

Qualidade Microbiológica de Filés de Peixe Congelados Distribuídos na Cidade de Botucatu - SP

Microbiological Quality of Frozen Fish Fillets Distributed in Botucatu City – São Paulo

Vanessa Mendonça Soares^{a*}; Juliano Gonçalves Pereira^a; Thiago Braga Izidoro^a; Otávio Augusto Martins^a;
José Paes de Almeida Nogueira Pinto^a; Germano Francisco Biondi^a

^a Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, SP, Brasil

*E-mail: vanessamsouares@gmail.com

Recebido: 02 de Fevereiro de 2011. Aceito: 28 de março de 2011.

Resumo

O pescado é um alimento de alta qualidade nutricional e muito importante na dieta alimentar do homem, porém é muito suscetível à deterioração microbiana. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de 50 amostras de pescado congelado distribuídas na região Botucatu-SP, através das contagens dos seguintes grupos de micro-organismos: aeróbios mesófilos, aeróbios psicrotróficos, coliformes a 35 °C e a 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, bem como a pesquisa de *Salmonella* spp. Com base nos resultados verificou-se que 100% das amostras estavam dentro dos padrões exigidos pela ANVISA, no que se refere à quantificação e pesquisa dos grupos bacterianos patogênicos; sendo, portanto, comercializados em condições sanitárias satisfatórias. Entretanto, em algumas amostras foram aferidas altas contagens de bactérias mesofílicas e psicrotróficas, indicando a possibilidade de rápida deterioração do alimento.

Palavras-chave: Coliformes. Microbiologia de Alimentos. *Salmonella*. *Staphylococcus*.

Abstract

Fish is a high nutritional quality food and very important for the human diet, but it is very susceptible to microbial deterioration. This study aimed to evaluate the microbiological quality of 50 samples of frozen fish distributed over the Botucatu-SP, through the counts of the following groups of microorganisms: mesophilic and psychrotrophic aerobics, coliforms at 35 °C and 45 °C, Staphylococcus coagulase-positive, and Salmonella spp. Based on the results, it was shown that 100% of the samples were within the standards required by ANVISA, regarding the quantification and investigation of pathogenic bacterial groups, and is therefore sold in satisfactory sanitary conditions. However, in some samples there was a high number of psychrotrophic and mesophilic bacteria, indicating the possibility of rapid deterioration.

Key words: Coliforms. Food Microbiology. *Salmonella*. *Staphylococcus*.

1 Introdução

O pescado desempenha, em muitos países, importante papel como gerador de recursos, estando o Brasil também inserido neste contexto. Como exemplo desta relevância, em 2009, a produção brasileira referente às atividades de pesca e aquicultura foi de aproximadamente 1,25 milhões de toneladas¹ e a expectativa é que pode situar-se em torno de 1,7 milhões nos próximos anos. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO, até 2030 o país poderá chegar a produção anual de aproximadamente 20 milhões de toneladas, assumindo importância no provimento de pescado mundial².

O consumidor brasileiro segue a tendência mundial de consumo de alimentos mais saudáveis. Deste modo, o pescado assume destaque pelo seu alto valor proteico e baixo teor de gordura, sugerindo tendência de aumento do consumo interno. É um alimento rico em proteínas de alto valor biológico com adequado balanceamento de aminoácidos essenciais, possui ácidos graxos poli-insaturados Omega 3 que atuam no organismo diminuindo os triglicerídeos e o colesterol do

sangue, prevenindo doenças cardiovasculares. Além disso, o pescado é fonte de minerais e vitaminas e apresenta a vantagem, em relação a outros alimentos cárneos, pois possui alta digestibilidade³⁻⁵.

Ressalta-se, entretanto, que o pescado geralmente chega ao consumidor com carga microbiana elevada, composta por micro-organismos tanto deteriorantes como patogênicos⁶. Assim, apesar de inúmeras vantagens o pescado é um alimento altamente perecível, exigindo cuidados com seu manuseio e processamento, desde a captura até a chegada na mesa do consumidor. Isto porque, a sua carne deteriora-se facilmente por autólise, atividades microbianas e/ ou oxidação, devido suas características fisiológicas e composição química⁷.

Procedimentos inadequados em qualquer fase de produção do pescado podem propiciar a contaminação da carne, como por exemplo:

- O desembarque, no qual a manipulação realizada de forma incorreta pode propiciar a ruptura da cavidade abdominal ou exposição por longo tempo à temperatura ambiente;

- A filetagem, na qual o manuseio se faz com utensílios contaminados e em mesas não higienizadas;
- Os próprios manipuladores, que entram em contato direto com o pescado usando roupas e instrumentos inadequados;
- O transporte sem nenhum cuidado com a manutenção da temperatura; e
- A falta de refrigeração nos pontos de comercialização, que acelera os processos de deterioração do pescado⁸.

Logo, as características microbiológicas do pescado ao ser adquirido pelo consumidor refletem as condições higiênicas e sanitárias de todo o seu processamento⁹.

Visando garantir a saúde e o bem-estar do consumidor, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de amostras de filés de peixe congelados distribuídos na região de Botucatu-SP, a fim de conhecer as condições com que estes produtos chegam à mesa do consumidor e os riscos aos quais estes estão sujeitos.

2 Material e Métodos

2.1 Coleta e preparo das amostras

Foram analisadas 50 amostras de filés de peixe congelados de diversas marcas comercializadas no município de Botucatu – SP. Logo após a coleta, as amostras foram acondicionadas em recipientes isotérmicos e enviadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu para o início das análises microbiológicas.

A metodologia de pesagem e diluição seguiu o preconizado pela Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹⁰.

2.2 Análises microbiológicas

Após o preparo e diluição das amostras, foi realizada a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis; de micro-organismos psicrotróficos; de coliformes a 35 °C e a 45 °C; e de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella*. Toda a metodologia das análises seguiu o preconizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹⁰, conforme descrito a seguir:

2.2.1 Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

A partir das diluições, transferiu-se 1 mL para placas de Petri estéreis, adicionando 15 mL de ágar padrão para contagem (PCA), previamente fundido e mantido aquecido a 45-50 °C. As placas foram homogeneizadas e incubadas a 36 °C por 48 horas. Após esse período, realizou-se a contagem das colônias. O número de colônias contadas foi multiplicado pelo fator de diluição correspondente, e o resultado obtido foi expresso em unidades formadoras de colônia por g (UFC/g).

2.2.2 Contagem de micro-organismos psicrotróficos

A partir das diluições obtidas, foi realizada a contagem de psicrotróficos pela técnica de semeadura em superfície *spread plate*, adicionando 0,1 mL das diluições em placas de Petri previamente preparadas com PCA. As placas foram incubadas a 7 °C/10 dias.

2.2.3 Contagem de coliformes a 35 °C e 45 °C

Em placas de Petri previamente esterilizadas, foi semeado 1 mL das diluições e adicionado aproximadamente 15 mL de ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA), previamente fundido. As placas foram incubadas a 36 °C/48 horas. Após a contagem das colônias, foi realizada a prova confirmativa para coliformes a 35 °C e 45 °C, utilizando-se para isto, tubos contendo os caldos verde brilhante bile 2% lactose (incubados a 35 °C/48 horas) e EC (incubados a 45 °C/48 horas), respectivamente. A presença de coliformes a 35 °C e 45 °C foi confirmada observando-se a formação de gás dentro do tubo de Durham. Respeitando as diluições, contagens e confirmação, o resultado de foi expresso em UFC de coliformes a 35 °C e 45 °C/g.

2.2.4 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Aliquotas de 0,1 mL das diluições foram semeadas na pelo método *spread plate* em placas contendo ágar *Baird-Parker* (BP) e incubadas a 35 °C/48 horas. As placas com colônias típicas e atípicas foram contadas e de cada placa foram selecionadas em média três a cinco, sendo elas transferidas para tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI). Estes tubos foram incubados a 35 °C/24 horas para a realização da prova da coagulase. Após o período de incubação e turvação dos caldos, 0,3 mL foram transferidas para tubos contendo 0,3 mL de plasma de coelho com EDTA reidratado, sendo a incubação realizada em temperatura de 35 °C. A reação da coagulase foi considerada positiva quando os tubos apresentaram formação de um coágulo firme após 6 horas de incubação. O resultado foi expresso em UFC/g obedecendo às diluições e proporções de colônias positivas para a prova da coagulase.

2.2.5 Pesquisa de *Salmonella* spp

Após a pesagem de 25 g de amostra em sacos estéreis, foram adicionados 225 mL de água peptonada tamponada a 1% (APT), homogeneizados por 2 minutos em *stomacher* e incubados a 35 °C/24 horas. Da mistura pré-enriquecida, foram transferidos 0,1 mL e 1 mL para tubos contendo 10 mL do caldo *Rappaport-Vassiliadis* (RV) e 10 mL de caldo *Tetrathionato* (TT), respectivamente. Os caldos RV e TT foram incubados por 24 horas a 42 °C, ambos em banho-maria. A partir dos caldos de enriquecimento seletivo, foram realizadas estrias em placas com ágar Sulfito de Bismuto (BS) e ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD) sendo as mesmas incubadas a 35 °C/24 horas. A partir das placas que apresentaram crescimento

de colônias típicas, testes bioquímicos e sorológicos foram realizados para a confirmação da presença de *Salmonella* spp.

3 Resultados e Discussão

Apesar da legislação brasileira¹¹ não possuir padrões para este tipo de produto, no que se refere a mesófilos, psicrotróficos, coliformes 35 °C e coliformes 45 °C, tais análises foram realizadas, pois a presença desses micro-organismos indica as condições higiênico-sanitárias do pescado.

De acordo com a tabela 1, para as contagens de mesófilos, as amostras obtiveram resultados de 0 a 9,0 log UFC/g, enquanto que as de psicrotróficos foram de 0 a 9,1 log UFC/g. Segundo Pacheco *et al.*¹², contagens bacterianas mesófilas e psicrotróficas elevadas são indicativo de contaminação durante a captura e beneficiamento podendo indicar condições relacionadas ao frescor, levando a alterações organolépticas. Quando estas alterações são detectadas no alimento, este, em geral, apresenta contagem superior a 6 log UFC/g.

Tabela 1: Contagem média ± desvio padrão, mínima e máxima em log UFC/g obtidos das análises de filés de peixes congelados (n=50)

Micro-organismos	Média ± Desvio padrão	Mínima	Máxima
Mesófilos	4,2 ± 1,7	0	9,0
Psicrotróficos	4,5 ± 1,7	0	9,1
Coliformes a 35 °C	0,6 ± 1,1	0	5,2
Coliformes a 45 °C	0,1 ± 0,4	0	1,9
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	< 2,0*	-	-

* Todas as amostras com contagem abaixo do limite de detecção da técnica (<10² UFC/g)

Sabe-se que quanto mais alta esta contagem, mais rápida é a sua deterioração e menor será sua vida de prateleira^{7,13}. Assim, a observação de 6 amostras com resultados superiores a 6 log UFC/g para micro-organismos mesófilos e psicrotróficos indicam a baixa qualidade destes produtos estando em desacordo com a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMS), que preconiza o limite de de 5 log UFC/g, como indicativo de boa qualidade e de 6 log UFC/g, como qualidade aceitável¹⁴. Em pesquisa semelhante, Aquino *et al.*¹⁵ concluíram que a alta porcentagem de amostras de pescado congelado apresentando contagens acima de 6 log UFC/g para mesófilos e psicrotróficos foi devido a condições higiênicas deficientes nas etapas de processamento, empacotamento e estocagem dos produtos.

Quanto aos coliformes a 35 °C, as contagens variaram de 0 a 5,2 log UFC/g e para os coliformes a 45 °C os resultados: mínimo e máximo foram de 0 a 1,9 log UFC/g.

A detecção de micro-organismos indicadores de contaminação fecal ou bactérias do grupo coliformes a

45 °C, em especial *E. coli*, indicam que os peixes foram provavelmente capturados em ambientes com elevados índices de contaminação bacteriana¹⁶. Outra hipótese cabível, é que o pescado tenha sido manipulado e/ou processado em condições higiênicas inadequadas que implicaram o grau de contaminação descrito na tabela 1. Como os coliformes a 45 °C têm pouca tolerância à toxidez das águas do mar, sua detecção nesse ambiente denota uma descarga de material fecal constante¹⁷.

Peixes recém-capturados refletem o ambiente terrestre próximo aos ambientes hídricos e as condições microbiológicas do local de captura, assim como a qualidade sanitária da água. Desta forma, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos, fezes e sujidades em geral, albergam micro-organismos patogênicos e indicadores de poluição fecal como *E. coli*, *Salmonella* sp. e *Vibrio*^{18,19}.

Com relação à *Staphylococcus* coagulase positiva, das 50 amostras avaliadas foi verificado que todas foram negativas (< 2 log UFC/g) e, portanto, dentro dos padrões estabelecidos (máximo de 3 log UFC/g)¹¹. Esse resultado está de acordo com os dados relatados por Simões *et al.*²⁰, embora seja destoante de grande parte dos estudos microbiológicos, que indicam relevantes contagens de *S. aureus* em pescado fresco e congelado provenientes da indústria e comércio. Aquino *et al.*¹⁵, por exemplo, descreve valores de até 5,7 x 10⁴ UFC/g¹⁵. Já no estudo de Hoffman *et al.*²¹ foi reportado que 100% das amostras estavam em desacordo com a legislação, com contagens de *S. aureus* acima de 3 log UFC/g, sendo que o mesmo grupo de pesquisadores descrevem situação similar em experimento posterior²². Uma explicação cabível para estes dados reportados pelo presente trabalho reside no fato de que os *Staphylococcus* não são considerados bons competidores frente a outras bactérias e, por essa razão, raramente causam intoxicação quando presentes em alimentos crus, nos quais as bactérias originais, mais adaptadas ao substrato, não tenham sido destruídas²³.

Para *Salmonella* spp. nenhuma amostra mostrou-se positiva, atendendo ao padrão de ausência em 25 g estabelecido pela legislação¹¹, resultado este diferente de outros estudos que acusaram a presença de *Salmonella* spp. em amostras de pescado, caracterizando-as assim como impróprias para o consumo^{6,12,24,25}. É relevante destacar-se que *Salmonella* não é um gênero bacteriano reconhecido como parte da microbiota normal em ambientes aquáticos, ainda que haja evidências de que certos sorotipos podem fazer parte da microbiota endógena em ambientes aquáticos tropicais²³.

A discrepância observada entre os dados que aferiam os parâmetros higiênicos em relação aos parâmetros sanitários, também denota que embora os manipuladores da cadeia produtiva não tenham sido fontes de infecção dos patógenos pesquisados, podem ter ocorrido falhas operacionais, especialmente na etapa de descamação e evisceração, que sabidamente são os principais pontos do fluxograma de obtenção do pescado que expõem a carne à contaminação bacteriana²⁶.

4 Conclusão

Os resultados permitem concluir que os peixes analisados estão em condições sanitárias satisfatórias de acordo com os padrões recomendados pela ANVISA. Entretanto, altas contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos e/ou psicotróficos revelam, ao menos pontualmente, qualidade higiênica insatisfatória, com possíveis reflexos na vida de prateleira do produto e nas suas qualidades sensoriais, penalizando o consumidor que venha adquiri-la.

Sendo assim, é importante controle contínuo tanto da Vigilância Sanitária como da Inspeção Sanitária para que o consumidor venha a adquirir um alimento com adequada qualidade higiênico-sanitário.

Referências

1. Brasil. Ministério da Pesca e Aquicultura. Produção pesqueira e aquícola. Estatística 2008 e 2009. [acesso em 22 fev 2011]. Disponível em <http://www.mpa.gov.br/#info-estatistica/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>.
2. FAO. Fisheries Department. State of World aquaculture, 2006. FAP Fisheries Technical Paper. Rome: FAO; 2006.
3. Ogawa M, Maia EL. Manual de pesca. São Paulo: Varela; 1999.
4. Agnese AP, Oliveira VM, Silva PPO, Oliveira GA. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica-RJ. Hig Aliment 2001;15(88):67-9.
5. Stevanato FB, Petenucci ME, Matsushita M, Mesomo MC, Souza NE, Visentainer J *et al*. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. Cienc Tecnol Aliment 2007; 27:567-71.
6. Almeida Filho ES, Sigarini CO, Ribeiro JN, Delmondes EC, Stelatto E, Araujo A. Características microbiológicas de “pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiaba-MT. Hig Aliment 2002;16(99):84-8.
7. Pacquit A, Frisby J, Diamond D, Lau KT, Farrell A, Quilty B *et al*. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. Food Chem 2007;102:466-70.
8. Vieira KVM, Maia DCC, Janebro DI, Vieira RHF, Ceballos BSO. Influência das condições higiênico-sanitário no processo de beneficiamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em filés congelados. Hig Aliment 2000;14(71):37-40.
9. Pimentel LPS, Panetta JC. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo. Parte 1, resultados microbiológicos. Hig Aliment 2003;17(106):56-63.
10. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos microbiológicos para análise de alimento de origem animal e água. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil; 2003.
11. Brasil. Ministério da Saúde. RDC 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil; 2001.
12. Pacheco TA, Leite RGM, Almeida AC, Silva NMO, Fiorini J.E. Análise de coliformes e bactérias mesofílicas em pescado de água doce. Hig Aliment 2004;18(116):68-72.
13. Aubourg SP, Lago H, Sayar N, Gonzáles R. Lipid damage during frozen storage of Gadiform species captured in different seasons. Eur J Lipid Sci Technol 2007;109:608-16.
14. Andrade FSV, Carneiro MJM, Martins MLL, Cordeiro CAM. Avaliação sensorial e microbiológica do peruá (*Balistes capriscus*) capturado na região norte fluminense e comercializado no mercado de Campo dos Goytacazes-RJ. Hig Aliment 2002;16(99):70-4.
15. Aquino JS, Vasconcelos JC, Inhamuns AJ, Silva MSB. Estudo microbiológico de pescado congelado comercializado em Manaus-AM. Bol Centro Pesqui Process Aliment 1996;14(1):1-10.
16. Downes FP, Ito K. Compendium of methods for the microbiological examination of food. Washington: APHA; 2001.
17. Lira GM, Pereira WD, Athayde AH, Pinto K.P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. Hig Aliment 2001;15(84):67-74.
18. Muratori MCS, Pereira MMG, Soares LR. Pesquisa de bactérias potencialmente patogênicas em pescado comercializado no mercado central de Teresina-PI. Bol Centro Pesqui Process Aliment 1994;12(1):33-8.
19. Muratori MCS, Costa APR, Viana MC, Rodrigues PC, Podestá R.L. Qualidade sanitária de pescado “*in natura*”. Hig Aliment 2004;18(18):50-4.
20. Simões MR, Ribeiro CFA, Ribeiro SCA, Park KJ, Murr FEX. Composição físico-química, microbiológica e rendimento de tilápia tailandesa. Cienc Tecnol Aliment 2007;27(3):608-13.
21. Hoffmann FL, Garcia-Cruz CH, Vinturim TM. Levantamento preliminar da qualidade higiênico-sanitária de filés de pescada branca (*Microdon ancylodon*) comercializados na cidade de São José do Rio Preto-SP. Bol Centro Pesqui Process Aliment 1995;13(1):13-20.
22. Hoffmann FL, Garcia-Cruz CH, Vinturim TM, Fázio MLS. Levantamento da qualidade higiênico-sanitária de pescado comercializado na cidade de São José do Rio Preto (SP). Hig Aliment 1999;13(64):45-8.
23. Silva ML, Matte GR, Matte MH. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo-SP, Brasil. Rev Inst Adolfo Lutz 2008;67:208-14.
24. Farias MCA, Freitas JA. Qualidade microbiológica de pescado beneficiado em indústrias paraenses. Rev Inst Adolfo Lutz 2008; 67:113-7.
25. Maxine LH, Ramona DR, Dean EW, SITA RT. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. J Food Prot 2000;63:579-92.
26. Prata LF, Fukuda RT. Fundamentos de higiene e inspeção de carnes. Jaboticabal: FUNEP; 2001.