

Avaliação do perfil microbiológico de salsichas tipo “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel

Michelle Aparecida Alcântara
Igor Renan Honorato Gatto
Dora Inés Kozusny-Andreani

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar bacteriologicamente salsichas de diferentes marcas comercializadas a granel e em embalagens a vácuo. Nos procedimentos microbiológicos foram avaliados coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*, pesquisa para *Salmonella spp.*, contagem de *Staphylococcus aureus* e de *Pseudomonas aeruginosa*. Os micro-organismos isolados foram avaliados quanto à resistência aos antimicrobianos. A resistência dos micro-organismos foi definida pela formação ou não da zona de inibição do crescimento bacteriano ao redor dos discos de antibióticos. Foram isolados coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em 100% das amostras de salsichas comercializadas a granel, enquanto que *Salmonella spp* foi isolada em 50% e, *Pseudomonas aeruginosa* em 70% das amostras. Constatou-se, por meio do teste de sensibilidade a antibióticos, que todas as cepas bacterianas isoladas foram multidrogas resistentes. As salsichas comercializadas a vácuo apresentaram coliformes totais e fecais (1,2% e 0,4%, respectivamente) dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação. A elevada frequência de amostras de salsicha comercializadas a granel apontou as condições higiênico-sanitárias precárias nos locais de venda que podem conduzir a contaminação e deterioração do alimento, comprometendo a qualidade do mesmo e constituir um risco ao consumidor.

Palavras-chave: Salsicha. *Escherichia coli*. *Salmonella*. *Staphylococcus*. *Pseudomonas aeruginosa*.

Evaluation of the microbiological profile of sausages kind “hot dog” commercialized in vacuum packaging or in bulk

ABSTRACT

The aim of this work was to assess bacteriologically sausages from different origins commercialized in bulk or in vacuum packaging. In the microbiological procedures were assessed total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli*, presence of *Salmonella sp.*, count

Michelle Aparecida Alcântara é Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis/SP. Bolsista do Programa de Iniciação Científica da Unicastelo.

Igor Renan Honorato Gatto é Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis/SP.

Dora Inés Kozusny-Andreani é Profa. Dra. do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis/SP, Laboratório de Microbiologia.

Endereço para correspondência: Rua Luiz Pezatti, 399, Jd. Rio Grande. CEP 15600-000. Fernandópolis/SP. E-mail: doraines@terra.com.br

Veterinária em Foco	Canoas	v.10	n.1	p.68-79	jul./dez. 2012
---------------------	--------	------	-----	---------	----------------

of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The isolated microorganisms were tested about the resistance to antibiotic. The resistance of the microorganisms was defined by the formation or not of the zone of inhibition of bacterial growth around the antimicrobial discs. Were isolated total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in 100% of the samples of sausages commercialized in bulk, while *Salmonella* sp was isolated in 50%, and *Pseudomonas aeruginosa* in 70% of the samples. It was verified through antibiotic sensibility tests that all bacterial strains isolated were multi-drug resistant. The sausages commercialized in vacuum packaging showed only total and fecal coliforms (1.2% and 0,4 % respectively) in the microbiological patterns demanded by legislation. The high frequency of sausage samples commercialized in bulk showed the precarious hygienic-sanitary conditions in the points of sale that can lead to a contamination and deterioration of the food, endangering its quality and be a hazard for the consumer.

Keywords: Sausages. *Escherichia coli*. *Salmonella*. *Staphylococcus*. *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a alimentação tem sido motivo de preocupação nos diferentes países devido à crescente demanda de produtos industrializados, minimamente processados, refrigerados e prontos para o consumo, fato que tem contribuído para que o risco de doenças transmitidas por alimentos aumentasse (SAMUEL et al.; 2007). A salsicha, devido aos procedimentos de fabricação, onde se utilizam as mais diversas partes do animal e ao seu amplo consumo pela população, o controle microbiológico torna-se um fator imprescindível para assegurar a qualidade do produto e, principalmente, a saúde do consumidor (BRASIL, 2000; CARVALHO, 2006).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem alertado para a necessidade de se coibir a contaminação de alimentos por agentes biológicos com potencial de causar danos à saúde. No entanto, com a globalização, ficaram mais evidentes os problemas relativos à qualidade dos alimentos para consumo humano, devido à facilidade de distribuição de alimentos industrializados, possibilitando assim a rápida e extensa contaminação alimentar (BALBANI; BUTUGAN, 2001). Na atualidade, as doenças transmitidas por alimentos (DTA) constituem um dos problemas mais frequentes de saúde pública, sendo causadas por micro-organismos patogênicos que ingressam no organismo humano por meio da ingestão de água e alimentos contaminados (FRANCO; LANDGRAF, 2006; AMSON et al., 2006, SILVA et al., 2007). A população menos favorecida apresenta maiores índices de contaminação por alimentos em função dos hábitos alimentares e da necessidade de optar por produtos de menor preço, muitas vezes de baixa qualidade devido ao armazenamento e condições higiênico-sanitárias precárias (BALBANI; BUTUGAN, 2001).

As doenças de origem alimentar (DTAs) podem ser subdivididas em duas grandes categorias: intoxicações alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas e infecções alimentares causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de micro-organismos patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2006). As bactérias patogênicas que se destacam na maioria das infecções e toxinfecções alimentares são *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, Clostrídios

Sulfito Redutores e Estafilococos coagulase positivos, considerados como os principais micro-organismos que causam preocupação em relação a carnes cruas e processadas (SILVA et al., 2007).

A espécie *Escherichia coli* encontra-se largamente difundida na natureza, tendo como habitat principal o trato intestinal de humanos e de animais de sangue quente, integrando as bactérias do grupo coliforme, subdividindo-se em vários biótipos e sorotipos, alguns dos quais patogênicos em potencial para o homem constituindo-se os alimentos e a água suas principais fontes de infecção. *E. coli* é referenciada como indicador de contaminação fecal, pela facilidade de sua comprovação diagnóstica e por sua representatividade (HIRSH; ZEE, 2003; QUINN et al., 2005; SILVA et al., 2007). Os diferentes sorotipos (entero-hemorrágico, enterotoxígeno, enteroinvasor, enteropatógeno e enteroagregativo), de *E. coli*, vêm merecendo crescente atenção epidemiológica, tendo-se em conta os riscos para os humanos expostos a esta zoonose (ACHA; SZYFRES, 2003).

Bactérias do gênero *Salmonella* sp são patógenos facultativos, intracelulares, capazes de infectar uma grande variedade de animais. A ave é um dos mais importantes reservatórios que pode introduzir a *Salmonella* sp na cadeia alimentar do homem. As infecções provocadas pelas bactérias do gênero *Salmonella* sp são universalmente consideradas como as mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos (QUINN et al., 2005, SILVA et al., 2007). Os alimentos mais frequentemente contaminados são aqueles com alta porcentagem de proteína e alto teor de umidade (GERMANO; GERMANO, 2001). As bactérias do gênero *Salmonella*, são micro-organismos frequentemente envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar. Devido a sua capacidade de disseminação, podem ser isoladas de diferentes fontes devido a práticas inadequadas de manipulação e sanitização (ALMEIDA et al., 2002; SILVA et al., 2007).

Staphylococcus aureus é um dos agentes responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, provocada pelas enterotoxinas formadas quando ocorre a multiplicação das células (STANFORD, 2006; RALL et al.; 2010). Estão amplamente difundidos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosa de mamíferos e aves, sendo a cavidade nasal o principal habitat no homem (TORTORA et al.; 2012). Os portadores nasais e os manipuladores de alimentos com as mãos e braços que apresentem feridas infectadas com *S. aureus* são importantes fontes de contaminação do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

O gênero *Pseudomonas* se caracteriza por alterar muitos alimentos ricos em proteínas, como leite, ovos, carne e alimentos de origem marinhos como peixes e camarão, além de vegetais. A espécie *P. aeruginosa* é o organismo patogênico oportunista mais importante em humanos (MASSAGUER, 2006). Segundo Franco e Landgraf (2006) as *Pseudomonas* são importantes em alimentos devido a sua intensa atividade metabólica, sendo capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos, além de produzirem pigmentos hidrossolúveis, enzimas proteolíticas e lipolíticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil bacteriológico de salsichas tipo “hot dog” de diferentes marcas comercializadas a granel e em embalagens a vácuo.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de salsichas tipo “hot dog” comercializadas a granel (40 amostras) e em embalagens a vácuo (40 amostras) de cinco marcas diferentes, foram adquiridas em supermercados da região de Jales-SP. Foram adquiridos 200g de cada amostra de salsicha a granel e as embaladas a vácuo nas embalagens observando sempre que não apresentassem violação, sendo acondicionadas em recipiente isotérmico contendo gelo e, transportadas ao laboratório para realização das análises microbiológicas.

Foram realizadas as seguintes análises: determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*, pesquisa para *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* seguindo a metodologia de análise microbiológica para alimentos (BRASIL, 2003).

De cada amostra foram colhidos assepticamente 25g, transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 1% (DIFCO®) estéril, bem como colocados em homogeneizadores esterilizados. Nos procedimentos microbiológicos toda a metodologia foi seguida de acordo com as seguintes técnicas:

Para análise de coliformes fecais e coliformes totais, micro-organismos anaeróbios facultativos fermentadores de lactose com produção de ácido e gás dentro de 24 a 48 horas de incubação à temperatura de 32 a 37°C, usou-se a metodologia de tubos seriados. Partindo das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , onde foram transferidas alíquotas de 1 mL das respectivas diluições para uma série de três tubos contendo 9mL do Caldo Lauril Triptose (LST), suplementado com 50mg/L de 4-metil-umbelifenil- β -D-glucuronídeo (LST-MUG, OXOID®) contendo tubo de Durham invertido, homogeneizando e incubando os tubos a 35°C por 48 horas. Transcorrido este tempo foi observada a produção de gás nos tubos de fermentação.

Para contagem de coliformes totais, empregaram-se todos os tubos de LST com produção de gás (positivos), dos quais foi transferida uma alçada de cada cultura para tubos contendo 10mL de Caldo Verde Brilhante 2% (VB, OXOID®) e tubo de Durham invertido. Os tubos LST positivos também foram repicados para tubos com 10 mL de caldo EC (OXOID®) com tubos Durham, com a finalidade de se verificar a presença de coliformes fecais. Os tubos VB foram incubados em banho-maria a 35°C, e os EC a 45°C, ambos por 24 a 48 horas para posterior observação do crescimento com produção de gás. Foi anotado o número de tubos de VB e EC com gás confirmativo da presença de coliformes totais e coliformes fecais, respectivamente, determinando-se o NMP/g, e o resultado expresso em NMP/de coliformes totais cm^{-2-1} . A presença de *Escherichia coli* foi confirmada pelo cultivo, em meio ágar de Levine (EMB, OXOID®), de 0,1mL das culturas positivas dos tubos EC.

Para pesquisa de *Salmonella* spp., a amostra contida na água salina peptonada foi incubada a 37°C/24 horas. Estas amostras foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Rappaport-Vassiliadis (DIFCO®) e Tetracionato-Novobiocina (DIFCO®), incubados a 37 e 42°C/24 horas. Cada amostra foi semeada em placas de Petri com Ágar Verde Brilhante (OXOID®) e em Ágar Hektoen (OXOID®),

e incubadas por 24 horas a 37°C. As colônias típicas obtidas nas placas foram confirmadas através de provas bioquímicas. As colônias foram submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, fermentação da lactose e/ou sacarose e produção de H₂S, no Ágar Lisina Ferro (DIFCO®) e Ágar Tríplice Açúcar Ferro (DIFCO®).

A presença de *Staphylococcus aureus* foi analisada pelo método de contagem direta em placas como descrito por Silva et al. (2007). De cada diluição seriada foi retirado 0,1mL e inoculado em placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker (BP), incubadas 35°C por 24-48h. Foram contadas as colônias típicas que são circulares com 2-3mm de diâmetro, pretas ou cinzas escuras, lisas, convexas com bordas perfeitas, massa de células esbranquiçadas nas bordas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente.

Para confirmação das colônias típicas foram selecionadas 5 colônias para o teste da coagulase. Cada colônia foi transferida para tubos de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), as células foram perfeitamente homogeneizadas com o caldo e uma alçada de cada tubo de BHI foi transferida para tubos com Ágar triptecaseína Soja (TSA) inclinados. Os tubos foram incubados 35° C por 24h, os tubos de TSA foram utilizados para teste da catalase e reservados também, para possíveis testes adicionais, enquanto que os tubos de BHI foram empregados para o teste de coagulase. Os testes de catalase e coagulase foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Cappuccino, Sherman (1996).

A presença de *Pseudomonas aeruginosa* foi analisada de acordo com a metodologia descrita por Maia et al. (2009). Efetuou-se pré-lavagem da superfície das salsichas com solução salina (0,85 % de NaCl), desta solução, uma alíquota de 25mL foi cultivada em 225mL de água peptonada a 1% (pH 7,2) e incubada por 24 horas a 37°C. Posteriormente foi realizada a semeadura em agar eosina-azul de metileno (OXOID®) e ágar seletivo para *Pseudomonas – Aeromonas* (Ágar GSP, Merck®) mantido nas mesmas condições de incubação da etapa anterior. De cada meio de cultivo em placa, foram repicadas 5 colônias típicas em meios de Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI-Merck) e Ágar Lisina Ferro (LIA-Merck®), incubadas por 24 horas a 37°C. Os tubos com reações sugestivas foram empregados para semeadura em Agar Mueller-Hinton para observação de produção de pigmento.

Para o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos utilizou-se a técnica de difusão em agar descrita por Bauer et al. (1966). Foram utilizados para esta avaliação os antimicrobianos trimetoprim (tri), neomicina (neo), ampicilina (amp), enrofloxacina (enr), cefotaxime (cef), amicacina (ami), clindamicina (cli), ciprofloxacina (cip) canamicina (can), sulfazotrim (sul), estreptomomicina (stp), cloranfenicol (clo). Para a realização do antibiograma os micro-organismos foram cultivados em meio caldo nutritivo, a uma temperatura de 35°C e por um período de 24 horas. Placas de Petri contendo meio Mueller-Hinton (OXOID®) foram inoculadas de forma homogênea com 0,1mL da cada cultura, contendo 10⁹ UFC mL⁻¹. Posteriormente, foram distribuídos os discos contendo os respectivos antibióticos e as placas de Petri foram incubadas a 35°C por 18 horas, quando a sensibilidade aos antibióticos foi lida e interpretada

de acordo com as recomendações da National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). Foram consideradas estirpes multirresistentes aquelas que apresentaram resistência a 5 ou mais antibióticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As salsichas comercializadas a vácuo apresentaram coliformes totais e fecais (1,2% e 0,4%, respectivamente) dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação (Tabela 1). No entanto, constatou-se que todas as amostras de salsichas "hot dog" comercializadas a granel apresentaram coliformes totais e fecais. Das quarenta amostras, de diferentes marcas, avaliadas, duas (5%) apresentaram-se dentro do padrão para coliformes totais e três (7,5%) para coliformes fecais. Verificando-se, em relação a estes micro-organismos, um número muito elevado de salsichas (95 e 92,5 %) apresentaram contagens de $3,3 \times 10^6$ e $2,3 \times 10^5$ para coliformes totais e fecais, respectivamente. Em 100% das amostras positivas para coliformes fecais foi confirmada a presença de *Escherichia coli*, indicando um alto nível de contaminação fecal, o qual pode estar relacionado à qualidade da matéria-prima, ao processamento, à conservação ou à manipulação inadequada.

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois, quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *Escherichia coli* (PARDI et al., 1993).

A Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), estabelece a tolerância máxima permitida para coliformes fecais para salsicha de 10^3 NMP g⁻¹, não estabelecendo padrão para outros subprodutos de aves. A respectiva legislação não estabelece parâmetros para a contagem padrão em placas de micro-organismos heterotróficos aeróbios, mesófilos e psicrotróficos. Utilizando estes parâmetros foi possível constatar que 92,5 % das salsichas a granel estavam em desacordo com a legislação vigente, enquadrando-se como um produto em condições higiênicas insatisfatórias e o seu consumo pode ser um risco para saúde do consumidor. No entanto, somente três amostras (1,2%) de salsichas embaladas a vácuo apresentaram contagens baixas de coliformes totais (1×10^2) e, em uma destas amostras foi verificada a presença de coliformes fecais (1×10), sem confirmação de *E. coli* em nenhuma das amostras (Tabela 1). Estes resultados diferem dos obtidos por Martins et al. (2008) em pesquisa realizada nos municípios de Rio de Janeiro e Niterói/RJ. Estes autores verificaram presença de coliformes fecais fora do padrão em 20% das salsichas a granel e em 12% das salsichas embaladas a vácuo.

O número de coliformes acima de $1,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹ é indicativo de deficiências de higiene na produção, sendo os coliformes considerados indicadores de contaminação do ambiente e resíduos de fezes (MOTTA; BELMONT, 2000; BRITO et al., 2002). O

grupo dos coliformes fecais é considerado o principal agente causador de contaminação associados à deterioração de queijos, causando fermentações anormais e estufamento precoce dos produtos (ALMEIDA et al, 2002). Estes micro-organismos podem ser destruídos pela temperatura de pasteurização, e em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanitização aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos (SILVA et al., 2007).

Em 50% das amostras de salsicha a granel foram isoladas bactérias do gênero *Salmonella sp* (tabela 1), a presença deste micro-organismo torna os alimentos inadequados para o consumo humano. De acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001), este gênero bacteriano deve estar ausente nos alimentos. Devido a sua capacidade de disseminação, pode ser isolada de diferentes fontes como consequência de práticas inadequadas de manipulação e sanitização (SILVA et al., 2007).

A contagem de bactérias do gênero *Staphylococcus* evidenciou a presença e a ausência de *Staphylococcus aureus* em amostras de salsichas a granel e embaladas a vácuo, respectivamente (Tabela 1). Em 100% das amostras de salsichas a granel foram isolados *Staphylococcus aureus*, em contagens de $4,6 \times 10^7$ UFC g⁻¹, valores considerados acima do limite permitido pela legislação (BRASIL, 2001), evidenciando que as mesmas apresentavam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, sendo impróprias para o consumo. Resultados semelhantes foram obtidos por Martins et al. (2008), que verificaram contaminação por *Staphylococcus aureus* na ordem de 10^2 a 10^6 UFC g⁻¹ de salsicha. A presença de *S. aureus* em 100% das amostras de salsicha pode estar relacionada com a manipulação durante o processamento e/ou armazenagem e venda, pois os manipuladores representam os principais meios de transmissão dessas bactérias. Dentre os diversos tipos de micro-organismos patogênicos que podem ser transmitidos por alimentos, destacam-se *Staphylococcus aureus*, cuja importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados, de toxinas causadoras de gastroenterites alimentares (PEREIRA et al., 2000, FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

Nesta pesquisa, ocorreu isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* em 28 (70%) das amostras de salsicha comercializadas a granel e a determinação quantitativa variou de $> 3,3 \times 10^3$ a $3,2 \times 10^6$ UFC g⁻¹ (Tabela 1). Maia et al. (2009) verificaram elevada porcentagem de isolamento de *P. aeruginosa* em coxas e miúdos de frango, e associaram os resultados a falha na qualidade higiênico-sanitária do produto comercializado. De acordo com a Legislação Brasileira não há recomendação de análise de *Pseudomonas* em alimentos, no entanto a RCD nº 12 estabelece ausência desta bactéria em 100mL de água envasada, para preparo de alimentos infantis e para imunossuprimidos e imunocomprometidos e para dietas parenterais (BRASIL, 2001). As *Pseudomonas* são importantes em alimentos devido a sua intensa atividade metabólica, sendo capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos (FRANCO; LANDGRAF, 2006), caracterizando-se por alterar muitos alimentos ricos em proteínas. *P. aeruginosa* é o organismo patogênico oportunista mais importante em humanos (MASSAGUER, 2006). Adicionalmente, não se deve

esquecer a possibilidade de erro no manuseio e/ou manutenção dos produtos de origem animal nos estabelecimentos de comercialização, nos quais, muitas vezes, os critérios de boas práticas não são plenamente atendidos (MAIA et al.; 2009).

TABELA 1 – Contagens de coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* isolados de salsicha comercializada a granel e em embalagem a vácuo.

Micro-organismos	Salsichas a granel			Salsichas embaladas a vácuo		
	Contagens	Nº de amostras	%	Contagens (NMP g ⁻¹)	Nº de amostras	%
Coliformes totais (NMP g ⁻¹)*	3,3 x 10 ⁶	38	95	1x10 ²	3	1,2
	1,4 x 10 ²	2	5			
Coliformes fecais (NMP g ⁻¹)	2,3 x 10 ⁵	37	92,5	1x10	1	0,4
	1,0 x 10 ²	3	7,5			
<i>Escherichia coli</i> (NMP g ⁻¹)	2,8 x 10 ⁴	37	92,5	Ausente	40	100
	1,0 x 10 ²	3	7,5			
<i>Salmonella</i> sp (UFC g ⁻¹)**	1 x 10	20	50	Ausente	40	100
<i>P. aeruginosa</i> (UFC g ⁻¹)	3,2 x 10 ⁶	19	47,5	Ausente	40	100
	3,3 x 10 ³	9	22,5			
<i>S. aureus</i> (UFC g ⁻¹)	4,5 x 10 ⁷	35	87,5	Ausente	40	100
	8,1 x 10 ⁶	5	12,5			

*NMP: Numero Mais Provável; **UFC: Unidade Formadora de Colônias.

A elevada carga microbiana encontrada nas salsichas comercializadas a granel evidenciou que a contaminação por micro-organismos pode ter sido decorrente de condições de conservação em temperaturas impróprias, de armazenamento em locais inadequados, pelo contato com superfícies que apresentavam condições higiênico-sanitárias precárias ou não foram submetidas à sanitização prévia, ou ser oriunda dos manipuladores de alimentos. Para diminuir os riscos de contaminação, é recomendável que a matéria-prima na produção de salsicha passe por um processo de pasteurização e que ainda seja implantado um programa de segurança alimentar do tipo, Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC). É necessário também, maior atenção das autoridades sanitárias em relação à produção e comercialização, uma vez que a ingestão de alimentos contaminados por bactérias patogênicas e toxinas pode causar sérios riscos à saúde humana (VIEIRA et al., 2008).

A análise do perfil de resistência dos micro-organismos isolados de salsicha a granel, (Tabela 2), evidenciou que as diferentes espécies bacterianas apresentaram resistência várias classes de antimicrobianos. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* apresentaram resistência a todos os antibióticos avaliados,

com frequência variável, porém os isolados de *S. aureus* e *P. aeruginosa* evidenciaram frequências de resistência entre 50 a 100%. Devido a multirresistência verificada nestes micro-organismos patógenos potenciais, geralmente envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos, haveria dificuldades no tratamento de pacientes contaminados por estas bactérias.

Entre as cepas de *Salmonella* sp não foi observada resistência à neomicina e vancomicina, porém 100% foram resistentes à cloranfenicol, enquanto que frente aos demais antimicrobianos verificou-se frequência variável (Tabela 2).

Em relação ao surgimento de bactérias resistentes a mais de um antibiótico, Oliveira; Munaretto (2010) destacam que o surgimento de antimicrobianos no passado produziu uma acentuada redução na mortalidade por inúmeras doenças infecciosas, porém a administração dos antibióticos à população humana favoreceram e ainda favorecem a seleção de micro-organismos resistentes. Assim os antibióticos perderam e ainda perdem a sua eficácia, constituindo-se em um problema à saúde pública. A resistência a antibióticos não pode ser considerada como um problema unicamente de saúde pública, mas também de saúde animal, pois a alimentação animal é incrementada com suplementos e antibióticos para reduzir epidemias, podendo assim selecionar micro-organismos resistentes, os quais poderiam ser disseminados no ambiente (MOTTA et al., 2005). Ante o panorama atual de multirresistência bacteriana aos antimicrobianos é necessária a avaliação contínua do perfil de suscetibilidade às diferentes drogas empregadas na terapêutica humana e veterinária ou ainda em programas de monitoramento, representando relevante fonte de informação sobre as características dos micro-organismos circulantes no meio ambiente (MAIA et al., 2009)

TABELA 2 – Perfil de resistência aos antibióticos de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. isoladas de salsichas comercializadas a granel.

Antibióticos	Porcentagem de cepas resistentes			
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Trimetoprim	95	90	100	42,85
Neomicina	12,5	0	97,5	75
Ampicilina	92,5	75	100	50
Enrofloxacina	37,5	60	75	60,7
Cefotaxime	50	10	50	78,6
Amicacina	50	25	62,5	100
Vancomicina	10	0	50	92,9
Clindamicina	55	30	62,5	50
Ciprofloxacina	57,5	15	50	75
Canamicina	17,5	85	50	96,4
Sulfazotrim	87,5	10	75	50
Estreptomicina	65	10	92,5	50
Cloranfenicol	100	100	50	100

Finalizando, para reduzir a incidência de problemas relacionados ao uso de antibióticos são necessárias políticas de saúde que minimizem a prática da automedicação e do uso indiscriminado destes fármacos com vistas à promoção do uso racional de antibióticos, além disso, os farmacêuticos no momento da dispensa de um antibiótico precisam orientar os usuários quanto ao uso, riscos e descarte destes produtos (OLIVEIRA; MUNARETTO 2010).

CONCLUSÕES

A elevada frequência de amostras de salsicha comercializadas a granel das quais foram isoladas *Escherichia coli* (100%), *Staphylococcus aureus* (100%), *Pseudomonas aeruginosa*(70%) e *Salmonella* sp (50%) revela condições higiênico-sanitárias precárias nos locais de venda que podem conduzir a contaminação e deterioração, comprometendo a qualidade do alimento e constituir um risco ao consumidor.

A multirresistência bacteriana encontrada neste estudo reforça a necessidade de monitoramento contínuo desses micro-organismos, destacando a importância do uso racional de antibióticos bem como, a necessidade de conscientização do consumidor quanto à qualidade higiênico-sanitário dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. *Zoonosis and communicable diseases common to men and animals: bacteriosis and mycosis*. 3.ed. Washington: World Health Organization, 2003. 398p. (Scientific and Technical Publication, n.580).
- ALMEIDA, A. S.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. *Higiene Alimentar*, v.16, n.96, p.96-81, 2002.
- AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná, Brasil, no período de 1978 a 2000. *Ciência e Agrotecnologia*, v.30, n.6, p.1139-1145, 2006.
- BALBANI, A. P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. *Pediatria*, v.23, n.4, p.320-328, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – DAS. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Divisão de Normas Técnicas – DNT. Decreto Lei nº 30691, de 29 de março de 1952. Alterados pelos Decretos nº 1255 de 25/06/62, nº 1236 de 02/09/94, nº 1812 de 08/02/96 e nº 2244 de 04/06/97. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA*. Brasília: RIISPOA, 1997. 241p.
- BRASIL, Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 31/03/2000. Instrução Normativa Nº 4, Anexo IV: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha. 2000.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. *Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*.

2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.Br/Regis/reso1/12_oirac.num>. Acesso em 19 jan. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária – MAARA. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária – Departamento Nacional de Defesa Animal –Coordenação Geral de Laboratório Animal. *Métodos de análise microbiológica para alimentos*. Brasília: MAARA, 2003. 135p.

CAPPUCCINO, J. G.; SHERMAN, N. *Microbiology. A laboratory Manual*. 4.ed. The Benjamin/CCummings Publishing Company, Inc., 1996, 477p.

CARVALHO, L. T. Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Linha de Produção de Salsichas. *Higiene Alimentar*, v.20, n.14, p.36-44. 2006.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Ciência Rural*. v.34, p.1315-1320. 2004.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDAGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2006, 182p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela, 2001. 321p.

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L.; KAMEI, C. A. K. Manipuladores de alimentos: capacitar? É preciso. Regulamentar? Será preciso? *Higiene Alimentar*, v.14, n.78/79, p.18-22, 2000.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. *Microbiologia veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

MAIA, A.; CANTISANI, M. L.; ESPOSTO, E. M., SILVA, W. C. P.; RODRIGUES, E. C. P.; RODRIGUES, D. P.; LÁZARO, N. S. Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.29, n.1, p.114-119, 2009.

MARTINS, L. L.; SANTOS, F. dos; FRANCO R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. de; BEZZ, J. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios de Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.67, n.3, p.215-220, 2008.

MASSAGUER, P. R. *Microbiologia dos processos alimentares*. São Paulo: Varela, 2006. 258p.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.42, n.6, p.465-470, 2005.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility* (Approved Standards, M2-A4). Villanova, 2005; PA National Committee For Clinical Laboratory Standards.

OLIVEIRA, K. P. de; MUNARETTO, P. Uso racional de antibióticos: responsabilidade de prescritores, usuários e dispensadores. *Revista Contexto & Saúde*, v.9, n.18, p.43-51, 2010.

PEREIRA, M. A.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERDOLL, M. S. Estafilococos: até onde sua importância em alimentos?. *Revista Higiene Alimentar*. v.14, p.32-39, 2000.

PEREIRA, M. A.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. *Revista Higiene Alimentar*. v.19, p.32-34, 2005.

QUIN, P. J. et al. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Artmed, 2005, 512p.

RALL, V. L. M.; SFORCIN, J. M.; AUGUSTINI, V. C. M.; WATANABE, M. T.; FERNANDES JR., A.; RALL, R.; SILVA, M. G.; ARAÚJO JR., J. P. Detection of enterotoxin genes of *staphylococcus* sp isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.41, p.59-65; 2010.

SAMUEL, C. M.; VUGIA, D. J. KOEHLER, K. M.; MARCUS, R.; DENNEN, V.; DAMASKE, B.; SHIFERAW, B.; HADLER, J.; HENAO, O. L.; ÂNGULO, F. J. Consumption of risky foods among adults at high risk for severe foodborne diseases: room for improved targeted prevention messages. *Journal of Food Safety*, v. 27, p.219-232, 2007.

SALOTTI, B. M., CARVALHO, A. C. F. B.; AMARAL, L. A.; VIDAL-MARTINS, A. M. C.; CORTES, A. L. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município e Jaboticabal, SP, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.73, p.171-75, 2006.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F.A. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*, Livraria Varela, São Paulo, 2007. 295p.

STANFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp isolados de leite in natura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, p.41-45, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, 934p.

Recebido em: dez. 2012

Aceito em: mar. 2013