

Estudo da qualidade microbiológica de linguças provenientes do Rio Grande do Sul e do perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas

Study of the microbiological quality of sausages from Rio Grande do Sul and of the susceptibility profile of isolated bacteria

Milena Angeli, Rosieli Martini, Vanessa Teixeira Kunz Paraginski, Rita Denise Neiderauer Weiss, Bianca Stüker, Flávia de Andrade Ernesto, Barbara Charlotte Bach

Como citar este artigo:

ANGELI, MILENA; MARTINI, ROSIÉLI; PARAGINSKI, VANESSA T. K.; WEISS, RITA DENISE N.; STÜKER, BIANCA; ERNESTO, FLÁVIA A.; BACH, BARBARA C.; Estudo da qualidade microbiológica de linguças provenientes do Rio Grande do Sul e do perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas. Revista Saúde (Sta. Maria). 2020; 46 (1).

Autor correspondente:

Nome: Milena Angeli
E-mail: milena-angeli@live.com
Telefone: (51) 997953382
Formação Profissional: :
Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Filiação Institucional: Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
Endereço para correspondência:
Rua: Avenida Roraima nº 1000
Casa do Estudante Universitário II, bloco 41, apto 4112
Bairro: Camobi
Cidade: Santa Maria
Estado: Rio Grande do Sul
CEP: 97105-970

Data de Submissão:

15/10/2019

Data de aceite:

16/01/2020

Conflito de Interesse: Não há conflito de interesse



RESUMO

Objetivo: Analisar a qualidade microbiológica de linguças provenientes de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, e o estudo do perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas destas amostras. **Métodos:** A análise microbiológica foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos (Número Mais Provável por grama de amostra) e o perfil de suscetibilidade pelo método de Kirby-Bauer. **Resultados:** Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que 100% (16) das amostras analisadas estavam próprias para o consumo humano. Foram avaliados os perfis de suscetibilidade de 28 bactérias isoladas, sendo que estas apresentaram sensibilidade em 85% de todos antimicrobianos testados, 2% dos perfis foram considerados intermediários e 13% resistentes. **Conclusões:** Através desta pesquisa se obteve informações de grande valia para toda a comunidade, as quais ajudarão a minimizar e prevenir infecções alimentares decorrentes do consumo destes embutidos.

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria; Antibiograma; Microbiologia de Alimentos.

ABSTRACT

Objective: To analyze the microbiological quality of sausages from different regions of the state of Rio Grande do Sul, and to study the susceptibility profile of the bacteria isolated from these samples. **Methods:** Microbiological analysis was performed using the multiple tube technique (Most Probable Number per gram of sample) and the susceptibility profile by the Kirby-Bauer method. **Results:** The results of the microbiological analyzes demonstrated that 100% (16) of the analyzed samples were suitable for human consumption. The susceptibility profiles of 28 isolated bacteria were evaluated, with sensitivity in 85% of all antimicrobials tested, 2% of the profiles were considered intermediate and 13% resistant. **Conclusions:** Through this research were obtained information of great value for the whole community, which will help minimize and prevent food infections due to the consumption of these sausages.

KEYWORDS: Bacteria; Antibiogram; Food Microbiology.

INTRODUÇÃO

As linguiças são produtos derivados cárneos que apresentam um grande consumo pela população brasileira. Este elevado consumo na alimentação se deve, principalmente pelo menor preço em relação às demais carnes, bem como pela boa qualidade nutricional, praticidade e rapidez do preparo. Entretanto, podem ser importantes veiculadores de microrganismos patogênicos, devido às suas características intrínsecas e também aos fatores externos, como a grande quantidade de água presente, a intensa manipulação e a potencial contaminação cruzada durante o preparo¹.

Os diferentes tipos de produção das linguiças e das carnes utilizadas podem colaborar para uma má qualidade microbiológica, seja pela falta de higiene nos abatedouros e indústrias ou por uma contaminação prévia da matéria prima. Assim, condições higiênicas adequadas nas fases de produção e cuidados na manipulação são importantes pontos críticos para a boa qualidade microbiológica².

A ingestão de linguiças contaminadas pode resultar em uma doença denominada Doença Transmitida por Alimentos (DTA), que geralmente se caracteriza por náuseas, diarreia e vômitos. Os sintomas não se restringem somente ao trato gastrointestinal, podendo também afetar órgãos como cérebro, rins e fígado. As mais frequentes causadoras de DTAs são as bactérias patogênicas, dentre estas, as mais importantes nas linguiças são *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp. e *Clostridium perfringens*³.

Com o crescimento do consumo das linguiças pela população, também se verificou um aumento da ocorrência destas DTAs, o que pode ser um fator preocupante, visto o alto nível de resistência que estas bactérias patogênicas estão adquirindo frente aos vários agentes antimicrobianos disponíveis no mercado. Dessa forma, esta situação se constitui em um risco para a saúde da população, no caso de uma possível infecção alimentar decorrente destes embutidos, ocasionando muitas vezes dificuldade no tratamento, devido à alta resistência bacteriana¹.

A partir disso, existem parâmetros de qualidade microbiológica que são regidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 de 02 de janeiro de 2001, exigindo o controle microbiológico para determinar a qualidade do produto final para o consumidor. Segundo esta RDC a linguiça é considerada própria e satisfatória para o consumo humano quando apresenta valores de contagem microbiana inferiores aos limites estabelecidos por esta legislação: 5×10^3 Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFC/g) de Coliformes Termotolerantes (CTe) a 45 °C, 5×10^3 UFC/g de *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) e 3×10^3 UFC/g de *Clostridium* sulfito redutor a 46 °C. Já a bactéria *Salmonella* spp. deve estar ausente em 25 g do produto⁴.

Tendo em vista os fatos apresentados, este estudo investigou a qualidade microbiológica de linguiças, conforme a RDC citada acima, e também determinou o perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas de amostras de linguiça. Dessa forma, se torna possível garantir a saúde e o bem-estar das pessoas que consomem estes embutidos. Visto que, além das DTAs, as bactérias resistentes aos antimicrobianos são um grande problema de saúde pública no Brasil. Assim, pode-se ressaltar que, com a execução de um controle de qualidade microbiológico de alimentos é possível evitar

e/ou minimizar as DTAs, e também a resistência bacteriana, pois reflete diretamente na prevenção destas infecções bacterianas e do controle da disseminação de microrganismos resistentes.

MÉTODO

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Microbiológicas (LabMicro), Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DeMiP) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Coleta das Amostras

As amostras foram oriundas de análises microbiológicas realizadas pelo LabMicro através do projeto de extensão intitulado “INVESTIGAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE QUALIDADE, HIGIENE E SEGURANÇA ALIMENTAR EM SANTA MARIA E REGIÃO”.

Avaliação das Amostras

Para as diferentes amostras foi realizada a contagem de bactérias heterotróficas em placas de Petri contendo Ágar Padrão Contagem (PCA). Os materiais utilizados para a análise de Coliformes Totais (CT) e CTe foram Caldo Lauril Sulfato, Caldo Verde Brilhante e Caldo *Escherichia coli* (EC), seguindo a técnica dos tubos múltiplos e determinação do Número Mais Provável por grama de amostra (NMP de CTe/g), segundo *American Public Health Association*⁵.

Também foi realizada a pesquisa de SCP e *Salmonella* sp.^{4,6}. Placas de Petri com Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) foram utilizadas para isolamento de *E. coli* e posteriores testes bioquímicos para confirmação⁷.

Perfil de Suscetibilidade

O teste de suscetibilidade antimicrobiana foi realizado através do método de Kirby-Bauer, somente ao grupo dos Coliformes (Bacilos Gram-Negativos Fermentadores de Glicose). Foram utilizados discos dos seguintes antibióticos: Aztreonam, Cefotaxima, Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Ceftadizima, Cefoxitina, Amicacina, Gentamicina, Ciprofloxacina, Ampicilina, Cloranfenicol, Sulfametoxazol/Trimetropim, Imipenem e Tetraciclina.

Em seguida, as placas de Mueller Hinton foram incubadas a 35 ± 5 °C por 18 a 24 horas. Após a incubação as placas foram analisadas, os halos foram medidos e posteriormente analisados conforme o limite de sensibilidade informado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)⁸.

RESULTADO

Qualidade Microbiológica

Entre os anos de 2015 e 2018 foram recuperadas 28 bactérias oriundas da investigação bacteriana de 16

amostras de linguiças. Todas as 16 (100%) amostras analisadas estavam próprias para o consumo, apresentando seus valores de CTe inferiores a 5×10^3 NMP de CTe/g, SCP inferiores a 5×10^3 UFC/g e *Salmonella* spp. ausente em 25 gramas, conforme o que preconiza a RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001⁴. Os valores encontrados nas análises se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas obtidas de 16 amostras de linguiça analisadas no LabMicro, conforme Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 2 de janeiro de 2001⁴

Amostra	CTe (NMP/g)	E. coli	SCP (UFC/g)	Salmonella spp.
1	$4,3 \times 10^2$	Positiva	Negativo	Negativa
2	$4,6 \times 10^3$	Positiva	Negativo	Negativa
3	$2,3 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
4	$9,3 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
5	$7,0 \times 10^1$	Negativa	Negativo	Negativa
6	$2,1 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
7	$1,5 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
8	$1,5 \times 10^2$	Positiva	Negativo	Negativa
9	$2,3 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
10	$4,6 \times 10^2$	Positiva	Negativo	Negativa
11	$1,5 \times 10^3$	Positiva	Negativo	Negativa
12	$1,1 \times 10^3$	Positiva	Negativo	Negativa
13	$2,1 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
14	$4,3 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
15	$4,3 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa
16	$3,9 \times 10^1$	Positiva	Negativo	Negativa

Fonte: Autora, 2019.

CTe = Coliformes Termotolerantes; NMP = Número Mais Provável; SCP = *Staphylococcus* coagulase positiva; UFC = Unidades

Formadoras de Colônia.

Os CTe isolados das amostras analisadas neste estudo foram identificados por testes bioquímicos⁷. A espécie mais detectada foi *Citrobacter freundii*, presente 11 vezes (39%), seguida de *E. coli*, 6 vezes (22%), conforme demonstrado na Tabela 2. O número máximo de bactérias identificadas na mesma amostra de linguiça foi três e a associação mais comum entre gêneros bacterianos foi *Citrobacter* e *Enterobacter*.

Tabela 2. Identificação dos Coliformes Termotolerantes isolados de 16 amostras de linguiça analisadas no LabMicro, conforme Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 2 de janeiro de 2001⁴.

Espécie	n=28	%
<i>Citrobacter freundii</i>	11	39%
<i>Escherichia coli</i>	6	22%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3	11%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2	7%
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	7%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	3,5%
<i>Enterobacter</i> sp.	1	3,5%
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	3,5%
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	3,5%

Fonte: Autora, 2019.

Perfil de Suscetibilidade

A determinação do perfil de suscetibilidade foi realizada em todas as bactérias classificadas como CTe, seguindo o método de Kirby-Bauer. Os halos de inibição presentes (Figura 1) foram mensurados e os resultados encontrados foram confrontados com a tabela do CLSI, a fim de determinar se as bactérias eram sensíveis, intermediárias ou resistentes aos antimicrobianos testados⁸. Na Tabela 3 encontra-se o perfil de suscetibilidade de todas as bactérias do estudo, as quais foram isoladas das 16 amostras de linguiças.

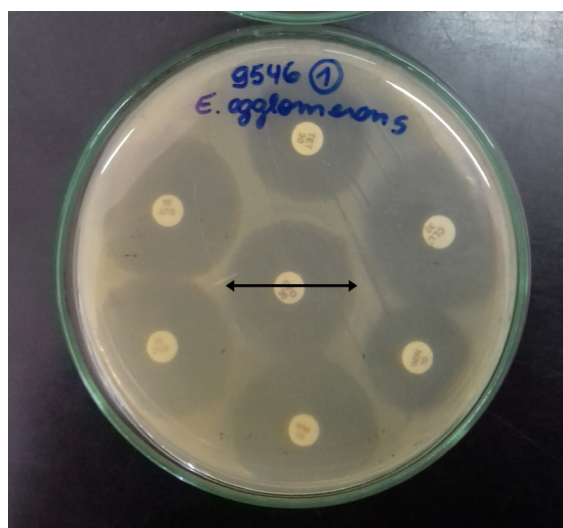


Figura 1. Halos de inibição obtidos pela determinação do perfil de suscetibilidade das bactérias isoladas das amostras de linguiça, onde a flecha indica o diâmetro de um dos halos. Fonte: Autora, 2019

Tabela 3. Perfil de suscetibilidade das 28 bactérias isoladas de 16 amostras de linguiça analisadas no LabMicro.

Bactéria (Amostra)	ATB												
	AMI	AMC	AMP	ATM	CIP	CTX	CFO	CAZ	CLO	GEN	IMP	TET	SUT
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i> (2)	S	I	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
<i>Citrobacter freundii</i> (3)	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Enterobacter agglomerans</i> (3)	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i> (4)	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
<i>Enterobacter asburiae</i> (5)	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i> (6)	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter amalonaticus</i> (7)	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter gergoviae</i> (8)	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ozaenae</i> (8)	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter</i> sp. (9)	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
<i>Enterobacter agglomerans</i> (10)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> (10)	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S
<i>Citrobacter freundii</i> (11)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i> (11)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S

<i>Escherichia coli</i> (11)	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ozaenae</i> (12)	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella ozaenae</i> (13)	S	S	R	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i> (13)	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> (13)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i> (14)	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> (14)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> (15)	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> (15)	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i> (16)	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter asburiae</i> (16)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Fonte: Autora, 2019.

AMC=Amoxicilina/Ácido Clavulânico; AMI=Amicacina; AMP=Ampicilina; ATB=Antimicrobiano; ATM=Aztreonam; CAZ=Ceftadizima; CFO=Cefoxitina; CIP=Ciprofloxacina; CLO=Cloranfenicol; CTX=Cefotaxima; GEN=Gentamicina; I=Intermediário; IMP=Imipenem; R=Resistente; S=Sensível; SUT=Sulfametoxazol/Trimetropim; TET=Tetraciclina.

Obs.: As bactérias acima foram isoladas em diferentes etapas da técnica, por este motivo, executou-se o perfil de suscetibilidade de forma individual para cada isolado.

Foram avaliados os perfis de suscetibilidade de um total de 28 bactérias, oriundas das 16 amostras de linguças do estudo, estas bactérias apresentaram uma taxa de 85% de sensibilidade frente aos antimicrobianos testados, sendo que apenas 2% das bactérias demonstraram sensibilidade intermediária e 13% resistência a algum antimicrobiano. Assim, obtiveram-se 364 halos, onde 311 (85%) halos apresentaram diâmetros na faixa considerada sensível, 7 (2%) halos com diâmetros na faixa de sensibilidade intermediária e 46 (13%) halos na faixa de resistência, conforme ilustra o Gráfico 1.

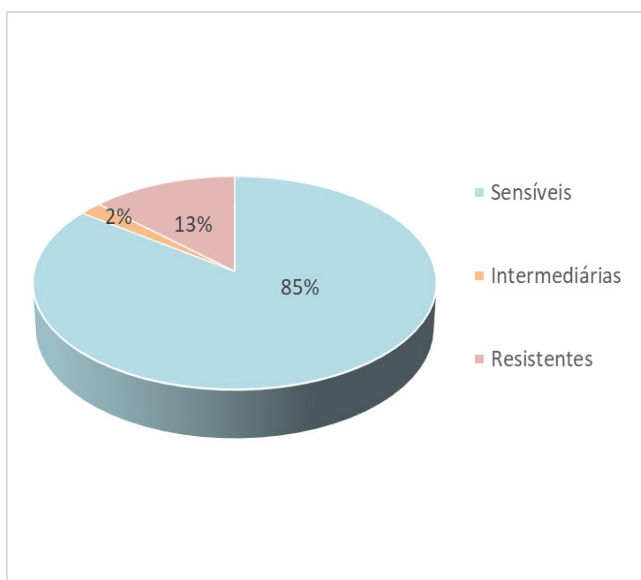


Gráfico 1. Porcentagens obtidas do perfil de suscetibilidade das 28 bactérias isoladas de 16 amostras de linguiça frente a todos os antimicrobianos testados.

Fonte: Autora, 2019.

DISCUSSÃO

No presente estudo verificou-se que 100% das amostras apresentaram valores dentro da faixa estipulada para CTe, sendo caracterizadas próprias para o consumo humano, bem como, não foi isolado SCP em nenhuma amostra. Já Adami em um estudo realizado no Vale do Taquari (RS) com amostras de linguiça, verificou que 54,5% destas amostras apresentavam valores de CTe acima do que preconiza a legislação⁴. Este também constatou que 36,4% das amostras estavam com valores acima dos permitidos para SCP⁹. Daguer e colaboradores, em um estudo realizado no Paraná, observaram que nenhuma das amostras de linguiça fresca apresentaram CTe acima dos limites determinados pela legislação, e não foi isolado SCP¹⁰.

Em relação à pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella*, esta não foi isolada em nenhuma amostra do total de 16 linguiças. Já Adami observou que 9,1% das amostras apresentaram contaminação por *Salmonella* spp.⁹. E Daguer e colaboradores também verificaram índices de 9,8% desta bactéria em linguiça fresca¹⁰.

Conforme a Tabela 3 pode-se observar que todas as bactérias apresentaram-se sensíveis frente aos seguintes antimicrobianos: Amicacina, Aztreonam, Ciprofloxacina, Cefotaxima, Ceftazidima, Gentamicina e Imipenem. Um total de 14 (50%) bactérias apresentou resistência ao antimicrobiano Ampicilina (classe dos Beta-lactâmicos), sendo o maior índice de resistência encontrado.

Segundo Cabral, em seu estudo realizado no Rio de Janeiro com 8 isolados de *Salmonella* spp. oriundos de linguiças, 4 cepas apresentaram-se resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos da classe dos Beta-lactâmicos

(Ampicilina, Amoxicilina com Ácido Clavulânico ou Cefalexina). A Ampicilina, Amoxicilina com Ácido Clavulânico e a Cefalexina apresentaram o maior número de isolados resistentes, dois para cada um deles¹¹. Já no presente estudo a resistência encontrada para o antimicrobiano Amoxicilina com Ácido Clavulânico foi de 28,6%.

Dezenove (67,9%) bactérias deste estudo revelaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado. E cerca de 21,4% (6) não apresentou nenhuma resistência, sendo que destas *E. coli* (50%) foi a bactéria que apresentou a maior sensibilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A linguiça é um alimento muito apreciado e bem aceito na mesa dos brasileiros, principalmente nas regiões gaúchas. No entanto, apresenta diversos fatores intrínsecos que proporcionam o crescimento microbiano. Além do mais, a falta de higiene durante a manipulação, uma má qualidade das matérias primas utilizadas, estocagem e preparo inadequados do produto favorecem sua contaminação, o que constitui um risco à saúde da população consumidora.

A partir dos dados obtidos neste trabalho, percebe-se que há uma boa qualidade microbiológica nas linguiças analisadas, e que a maioria das bactérias isoladas foi sensível aos vários antimicrobianos testados. Isso reflete a importância da análise microbiológica das linguiças e de um acompanhamento constante para manter essa boa qualidade, a fim de prevenir diversas doenças decorrentes de infecções alimentares.

Devido aos fatos apresentados, faz-se necessário sempre um controle do processo de fabricação, manipulação, armazenamento e preparo deste embutido, para minimizar assim as chances de contaminação. Essa prevenção causa um impacto positivo na saúde pública do estado, minimizando os possíveis gastos com o tratamento de um paciente com infecção alimentar. Sendo assim, é possível afirmar que o melhor tratamento sempre será a prevenção.

REFERÊNCIAS

1. Ávila ARA DE. Sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de linguiça suína frescal. Lavras. Dissertação [Mestrado em Ciência dos Alimentos] - Universidade Federal de Lavras; 2011.
2. Barros MAF, Nero LA, Monteiro AA, Beloti V. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. *Ciênc Tecnol Aliment* 2007 Oct/Dec;27(4):856-62.
3. Ministério da Saúde. Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas

por Alimentos. Brasília, DF: Editora do Ministério da Saúde; 2010.

4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União 10 jan 2001;Seção 1.
5. APHA. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of the water and wastewater, 21th ed; 2005.
6. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS dos, Gomes RAR. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela; 2010.
7. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. 3. ed. São Paulo: Sarvier; 2010.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100. 28th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
9. Adami FS. Teor de nitrato e nitrito e análise microbiológica em linguiças e queijos. Lajeado. Tese [Doutorado em Ciência e Desenvolvimento] – Centro Universitário UNIVATES; 2015.
10. Daguer H, Silva HD, Higashiyama ET, Zanette CM, Bersot LS. Qualidade de produtos cárneos fabricados sob inspeção federal no estado do Paraná. Ciênc Anim Bras 2011 Abr/Jun;12(2):359-64.
11. Cabral CC. Avaliação da contaminação por Salmonella spp. em linguiças frescas comercializadas em duas cidades do estado do Rio de Janeiro - Brasil: análise do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Ciências] – Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2013.