

**ISOLAMENTO DE Staphylococcus aureus COAGULASE E DN'ase  
POSITIVOS A PARTIR DE QUEIJO COLONIAL COMERCIALIZADO EM  
BLUMENAU**

MERCEDES G. R. REIBNITZ \*  
LORENA B. B. TAVARES \*

Amostras de queijo colonial comercializado em feiras livres de Blumenau (SC), foram analisadas para determinação da presença de Staphylococcus aureus coagulase e DN'ase positivos. Das 20 amostras pesquisadas, 100% revelaram a presença destes germes, sendo que, 95% destas apresentaram concentração microbiana fora dos padrões recomendados pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária.

**1 INTRODUÇÃO**

Os estafilococos podem produzir doença tanto por sua capacidade de multiplicação e disseminação ampla nos tecidos, como pela produção de muitas substâncias extracelulares. Dentre elas, a enterotoxina é uma causa importante de envenenamento alimentar, sendo produzida principalmente, quando certas cepas de Staphylococcus aureus crescem em alimentos contendo carboidratos e proteínas (5). A produção da enzima coagulase, é considerada como indicativo de potencial patogênico invasor (7).

O S. aureus é freqüentemente pesquisado em alimentos, sendo o queijo, um dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas.

\* Professoras do Departamento de Tecnologia Química, Universidade Regional de Blumenau, SC.

Desde 1961, MICKELSEN et al (9) relatam que na literatura tem sido freqüentemente citado altos níveis deste microrganismo em queijo. SANTOS et al (12), constataram a incidência deste microrganismo em 46,9% das amostras de leite cru utilizadas na preparação do queijo tipo minas. DELAZARI et al (4), inocularam S. aureus em níveis de  $10^3$  a  $10^5$  ufc/g em leite utilizado na fabricação de queijo tipo minas e, verificaram o seu desenvolvimento em níveis suficientes para produzir enterotoxinas.

A presente investigação teve por objetivo detectar a presença de Staphylococcus aureus coagulase e DN'ase positivos em queijo colonial, a qual representa risco à saúde do consumidor.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Vinte unidades de queijo colonial preparados com tecnologia desconhecida e vendidos sem embalagem, foram adquiridos em feiras de comercialização de produtos coloniais. Cada amostra de queijo foi representada por aproximadamente 500 g do produto, sendo coletadas quatro amostras em cada uma das feiras pesquisadas.

### 2.2 COLETA E PREPARO DA AMOSTRA

As amostras de queijo de diferentes procedências, foram coletadas no período compreendido entre setembro e outubro de 1992 e transportadas ao laboratório de Engenharia Bioquímica do Departamento de Tecnologia Química da Universidade Regional de Blumenau, Santa Catarina. Em seguida, as amostras foram colocadas sob refrigeração e analisadas num prazo não superior a 24 horas.

O preparo das amostras para a análise, seguiu as técnicas preconizadas pelo LANARA (3). Pesou-se 25 g representativas da amostra e colocou-se em copos de homogeneizador, tendo sido adicionado 225 mL de água peptonada 0,1%. A partir desta suspensão inicial, foram preparadas as diluições decimais até  $10^7$ .

### 2.3 AVALIAÇÕES

A sequência da pesquisa bacteriológica foi realizada visando a detecção de Staphylococcus aureus coagulase e DN'ase positivos. Para a quantificação desta bactéria, utilizou-se o método de contagem "spread-plate" com agar Baird-Parker, segundo a APHA (1). Na determinação da coagulase utilizou-se plasma de coelho desfibrilado, preparado de acordo com ICMSF (6) e na de DN'ase a técnica descrita por LACHICA et al (8).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das contagens de Staphylococcus aureus coagulase e DN'ase positivos em amostras de queijo colonial, estão indicados na Tabela 1.

A presença de S. aureus foi constatada nas 20 amostras de queijo estudadas. A portaria 001/78 (2) estabelece para queijo colonial, valores máximos em contagem direta para S. aureus no limite de  $10^3$ /g de amostra. Do total de amostras analisadas, 95% apresentaram-se fora dos padrões recomendados pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária (2), e 100% delas indicaram positividade quanto à coagulase e desoxirribonuclease.

TABELA 1 - CONTAGEM DE Staphylococcus aureus COAGULASE E DN'ase POSITIVOS, EM AMOSTRAS DE QUEIJO COLONIAL

Amostra	<u>Staphylococcus aureus</u> (ufc/g)	Coagulase/DN'ase
01	$3,40.10^5$	+
02	$4,90.10^6$	+
03	$7,50.10^3$	+
04	$2,47.10^6$	+
05	$2,42.10^6$	+
06	$6,25.10^6$	+

continua ...

...continuação

07	4,49.10 <sup>7</sup>	+
08	5,14.10 <sup>5</sup>	+
09	9,84.10 <sup>4</sup>	+
10	1,63.10 <sup>6</sup>	+
15	8,10.10 <sup>5</sup>	+
11	5,14.10 <sup>5</sup>	+
12	8,30.10 <sup>4</sup>	+
13	3,80.10 <sup>7</sup>	+
14	8,99.10 <sup>6</sup>	+
16	1,99.10 <sup>6</sup>	+
17	7,35.10 <sup>5</sup>	+
18	5,35.10 <sup>4</sup>	+
19	3,36.10 <sup>5</sup>	+
20	7,45.10 <sup>4</sup>	+

Segundo PELCZAR (10), se as células microbianas apresentam tendência para formar agregados como ocorre com os Staphylococcus, as contagens resultantes serão mais baixas que o número de células que se desenvolveram isoladamente, pois cada um dos agregados produzirá apenas uma colônia. Deste modo, os valores apresentados na Tabela 1, poderiam ter sido superiores se os experimentos tivessem sido realizados num meio líquido (11).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições experimentais utilizadas para o estudo das 20 amostras de queijo colonial, permitem concluir que:

- em 95% das amostras analisadas as contagens de Staphylococcus aureus apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira;



- como todas as amostras pesquisadas evidenciaram a presença de cepas de Staphylococcus aureus coagulase e desoxirribonuclease positivos, os queijos coloniais não deveriam ser consumidos;
- o elevado número de cepas de S. aureus coagulase e DN'ase positivas encontrado, sugere a inexistência de fiscalização da Secretaria de Saúde (Vigilância Sanitária) do Estado de Santa Catarina, no que se refere ao produto analisado;
- o isolamento de S. aureus em 100% das amostras indica as más condições de higiene do ambiente, dos utensílios e do pessoal envolvido na produção do queijo colonial pesquisado;
- há necessidade de inspeção mais freqüente dos órgãos de fiscalização sanitária tanto no setor de produção como no de beneficiamento do leite.

#### Abstract

Twenty cheese samples were collected at Blumenau - SC (Brazil) and were submitted to microbiological analysis in order to verify the presence of Staphylococcus aureus positive coagulase and DN'ase. Among the 20 samples of cheese, the analysis revealed that 100% of the samples were contaminated and 95% of them were not in accordance to the present legal specification by Divisão Nacional de Vigilância Sanitária.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2. ed. Washington, D.C., 1976. p. 325.
- 2 BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria 01 de 28 de Janeiro de 1987. Estabelece padrões microbiológicos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 12 de fevereiro de 1987. p.590.
- 3 BRASIL. Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos microbiológicos para análise de alimentos. Brasília, 1982.
- 4 DELAZARI, I., LEITÃO, M.F.F., GERALDINI, A.M., EIROA, M.N.V., VALLE, J.L.E. Desenvolvimento de Staphylococcus aureus e produção de enterotoxina em queijo tipo minas. Coletânea ITAL, v. 9, p. 163, 1978.

- 5 FRAZIER, W.C., WESTHOFF, D.C. Food microbiology. 3. ed. New York : Mc Graw Hill, 1978.
- 6 INTERNACIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS (ICMSF). Microorganisms in foods : their significance and methods of enumeration. 3. ed. Toronto : University of Toronto Press, 1990. v. 1.
- 7 JAWETZ, E. , MELNICK, J.L., ADELBERG, E. A. Microbiologia médica. 15. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1982. p. 569.
- 8 LACHICA, R.V.F., GENIGEORGIS, C., HOEPRICH, P.D. Metachromatic agar-diffusion methods for the detecting Staphylococcus aureus nuclease activity. Appl. Microbiology, v. 21, n. 4, p. 585-7, 1971.
- 9 MICKELSEN, R., FOLTS, V.D., MARTIN, W.H., HUNTER, C.A. The incidence of potentially pathogenic Staphylococcus aureus in dairy products at the consumer level. II. Cheese. J. Milk-Food Technology, Anes, v. 24, p. 242, 1961.
- 10 PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S. Microbiologia. São Paulo : Mc Graw Hill, 1981. 2 v.
- 11 REIBNITZ, M.G.R. Estudo comparativo de meios de cultura para isolamento de Staphylococcus aureus a partir de queijo colonial. Florianópolis, 1993. 62 p. Dissertação, Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.
- 12 SANTOS, E.C., GENIGEORGIS, C., FARVER, T.B. Prevalence of Staphylococcus aureus in raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of Brazilian Minas cheese. J. Food Protection, Anes, v. 44, n. 3, p. 177, 1981.