

Avaliação Microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) Obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e Conservado em Gelo

Ádina Cléia Botazzo Delbem¹, Jovana da Silva Garbelini², Jorge Antonio Ferreira de Lara³

Resumo: A carne de pescado é uma das mais susceptíveis ao processo de deterioração, devido a atividade de água elevada, composição química, teor de gordura insaturadas facilmente oxidáveis e pH próximo a neutralidade. O pescado pode atuar como veículo de microrganismos patogênicos para o homem, como as bactérias *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes, *Salmonella* spp, entre outros organismos mesófilos. O objetivo deste trabalho foi identificar a vida de prateleira do pintado conservado em gelo medindo o tempo de deterioração em função da contagem microbiológica de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes (a 45°C) e contagem padrão de mesófilos aeróbios. A metodologia analítica foi a utilizada por Vieira e os resultados comparados com os padrões microbiológicos da resolução RDC 12 de 02/01/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os resultados evidenciam ausência de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp até o 15^o; e aumento da contagem dos coliformes a 45°C e mesófilos aeróbios a partir do 9^o. O consumo de pescado conservado em gelo deve ser a realizado no máximo até o 9^o, pois a partir deste período pode ocorrer a proliferação de coliformes e mesófilos aeróbios que aceleração a deterioração do pescado.

Palavras-chave: Bacteriologia, deterioração, peixe, Pantanal

Microbiological Evaluation Pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) Obtained in Paraguay River (Pantanal) and Stored in Ice

Abstract: The flesh of fish is one of the most susceptible to the process of deterioration due to high water activity, chemical composition, unsaturated fat easily oxidized and pH around neutrality. The fish can act as a vehicle for pathogens for humans, such as coagulase positive *Staphylococcus*, coliforms, *Salmonella*, and other mesophiles. The aim of this study was to identify the shelf life of the painted on ice by measuring the decay time depending on the microbiological count of coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella* spp., coliforms (45 °C) and mesophilic bacteria count standard. The analytical methodology was used by Vieira and the results compared with the microbiological standards of the RDC Resolution 12 of 02/01/2001 of the National Agency for Sanitary Surveillance. The results show no count of coagulase positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp until the 15th, and increasing counts of coliforms at 45 °C and mesophilic bacteria from the ninth. Consumption of fish stored in ice should be held no later than the ninth, because from this period may occur proliferation of coliforms and aerobic mesophilic that accelerated the deterioration of fish.

Keywords: Bacteriology, deterioration, fish, Pantanal

Introdução

Hoje, o mercado mundial vem sofrendo a expansão da cadeia do pescado, seguindo uma onda de alimentação mais equilibrada, com alto valor nutricional, neste contexto a carne de pescado vem ganhando mercado, uma vez que tem proteínas de alto valor biológico, aminoácidos essenciais e lipídios, principalmente os ácidos graxos poliinsaturados como os da família ômega 3.

Dentre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, devido a atividade de água elevada, composição química, teor de gordura insaturadas facilmente oxidáveis e pH próximo a neutralidade. Entre os processos que podem levar à deterioração do pescado há a ação de enzimas autolíticas, a autooxidação lipídica e a

¹ Pesquisadora Bolsista DCR FUNDECT/CNPq, CEP 79320-900, Corumbá, MS (e-mail: adina@cpap.embrapa.br)

² Engenheira de Pesca, CEP 79320-900, Corumbá, MS (e-mail: jogarbelini@hotmail.com)

³ Pesquisador da Embrapa Pantanal, Caixa Postal 109, CEP 79320-900, Corumbá, MS (e-mail: jorge@cpap.embrapa.br)

atividade bacteriana. De todos, os microrganismos constituem os principais responsáveis pelo surgimento das alterações. O pescado pode atuar como veículo de microrganismos patogênicos para o homem, como as bactérias *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens*, entre outros organismos mesófilos (RIBEIRO et al. 2009). A presença desses microrganismos evidencia deficiências em algumas etapas do processamento ou na conservação do produto final, que comprometem a qualidade e o grau de frescor, podendo causar sérios danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação até a morte. Uma fonte de contaminação importante é a manipulação do pescado, desde o momento da captura, até sua destinação final, após passar por inúmeras fases de processamento e transporte e a deficiência no processo de sanitização dos equipamentos de processamento. Outro fator que afeta a qualidade do pescado são os próprios pescadores e empresários que negligenciam o aspecto higiênico sanitário de produção e comercialização do pescado e da água utilizada para a produção do gelo. A refrigeração adequada dos produtos pesqueiros é essencial para controlar o crescimento de micro-organismos.

No Brasil, a Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão que regulamenta os padrões microbiológicos em alimentos, através da Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza que o pescado “in natura”, resfriado ou congelado e que não será consumido cru, deve apresentar-se livre de *Salmonella* sp em 25 g e limita em 10³ o número de *Staphylococcus* coagulase positiva/g do pescado (BRASIL, 2001).

O objetivo deste trabalho foi identificar a vida de prateleira do pintado conservado em gelo medindo o tempo de deterioração em função da contagem microbiológica de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., coliformes termotolerantes (a 45°C) e contagem padrão de mesófilos aeróbios, para mapear a situação microbiológica do pescado na cidade de Corumbá-MS e implementar melhorias na qualidade dos produtos comercializados ou fabricados.

Material e Métodos

Foram coletados por pescadores artesanais da cidade de Corumbá-MS, seis pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) no Rio Paraguai durante o período de pesca (março a outubro), dentro das medidas permitidas pela legislação de pesca. O sacrifício dos animais foi realizado de acordo com o costume local (atordoamento) e logo em seguida os animais foram eviscerados, lavados com água potável e armazenados em gelo tipo escama produzido no Laboratório de Análise de Carnes (LAC).

Os peixes foram armazenados em um freezer horizontal, desligado, e mantidos submerso em gelo tipo escama durante 15 dias. Foram retiradas amostras para análise microbiológica nos dias: 0, 3, 9 e 15 após o sacrifício. De cada peixe foram coletadas duas amostras de 25 g em cada um dos dias de análise. Todo o material que entrou em contato direto com as amostras (facas, tábuas de corte, frascos) foram previamente esterilizado.

Análises microbiológicas:

A metodologia analítica utilizada por Vieira (2004) e os resultados comparados com os padrões microbiológicos da resolução RDC 12 de 02/01/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A unidade analítica de 25 g foi transferida asépticamente para uma embalagem plástica previamente esterilizada com óxido de etileno. Todas as amostras foram homogeneizadas durante 1 minuto em homogeneizador de alimento modelo MA 440\CF da marca Marconi.

Contagem, isolamento e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva: utilizaram-se alíquotas de 25g de cada amostra de peixe, às quais foram adicionados 225 mL de solução salina peptonada 0,1% (diluição 10⁻¹). Fez-se a homogeneização e prepararam-se as diluições decimais. Foi semeado sobre superfície de ágar Baird-Parker (BPA) e inoculadas alíquotas de 0,1; 0,3; 0,3 e 0,3 mL somando 1mL da diluição 10⁻¹ e 0,1 mL, em duplicata, das diluições 10⁻³ e 10⁻⁴. O espalhamento do inóculo foi realizado com alça de Drigalski. Após a inoculação as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37°C por 48 h. Após a incubação, colônias típicas pequenas, pretas, brilhantes, lisas, convexas e com halo transparente foram contadas e submetidas às provas de produção das enzimas catalase e coagulase. O resultado foi expresso em UFC.g⁻¹.

Pesquisa de *Salmonella*: foram homogeneizadas 25 g da amostra em 225 mL de Caldo Lactosado (diluição 10^{-1}) e incubado a 37°C por 24 h com a finalidade de pré-enriquecimento. Para o enriquecimento seletivo, foi inoculado 0,1 mL do meio de pré-enriquecimento em 10 mL do meio Caldo Rappaport-Vassiliadis e 1 mL em 10 mL Caldo Tetrationato/Iodo Iodeto e colocado em banho-maria a 42 ou 43°C por 24 ± 2 h. Para o isolamento, foram realizadas estrias em Agar Sulfito de Bismuto, Agar Xilose Lisina Desoxicolato e Agar Entérico Hektoen e incubada a 35°C por 24 ± 2 h. Foram transferidas três colônias típicas para Agar Triplo Sugar Iron (TSI) e Lisine Iron Agar (LIA) por picagem em profundidade e estrias superficiais, incubando-as a 35 °C por 24 horas. A partir dos tubos com identificação presuntiva, em TSI formação de gás, base amarelada e produção de H₂S (preto) no local da picada, em LIA, meio violeta e produção de H₂S (preto) no local da picada, procedeu-se à sorologia O e H, considerando esta positiva quando da aglutinação em ambos.

Estimativa da população de Coliformes totais e fecais (termotolerantes a 45 °C) e *Escherichia coli* através do número mais provável: foi realizada após feitas as diluições seriadas de base 10 (10^{-1} a 10^{-10}) e semeado 1 mL de cada diluição em série de 3 tubos da amostra em caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan, e incubado a 37°C por 48 h. A positividade foi indicada pela turvação do meio, formação de gás nos tubos de Durhan. Para confirmação de coliformes totais e fecais, os tubos que apresentarem formação de gás e turvação do meio foram passadas alíquotas para tubos de caldo bile lactosado verde brilhante (VB) e caldo de *E. coli* (EC) através de uma alça e foram incubados, respectivamente, a 37°C por 24 h e 44,5°C por 24-48h. Para a confirmação de *E. coli* será realizado a prova completa dos tubos positivos em EC. A positividade foi indicada pela turvação e formação de gás nos tubos de Durhan. Os resultados foram obtidos na tabela de Número Mais Provável – NMP.

Contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos aeróbios: alíquotas de 1 ml das diluições 10^{-1} a 10^{-8} foram inoculadas, em duplicata, em placas de Petri e em seguida, foi adicionado o PCA (Plate Count Agar). Após a homogeneização e completa solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37°C por 48 h. Os resultados foram expressos em UFC.g⁻¹.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Resultado das análises microbiológicas do filé de pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) armazenado em gelo pelo período de 15 dias após o abate.

Dia	<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC.g ⁻¹)	<i>Salmonella sp</i> em 25 g ⁻¹	Coliformes a 45 °C (NMP.g ⁻¹)	Mesófilos aeróbios (UFC.g ⁻¹)
0	ausente	ausente	$2,1 \times 10^1$	$1,8 \times 10^2$
3	ausente	ausente	5×10^2	$1,8 \times 10^3$
9	ausente	ausente	2×10^7	$2,5 \times 10^4$
15	ausente	ausente	$1,9 \times 10^7$	$2,5 \times 10^4$

A Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza que o pescado “in natura”, resfriado ou congelado e que não será consumido cru, deve apresentar-se livre de *Salmonella sp* em 25 g e limita em 103 o número de *Staphylococcus coagulase* positiva/g do pescado (BRASIL, 2001).

Na análise de *Staphylococcus* não foram constatadas colônias típicas em placa de Agar Baird Parker (BP), indicando que o procedimento de limpeza e filetagem no pescado “in natura” foram feitos de forma adequada, e a sua ausência no pescado durante o período de análise, demonstrou a adoção de bons procedimentos de higiene no processo como um todo, uma vez que o *Staphylococcus* é geralmente transmitido pelo manipulador principalmente através da saliva e secreções.

Na análise de *Salmonella sp* não foi encontrada a sua presença, estando de acordo com o preconizado pela legislação para carne “in natura” refrigerada, mostrando que a manipulação do pescado durante o período de estocagem obedeceu aos princípios de higiene.

A contagem de coliformes a 45 °C e mesófilos aeróbios não são solicitados pela Resolução RDC n. 12, porém a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) estabelece o padrão para avaliação de coliformes 45 °C de no máximo 10^3 NMP.g⁻¹ para o

pescado “in natura” refrigerado a 4 °C ou congelado a -18 °C. O acompanhamento destas bactérias durante um longo período de avaliação serve para monitorar problemas de higiene e de manipulação do pescado durante o período de estocagem com a proliferação de bactérias deteriorantes. Nossos resultados de coliformes a 45 °C observamos o aumento do NMP.g⁻¹, saindo da casa decimal 10¹ no dia 0 e chegando a 10⁷ no dia 15º após o abate. Nos tubos houve formação de gás nas diluições, indicando que o peixe não foi manuseado corretamente logo após a captura, pois, mesmo adotando medidas eficazes de higiene durante a retirada de amostras, houve um crescente aumento na contagem de coliformes. Durante o processo de evisceração no rio, provavelmente ocorreu rompimento das vísceras, o que levou a migração dos coliformes do intestino para o músculo do peixe. Nas amostras de pescado foi observado o odor de carne pútrida com o avanço do período de estocagem.

Os dados de mesófilos aeróbios também evidenciam um aumento de 1,8 x 10³ UFC.g⁻¹ do dia 0 passando para 2,5x10⁴ UFC.g⁻¹ a partir do 9º após o abate, o que indica a proliferação de bactérias, provavelmente deteriorantes. A importância dessa análise, apesar de a legislação atual não estabelecer valores limitrofes, baseia-se na reconhecida capacidade de alguns microrganismos deteriorarem o pescado por meio de processos proteolíticos, mesmo em temperaturas de congelamento, o que reduziria sua vida de prateleira. Agnese et al. (2001) relatam que valores de mesófilos aeróbios superiores a 10⁶ UFC g⁻¹ de carne de peixe são considerados críticos com relação ao seu frescor. Entretanto, Lira et al. (2001) observaram que alguns pescados que apresentaram mesófilos aeróbios superiores a 10⁶ UFC g⁻¹ não estavam com seus caracteres sensoriais alterados, enquanto que outros com número inferior, na análise sensorial eram desclassificados.

Conclusões

Os resultados microbiológicos mostram que o consumo de pescado conservado em gelo deve ser realizado no máximo até o 9º, pois a partir deste período pode ocorrer a proliferação de coliformes e mesófilos aeróbios que aceleram a deterioração do pescado.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), a Fundação de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNDECT), ao Centro de Pesquisa do Pantanal (CPP), ao Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), aos funcionários de apoio e assistentes da Embrapa Pantanal e a Embrapa.

Referências

AGNESE, A. P.; DE OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. A. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes fecais e totais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica-RJ. **Revista de Higiene Alimentar**. v.15, p.67-70, 2001.

BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária Regulamento (ANVISA). **Técnico Sobre Padrões de Qualidade para Alimentos**. Resolução - RDC. no. 12, de 02 de janeiro de 2001. Publicado no *Diário Oficial da União* de 18/12/2002.

ICMSF - International Commission On Microbiological Specifications For Foods. Sampling for microbiological analysis: **Principles and specific applications**, 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986.

LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D.; ATHAYDE A. H. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió-AL. **Revista de Higiene Alimentar**. v.15, p.67-74, 2001.

RIBEIRO, A. L. M. S. dos; OLIVEIRA, G. M. de; FERREIRA, V. M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 16, p. 109-112, 2009.



5º SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E
SOCIOECONÔMICOS DO PANTANAL

9 a 12 de novembro de 2010 – Corumbá - MS

VIEIRA, R.H.S. dos F. Normas e padrões microbiológicos para o pescado. In. VIEIRA, R.H.S. dos F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. Cap.16, p.203-210.