

Deteção de Biofilme, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* nos Tanques de Produção de Queijos em Laticínios no Sul de Minas Gerais

Camila Oliveira Lourenço¹, Délcio Bueno da Silva², Brígida Monteiro Vilas Boas³, Aline Manke Nachtigall⁴, Poliana Coste e colpa⁵ e Nayabi Cristine Garroni Andrade⁶

¹Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, camila_lourenço@hotmail.com; ²Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, delciobueno@gmail.com; ³Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, brigida@mch.ifsuldeminas.edu.br; ⁴Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, aline@mch.ifsuldeminas.edu.br; ⁵Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, poliana.colpa@mch.ifsuldeminas.edu.br; ⁶Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado, Machado, MG, nayabigarroni@hotmail.com

Introdução

O queijo é um produto lácteo muito apreciado por consumidores bastante exigentes que buscam um produto de qualidade. Para garantir a qualidade e a saúde do consumidor, a legislação brasileira fixou os requisitos microbiológicos para queijos que devem ser obedecidos. Entre os microrganismos determinantes da qualidade do queijo, consta o *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, *Salmonella* sp. (BRASIL, 1996).

A limpeza e sanificação são etapas e métodos essenciais na prevenção de contaminação de alimentos por bactérias patogênicas e deteriorantes. A eficácia comprovada de produtos de limpeza e desinfecção depende da espécie de microrganismo e do tipo de sujidade encontrada (GRAM *et al.*, 2007).

Sob determinadas condições, os microrganismos aderem e interagem com as superfícies e iniciam seu crescimento celular, dando origem a colônias bacterianas. A massa celular das colônias de bactérias pode agregar nutrientes, alguns resíduos e outros microrganismos, formando o que se denomina biofilme (COSTERTON, *et al.*, 1985; ZOTTOLA e SASAHARA, 1994). Para ser considerado um biofilme, o número de células aderidas deve estar entre 10^6 e 10^7 UFC/cm² (PARIZZI, 1998).

Os estafilococos são microrganismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8° C e podem produzir enterotoxinas termorresistentes a temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7 a 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3 (SMITH, 1983).

Os estafilococos produzem a coagulase, uma enzima extracelular, que é uma das provas mais amplamente utilizadas para correlacionar a cepa isolada com a produção de enterotoxina (EE), embora a relação entre a produção da coagulase e a de EE não seja absoluta (WONG; BERGDOLL, 2002).

As *Salmonella*, agente patogênico de contaminação oral, são causadoras de diarreias agudas (BRASIL, 2010). A presença deste patogênico em queijo não é incomum sendo detectada por Feitosa et al. (2003), Duarte et al.(2005) e Santana et al.(2008).

O Objetivo deste trabalho foi detectar a presença de biofilmes , *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, na superfície interna de tanques de aço inoxidável utilizados para a produção de queijos em laticínios do Sul de Minas Gerais.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado em seis laticínios do Sul de Minas Gerais, que produziam queijos (mussarela, minas padrão e ricota) em tanques de aço inoxidável, totalizando 18 tanques retangulares que tinham a capacidade variando de 200 litros a 2000 litros.

Os tanques a serem avaliados estavam higienizados e prontos para serem novamente utilizados. Nos tanques de produção de queijo, a colheita de material foi realizada na superfície interna, em vários locais (dez pontos de colheita) escolhidos aleatoriamente, de modo a contemplar todas as paredes e o fundo do tanque. A colheita de material foi realizada utilizando swabs estéreis umedecidos com água peptonada tamponada 0,1% estéril, por meio de fricção (dez movimentos, feitos de intensidade de força moderada) na superfície de área conhecida delimitada por um gabarito de aço inoxidável estéril. Após a fricção os swabs foram introduzidos em tubos de ensaio contendo 18 mL de água peptonada tamponada 0,1% estéril.

Logo após a colheita, estes tubos de ensaio foram fechados hermeticamente e armazenados em caixas isotérmicas com gelo com temperatura em torno de 4°C. As amostras foram remetidas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Núcleo de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul de Minas Gerais - Campus Machado, Machado-MG, e em seguida foram analisados.

Para a constatação da presença de biofilmes, foi utilizada a contagem de mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis. Para a verificação de mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e *Salmonella* sp foram utilizados as metodologias recomendadas pela Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003, que

oficializa os métodos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água (BRASIL, 2003).

Resultados e Discussão

Os resultados da presença dos microrganismos encontrados nas superfícies dos tanques de aço inoxidável utilizados para a produção de queijos estão expressos na Figura 1.

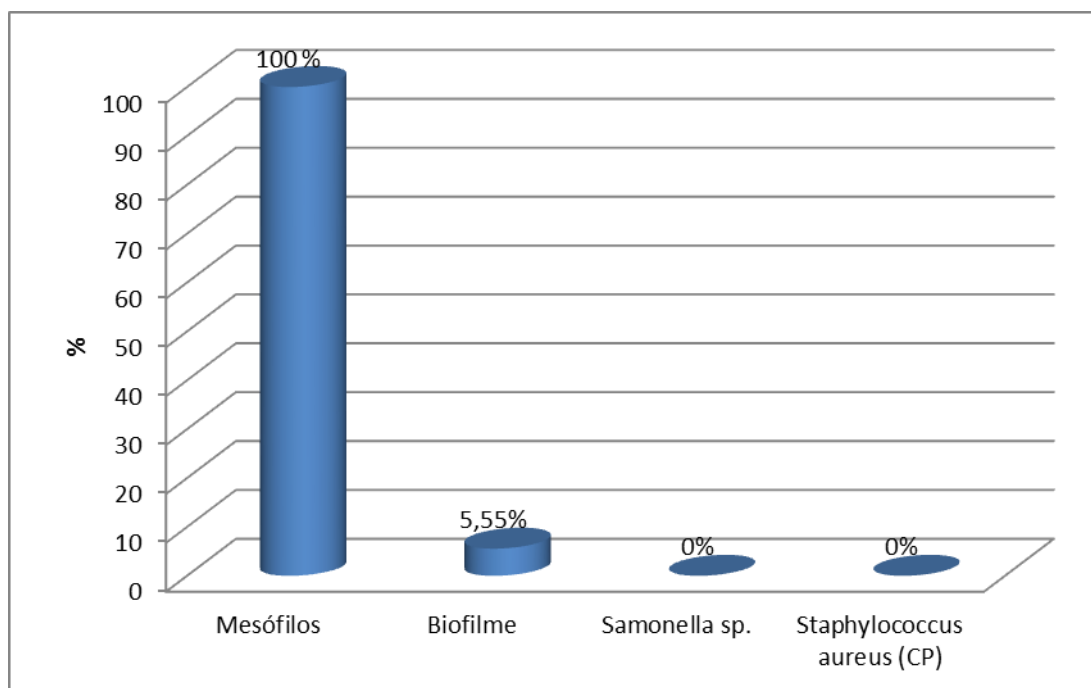


Figura 1. Frequência de mesófilos, biofilmes, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva (CP) encontrados na superfície interna de 18 tanques de aço inoxidável, utilizados na produção de queijos em laticínios da região do Sul de Minas gerais.

Verificou-se contaminação por microrganismos mesófilos, em todos os tanques avaliados, indicando que não ocorreu higienização e sanificação com a eliminação total da microbiota local.

A presença de biofilme em um dos tanques (5,55%) indica que, na área de 1cm² da superfície interna do tanque, foi detectado aproximadamente entre 10⁶ e 10⁷ UFC/cm² (PARIZZI, 1998), indicando uma higienização imperfeita, com formação de biofilme, possibilitando a recontaminação dos próximos queijos que serão produzidos neste tanque.

Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva na superfície dos tanques pesquisados, indicando que a higienização foi suficiente para eliminar estes microrganismos patogênicos, caso os mesmos se encontrassem na superfície.

Conclusões

Ocorreu a presença de mesófilos e de biofilme na superfície interna dos tanques utilizados para a produção de queijos nos laticínios do Sul de Minas Gerais.

Agradecimentos

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo fornecimento de bolsas e auxílio financeiro.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07/03/1996. Aprova regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, v.134, n.48, p.3977-3986, 11 mar. 1996. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. Oficializa os métodos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p.14, 18 set. 2003b. Seção 1.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. **Doenças infecciosa e parasitária: guia de bolso**. 8. Ed. Ver, - Brasília: Ministério da Saúde, 2010

COSTERTON, J. W., MARRIE, T. J., CHENG, K.. J., Phenomena of bacterial adhesion. In: Bacterial Adhesion. Savage, D.C., Fletcher, M (Ed.) London: **Plenum Press**, p.3-43, 1985.

DUARTE, D.A.M.; SCHUCH, D.M.T.; SANTOS, S.B., RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, AM.M.; SILVA, J.V.D.; DA MOTA, R.A. Pesquisa de *listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.297-302, jul./set., 2005

FEITOSA,T.; BORGES, M.F.; NASSU, R.T.; AZEVEDO, E.H.F.; MUNIZ,C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.23 suppl.0 Campinas Dec. 2003

GRAM, L.; BAGGE-RAVN, D.; NG, Y.Y.; GYMOESE, P.; VOGEL, B.F. Influence of food soiling matrix on cleaning and disinfection efficiency on surface attached *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, Guildford, v. 18, p. 1165-1171, 2007

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos** 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 711 p. 2005

PARIZZI, S. Q. F., **Adesão bacteriana em superfície de serviços de alimentação hospitalar avaliada pela microscopia de epifluorescência**. Viçosa, MG: UFV, 1998, 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

SANTANA, R.F.; SANTOS, D.M.; MARTINEZ, A.C.C.; LIMA, Á.S. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.60, n.6, 2008.

SMITH, J.L.; BUCHANAN, R.L.; PALUMBO, S.A. Efeito do ambiente alimentar da síntese de enterotoxinas estafilocócicas: Uma revisão. **J. Alimentos proteger.** v. 46, p. 545-555, 1983.

WONG, A.C.L.; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, DO; RIEMANN, H.P. **Foodborne Diseases**. 2.ed. Amsterdam: Academic Press, 2002. p.231-248.

ZOTTOLA, E.A.; SASAHARA, K.C. Microbial biofilms in the food processing industry - Should they be a concern? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 23, p. 125-148. 1994.