupo inclui *Staphylococcus aureus* e outros estafilococos patogênicos, enquanto que os estafilococos coagulase negativa (ECN) são considerados não patogênicos, como por exemplo, o *Staphylococcus xylosum* e *Staphylococcus carnosus* (FEITOSA *et al.*, 2017).

O *S. aureus* é um dos principais patógenos bacterianos envolvidos em intoxicação alimentar (LE *et al.*, 2021), é uma bactéria gram-positiva e catalase-positiva (BAGHBADERANI; SHAKERIAN; RAHIMI, 2020), capaz de crescer em uma ampla faixa de temperaturas (7–48,5 °C com ótimo 30–37 °C), pH (de 4,2 a 9,3 com um ótimo de 7 a 7,5) e concentrações variáveis de cloreto de sódio (até 15%) (SCHMITT; SCHULER-SCHMID; SCHMIDT-LORENZ, 1990). Amplamente encontrado na pele e mucosas de

humanos e animais, no meio ambiente e em alimentos produzidos a partir de matérias-primas de origem animal, como suíno, bovino ou frango, a contaminação de alimentos ocorre através de saneamento impróprio no abate ou processamento inadequado de alimentos, incluindo manuseio, picagem, preparação, embalagem e armazenamento de alimentos (SANKOMKAI *et al.*, 2020).

Este patógeno é também a principal causa de infecções bacterianas em humanos, como infecção de pele, infecção óssea e choque tóxico, próximo de 20% dos humanos são portadores estáveis de *S. aureus*, 30% são portadores intermitentes, 50% das pessoas não carregam essa bactéria e um terço das pessoas são portadores assintomáticos, sendo comumente encontrado nas narinas, pescoço, axilas, virilha e reto (SILVA; RODRIGUES; SILVA, 2020).

S. aureus é resistente a uma grande variedade de antimicrobianos frequentemente utilizados, isto se deve principalmente ao uso generalizado e muitas vezes inadequado de princípios ativos por mais longos períodos na área humana, animal e na agricultura. Essa resistência aos antimicrobianos pode aumentar a frequência de falhas no tratamento e a gravidade das infecções (MA *et al.*, 2019).

1.3 Enterotoxinas estafilocócicas

As infecções alimentares por *S. aureus* ocorrem por meio de um mecanismo toxigênico causado por enterotoxinas estafilocócicas (SEs) estáveis ao calor e produzidas em alimentos, mais comumente em produtos lácteos (por exemplo, leite e queijo), bem como carne e peixe (LE *et al.*, 2021).

As toxinas resultantes, termoestáveis e resistentes às enzimas digestivas, são ingeridas pré-formadas e podem causar gastroenterites graves, náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal dentro de uma a seis horas após o consumo de alimentos contaminados (SILVA; RODRIGUES; SILVA, 2020). Geralmente, a produção de SEs é

observada quando a enumeração de ECP atinge 10^5 unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) (TARISSE *et al.*, 2021).

Uma característica importante das enterotoxinas estafilocócicas é sua grande resistência, como ao calor, congelamento, secagem, enzimas proteolíticas e pH baixo e, portanto, persistem após o processamento e tratamento dos alimentos, mesmo quando as bactérias que as produziram são eliminadas (SINGH *et al.*, 2017).

Atualmente foram identificadas 23 SEs sorologicamente distintas, incluindo os cinco SEs clássicos SEA (A), SEB (B), SEC (C), SED (D) e SEE (E). Estas toxinas são proteínas básicas constituídas por 220-240 aminoácidos e pesos moleculares entre 25-30 kDa (FEITOSA *et al.*, 2017). A enterotoxina estafilocócica A é mais frequentemente relatada como agente causador de surtos (80% dos casos) seguido por B, C e D (NIA *et al.*, 2021).

Muitas intoxicações alimentares por *S. aureus* têm sido relacionados ao consumo de laticínios (BARASUOL *et al.*, 2021; GRISPOLDI *et al.*, 2019). Existem muitos caminhos pelos quais o patógeno pode contaminar alimentos lácteos destinados para consumo humano, tais como, através de manipuladores de produtos lácteos, do meio ambiente e dos equipamentos de ordenha. Uma importante fonte adicional, possível de contaminação do leite, ocorre quando os animais leiteiros (caprinos, bovinos ou ovinos) sofrem de mastite induzida por *S. aureus* (ABRIL *et al.*, 2020). Das cepas de *S. aureus* isoladas de quadros clínicos de mastite, 23 a 38% apresentam um ou mais genes para SEs (ALGAMMAL *et al.*, 2020; FURSOVA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020).

Entretanto, dados sobre SEs detectadas em amostras não lácteas são escassos. Estudo realizado no Uruguai com 95 culturas bacterianas identificadas como *S. aureus*, provenientes de amostras de alimentos colhidas por instituições públicas de controle de alimentos em lojas de processamento e venda de alimentos, relatou que 54,7% dos 95 isolados analisados possuíam um ou mais genes SEs (MACHADO *et al.*, 2020). Velasco *et al.* (2018) analisaram *S. aureus* isolados da cadeia de abastecimento de suínos no Chile, onde as amostras foram colhidas das narinas e da pele de animais vivos e, a frequência geral de detecção de *S. aureus* foi de 34%. Uma frequência maior foi detectada em

suínos amostrados nas granjas (41%) que em carcaças amostradas de abatedouros (23%). As amostras de carne não embalada (43%) apresentaram uma maior contaminação do que a carne embalada (5%), uma vez que a primeira está mais exposta à contaminação bacteriana por contato direto com o ar e humanos. Apenas uma cepa *S. aureus*, isolada de uma carne não embalada, foi positiva para enterotoxina B.

Surto de intoxicação alimentar causados por *S. aureus* são relatados em vários locais do mundo. Um episódio em larga escala ocorreu em uma cantina escolar no Vietnã, resultando na hospitalização de 352 alunos com sintomas clínicos indicativos de intoxicação alimentar estafilocócica. Uma investigação laboratorial subsequente detectou *S. aureus* em até 10^3 UFC/g em dois itens alimentares, camarão frito e frango, além de SEs no frango em ≥ 0.211 ng SEs/g. *S. aureus* também foi isolado de amostras de vômito e fezes de pacientes e amostras de fezes de funcionários de cozinha, bem como em carne de frango congelada, mas não nas superfícies das mãos dos funcionários da cozinha, sugerindo que a causa desse surto de intoxicação alimentar foi contaminação da carne de frango por *S. aureus* (LE *et al.*, 2021). Lv *et al.* (2021) avaliaram 56 isolados de *S. aureus* de surtos de intoxicação alimentar na China, e oito perfis distintos de SE foram identificados. A maioria prevalente A-D-E representou 25,0% (14/56), seguido por A-B-C 23,2% (13/56), E 17,9% (10/56), B-C 10,7% (6/56), C-D-E 8,9% (5/56), A-E 1,8% (1/56), e A-B-D-E 1,8% (1/56).

Alimentos prontos para consumo contendo produtos cárneos e molhos, que são manuseados e consumidos sem tratamento adicional, têm sido relatados em surtos de intoxicação alimentar por *S. aureus* (ZEAKI *et al.*, 2019). A presença de SEs foi observada em isolados de ECP de linguiça suína no estado Rio Grande do Sul, Brasil. *S. aureus* foi isolado de 44% das amostras e destes, 54% possuíam o gene D e 32% possuíam os genes C e D (KAEFER *et al.*, 2021). Sankomkai *et al.* (2020) compararam cepas positivas para SEs isolados de *S. aureus* de linguiça suína Tailândia com cepas derivadas de pacientes hospitalizados e portadores saudáveis, as cepas positivas para SEs encontradas nos

isolados de salsichas foram mais frequentemente associadas às cepas dos portadores saudáveis do que às cepas oriundas de pacientes.

Há relatos de que peixes e outros frutos do mar também estão associados a intoxicação alimentar por *S. aureus* (ONJONG *et al.*, 2021). Além dos típicos produtos alimentícios associados à contaminação por *S. aureus*, um estudo investigou a prevalência em vários vegetais de varejo na China entre 2011 e 2016. Embora os níveis de *S. aureus* tenham sido moderados, foi encontrado em 5,73% das amostras e a alface foi a hortaliça mais comum (WU *et al.*, 2018). A grande variedade de dados que pode ser observada em diferentes estudos reflete as diferenças nas populações de *S. aureus* ao redor do mundo.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Determinar a frequência de enterotoxinas estafilocócicas e estafilococos coagulase positiva em produtos cárneos.

2.2 Específicos

- Quantificar estafilococos coagulase positiva (ECPs) em produtos cárneos e determinar a sua frequência.

- Detectar os diferentes tipos de enterotoxinas estafilocócicas (A, B, C, D e E).

3 FREQUÊNCIA DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS EM PRODUTOS CÁRNEOS*

Anderciane Giaretta¹; Elton Rodrigo Cê¹, Diogenes Dezen²

*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

¹ Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal. Instituto Federal Catarinense (IFC).

² IFC. Rodovia SC-283, km 17. Fragosos. CEP: 89.703-720. Concórdia, Santa Catarina – Brasil.

3.1 Introdução

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados e são importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. De acordo com dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinam), no Brasil, anualmente são notificados em média 700 surtos de DTAs, acometendo 13 mil pessoas e causando o óbito de 10 pacientes (BRASIL, 2021).

S. aureus é um dos principais causadores de contaminações alimentares em todo o mundo (SUNDARARAJ *et al.*, 2019). A doença, que se manifesta principalmente por náuseas, vômito e dor abdominal, deve-se à ação das enterotoxinas termoestáveis pré-formadas produzidas pela bactéria (ZARDETTO; BASAGLIA, 2018). Uma característica importante das enterotoxinas estafilocócicas é sua grande resistência ao calor, congelamento, secagem, enzimas proteolíticas e pH baixo e, portanto, persistem após o processamento e tratamento dos alimentos, mesmo quando as bactérias que as produziram são eliminadas (SINGH *et al.*, 2017).

As infecções alimentares por *S. aureus* ocorrem por meio de um mecanismo toxigênico causado por enterotoxinas estafilocócicas (SEs) estáveis ao calor e produzidas

em alimentos, mais comumente em produtos lácteos (por exemplo, leite, queijo e creme), bem como carne e peixe (LE *et al.*, 2021).

Atualmente foram identificadas 23 enterotoxinas sorologicamente distintas, incluindo as cinco SEs clássicas incluindo SEA (A), SEB (B), SEC (C), SED (D) e SEE (E). Estas toxinas são proteínas básicas constituídas por 220-240 aminoácidos e pesos moleculares entre 25-30 kDa. As enterotoxinas estafilocócicas mais comuns são A e B, na qual a A é a mais frequentemente envolvida na intoxicação alimentar causada por estafilococos (FEITOSA *et al.*, 2017).

Em 23 de dezembro de 2019 foi publicada a nova Instrução Normativa (IN) n° 60, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Um dos parâmetros incluídos e que vem gerando grande interesse dentre os produtores de alimentos no Brasil é a necessidade de detectar a presença das enterotoxinas estafilocócicas nos alimentos prontos para oferta ao consumidor (BRASIL, 2019).

Além da escassez de publicações relativas a essa ocorrência, pode-se afirmar que se faz necessário, avaliações quanto à presença deste microrganismo e seus metabólitos, para que possam ser tomadas medidas corretivas com maior grau de efetividade, além da otimização do processo produtivo e a qualidade final do produto que agregam valor e conquistam cada vez mais mercados. Com os testes propostos foi possível verificar a incidência de enterotoxinas estafilocócicas, bem como a quantidade de ECP nos produtos prontos para consumo testados.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Seleção das amostras para estudo

O presente estudo foi realizado no laboratório de uma agroindústria de grande porte, localizada no Oeste de Santa Catarina. Para isso, foram avaliadas 130 amostras de produtos cárneos: Prontos para consumo (presunto, apresuntado, salame, lombo

defumado, linguiça calabresa defumada, linguiça paio defumada e patê), semielaborados (frango defumado, pizza, lasanha, *stroganoff*, macarrão), linguiça frescal (linguiça suína, linguiça toscana e linguiça pernil) e matéria prima (carne mecanicamente separada - CMS - de frango) para os testes de enumeração de ECPs e detecção de enterotoxina estafilocócica.

A seleção das amostras objetivou avaliar os produtos cárneos prontos para consumo, que não requerem nenhum preparo por parte do consumidor e produtos cárneos que demandam de uma etapa de preparo por parte do consumidor, abrangendo assim os diferentes cenários em termos de produtos cárneos. De maneira complementar, avaliou-se também a CMS de frango, uma relevante matéria prima utilizada na cadeia de produtos cárneos.

De acordo com a IN nº4, entende-se por CMS a carne obtida por processo mecânico de moagem e separação de ossos de animais de açougue, destinada à elaboração de produtos cárneos industrializados cozidos específicos. E as linguiças determinadas tipo calabresa, tipo portuguesa e paio, são submetidas ao processo de cozimento (BRASIL 2000).

As amostras foram coletadas de quatro diferentes unidades fabris. Durante todas as etapas do processo, foi realizada assepsia (sanitização) dos materiais usados. As amostras foram coletadas na embalagem original, identificadas e os dados e informações de rastreabilidade foram enviados em um formulário de solicitação de análises. Após a coleta, as amostras foram enviadas para o laboratório em caixas isotérmicas com gelo, respeitando as condições de armazenamento conforme consta na embalagem do produto (congelada ou resfriada).

3.2.2 Detecção de enterotoxinas estafilocócicas

A detecção combinada de SEs (A, B, C, D e E) foi realizada através do kit RIDASCREEN® SET Total (R-Biopharm®, Pfungstadt, Alemanha) cujo limite de detecção é

de 0,1 mg. Para realização do teste foram seguidas as instruções do fabricante, conforme bula Art. Nr.R4105. Em cada placa utilizada foi adicionado um controle positivo e um controle negativo, os quais acompanham o kit. Um fotômetro de placa de microtitulação (Biotek, Vermont, Estados Unidos) foi utilizado para leitura dos ensaios (450/620 nm), empregando o software RIDA®SOFT Win NET Art. Nr.Z9996 (R-Biopharm®, Pfungstadt, Alemanha). O valor de corte para positividade da amostra foi determinado adicionando-se 0,15 ao valor de densidade óptica (OD) do controle negativo. O teste foi considerado válido quando o controle positivo apresentou um valor de OD de 1,0 ou mais e o controle negativo apresentou uma OD de 0,2 ou menos.

3.2.3 Enumeração de Estafilococos coagulase positiva

A quantificação de ECP foi realizada pela técnica de contagem rápida Petrifilm™ STX Staph Express (3M™, Minnesota, Estados Unidos), utilizando método previamente validado (AFNOR 3M 01/09-04/03, 2019). Uma suspensão inicial homogênea e representativa foi obtida seguindo normas de referência (ISO 6887-1, 2019). Para isso, foram pesadas 25g do produto em um recipiente estéril, após adicionado uma quantidade de 225ml de água peptonada tamponada 1% (bioBoaVista, São Paulo, Brasil) (diluição 1:10). Em seguida a solução foi homogeneizada por dois minutos a velocidade 560 voltas/min, utilizando o misturador automático Smasher™ (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, França). Utilizando tubos contendo 9 ml de água peptonada 0,1% (3M™, Minnesota, Estados Unidos), foram realizadas diluições seriadas na base 10 para obtenção das diluições 1:100 e 1:1000. Posteriormente, 1 ml de cada diluição foi transferido para superfície das placas Petrifilm™ STX. Como controle negativo foi utilizado diluente estéril e como controle positivo, produto cárneo estéril contaminado com 10^5 UFC/g de *S. aureus* ATCC 25923. As placas inoculadas foram incubadas na temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por $24 \pm 2\text{h}$. Após o período de incubação, para contagem foi selecionada a diluição que apresentava colônias características típicas de coloração

vermelho-violeta dentro do intervalo de precisão e repetibilidade estabelecido pelo método (até 150 colônias) (AFNOR 3M 01/09-04/03, 2019). O resultado de ECP foi expresso em UFC/g, levando em conta a diluição empregada e utilizando notação exponencial.

3.3 Resultados

Das 130 amostras analisadas, 26 amostras (20%) apresentaram contagens de ECP, destas: 16 amostras de linguiça frescal (61,5%), seis amostras de CMS (23,1%) e quatro amostras de linguiça paio (15,4%). Não foi detectado presença de SEs nas amostras analisadas. (Tabela 1).

Tabela 1: Prevalência de SEs e ECP nos produtos avaliados.

Amostras	SEs		ECP		Total amostras analisadas
	n	%	n	%	
CMS de frango	0	0	6	23,1	24
Linguiça paio	0	0	4	15,4	4
Linguiça frescal	0	0	16	61,5	17
Presunto	0	0	0	0	14
Patê de frango	0	0	0	0	9
Frango defumado	0	0	0	0	11
Apresuntado	0	0	0	0	6
Pizza	0	0	0	0	8
Lasanha	0	0	0	0	6
Macarrão	0	0	0	0	6
<i>Stroganoff</i>	0	0	0	0	7
Salame	0	0	0	0	6
Linguiça calabresa	0	0	0	0	6
Lombo defumado	0	0	0	0	6
Total	0	0	26	20	130

As contagens de *S. aureus* das amostras de linguiças frescas variaram de $1,5 \cdot 10^2$ a $5,6 \cdot 10^2$ UFC/g, as amostras de CMS de $1,0 \cdot 10^2$ a $29,0 \cdot 10^2$ UFC/g, enquanto as amostras de linguiça paio apresentaram de $3,8 \cdot 10^2$ a $7,2 \cdot 10^2$ UFC/g (Tabela 2).

Tabela 2: Contagens de ECP em UFC/g nos produtos avaliados.

Linguiça suína	Linguiça toscana	Linguiça pernil	CMS	Linguiça paio
$3,2 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$6,0 \cdot 10^2$
$3,8 \cdot 10^2$	$6,2 \cdot 10^2$	$5,6 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$7,2 \cdot 10^2$
$4,7 \cdot 10^2$	$2,6 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$	$3,8 \cdot 10^2$
$1,9 \cdot 10^2$	$3,8 \cdot 10^2$	$3,8 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^2$
$1,5 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^2$		$5,7 \cdot 10^2$	
$5,8 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$		$1,0 \cdot 10^2$	

3.4 Discussão

A frequência de amostras contaminadas com ECP (20%), é menor do valor encontrado por Perlin *et al.* (2015) que foi de 57,14% nos embutidos cozidos e/ou defumados comercializados nos municípios paranaenses, sendo que as linguiças frescas foram o tipo de produto que mais apresentou contagens ECP, das 17 amostras analisadas 16 (94,1%) foram positivas. Neste estudo também observou-se que a linguiça fresca foi o produto que mais apresentou contagens de ECP, 61,5% (16/17), valor similar ao encontrado por Kaefer *et al.* (2021) que analisaram 50 amostras de linguiça fresca coletadas em açougues e mercearias da região de Pelotas, Rio Grande do Sul, 48% (24/50) apresentaram contagens de ECP. A IN n° 60, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos, não prevê o controle de ECP em embutidos crus, como as linguiças frescas (BRASIL, 2019). O resultado de ECP nas linguiças frescas obtido neste estudo pode ser explicado pela alta manipulação e ausência de tratamento térmico, que elimine ou reduza a contaminação, características inerentes ao processo de produção da linguiça fresca (STRUBE *et al.*, 2018).

A IN nº22 instituí critérios microbiológicos para *S. aureus* em CMS, considera como aceitável as contagens até 5.10^2 UFC/g, intermediária aceitável até 5.10^3 UFC/g e inaceitáveis contagens acima de 5.10^3 UFC/g, onde resultados satisfatórios com qualidade intermediária devem ser investigadas as possíveis causas e implementadas ações corretivas necessárias (BRASIL 2020). Neste estudo, das seis amostras de CMS de frango que apresentaram contagem de ECP, apenas uma amostra foi classificada como de qualidade intermediária aceitável ($2,9.10^3$ UFC/g).

Todas as amostras de linguiça paio defumada analisadas (quatro amostras) apresentaram contagens de 10^2 UFC/g, a IN nº 60 determina para ECP em produtos cárneos bovinos ou suínos cozidos, curados ou não, defumados ou não, dessecados ou não, embutidos ou não, refrigerados ou não, qualidade aceitável até 10^2 UFC/g, qualidade intermediária até 10^3 UFC/g e qualidade inaceitável maiores que 10^3 UFC/g (BRASIL, 2019), sendo assim os resultados para linguiça paio, satisfatórios com qualidade intermediária, também devem ser investigadas as possíveis causas e implementadas ações corretivas necessárias.

Como o *S. aureus* é um habitante natural da pele humana e do trato respiratório superior, a presença desse microrganismo nas amostras pesquisadas pode ser atribuída à não adoção de medidas higiênico-sanitárias suficientemente adequadas pelos manipuladores. Além disso, alguns estudos relatam a presença de *S. aureus* em algumas espécies, como na pele, amígdalas e reto de suínos (SØRENSEN; HANSEN; HALASA, 2020; STRUBE *et al.*, 2018), indicando que esses animais podem hospedar essa bactéria e, caso não sejam adotados os devidos cuidados durante o abate e processamento da carne, esse microrganismo pode contaminar a carne, equipamentos e utensílios. Esta também pode ser uma possível causa da presença de *S. aureus* nas amostras analisadas.

Sankomkai *et al.* (2020) compararam cepas positivas para SEs isolados de *S. aureus* de linguiça suína na Tailândia com cepas derivadas de pacientes hospitalizados e portadores saudáveis, as cepas positivas para SEs encontradas nos isolados de linguiças

foram mais frequentemente associadas às cepas dos portadores saudáveis do que às cepas oriundas de pacientes.

Geralmente, a produção de SEs é observada quando a enumeração de ECP atinge 10^5 UFC/g (TARISSE *et al.*, 2021), das 26 amostras que apresentaram contagens de ECP neste estudo nenhuma atingiu este valor, o que justificaria a ausência de SEs nos produtos avaliados.

A ausência ECP nos demais produtos analisados, 80% (106 amostras) revela que os produtos são manuseados em condições adequadas de higiene, o que é importante, pois alguns dos produtos prontos para consumo são consumidos *in natura*, sem nenhum tratamento térmico, o que poderia ocasionar intoxicações alimentares.

Dado que este microrganismo tem uma distribuição ubiqüitária e que uma grande percentagem dos manipuladores pode ser potencialmente portadora, a higiene pessoal e o cumprimento das boas práticas são requisitos fundamentais para prevenir a contaminação de alimentos (STRUBE *et al.*, 2018).

Muitas intoxicações alimentares por *S. aureus* têm sido relacionados ao consumo de laticínios (GRISPOLDI *et al.*, 2019; MARTINS *et al.*, 2021). Entretanto, dados de amostras não lácteas são escassos, o que reforça a importância deste trabalho, permitindo inferir que derivados cárneos tem um baixo risco de carrear *S. aureus* e suas toxinas e, conseqüentemente causar toxinfecções alimentares em humanos.

3.5 Conclusão

Os resultados obtidos durante o presente estudo evidenciaram baixa contaminação microbiana por ECP nos produtos analisados. Todas as amostras estavam de acordo com a legislação vigente, e, por conseguinte apropriadas ao consumo, os resultados sugerem que a matéria-prima empregada na fabricação é de boa qualidade, a manipulação é feita com os devidos cuidados de higiene e o ambiente também apresenta boa higienização. Embora os resultados tenham sido satisfatórios, cabe

salientar que estudos evidenciam elevado grau de contaminação nestes tipos de produtos, diante disso, os sistemas de boas práticas de fabricação (BPF) e análise de perigos de pontos críticos de controle (APPCC) devem ser aplicados para melhorar a segurança microbiana e a qualidade dos alimentos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como o *S. aureus* é um habitante natural da pele humana e do trato respiratório superior, a presença desse microrganismo nas amostras pesquisadas pode ser atribuída à não adoção de medidas higiênico-sanitárias suficientemente adequadas pelos manipuladores, algumas espécies, como os suínos, são importantes reservatórios de ECP, essa também pode ser uma possível causa da presença de *S. aureus* nas amostras analisadas e, caso não sejam adotados os devidos cuidados durante o abate e processamento da carne, esse microrganismo pode contaminar a carne, equipamentos e utensílios.

Acredita-se que os dados obtidos no presente trabalho trazem evidências relevantes no desenvolvimento de ações que visem minimizar as contaminações cruzadas dentro do ambiente de produção. As perspectivas de continuidade de pesquisa, estão relacionadas a verificação dos isolados quanto a resistência antimicrobiana e se possuem capacidade de formar biofilmes.

5 REFERÊNCIAS

ABRIL, A. G.; VILLA, T. G.; BARROS-VELÁZQUEZ, J.; CAÑAS, B.; SÁNCHEZ-PÉREZ, A.; CALO-MATA, P.; CARRERA, M. *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. **Toxins**, v. 12, n. 537, p. 1–18, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12090537>.

AFNOR 3M 01/09-04/03. Association Française de Normalisation. **Validée pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive**. 1ed, p.65, Abril 2019. Disponível em: <https://nf-validation.afnor.org/domaine-agroalimentaire/staphylocoques-coagulase-positive/>. Acesso em: 21 de abril de 2022.

ALGAMMAL, A. M.; ENANY, M. E.; EL-TARABILI, R. M.; GHOBASHY M. O. I.; HELMY, Y. A. Prevalence, antimicrobial resistance profiles, virulence and enterotoxins-determinant genes of mrsa isolated from subclinical bovine mastitis in Egypt. **Pathogens**, v. 9, n. 5, p. 362, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050362>.

BAGHBADERANI, Z. T.; SHAKERIAN, A.; RAHIMI, E. Phenotypic and genotypic assessment of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from retail meat. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 1339–1349, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S241189>.

BARASUOL, B. M.; ELY, V. L.; MATOS, A. F. I. M. DE; SANGIONI, L. A.; DE VARGAS, A. C.; PEREIRA, D. I. B.; MARTINI, A. C.; PÖTTER, L.; BOTTON, S. DE A. In vitro lytic efficiency of *Staphylococcus aureus* bacteriophages in bacteria from bovine mastitis : a meta-analysis. **Ciência Rural**, v. 51, n. 10, p. 1–10, 2021. DOI: <http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200839>.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em <https://saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>. Acesso em: 01 de fevereiro de 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Diretoria Colegiada. Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário oficial da união. Brasília, DF. Edição 249, Seção 1, Página 133. Disponível em <http://www.in.gov.br/em/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>. Acesso em: 30 de junho de 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa SDA nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne

mecanicamente separada (CMS), de mortadela, de linguiça e de salsicha. Diário oficial da união. Brasília, DF, mar 2020. Disponível em <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=05/04/2000&jornal=1&pagina=54&totalArquivos=73>. Acesso em: 30 de junho de 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução normativa SDA nº 22, de 28 de abril de 2020. Alteração do anexo I da Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000 - Carne mecanicamente separada (CMS). Diário oficial da união. Brasília, DF. Edição 82, Seção 1, Página 15. Disponível em <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-22-de-28-de-abril-de-2020-254680845>. Acesso em: 03 de julho de 2022.

FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M.; TORRES, E. A. T.; SILVA, J. F. M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Desafios - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 15–31, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15>.

FURSOVA, K.; SOROKIN, A.; SOKOLOV, S.; DZHELYADIN, T.; SHULCHEVA, I.; SHCHANNIKOVA, M.; NIKANOVA, D.; ARTEM'EVA, O.; ZINOVIEVA, N.; BROVKO, F. Virulence factors and phylogeny of *Staphylococcus aureus* associated with bovine mastitis in Russia based on genome sequences. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 135, p. 1–10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00135>.

GRISPOLDI, L.; MASSETTI, L.; SECHI, P.; IULIETTO, M. F.; CECCARELLI, M.; KARAMA, M.; POPESCU, P. A.; PANDOLFI, F.; CENCI-GOGA, B. T. Short communication: Characterization of enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1059–1065, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15373>.

ISO 6887-1. International Organization for Standardization. **Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions**. 3ed. p. 27, agosto 2019.

KAEFER, K.; SILVEIRA, D. R.; ROSA, J. F.; GONÇALVES, T. G.; MORAES, T. P. DE.; TIMM, C. D. Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from pork sausage. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e59910212041, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12041>.

LE, H. H. T.; DALSGAARD, A.; ANDERSEN, P. S.; NGUYEN, H. M.; LE, Y. T. T.; NGUYEN, T. T. Large-Scale *Staphylococcus aureus* foodborne disease poisoning outbreak among

primary school children. **Microbiology Research**, v. 12, p. 43–52, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/microbiolres12010005>.

LI, W.; PIRES, S. M.; LIU, Z.; MA, X.; LIANG, J.; JIANG, Y.; CHEN, J.; LIANG, J.; WANG, S.; WANG, L.; WANG, Y.; MENG, C.; HUO, X.; LAN, Z.; LAI, S.; LIU, C.; HAN, H.; LIU, J.; FU, P.; GUO, Y. Surveillance of foodborne disease outbreaks in China , 2003 – 2017. **Food Control**, v. 118, n. 107359, p. 1-9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107359>.

LV, G.; JIANG, R.; ZHANG, H.; WANG, L.; LI, L.; GAO, W.; ZHANG, H.; PEI, Y.; WEI, X.; DONG, H.; QIN, L. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* from food samples and food poisoning outbreaks in Shijiazhuang , China. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. 652276, p. 1–7, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.652276>.

MA, Y.; LAN, G.; LI, C.; CAMBAZA, E.M.; LIU, D.; YE, X.; CHEN, S.; DING, T. Microbial Pathogenesis Stress tolerance of *Staphylococcus aureus* with different antibiotic resistance profiles. **Microbial Pathogenesis**, v. 133, n. 103549, p. 1-6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103549>.

MACHADO, V.; PARDO, L.; CUELLO, D.; GIUDICE, G.; LUNA, P.C.; VARELA, G.; CAMOU, T.; SCHELOTTO, F. Presence of genes encoding enterotoxins in *Staphylococcus aureus* isolates recovered from food, food establishment surfaces and cases of foodborne diseases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 5, n. 62, p. 1–10, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202062005>.

NIA, Y.; LOMBARD, B.; GENTIL, S.; NEVEUX, L.; MUTEL, I.; GUILLIER, F.; MESSIO, S.; PAIRAUD, S.; HERBIN, S.; GUILLIER, L.; AUVRAY, F.; HENNEKINNE, J.A. Development and validation of the Standard method EN ISO 19020 - microbiology of the food chain — Horizontal method for the immunoenzymatic detection of staphylococcal enterotoxins in foodstuffs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 354, n. 109319, p. 1-8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109319>.

ONJONG, H. A.; NTULI, V.; MWANIKI, M.; NJAGE, P. M. K. Exposure assessment to staphylococcus enterotoxins in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) supplied through semi-regulated and unregulated value chains. **Food Control**, v. 119, n. 107487, p. 1-12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107487>.

PERLIN, G. O.; PEREIRA, L. F.; FERREIRA, B. P. M.; MARTINS, L. DE A. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* em embutidos cárneos registrados em serviço de inspeção municipal - SIM em 2012 de três municípios do estado do Paraná. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 9, n. 1, p. 43–49, 2015.

SANKOMKAI, W.; BOONYANUGOMOL, W.; KRAISRIWATTANA, K.; NUTCHANON, J.; BOONSAM, K.; KAEWBUTRA, S.; WONGBOOT, W. Characterisation of classical enterotoxins, virulence activity, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from Thai fermented pork sausages, clinical samples, and healthy carriers in northeastern Thailand. **Journal of Veterinary Research (Poland)**, v. 64, n. 2, p. 289–297, 2020.

SCHMITT, M.; SCHULER-SCHMID, U.; SCHMIDT-LORENZ, W. Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. **Internation Jornal of Food Microbiology**, v. 11, p. 1-20, 1990.

SILVA, A. C. DA; RODRIGUES, M. X.; SILVA, N. C. C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, p. 347–356, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00168-1>.

SINGH, M.; AGRAWAL, R. K.; SINGH, B. R.; MENDIRATTA, S. K.; AGARWAL, R. K.; SINGH, M. K.; KUMAR, D. Development and evaluation of simple Dot–Blot assays for rapid detection of Staphylococcal Enterotoxin-A in food. **Indian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 4, p. 507–511, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0671-3>.

SØRENSEN, A. I. V.; HANSEN, J. E.; HALASA, T. A dynamic model for spread of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on a pig farm, incorporating bacterial load and human exposure through air. **Journal of Theoretical Biology**, v. 505, n. 110402, p. 1-20, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2020.110402>.

STRUBE, M. L.; HANSEN, J.E.; RASMUSSEN, S.; PEDERSEN, K. A detailed investigation of the porcine skin and nose microbiome using universal and *Staphylococcus* specific primers. **Scientific Reports**, v. 8, n. 12751, p. 1-9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30689-y>.

SUNDARARAJ, N.; KALAGATUR, N. K.; MUDILI, V.; KRISHNA, K.; ANTONYSAMY, M. Isolation and identification of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates from Indian food samples: evaluation of in-house developed aptamer linked sandwich ELISA (ALISA) method. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 1016–1026, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03568-1>.

TARISSE, C. F.; GOULARD-HUET, C.; NIA, Y.; DEVILLIERS, K.; MARCÉ, D.; DAMBRUNE, C.; LEFEBVRE, D.; HENNEKINNE, J-A.; SIMON, S. Highly sensitive and specific detection of Staphylococcal Enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI by immunoassay. **Toxins**, v. 13, n. 130, p. 1–28, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13020130>.

VELASCO, V.; VERGARA, J. L.; BONILLA, A. M.; MUÑOZ, J.; MALLEA, A.; VALLEJOS, D.; QUEZADA-AGUILUZ, M.; CAMPOS, J.; ROJAS-GARCÍA, P. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* strains in the pork chain supply in Chile. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 5, p. 262–268, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2381>.

WU, S.; HUANG, J.; WU, Q.; ZHANG, F.; ZHANG, J.; LEI, T.; CHEN, M.; DING, Y.; XUE, L. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from retail vegetables in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1263, p. 1–10, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01263>.

ZARDETTO, S.; BASAGLIA, M. Growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in fresh egg pasta. **Jornal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 13753, p. 1–9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13753>.

ZHANG, D. X.; LI, Y.; YANG, X. Q.; SU, H. Y.; WANG, Q.; ZHANG, Z. H.; LIU, Y. C.; TIAN, C. L.; CUI, C. C.; LIU, M. C. In vitro antibiotic susceptibility, virulence genes distribution and biofilm production of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in the liaoning province of China. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 1365–1375, 2020. DOI: <http://doi.org/10.2147/IDR.S247765>.