

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE RESISTÊNCIA BACTERIANA EM EMBUTIDOS CÁRNEOS FERMENTADOS PRODUZIDOS EM FRANCISCO BELTRÃO, PARANÁ

Katiana Henning¹, Kérley Braga Pereira Bento Casaril², Cláudia Braga Pereira Bento³, Caroline Giane de Carli⁴

RESUMO – O consumo de embutidos cárneos fermentados na região Sudoeste do Paraná, em especial, no município de Francisco Beltrão é bastante apreciado, principalmente, os conhecidos como linguiça/salame colonial. A realização da pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão-PR, bem como o perfil de resistência das bactérias isoladas desses produtos. Para tanto, 18 amostras foram submetidas às seguintes análises microbiológicas: contagem de coliformes totais, contagem de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Escherichia coli*, pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de *Staphylococcus* spp. e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva, bem como análises físico-químicas de pH, umidade, cinzas, proteínas e lipídeos e perfil de resistência bacteriana. Em relação aos parâmetros microbiológicos, 39% das amostras apresentaram contagens de coliformes totais > 1100 NMP. g⁻¹ e 28% apresentaram contagens de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação vigente. Do total de amostras analisadas, 39% apresentaram contaminação por *E. coli* e 61% por *Salmonella* spp. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva foi confirmada em 39% das amostras analisadas. Os resultados apresentados para os parâmetros físico-químicos demonstraram que houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre grande parte das amostras avaliadas, bem como para todos os parâmetros analisados. Foram obtidos 25 isolados contendo estirpes de *E. coli* (n=7), *S. aureus* (n=7) e *Salmonella* (n=11). Do total de microrganismos isolados 16% não apresentaram resistência a nenhum dos antimicrobianos testados, enquanto os demais (84%) apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados.

Palavras-chave: embutidos cárneos, padrão microbiológico, padrão físico-químico, resistência, salame, linguiça.

PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION AND BACTERIAL RESISTANCE PROFILE IN FERMENTED MEAT SAUSAGES PRODUCED IN FRANCISCO BELTRÃO, PARANÁ

ABSTRACT – Fermented meat sausages consumption in the Southwest region of Paraná, especially at Francisco Beltrão, is highly appreciated, especially those known as sausage/colonial salami. The purpose of the research was to evaluate the physicochemical and microbiological quality of fermented meat sausages produced in Francisco Beltrão – PR, as well as the resistance profile of the isolated bacteria from these products. For this purpose, 18 samples were submitted to the following microbiological analyzes: total coliforms count, thermotolerant coliform counts and *Escherichia coli* research, *Salmonella* spp. research, *Staphylococcus* spp. count and coagulase positive *Staphylococcus* research, as well as pH physicochemical analyzes, moisture, ashes, proteins and lipids and bacterial resistance profile. Regarding to the microbiological parameters, 39% of the samples had total coliform counts > 1.100 NMP.g⁻¹ and 28% presented counts of

¹ Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná.

E-mail: katianahenning@gmail.com

² Doutora em Ciência de Alimentos. Profª da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná. E-mail: kcasaril@gmail.com

³ Pós-doutora em Microbiologia Agrícola. Profª da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Unai, Minas Gerais.

E-mail: cbpbento@gmail.com

⁴ Mestre em Tecnologia de processos químicos e bioquímicos. E-mail: k.carli91@gmail.com



thermotolerant coliforms higher than allowed by the current legislation. Of the total samples analyzed, 39% presented contamination by E. coli and 61% by Salmonella spp. Coagulase positive Staphylococcus presence was confirmed in 39% of the samples analyzed. The results presented for the physicochemical parameters showed that there was a significant difference ($p > 0.05$) among a large part of the samples evaluated, as well as for all parameters analyzed. It was obtained 25 isolated samples containing E. coli ($n = 7$), S. aureus ($n = 7$) and Salmonella ($n = 11$). From the total of isolated microorganisms, 16% did not present resistance to any of the antimicrobials tested, while the others (84%) presented resistance to at least one of the antimicrobials tested. It was observed that most of the samples of fermented meat sausages analyzed in this study disagree with the Brazilian legislation in force regarding the microbiological parameters.

Keywords: meat sausages, microbiological standard, physicochemical pattern, bacterial resistance, salami, sausage.

INTRODUÇÃO

Os embutidos cárneos fermentados podem ser definidos como uma combinação de porções de carne, gordura, sal, agentes de cura e temperos, entre outros componentes, que são organizados em envoltórios, fermentados, secos e maturados em câmaras com temperatura e umidade controladas (Bernardi & Golineli, 2010).

Na região Sudoeste do Paraná, especialmente, no município de Francisco Beltrão os embutidos cárneos fermentados mais consumidos são as linguiças ou salames coloniais, pois possuem uma tecnologia de processamento simples e preço baixo. Muitas vezes a terminologia salame tipo colonial é utilizada referindo-se a linguiça colonial, pois não existe padrão de identidade que regulamenta o produto salame tipo colonial (De Ré, 2014).

Entende-se por linguiça colonial o produto cárneo industrializado, elaborado exclusivamente a partir de carnes suínas, adicionado de toucinho, ingredientes, moído em granulometria variável, embutido em envoltório natural, curado, que sofre um processo rápido de fermentação, defumado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação. Já salame é o produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina adicionado de toucinho e especiarias, posteriormente embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curtido, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado. O que os diferencia basicamente é o tipo de carne utilizada e a porcentagem de umidade (Brasil, 2000). Para Kaipera (2017) a linguiça colonial exibe uma vantagem em relação aos demais embutidos, pois é disponibilizada ao consumidor em pouco tempo após a sua produção, pois não necessita de tempo de maturação para o consumo.

A qualidade dos embutidos cárneos pode ser verificada através de análises físico-químicas e microbiológicas, as quais devem estar de acordo com

os padrões estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, Instrução Normativa Nº 22, de 31 de julho de 2000, que fixa os padrões de identidade para os produtos denominados de “Linguiça Colonial” e “Salame”, produzidos no Brasil (Brasil, 2000) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001 que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos. Para embutidos cárneos maturados como o salame/linguiça colonial, o máximo tolerado de coliformes termotolerantes/g é de 10^3 UFC, *Staphylococcus* coagulase positiva/g é de 5×10^3 UFC e ausência de *Salmonella* spp. em 25g de amostra (Brasil, 2001).

Os microrganismos possuem um papel fundamental quando se referem a alimentos, pois algumas espécies quando presentes em alimentos podem causar alterações benéficas. Também podem causar a chamada deterioração microbiana dos alimentos, alterando características do produto como, cor, odor, sabor, textura e aspecto. Outras espécies de microrganismos ou suas toxinas quando presentes nos alimentos podem causar danos à saúde do homem (Franco & Landgraf, 2002).

Muitos desses danos podem ser aumentados se os microrganismos apresentarem resistência aos antimicrobianos. A resistência bacteriana a antimicrobianos tornou-se um grave problema de saúde pública. Há evidências que o uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento de animais ou como estimulador de crescimento, tornem seus produtos e derivados, fonte para a resistência aos antimicrobianos utilizados em humanos (Mota et al., 2005; Cerqueira & Almeida, 2013).

Nesta perspectiva, verifica-se a importância do presente estudo, pois os padrões higiênicos-sanitários satisfatórios na alimentação são uma das condições essenciais para a manutenção e promoção da saúde. Além disso, o uso cauteloso de agentes antimicrobianos se faz necessário, pois está associado à resistência bacteriana, a

qual é um fenômeno crescente com implicações sociais e econômicas para a saúde pública. Assim sendo, objetivou-se avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e o perfil de resistência bacteriana de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão-PR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

As amostras de embutidos cárneos fermentados foram adquiridas no segmento varejista, do município de Francisco Beltrão, em três coletas distribuídas entre março a novembro de 2018. Foram analisados os produtos processados por seis pequenas agroindústrias familiares, totalizando 18 amostras denominadas de salame colonial (n=1), salame italiano (n=5) e linguiça colonial (n=12), oriundos do processo de produção artesanal que apresentavam embalagem individual com rotulagem geral, registrados pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM) do município, as quais representam 100% das agroindústrias com registro no SIM.

No momento da coleta das amostras, observou-se o período de fabricação delas a fim de que não houvesse variações significativas de tempo de produção. Com o objetivo de manter o sigilo das agroindústrias examinadas, as amostras foram codificadas representando-as por letras, sendo elas “A, B, C, D, E e F”.

As amostras foram acondicionadas em recipiente com isolamento térmico e encaminhadas aos Laboratórios de Bromatologia e Microbiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, campus de Francisco Beltrão – PR, onde permaneceram sob refrigeração até o momento das análises físico-químicas e microbiológicas.

Análises físico-químicas

As amostras foram homogeneizadas em multiprocessador de alimentos até formar uma amostra uniforme e em seguida, foram acondicionadas em frascos de vidro esterilizados, identificadas e mantidas em geladeira até a realização das análises.

As análises físico-químicas de umidade (método de secagem em estufa a 105 °C), pH, cinzas (forno mufla a 550 °C), proteínas (método de Kjeldhal) e lipídeos (método de Soxhlet) foram realizadas conforme a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (Zenebo, Pauet & Tiglea, 2008), em triplicata.

Os resultados foram analisados estatisticamente através de cálculo de média, desvio padrão, análise de variância e teste de *Tukey* com significância ao nível de 5% ($p < 0,05$) utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2011).

Análises microbiológicas

As amostras de embutidos cárneos fermentados produzidos e comercializados no município de Francisco Beltrão - Paraná foram submetidas às seguintes análises: contagem de coliformes totais, contagem de coliformes termotolerantes (45°C), pesquisa de *Escherichia coli*, pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de *Staphylococcus* spp. e pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva (Brasil, 2003). As análises foram realizadas seguindo-se as metodologias preconizadas por Silva et al. (2010) em duplicata.

Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA)

A partir de testes bioquímicos prévios, 25 isolados contendo estirpes de *E. coli* (n=7), *S. aureus* (n=7) e *Salmonella* (n=11) foram selecionados para a realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em ágar, segundo recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005). Foram preparadas suspensões recentes das bactérias isoladas das amostras pesquisadas. Suspendeu-se colônias em solução salina estéril 0,85% até obter-se uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala de MacFarland (1×10^6 UFC/ml). Cada suspensão foi inoculada com o auxílio de um *swab* na superfície de placas contendo Ágar Mueller Hinton (MH). Após a secagem da superfície do ágar adicionou-se asepticamente com o auxílio de uma pinça os discos de papel impregnados com antimicrobianos. As placas com os antimicrobianos foram incubadas em estufa bacteriológica a 36°C por 18 a 24 horas. Após esse período com auxílio de uma régua foram medidos os diâmetros dos halos inibitórios de cada disco.

Foram utilizados os seguintes discos impregnados de antimicrobianos para testar os isolados de *Salmonella* e *Escherichia coli*: ampicilina (10 µg), amicacina (30 µg), amoxicilina + clavulanato (20/10 µg), ceftazidima (30 µg), cefalotina (30 µg), cefepime (30 µg), cefoxitina (30 µg), cefuroxima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), meropenem (10 µg), sulfazotrim (23,75/1,25 µg). E os seguintes discos impregnados de antimicrobianos para testar os isolados de *S. aureus*: cefepime (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), cloranfenicol (30 µg), clindamicina



(2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina-G (10 un), rifampicina (5 µg), sulfazotrim (23,75/1,25 µg) tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg).

Foram utilizadas como controle de qualidade cepas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A leitura e a interpretação dos resultados foram realizadas de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se analisar as informações obtidas nos rótulos dos produtos cárneos fermentados produzidos e comercializados em Francisco Beltrão, observou-se que houve discordâncias quanto à denominação de venda de cada produto. A grande maioria (n=5) era denominado salame italiano e uma amostra (n=1) salame colonial. O serviço de inspeção do município de Francisco Beltrão realiza a fiscalização dos produtos de acordo com a Lei Municipal nº 4411 de 2016 (Francisco Beltrão, 2016), a qual baseia-se na IN nº 22 de 2000 (Brasil, 2000) e ambas não reconhecem a terminologia “Salame Tipo Colonial” como oficial.

Após a primeira etapa de análises, observou-se mudanças nos rótulos dos embutidos cárneos fermentados produzidos e comercializados em Francisco Beltrão. Realizou-se uma consulta ao Serviço de Inspeção Municipal (SIM) para que houvesse um entendimento sobre os motivos das mudanças. O SIM informou que após fiscalização de todos os produtos, seguidos de análises físico-químicas, todas as agroindústrias passaram a denominar seus produtos como Linguíça colonial e não mais como Salame colonial e Salame.

Análises físico-químicas

Os resultados encontrados para os parâmetros físico-químicos das amostras de produtos cárneos fermentados podem ser visualizados na Tabela 1. Para o parâmetro potencial hidrogeniônico (pH), as amostras apresentaram médias que variaram entre 4,88 e 5,72 (Tabela 1) respectivamente. Sipp, Marchi e Tonial (2017), avaliaram 15 amostras de linguíça colonial produzidas e comercializadas na microrregião do município de Itapejara do Oeste/PR, encontraram valores de pH que variaram entre 4,99 e 5,90, semelhantes ao observados neste estudo. De acordo com Lima (2009) o pH final irá depender de uma série de fatores como: quantidade de carboidratos disponível, tempo de fermentação, temperatura, umidade

relativa durante o processo, do tipo de açúcar utilizado na formulação e da técnica de fermentação.

Os teores de umidade dos embutidos cárneos fermentados avaliados variaram entre 43,58% e 64,09% (Tabela 1). Kaipers (2017) analisou cinco (5) formulações de linguíça colonial com redução de 30% de sódio desenvolvidas em indústria de conservas localizada em Francisco Beltrão-PR e obteve valores de umidade que variaram entre 26,69 e 62,23 em diferentes dias de estocagem. Thomé et al. (2014) averiguaram em cinco marcas denominadas salame tipo Italiano, valores de umidade que variaram de 29,92% a 38,97%. Em ambos os estudos foram observados valores de umidade bem menores do que no presente estudo.

Os resultados do parâmetro de resíduo mineral fixo (cinzas) das amostras de embutidos cárneos fermentados encontrados variaram entre 3,05% e 5,49%. Sipp, Marchi e Tonial (2017) obtiveram resultados semelhantes ao analisarem 15 amostras de linguíça colonial produzidas e comercializadas na microrregião do município de Itapejara do Oeste, PR, cujos valores de cinzas obtidos variaram entre 3,60% e 5,38%.

Os teores de proteínas para as amostras analisadas variaram entre 16,75% e 28,98% (Tabela 1). O regulamento técnico de identidade e qualidade de salame determina para proteínas a quantidade mínima de 20%, enquanto para linguíça colonial o valor mínimo de proteína indicado na legislação é de 18% (Brasil, 2000). Sendo assim, observou-se que 94% das amostras encontram-se com teor de proteínas em conformidade com a legislação, enquanto 6% das amostras apresentaram teor inferior ao recomendado. Resultados semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2011) ao avaliarem cinco (5) amostras de salames italianos coloniais produzidos na região Oeste do Paraná, observou-se que os teores de proteína variaram entre 19,76% e 28,52%.

Com relação aos teores de gorduras observou-se variação entre 3,14% e 15,29% nas amostras avaliadas (Tabela 1), valores que se encontram abaixo dos indicados pela legislação (máximo de 35% para salames e 30% para linguíças coloniais). Baixos teores de gordura também foram observados por D’Agostini, Campana e Degenhardt (2009) ao analisarem seis (6) amostras de embutidos produzidos no baixo Vale do Rio do Peixe, Santa Catarina observaram uma variação entre 12,02% e 23,50%. Kaipers (2017) ao analisar cinco (5) formulações de linguíça colonial com redução de 30% de sódio desenvolvidas em indústria de conservas localizada em Francisco Beltrão-PR obteve valores de lipídeos que variaram entre 19,76% e 25,63%, também abaixo do recomendado pela legislação vigente.

Tabela 1 - Análises físico-químicas das amostras de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão/PR.

Amostras	pH	Umidade	Cinzas	Proteínas	Lipídios
A	5,17± 0,00 ^e	61,98±0,22 ^c	4,04±0,08 ^{def}	23,51±0,60 ^c	3,81±0,87 ^g
B	4,98±0,01 ^{gh}	62,70±0,59 ^{bc}	3,83±0,51 ^{efg}	23,32±1,11 ^{cd}	3,14±0,20 ^g
C	5,35±0,01 ^c	54,99±0,26 ^h	4,00±0,11 ^{defg}	21,28±0,34 ^{efg}	12,93±0,80 ^{bc}
D	5,01±0,01 ^g	63,82±0,26 ^a	3,18±0,01 ^{hi}	16,75±1,34 ^h	12,69±1,03 ^c
E	4,94±0,01 ^{hi}	50,24±0,17 ⁱ	4,44±0,02 ^{cd}	21,57±0,61 ^{def}	15,29±1,28 ^a
F	5,72±0,06 ^a	45,18±0,14 ^l	4,91±0,02 ^{bc}	20,30±0,80 ^{fg}	12,24±0,86 ^c
A1	5,00±0,01 ^g	57,00±0,19 ^g	3,63±0,02 ^{fgh}	23,20±0,22 ^{cd}	5,73±0,27 ^f
B1	4,87±0,01 ^k	56,04±0,41 ^g	4,79±0,48 ^{bc}	28,98±0,30 ^a	7,84±0,16 ^e
C1	5,26±0,01 ^d	51,00±0,55 ^j	4,90±0,03 ^{bc}	27,87±0,44 ^a	9,86±0,26 ^d
D1	5,42±0,01 ^b	59,12±0,15 ^e	5,49±0,03 ^a	20,83±0,33 ^{fg}	14,95±0,78 ^a
E1	4,88±0,01 ^{jk}	60,17±0,30 ^d	3,05±0,16 ⁱ	19,88±0,28 ^{fg}	12,68±0,46 ^c
F1	5,33±0,01 ^c	47,18±0,25 ^k	3,61±0,02 ^{fgh}	20,85±0,49 ^{fg}	12,04±0,31 ^c
A2	5,10±0,01 ^f	58,04±0,45 ^f	3,28±0,04 ^{hi}	22,71±0,28 ^{cde}	8,40±0,34 ^{de}
B2	4,92±0,01 ^{ij}	52,38±0,26 ⁱ	5,13±0,03 ^{ab}	23,83±0,32 ^c	13,08±0,27 ^{bc}
C2	5,34±0,01 ^c	56,91±0,36 ^g	3,83±0,02 ^{efg}	25,68±0,28 ^b	9,70±0,49 ^d
D2	5,27±0,01 ^d	64,09±0,30 ^a	4,16±0,03 ^{de}	21,31±0,61 ^{efg}	13,58±0,34 ^{abc}
E2	4,90±0,01 ^{ijk}	63,31±0,30 ^{ab}	3,50±0,03 ^{ghi}	19,53±0,46 ^g	14,74±0,10 ^{ab}
F2	5,71±0,01 ^a	43,58±0,23 ^m	4,50±0,02 ^{cd}	20,72±0,22 ^{fg}	12,58±0,31 ^c
MG	5,18	55,98	4,13	22,34	10,85
CV	0,30	0,58	4,16	2,62	5,59

Valores médios seguidos do seu desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (MG) = Média Geral. (CV%) = Coeficiente de variação.

Fonte: Dados da Pesquisa (2018).

Os resultados verificados nas análises demonstraram que houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre grande parte das amostras avaliadas, bem como para todos os parâmetros analisados. Provavelmente isto tenha acontecido devido à falta de padronização durante o processamento das amostras.

Análises microbiológicas

Das amostras de embutidos cárneos fermentados ($n=18$) analisadas, todas (100%) apresentaram contagens de coliformes totais que variaram de 23 NMP.g⁻¹ a > 1.100 NMP.g⁻¹ e, destas, sete amostras (39%) apresentaram contagem de coliformes totais > 1.100 NMP.g⁻¹ (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Sipp, Marchi e Tonial (2017), os quais observaram que 100%

das amostras avaliadas apresentaram contaminação por coliformes totais, no entanto, todas as contagens estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Em pesquisa realizada por Magro e Klein (2006) ao avaliarem a qualidade microbiológica de 20 amostras de salames tipo colonial comercializados na cidade de Concórdia-SC, observaram que 19 (95%) amostras estavam contaminadas por coliformes totais, o que indica uma elevada contaminação.

As amostras de embutidos cárneos fermentados analisadas apresentaram contagens de coliformes termotolerantes variando entre < 3,0 e > 1.100 NMP.g⁻¹, sendo que uma (6%) amostra apresentou contagem de coliformes termotolerantes de 1.100 NMP.g⁻¹ e quatro (22%) apresentaram contagem de coliformes termotolerantes > 1.100 NMP.g⁻¹ (Tabela 2), ou seja, impróprias para o



consumo, pois os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira vigente (Brasil, 2001) para a contagem de

termotolerantes em produtos maturados é de no máximo $1,0 \times 10^3$ NMP. g⁻¹.

Tabela 2 - Número mais provável (NMP.g⁻¹) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e pesquisa de *E. coli* e de *Salmonella spp.* em amostras de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão-PR.

Amostras	Coliformes Totais (NMP.g ⁻¹)	Coliformes Termotolerantes (NMP.g ⁻¹)	Presença/Ausência de <i>E. coli</i>	Presença/Ausência de <i>Salmonella spp.</i>
A	>1.100	>1.100	Presença	Ausência
B	>1.100	>1.100	Presença	Presença
C	>1.100	640	Ausência	Ausência
D	1.100	430	Ausência	Presença
E	460	230	Ausência	Ausência
F	>1.100	>1.100	Presença	Presença
A1	>1.100	>1.100	Presença	Presença
B1	23	3,6	Presença	Presença
C1	23	<3,0	Ausência	Ausência
D1	210	<3,0	Ausência	Presença
E1	460	75	Ausência	Ausência
F1	460	23	Ausência	Ausência
A2	>1.100	1.100	Presença	Presença
B2	460	460	Presença	Presença
C2	23	3,6	Ausência	Presença
D2	460	11	Ausência	Presença
E2	>1.100	150	Ausência	Presença
F2	460	230	Ausência	Ausência

Fonte: Dados da Pesquisa, 2018.

Resultados semelhantes foram obtidos por Casaril et al. (2017) em 12 amostras de salame colonial analisadas, das quais duas (16,6%) apresentaram contagem de coliformes termotolerantes > 1.100 NMP.g⁻¹, ou seja, acima do permitido pela legislação. Em estudo realizado por Oliveira et al. (2014) ao avaliarem 30 amostras de salames coloniais fabricados artesanalmente em diferentes municípios do Sudoeste do Paraná, constataram que três (10%) amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação.

Gottardo et al. (2011) constataram que 18,3% das 60 amostras de embutidos cárneos fermentados artesanais, comercializados no varejo das cidades de Cascavel, Palotina, Toledo e Marechal Cândido Rondon, na região

Oeste do estado do Paraná, apresentaram contagens de coliformes a 45°C acima do padrão da legislação brasileira.

Do total de amostras analisadas neste estudo, 39% (sete) estavam contaminadas por *E. coli* e 61% (onze) por *Salmonella spp.* (Tabela 2). Em estudo realizado por Farth e Lima (2018) ao analisarem 11 amostras de salame colonial comercializadas em feiras livres do município de Toledo-PR confirmaram a presença de *E. coli* em cinco (45,45%) amostras. Casaril et al. (2017) ao avaliarem 12 amostras de salame tipo colonial produzidos e comercializados na região Sudoeste do Paraná, observaram que duas (16,6%) amostras apresentaram resultado positivo para *Escherichia coli*.

Sipp; Marchi e Tonial (2017) ao pesquisarem 15 amostras de linguiça colonial produzidas e comercializadas na microrregião do município de Itapejara do Oeste, PR verificaram que 100% das amostras não indicaram a presença de *Salmonella* spp., portanto, de acordo com o que indica a legislação. Oliveira et al. (2014) constataram a presença de *Salmonella* spp. em cinco (16,6%) das 30 amostras analisadas de salame colonial produzidos artesanalmente em diferentes municípios do sudoeste paranaense. Não existem padrões estabelecidos pela legislação brasileira para contagem de *E. coli*, porém a Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001 estabelece ausência de *Salmonella* spp. em 25g de amostra (Brasil,2001).

Das amostras analisadas 89% (n=16) estavam contaminadas por *Staphylococcus* spp. e as contagens variaram de $< 1,0 \times 10^1$ a $1,5 \times 10^6$ UFC/g. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva foi confirmada em 39% (n=7) (Tabela 3) das amostras analisadas, das quais 71% (n=5) apresentaram contagem acima do máximo permitido pela legislação vigente, portanto, consideradas impróprias para o consumo.

A legislação brasileira vigente não estabelece padrões para contagem de *Staphylococcus* spp. em embutidos cárneos fermentados, no entanto, o limite máximo permitido para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva é $5,0 \times 10^3$ UFC/g (Brasil, 2001).

Tabela 3 - Contagem de *Staphylococcus* spp. e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão-PR

Produtos	Contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. (UFC. g ⁻¹)	Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC. g ⁻¹)
A	0	Negativo
B	$2,5 \times 10^2$	Positivo
C	$8,7 \times 10^3$	Positivo
D	$< 1,0 \times 10^1$	Negativo
E	0	Negativo
F	$< 1,0 \times 10^1$	Negativo
A1	$3,0 \times 10^5$	Negativo
B1	$3,8 \times 10^3$	Positivo
C1	$1,2 \times 10^6$	Positivo
D1	$1,1 \times 10^5$	Negativo
E1	$4,0 \times 10^3$	Negativo
F1	$< 1,0 \times 10^1$	Negativo
A2	$3,3 \times 10^5$	Negativo
B2	$8,0 \times 10^5$	Positivo
C2	$1,5 \times 10^6$	Positivo
D2	$1,3 \times 10^5$	Negativo
E2	$8,7 \times 10^4$	Positivo
F2	$< 1,0 \times 10^1$	Negativo

Fonte: Dados da Pesquisa, 2018.

Em estudo realizado por Gottardo et al. (2011) ao analisarem 60 amostras de embutidos cárneos fermentados artesanais, comercializados no varejo das cidades de Cascavel, Palotina, Toledo e Marechal Cândido Rondon, na região Oeste do estado do Paraná observaram que 16,7% das amostras confirmaram a presença de *Staphylococcus*

coagulase positiva, o que pode indicar que as condições gerais de higiene e manipulação desses produtos não foram satisfatórias.

Os perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos das 25 cepas bacterianas isoladas foram demonstrados no



quadro 1. Do total de microrganismos isolados quatro (16%) não apresentaram resistência a nenhum dos antimicrobianos testados, enquanto os demais 21 (84%) apresentaram

resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados. Todos os isolados foram sensíveis a cefepime, ciprofloxacino e gentamicina (Quadro 1).

Quadro 1 - Perfil de resistência aos antimicrobianos testados em isolados de *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva provenientes de amostras de embutidos cárneos fermentados produzidos no município de Francisco Beltrão-Paraná.

<i>Salmonella</i> spp.	AMP	AMI	CAZ	CFL	CPM	CFO	CRX	CIP	GEN	MER	SUT	AMC
Isolado 1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 2	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R	R
Isolado 3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 4	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R
Isolado 5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 6	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R
Isolado 7	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 8	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
Isolado 9	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 10	I	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	I
Isolado 11	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R
<i>Escherichia coli</i>	AMP	AMI	CAZ	CFL	CPM	CFO	CRX	CIP	GEN	MER	SUT	AMC
Isolado 1	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 3	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Isolado 5	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 6	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 7	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	CPM	CIP	CLO	CLI	ERI	GEN	OXA	PEN	RIF	SUT	TET	VAN
Isolado 1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Isolado 2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Isolado 4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Isolado 5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Isolado 6	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
Isolado 7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S

R = Resistência; I = indeterminado; S= Sensibilidade. AMC= amoxicilina + clavulanato; CAZ= ceftazidima; AMI= amicacina; AMP= ampicilina; SUT= sulfazotrim; GEN= gentamicina; CIP= ciprofloxacino; MER= meropenem; CPM= cefepime; CFL= cefalotina; CRX= cefuroxima; CFO= cefoxitina; VAN= vancomicina; RIF= rifampicina; TET= tetraciclina; OXA= oxacilina; CLI= clindamicina; CLO= cloranfenicol; ERI= eritromicina; PEN= penicilina.

Os isolados de *Salmonella* demonstraram os maiores índices de resistência, 10 (91%) amostras apresentaram resistência a pelo menos um tipo de antimicrobiano, observou-se resistência a seis drogas, amoxicilina + clavulanato (45%), ampicilina (64%), cefalotina (45%), ceftioxina (55%), cefuroxima (9%), e sulfazotrim (36%). Miranda (2013) observou que do total das cepas resistentes, 33% dos isolados de alimentos apresentaram resistência múltipla, revelando um problema significativo para a saúde pública. Existem poucos estudos sobre o perfil de sensibilidade de isolados de *Salmonella* spp. de amostras de embutidos cárneos fermentados (salames e/ou linguças coloniais).

Dos sete isolados de *Escherichia coli*, quatro (57%) foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano testado, observou-se resistência frente a ampicilina em 100%, cefalotina (14%) e sulfazotrim (29%), enquanto duas cepas apresentaram resultados intermediário frente a cefalotina (29%). Os resultados encontrados neste trabalho diferem dos descritos por Melo (2010) onde das 36 cepas de *E. coli* isoladas de alimentos, 23 (64%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos, duas (5%) apresentaram sensibilidade intermediária e 11 (31%) demonstraram resistência, o padrão de resistência maior foi frente a tetraciclina com nove (82%) das 11 cepas resistentes testadas.

Dos isolados de *Staphylococcus aureus*, 100% deles apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados, observou-se índices de resistência, em apenas dois antimicrobianos, frente a sulfazotrim (71%) e tetraciclina (29%). Kuchenbecker, Ribeiro e Cardoso (2009) avaliaram 245 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de produtos de origem animal analisados pelo Serviço de Inspeção Federal do Brasil, onde a maioria dos isolados (64,1%) demonstrou resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados, concordando com a observação de que a presença de genes de resistência em *S. aureus* não é mais um fenômeno restrito ao ambiente hospitalar.

Embora em alimentos fermentados haja baixa incidência de isolados resistentes, é importante salientar o possível risco destes microrganismos atuarem como reservatórios de determinantes de resistência a antimicrobianos com a possibilidade de transmissão para comensais e patógenos humanos (Martin et al., 2006).

CONCLUSÕES

A maioria das amostras atendeu à legislação quanto às variáveis físico-químicas e destacou-se pelo baixo teor de gorduras e por um valor de proteínas adequado.

A presença de coliformes termotolerantes e *E. coli* em alimentos pode ser um indicativo de contaminação fecal o que evidenciou más condições de higiene na manipulação e preparo deles.

Samonella spp. foi o microrganismo de maior ocorrência nas amostras estando presente em 11 das 18 amostras analisadas. Tais resultados caracterizam esses 11 alimentos como impróprio para o consumo humano, pois a legislação determina ausência de *Salmonella* em 25g de alimento. Observou-se também amostras contaminadas com *S. aureus*, algumas com contagens acima do permitido pela legislação.

Sugere-se à adoção de medidas preventivas, de controle e implantação de Boas Práticas de Fabricação, além de uma fiscalização mais eficiente nas agroindústrias produtoras de embutidos. Em relação ao teste de sensibilidade a antimicrobianos a maioria dos microrganismos isolados apresentou resistência a pelo menos um antimicrobiano testado e o alto índice de isolados resistentes aumenta a preocupação em relação ao uso indiscriminado de antimicrobianos.

LITERATURA CITADA

- BERNARDI, S.; GOLINELI, B.B. Review: Aspects of the application of starter cultures in fermented meat sausage production. *Braz. J. Food. Technol.* 2010; 13 (2): 133-140.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 22 de 31 de julho de 2000*. Anexo V. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame. Anexo XIV. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguça Colonial. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 3 ago. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, *Resolução nº 12 de 2 de janeiro de 2001*. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília 10 jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003*. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 set. 2003.
- CASARIL, K.B.P.B.; BENTO, C.B.P.; HENNING, K. et al. Microbiological quality of salami and cheeses colonial produced and marketed in the southwest of Paraná. *Rev. Bras. Agropecu. Sustent.* 2017; 7(2): 75-85.



- CERQUEIRA, E.S.; ALMEIDA, R.C.C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin: A systematic review. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2013; 72(4): 268-81.
- CLSI, Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 8th ed. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2005. 58p.
- D'AGOSTINI, F.P.; CAMPANA, P.; DEGENHARDT, R. Quality and identity of fermented Salami-type Sausages produced in the low Vale of Rio do Peixe, Santa Catarina-Brazil. *E-tech: Tecnol. Comp. Industrial*. 2009; 2(2): 1-13.
- DE RÉ A. *Tradition x microbiological safety of salami colonial type of the municipality of Bento Gonçalves/RS*. (Monografia). Porto Alegre: Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2014.
- FARTH, J.C.; LIMA, V.Y. Microbiological evaluation of colonial salamis marketed at Toledo fairgrounds. *Hig. Aliment*. 2018; 32(276/277): 74-79.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FRANCISCO BELTRÃO. *Lei Municipal nº 4.411, de 5 de julho de 2016*. Estabelece novas regras do Serviço de Inspeção Municipal de Francisco Beltrão (SIM). Diário oficial dos Municípios do Sudoeste do Paraná. 07 jul 2016.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo, Atheneu; 2002. 182 p.
- GOTTARDO, E.T.; VIANA, C.; BARCELLOS, V.C. et al. Fermented meat sausages as vehicles of pathogenic microorganisms of public health importance. *B. CEPPA*. 2011; 29(1): 97-102.
- KAIPERS, K.F.C. *Effect of rosemary extract (Rosmarinus officinalis) as antioxidant in colonial sausage*. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos). Londrina, PR: UTFPR, 2017. 87p.
- KUCHENBECKER, B.S.; RIBEIRO, A.R.; CARDOSO, M. Resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates obtained from animal products analyzed by the Brazilian Federal Inspection Service. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2009; 37(2): 143-149.
- LIMA, I. A. *Preparation and characterization of lamb Saint Inês salame*. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Itapeninga, BA: UESB, 2009. 76p.
- MAGRO, G.R.; KLEIN, C.S. Microbiological quality of colonial-type salami marketed in the city of Concórdia-SC: analysis of Salmonella, total coliforms and thermotolerant. Embrapa Suínos e Aves. In: *Comunicado Técnico. Concórdia*, Santa Catarina. 2006.
- MARTIN, B.; GARRIBA, M.; HUGAS, M. et al. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase positive cocci from slightly fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol*. 2006; 107: 148-158.
- MELO, D.B. *Clonal pattern and antimicrobial susceptibility profile of strains of Escherichia coli isolated from food and clinical specimens*. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Salvador, BA: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, 2010. 81p.
- MIRANDA, A.L. *Profile of antimicrobial susceptibility and epidemiological relationship of Salmonella spp. from food and clinical specimens*. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Salvador, BA: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia; 2013.
- MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L. et al. The abuse of antimicrobials drugs and the appearance of resistance. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2005; 42 (6): 465-470.
- OLIVEIRA, D.F.; BRAGHINI, F.; SILVEIRA JÚNIOR, J.F.S. et al. Conditions sanitary and nutritional quality of handmad salami and industrialized: a comparison. *Arq. Cienc. Saúde UNIPAR*. 2014; 18(3): 151-156.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4 ed. São Paulo, Varela; 2010. 624p.
- SILVA, C.; SAVARIZ, F.C.; FOLLMANN, H.M. et al. Physical-chemical analysis of colonial Italian type salami commercialized in Toledo, Paraná state. *Acta Sci. Technol*. 2011; 33(3): 331-336.
- SIPP, M.D.; MARCHI, J.F.; TONIAL, I.B. Chemical, Physicochemical characteristics and microbiological quality of colonial salami produced and commercialized in the micro region of Itapejarad'Oeste – PR. *Braz J of Food Research*. 2017; 8(1): 142-155.
- THOMÉ, B.R.; PEREIRA, M.G.; TOGNON, F.A.B. et al. Physico-chemical and microbiological evaluation of Italian type salami. In: *Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química-COBEQ*. 19 a 22 de outubro de 2014; Florianópolis; Santa Catarina.
- ZENEBO, O.; PASUET, N.S.; TIGLEA, P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4 ed. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020 p.

Recebido para publicação em 03/07/2021, aprovado em 13/11/2021 e publicado em 31/12/2021.