

CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR *Staphylococcus* spp. EM UMA LINHA DE PRODUÇÃO DE QUEIJO DE COALHO

Maria de Fátima Borges¹, Renata Tieko Nassu², Laura Maria Bruno¹, Natália Moura de Vasconcelos³, Arnaldo Yoshiteru Kuaye⁴

¹Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. Cx. Postal 3761, ²Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. Cx. Postal 339, ³Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFC, Fortaleza, CE. Cx. Postal 12168, ⁴Departamento de Tecnologia de Alimentos – FEA/UNICAMP, Campinas, SP- e-mail: fatima@cnpat.embrapa.br

INTRODUÇÃO

O queijo de coalho, produzido em todos os estados do Nordeste, é um dos produtos lácteos mais difundidos no estado do Ceará. No entanto, por ser elaborado, na maioria das vezes, a partir de leite cru e sem adoção dos requisitos das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), não apresenta segurança microbiológica e padronização da qualidade.

A contaminação do queijo de coalho por *Staphylococcus* enterotoxigênicos, incluindo espécies coagulase positiva e negativa, representa um problema de saúde pública, pelo risco de causar intoxicação alimentar. Essas bactérias, quando presentes em populações elevadas (10^5 - 10^6 UFC/mL ou g) e sob condições adequadas (temperatura, pH, atividade de água e O₂) produzem uma ou mais enterotoxinas nos alimentos, as quais depois de ingeridas provocam toxiose estafilocócica (Jablonski; Bohach, 2001; Le Loir et al., 2003). A intoxicação estafilocócica é a causa mais freqüente de surtos de doenças microbianas transmitidas por alimentos em todo o mundo.

As fontes de contaminação do ambiente de processamento incluem ar ambiente, alimentos, manipuladores, animais, insetos, além de móveis, equipamentos, utensílios, embalagens inadequadamente higienizados. A higiene e sanitização desses pontos são, sem dúvida, operações fundamentais no controle sanitário em indústrias de Laticínios, entretanto, são freqüentemente negligenciadas ou efetuadas em condições inadequadas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de contaminação ambiental por *Staphylococcus* spp. em uma linha de produção de queijo de coalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 95 amostras ambientais foi coletado em 19 pontos da linha de produção, em cinco lotes (I, II, III, IV e V) de queijo de coalho, em uma indústria de laticínios na região metropolitana de Fortaleza, CE. A contagem de *Staphylococcus* sp. foi realizada conforme metodologia do *Bacteriological Analytical Manual/FDA* (Bennett; Lancette, 2001). A partir dos resultados de testes fisiológicos e bioquímicos, foram selecionados 34 isolados para identificação fenotípica da espécie, através do sistema de identificação de estafilococos e micrococos *API-Staph*[®] (BioMérieux SA, Marcy-l'Etoile - France). A contaminação microbiológica do ar ambiente das salas de coagulação/enformagem, secagem, embalagem e estocagem foi monitorada pela contagem de fungos filamentosos e leveduras, em amostras de 200 litros (0,20m³) de ar, coletadas com auxílio de um amostrador de ar (modelo *MAS-100Eco* – Merck) - impactação de partículas sobre placas contendo ágar batata dextrosado (Merck). Após incubação as colônias foram contadas e os resultados expressos em UFC/m³ de ar.

PROCI-2007.00125

AND
2007

SP-2007.00125

ontaminação ambiental por
007 SP-2007.00125



17128-1

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de *Staphylococcus* sp. foi confirmada em 9 das 16 superfícies dos equipamentos, móveis e utensílios monitorados. As contagens oscilaram entre <1 a 320 UFC/cm² (Tabela 1). A grande variação observada nas contagens dessas bactérias indicou a falta de padronização nas operações de limpeza e sanitização na linha de produção, podendo comprometer a segurança microbiológica do produto. Procedimentos de higienização inadequados de superfícies dos equipamentos e utensílios em indústrias de laticínios, também, têm sido relatados em outros estudos (Brabes et al., 2003; Careli et al., 2003). Brabes et al. (2003) constataram que 27,5% (11/40) dos isolados de *Staphylococcus* sp. provenientes de superfícies de equipamentos e utensílios utilizados na fabricação de produtos lácteos eram *S. aureus*.

Tabela 1. Contagem de *Staphylococcus* sp. em superfícies de equipamentos, móveis e utensílios em uma linha de produção do queijo de coalho.

Superfície	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC/cm ² ou luva)				
	Lote				
	I	II	III	IV	V
Tanque recepção	3,0	23			11
Tubulação pasteurizador	<1,0	66			<1,0
Tanque coagulação	<1,0	54			<1,0
Lira vertical*	2,0	<1,0			<1,0
Lira horizontal*	8,2	<1,0			<1,0
Mesa para enformagem	<1,0	190			41
Prateleira sala de maturação	<1,0	40			<1,0
Prateleira sala de embalagem	<1,0	40			<1,0
Prateleira sala de estocagem	260	11			<1,0
Manipulador 1	<100	200			<100
Manipulador 2	400	200			4200
Manipulador 3	<100	<100			810

* UFC/Unidade amostral

A contagem de *Staphylococcus* sp. observada nas luvas dos manipuladores variou de <100 a 4200 UFC/luva (Tabela 1) nos cinco processamentos. A presença de *S. aureus* foi observada em 20% (3/15) das amostras. Estes resultados indicam possível contaminação cruzada ao longo do processo. Considerando que *S. aureus* é a espécie de maior prevalência em surtos e casos esporádicos de intoxicação estafilocócica, atribuída ao consumo de leite e produtos lácteos, sua presença nas luvas representa risco de contaminação do queijo. Brabes et al. (2003) também observaram prevalência de *S. aureus* em 20% (10/51) dos isolados de *Staphylococcus* sp. provenientes das mãos de manipuladores. Brum et al. (2004) verificaram que a higienização das mãos dos manipuladores de uma indústria de laticínios propiciou uma redução na contaminação por *S. aureus* de 25% (4/16) para 6% (1/16). Assumpção et al. (2003) relataram que a contaminação do queijo prato por *Staphylococcus* sp. estava associada às elevadas contagens desta bactéria nas mãos e nos antebraços dos manipuladores da linha de produção.

Dentre os 34 isolados de *Staphylococcus* sp. identificados pelo sistema API, 27 eram provenientes das superfícies de móveis, equipamentos e utensílios e 7, das luvas de manipuladores (Tabela 2). Nos isolados provenientes de superfícies foram

identificadas sete espécies, sendo seis coagulase negativa (96%) e uma coagulase positiva (*S. aureus*), cuja ocorrência foi verificada na mesa de enformagem (Tabela 2). A prevalência de espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa, com potencial enterotoxigênico, como *S. caprae*, *S. cohnii cohnii*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. xyloso*, nas superfícies da linha de produção de queijo de coalho, pode representar um risco em potencial de produção de enterotoxinas no produto final. Os resultados obtidos neste estudo apresentaram grande similaridade com os relatados por Brabes et al. (2003) que avaliaram 40 cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de superfícies de equipamentos em uma indústria de laticínios e identificaram sete espécies, com alta frequência de cepas coagulase negativas (6/7) e uma cepa coagulase positiva de *S. aureus*.

Tabela 2. Perfil de espécies de *Staphylococcus* isoladas na linha de produção de queijo de coalho (API® Staph – BioMérieux).

Amostra	Lote / Espécie (nº isolados)				
	I	II	III	IV	V
Móveis, equipamentos e utensílios					
Tanque de recepção	<i>S. lentus</i> (1) <i>S. xyloso</i> (1)	<i>S. cohnii cohnii</i> (1) <i>S. epidermidis</i> (1)	<i>S. caprae</i> (2)	<i>S. caprae</i> (2)	<i>S. xyloso</i> (1)
Tubulação do pasteurizador	ND	NI	ND	<i>S. saprophyticus</i> (1)	ND
Tanque de coagulação	ND	<i>S. lentus</i> (2)	ND	NI	ND
Lira vertical	<i>S. xyloso</i> (2)	ND	ND	ND	ND
Lira horizontal	<i>S. xyloso</i> (1)	ND	ND	ND	ND
Mesa de enformagem	ND	<i>S. saprophyticus</i> (1) <i>S. xyloso</i> (1)	NI	<i>S. epidermidis</i> (1)	<i>S. aureus</i> (1)
Prateleira da câmara maturação	ND	NI	<i>S. xyloso</i> (1)	ND	ND
Prateleira da sala de embalagem	ND	<i>S. lentus</i> (1)	<i>S. epidermidis</i> (2)	<i>S. epidermidis</i> (1)	ND
Prateleira da câmara estocagem	<i>S. xyloso</i> (1)	NI	ND	<i>S. epidermidis</i> (1)	ND
Luvas de manipulador					
Luva do manipulador 1	ND	NI	NI	<i>S. saprophyticus</i> (1)	ND
Luva do manipulador 2	<i>S. epidermidis</i> (2)	NI	<i>S. aureus</i> (1)	ND	<i>S. aureus</i> (1)
Luva do manipulador 3	ND	ND	ND	<i>S. saprophyticus</i> (1)	<i>S. aureus</i> (1)

ND: não detectado; NI: não identificado

Nas luvas utilizadas pelos manipuladores foram identificadas tanto espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva quanto negativa (Tabela 2). Porém, houve prevalência da espécie coagulase positiva *S. aureus*, a qual foi identificada em 42,8% (3/7) dos isolados, seguida das espécies coagulase negativa *S. epidermidis*, em 28,6% (2/7), e *S. saprophyticus*, em 28,6% (2/7). Brabes et al. (2003), analisaram 51 cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas das mãos de manipuladores de uma indústria de laticínios e as espécies e os respectivos percentuais encontrados foram *S. aureus* (21,6%), *S. epidermidis* (19,6%), *S. xyloso* (17,6%), *S. warneri* (11,7%), *S. chromogenes* (7,8%), *S. saprophyticus* (5,9%), *S. lentus* (3,9%), *S. cohnii cohnii* (2,0%), *S. haemolyticus* (2,0%), *S. hominis* (2,0%) e cepas sem identificação conclusiva (5,9%).

Considerando-se que *S. aureus* pode ser encontrado numa frequência que varia de 30 a 50% dos indivíduos sadios (Le Loir, et al., 2003), o manipulador torna-se uma importante fonte de disseminação desta bactéria em alimentos, principalmente, nos produtos de laticínios.

As contagens de fungos filamentosos e leveduras nas salas e câmaras oscilaram entre 280 a 750 UFC/m³. Estes níveis de contaminação são similares aos relatados em

outros trabalhos em indústrias de laticínios (Kang; Frank, 1989; Ren; Frank, 1992). Salustiano et al. (2003) verificaram contagens de fungos e leveduras entre 10 a 1310 UFC/m³ em diferentes áreas de uma indústria de laticínios em Minas Gerais.

CONCLUSÕES

A presença de cepas de *Staphylococcus* enterotoxigênicos nas luvas, equipamentos e utensílios indica contaminação na linha de produção do queijo de coalho, possivelmente devido a não adoção total dos requisitos das Boas Práticas de Fabricação, representando um risco em potencial de produção de enterotoxinas no produto.

A alta prevalência de espécies coagulase negativa observada sugere que a presença destas espécies não deve ser ignorada em investigações de casos suspeitos de intoxicação estafilocócica, uma vez que este grupo de patógenos, estando presente no alimento, oferece risco de causar intoxicação ao consumidor.

Fonte financiadora: CNPq (Processo N° 502929/2003-0)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUMPÇÃO, E.G. et al. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 55, n. 3, p. 366-370, Jun., 2003.

BRABES, K.C.S.A. et al. Identificação e classificação de enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus* spp. isolados de ar de ambiente, manipuladores e de superfícies em uma indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 58, n. 333, p. 33-38, jul./ago. 2003.

BENNETT, R.W.; LANCETTE, G.A. *Staphylococcus aureus*. In: Food Drug Administration (Ed.). *Bacteriological analytical manual online*. 8rd ed. Gaithersburg: AOAC International, 2001. Chap. 12. p. 12.1-12.5. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>. Acesso em: 27 Ago. 2005.

BRUM, J.V.F. et al. Condições higiênicas de mãos de manipuladores de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 179-182, jul./ago., 2004.

CARELI, R.T. et al. Qualidade de água e condições higiênicas de manipuladores, equipamentos e utensílios em micro-indústrias de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, MG, v. 58, n. 333, p. 85-88, jul./ago., 2003.

JABLONSKI, L.M.; BOHACH, G.A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P. et al. (Ed.). *Food microbiology, fundamentals and frontiers*. 2nd ed., Washington D. C.: ASM, 2001. Chap. 19, p.411-434.

KANG, Y.J.; FRANK, F.J. Characteristics of biological aerosols in dairy processing plants. *Journal of Dairy Science*, Lancaster, v. 73, n. 3, p. 621-626, Mar., 1989.

LE LOIR, Y.L. et al. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 2, n. 1, p. 63-76, jan., 2003.

REN, T.J.; FRANK, F.J. Measurement of airborne contamination in two commercial ice cream plants. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v. 55, n. 1, p. 927-933, Jan., 1992.

SALUSTIANO, V.C. et al. Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 34, n. 2, 255-259, Apr./June, 2003.