

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESTIRPES DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS EM LATICÍNIO DURANTE O PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO QUEIJO MINAS FRESCAL¹

MOLECULAR IDENTIFICATION OF STRAINS OF *Staphylococcus aureus* ISOLATED DAIRY DURING THE MANUFACTURING PROCESS OF MINAS CHEESE FRESCAL¹

Maria Izabel Merino de Medeiros^{2e3}, Antonio Nader Filho³, Viviane de Souza⁴, Poliana de Castro Melo³, Mariana Candelaria Miziara³, Luciano Menezes Ferreira³.

¹projeto 2008/11091–9 financiado pela FAPESP; ²Pesquisadora Científica ITAL - SP; ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, ⁴Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE.

Palavras chave – *Staphylococcus aureus*, segurança alimentar, PCR

Introdução

A segurança alimentar é essencial para os consumidores e para todos os órgãos responsáveis pela Saúde Pública. O queijo Minas Frescal, muito produzido pela indústria de laticínios, é comercializado a preços acessíveis a grande parte da população. É um queijo não maturado, com elevado teor de umidade, sendo susceptível a contaminações bacterianas (ROSA et al.,2005). O *Staphylococcus aureus* é responsável por um dos tipos mais freqüentes de intoxicação alimentar, causada por uma toxina estafilocócica termoestável, comumente veiculada por leite e derivados (BROOKS et al.,1998). Em condições favoráveis este microrganismo multiplica-se no alimento, produzindo toxinas, sem alterar significativamente a cor, o aroma e o sabor. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de estirpes de *Staphylococcus aureus* e identificar os principais pontos críticos de contaminação durante a produção do queijo minas frescal.

Metodologia

As amostras foram coletadas em uma Micro – usina do Estado de São Paulo que produz 70 quilos de queijo tipo frescal por semana. Foram coletadas em diferentes meses um total de sete amostras do leite cru, leite pasteurizado resfriado, salmoura, água de imersão das fôrmas do queijo, água e porção final das tubulações envolvidas no processamento, assim como suabes dos tanques de armazenamento do leite, mesas, fôrmas e das mãos manipuladores. Amostras do queijo foram colhidas após serem desenformados e embalados para a comercialização. (ABNT, 1988).

Todas as amostras obtidas foram semeadas em Ágar Baird-Parker e incubadas a 37°C por 48 horas. Para a identificação bioquímica as colônias que revelassem a presença de cocos G+ em esfregaços corados pelo método de Gram foram submetidas às provas de catalase e coagulase lenta com plasma de coelho (HOLMBERG, 1973). Em seguida, as estirpes foram, então, submetidas à prova para verificação da produção de acetoina e utilização ou não da maltose e da trealose. As amostras que se mostravam positivas a estas provas foram classificadas como sendo de *Staphylococcus aureus* (HOLT et al., 1994).

Para a extração do DNA bacteriano foi utilizado o Kit Invitek - Uniscience®. Posteriormente, a confirmação molecular dos isolados de *Staphylococcus aureus*, para a identificação da espécie, foi feita a partir da amplificação de fragmentos de DNA cromossômico específico de acordo com o protocolo descrito por MARTINEAU et al. (1998).

Resultados e Discussão

Das 140 amostras colhidas, 74 estirpes foram caracterizadas bioquimicamente como sendo de *Staphylococcus aureus*, mas somente 40 foram confirmadas pela técnica molecular. A presença de *Staphylococcus aureus* foi mais frequente entre as amostras

obtidas do leite do tanque de recepção (15%), seguidos das mãos dos manipuladores e superfície interna do tanque de expansão (12,5 %) e do queijo minas frescal e leite do tanque de expansão (10%). Não foi possível isolar cepas de *Staphylococcus aureus* nas amostras de água utilizada para a limpeza dos equipamentos, água de imersão das fôrmas, assim como das amostras da mangueira de borracha que conduz o leite para a queijaria, do soro do queijo, do coalho líquido, do cano de saída do leite após pasteurização, da bacia inox utilizada para separação do soro e da embalagem utilizada para o acondicionamento do queijo.

A ocorrência de isolamentos de estirpes de *Staphylococcus aureus* na matéria prima sugere uma provável ocorrência de casos de mastite subclínica nos rebanhos utilizados. Depreende-se, portanto, que a escolha da matéria prima de melhor qualidade microbiológica, assim como a observação dos cuidados com a contaminação do leite pós-pasteurização, com a higiene dos funcionários e com as condições de manufatura do queijo, são pontos que devem ser trabalhados e monitorados com o intuito de assegurar a melhoria qualidade microbiológica do produto final, de modo a preservar a saúde do consumidor.

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem que o produto pode representar um risco à saúde pública se não forem seguidos com rigor os cuidados higiênicos sanitários que devem ser adotados durante o processo de produção. Sendo assim, é de fundamental importância que haja uma melhora das boas práticas de fabricação para a obtenção de um produto final de reconhecida qualidade.

Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Preparo da amostra para exame microbiológico**. Rio de Janeiro: ABNT, 03 p., mar., 1988.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; ORNSTON, L. N.; **Microbiologia Médica**. 20^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 524 p.

HOLMBERG, O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. **Acta Vet. Scand.**, v. 45, p.1-144, 1973 (Supplement).

HOLT, J. G. et al. Gram-positive cocci. In: **Berbey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams e Wilkins, p. 544-551, 1994.

MARTINEAU, F. et al. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, p. 618-623, 1998.

ROSA, V.P. et al. Avaliação Microbiológica e Sensorial de Queijos Minas Frescal Embalados sob Atmosfera Modificada. **Revista Higiene Alimentar**, v.19, n.132, p. 58-64, 2005.

Autora a ser contactada: Maria Izabel Merino de Medeiros, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, <http://www.fcav.unesp.br/> Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, CEP 14884-900 / Jaboticabal-SP, Brasil. Telefone: +55 16 32092646, e-mail: belvt@uol.com.br