

"ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA FLORA CONTAMINANTE DE QUEIJOS TIPO PRATO E LANCHE"

"MICROBIOLOGIC ASPECTS OF THE CONTAMINANT FLORA ON TWO TYPES OF CHEESE"

* Eurico Mussoi

RESUMO

O autor estudando queijos tipo "lanche" e "prato" de 13 diferentes indústrias, verificou variações.

A contagem total em 50% das amostras oscilou entre 10 milhões e 100 milhões. A contagem de coliformes apresentou-se com a variação entre $>10^3$ e $>10^6$ em 50% das amostras. O gênero *Staphylococcus* foi sempre negativo. Sendo o gênero *Micrococcus* constatado em todas as amostras. As contagens de leveduras oscilaram entre $>10^3$ e $>10^6$, por grama de queijo. A contagem de fungos, mais de 50% das amostras apresentaram contagens entre $>10^4$ e $>10^6$. A comparação entre um tipo e outro de queijo não revelou correlação.

SUMMARY

The author studying snack cheese and "prato" from 13 different industries obtained variations.

The total count in 50% of the samples oscilated from 10 million to 100 million. The count of the coliformes had the variation from $>10^3$ to $>10^6$ in 50% of the samples. The genus *Staphylococcus* was always negative. The genus *Micrococcus* was present in the samples. The count of the yeasts oscilated between $>10^3$ to $>10^6$, per g of the cheese. In the count of the fungi more than 50% samples had counst from $>10^4$ to $>10^6$.

The comparison between different kinds of cheese didn't reveal corelation.

INTRODUÇÃO

A contaminação microbiológica dos queijos pode ocorrer quando o leite não foi pasteurizado, ou foi inadequadamente ou ainda, durante a fabricação quando não se tomam as devidas precauções higiênicas.

A flora, microbiológica nos queijos pode ser considerada sob dois aspectos: normal e patogênica. Sabemos que a flora normal varia com o tipo de queijo (6) e que a patológica tem vinculação ao estado de sanidade do animal que produziu o leite ou durante as fases tecnológicas do fabrico (5).

A flora normal em queijos tipo lanche e prato, os quais sofrem o processo de maturação, é composta dos gêneros *Streptococcus* e *Lactobacillus*.

* Professor Assistente do Departamento de Tecnologia Alimentar do Centro de Ciências Rurais da UFSM.

Quanto a flora patogênica, podemos separar em dois grupos: a) os microrganismos que atacam o produto nas fases de maturação e conservação b) aqueles que podem determinar infecções *Echerichia*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, espécies lipolíticas do gênero *Achromobacter* e proteolíticas do gênero *Pseudomonas* e *Alcaligenes*: gêneros estes, responsáveis pelas chamadas "doenças" dos queijos.

No tocante a gêneros patogênicos, responsáveis por infecções alimentares podemos citar, com grande possibilidade de serem encontrados os seguintes: *Mycobacterium*, *Brucella*, *Coxiela*, *Burnetti*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shiguella* e *Proteus* (5), ou ainda espécies de fungos que podem produzir aflatoxinas (3).

Considerando a não existência de legislação específica referente a queijos resolvemos elaborar o presente trabalho para que sirva de subsídio a uma futura legislação no tocante aos tipos de queijos prato e lanche.

Assim sendo procedemos o estudo da flora em diferentes meios de cultura, procurando conhecer os gêneros predominantes.

Com relação aos gêneros patogênicos procuramos evidenciar o *Staphylococcus*, por ser aquele que é encontrado com mais frequência em infecções alimentares.

Quanto aos gêneros bacterianos gram-negativos, pesquisamos a presença do grupo coliforme, com a finalidade de sabermos o grau higiênico de obtenção do produto.

Os demais gêneros patogênicos, componentes dos grupos acima citados, não foram pesquisados porque os queijos que foram objeto de nosso trabalho, sofreram o processo de manutenção e como sabemos (2), nesta fase o produto experimenta uma série de transformações bioquímicas, as quais ainda não bem conhecidas, e que impedem a proliferação dos citados gêneros.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

As amostras analisadas foram adquiridas no comércio local, tendo sido coletado em recipientes esterilizados.

MÉTODOS

O preparo da amostra foi realizado no laboratório constando do seguinte procedimento.

Retirada da amostra com sonda metálica esterilizada e acondicionamento em frascos de vidro com tampas esmerilhadas estéreis.

A desagregação e homogenização foi feita em gral estéril.

O preparo da diluição 10^{-1} foi feita em um liquidificador, usando-se para este fim 11 g da amostra com 99 ml de solução fisiológica peptonada.

Enquanto que as diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , e 10^{-5} , foram obtidas da diluição 10^{-1} , utilizando-se tubos de ensaios com 9 ml de solução fisiológica peptonada estéril.

Semeadura foi feita em Placas de Petri.

Para contagem total de germes a semeadura foi feita em agar leite, utilizando-se 1 ml da diluição 10^{-5} .

A contagem de coliformes foi realizada em agar MAC CON-KEY, utilizando-se como inóculo 1 ml de diluição 10^{-2} .

A verificação de bastonetes gram-positivos não esporulados foi feita na placa de contagem total.

Os cocos gram-positivos foram estudados no meio seletivo de CHAPMAN, utilizando-se para inóculo 1 ml de diluição 10^{-8} .

Para verificar a presença de bastonetes gram-positivos esporulados aeróbios foi pesquisada nas placas de contagem total.

A contagem de fungos e leveduras foi realizada em agar batata acidificado com ácido tartárico a 10%, utilizando-se como inóculo a diluição 10^{-3} .

Incubação de placas

A incubação de placas de contagem total, Coliformes e Cocos Gram-positivos, foram feitas a temperatura de 35°C durante 48 horas.

As placas de fungos e leveduras foram incubadas a temperatura de 25°C durante 5 dias.

Caracterização morfológica:

A caracterização morfológica dos bastonetes gram-positivos não esporulados, cocos gram-positivos e bastonetes gram-positivos aeróbios foi estudada bacterioscopicamente, utilizando-se o método de GRAM para a coloração destas bactérias.

RESULTADOS

Os resultados encontram-se nas TABELAS, I, II, III e IV

TABELA I

Médias das contagens efetuadas em amostras de queijo nas diferentes indústrias

| Indústrias | Contagem Total | Coliformes | Bastonetes Gram Positivos Não Esporulados | Cocos Gram Positivos | Leveduras | Fungos |
|------------|----------------|------------|---|-------------------------|-----------|---------|
| 1 | 32.680.000 | 13.000 | 21.136.250 | 101.133 | 364.875 | 29.200 |
| 2 | 13.112.500 | 5.500 | 11.261.750 | 8.033 | 98.800 | 75.425 |
| 3 | 1.380.000 | 4.900 | 44.000 | 100.000 | 24.200 | 900 |
| 4 | 2.400.000 | Incontável | 450.000 | 77.500 | 5.500 | 13.500 |
| 5 | 16.900.000 | 5.500 | 3.740.000 | 84.850 | 21.900 | 5.450 |
| 6 | Incontável | 2.100 | Incontável | Incontável | 385.000 | 300.000 |
| 7 | Incontável | 1.600 | Incontável | Incontável | 169.000 | 10.000 |
| 8 | 68.900.000 | 100 | 26.950.000 | 51.200 | 49.433 | 6.900 |
| 9 | 400.000 | 300 | 300.000 | 5.000 | 200.000 | 1.300 |
| 10 | 87.300.000 | Incontável | 3.200.000 | 16.750 | 224.250 | 14.200 |
| 11 | 128.266.000 | 16.366 | 2.250.000 | 21.900 | 61.900 | 2.033 |
| 12 | 34.300.000 | 3.250 | 15.750.000 | 42.500 | 36.500 | 1.050 |
| 13 | 77.900.000 | 1.200 | 26.800.000 | 2.050 | 100.000 | 50.000 |

TABELA II

Média das contagens nos tipos "lanche e prato"

| Tipos de queijo | Contagem Total | Coliformes | Bastonetes Gram Positivos não Esporulados | Cocos Gram Positivos | Leveduras | Fungos |
|-----------------|----------------|------------|---|----------------------|-----------|--------|
| Lanche | 42.281.500 | 9.256 | 8.138.000 | 33.976 | 90.335 | 34.533 |
| Prato | 48.164.000 | 800 | 25.689.000 | 51.400 | 447.828 | 16.928 |

TABELA III

Percentagens da Variação de contagem total nas diferentes Amostras

| CONTAGEM TOTAL DE GERMES | PERCENTAGENS |
|---------------------------|--------------|
| 0 a 1.000.000 | 10% |
| 1.000.001 a 10.000.000 | 16,6% |
| 10.000.001 a 50.000.000 | 26,6% |
| 50.000.001 a 100.000.000 | 23,3% |
| 100.000.001 a 150.000.000 | — |
| 150.000.001 a 200.000.000 | 6,6% |
| De mais de 200.000.000 | 16,6% |

TABELA IV

Percentagens das contagens dos diferentes grupos bacterianos

| | $\nabla 10^2$ | $\nabla 10^3$ | $\nabla 10^4$ | $\nabla 10^5$ | $\nabla 10^6$ |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Coliformes | 20% | 16,6% | 30% | 16,6% | 16,6% |
| Bastonetes Gram Positivos não esporulados | — | — | — | 13,3% | 16,6% |
| Cocos Gram Positivos | 3,3% | 6,6% | 13,3% | 50% | 26,6% |
| Leveduras | — | — | 20% | 43,3% | 23,3% |
| Fungos | 6,6% | 16,6% | 36,6% | 26,6% | 6,6% |
| | | | | | 70% |
| | | | | | 13,3% |
| | | | | | 6,6% |

DISCUSSÃO

A execução da presente pesquisa envolveu amostras de queijos tipo "lanche" e "prato", de diferentes procedências, sendo analisados produtos provenientes de 13 indústrias lactológicas.

Os resultados expressos na tabela n.º 1, representam as médias das contagens efetuadas em diferentes meios de cultura.

A contagem total forneceu resultados variáveis, que oscilaram entre 400.000 a mais de 128 milhões, contagens estas bem mais elevadas do que aquelas verificadas por SOUTO & MARTINS (7), os quais encontraram em 71 amostras analisadas, oscilação entre 1 milhão a mais de 30 milhões.

A contagem de coliformes em meio seletivo apresentou resultados compreendidos entre 100 e 16.366, sendo que duas amostras demonstraram um crescimento notável impossibilitando a contagem.

Este resultado difere daquele verificado por TYURK (8) que encontrou uma variação de 0,10 a 1.000 coliformes por grama de queijo.

A presença de bastonetes gram-positivos não esporulados, foi observado na totalidade das amostras, com contagens que oscilaram entre 44.000 a 26.950.000, apresentando duas amostras com número incontável.

Estes dados diferem dos obtidos por CLARD (1), que verificou a presença de bastonetes não esporulados em 11% das amostras analisadas.

As sementeiras realizadas no meio de CHAPMAN não revelaram a presença do gênero *Staphylococcus*, encontrando-se no entanto o gênero *Micrococcus* com contagens entre 5.000 a 101.133 germes por grama de queijo. Não houve correlação com a pesquisa de MICHELSEN (14) que encontrou em 125 amostras examinadas 33 cepas de *S. epidermitis* e 88 de *S. aureus*.

A contagem de leveduras oscilou entre 5.500 a 385.000, sendo que as amostras que possuíam estas contagens não apresentaram alterações.

A contagem de fungos realizada em paralelo com a contagem de leveduras, proporcionou uma variação entre 900 a 300.000 colônias, também sem a observação de alterações dignas de nota.

Na tabela n.º 2 observamos os resultados das contagens em queijo "lanche" e "prato", podendo-se verificar a inexistência de correlação.

O queijo "prato" apresentou resultados para coliformes e fungos inferiores ao "lanche", enquanto que a contagem total de bastonetes gram-positivos não esporulados, cocos gram-positivos e leveduras, foi superior aquela apresentada pelo "lanche".

Na tabela n.º 3, 26,6% das amostras apresentaram contagem entre 10.000.000 e 50.000.000, 23,3% entre 50.000.000 e 100.000.000.

Na tabela n.º 4 verificamos que a percentagem de amostras com número de coliformes 10^3 , foi de 30%, 16,6% com 10^4 e 16,6% com número de coliformes 10^6 .

Isto revela que mais da metade das amostras tinham número de germes entre 10^3 e 10^6 .

As contagens mais elevadas de **bastonetes** gram positivos não esporulados, apresentaram-se em 70% das amostras com o número total de 10^6 .

O gênero **Micrococcus** em 50% das amostras com contagem 10^4 , sendo que 26,6% das amostras estavam enquadradas em 10^5 .

A contagem de leveduras oscilou no maior número de amostras entre 10^4 e 10^6 . As contagens para fungos em 36,6% das amostras foram 10^3 , sendo que mais de 50% das amostras apresentaram contagens entre 10^4 e 10^6 as quais julgamos elevadas embora não existam padrões.

CONCLUSÕES

Os resultados observados em produtos provenientes de 13 indústrias apresentaram-se variados, depreendendo-se do fato que esta ocorrência se deve a inexistência de padrões para os queijos tipo "lanche" e "prato".

A contagem total demonstrou variações que indicam possíveis falhas durante as fases tecnológicas do fabrico.

As contagens do grupo coliforme revelou a carência de práticas higiênicas nestas indústrias.

A pesquisa do gênero **Staphylococcus** foi sempre negativa em nossas análises, sendo porém constatada a presença do gênero **Micrococcus**, gênero este halófilo possivelmente vinculado ao produto durante as fases tecnológicas do produto.

As contagens de leveduras oscilaram entre 10^3 e 10^6 , a contagem de fungos em mais de 50% oscilou entre 10^4 e 10^6 colônias por grama de queijo.

A comparação dos resultados entre um tipo e outro de queijo não revelaram correlação, provavelmente devido a variação do tempo de maturação.

50% das amostras apresentaram contagens total de 10 milhões e 100 milhões por grama de queijo.

Mais de 50% das amostras de queijo "lanche" e "prato" apresentaram contagem de coliformes que oscilaram entre 10^3 e 10^6 .

A contagem de leveduras oscilou entre 10^3 e 10^6 . No que tange à presença de fungos, mais de 50% das amostras apresentaram contagens entre 10^4 e 10^5 , as quais não podemos julgar elevadas ou baixas, uma vez que não existem padrões.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — CLARK, W. S. Jr. & REINALD, G. W. — The low temperature microflora young cheddar cheese J. milk. Fd. Technol. 30 (2): 54-58, 1967.
- 2 — HERNANDEZ, L.N.A. — Estudio Bromatologico y Bacteriologico de los quesos que se consumen en el mercado de Quito. Rev. Facultad de Quicia y Farmacia Quito, Año VII (1968) n.º 15: 35-61, 1969.

- 3 — LIE, J.L. & MARTH, E. H. — Formations of aflatoxin in Cheddar cheese by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* *J. Dairy Sci.* 50 (10): 1708-10, 1967.
- 4 — MICKELSEN, R., FOLTZ, V. D., MARTIN, W. H. & HUNTER, A. C. — The incidence of potentially pathogenic staphylococci in dairy products at the consumer level. *J. milk & Food Tech.* 24: 342-5, 1961.
- 5 — ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD — Control higienico dela preparacion de productos lacteos. Ginebra 1970: 42 (Série de informes técnicos, n.º 453).
- 6 — ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD — Metodos Microbiológicos para el examen del queso. 2.ª ed. Washington, D.C. 1960: 258 (Publicaciones Cientificas, n.º 84).
- 7 — SOUTO, A. B. & MARTINS, H. — Investigações Microbiológicas sobre queijos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz.* 6 (1): 13-20, 1946.
- 8 — TYURK, K. K. — Coliform bacteria in cheese. *Meloch Prom.* 28(12): 27-28.