

ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE PESCADO CONGELADO COMERCIALIZADO EM MANAUS - AM *

JOSENILDA SARAIVA DE AQUINO **
JURANDIR CHAVES DE VASCONCELOS **
ANTONIO JOSÉ INHAMUNS ***
MARIA DO SOCORRO BARRETO DA SILVA **

Analisou-se 45 amostras de pescado, sendo 15 (quinze) de tucunaré (*Cichla ocellaris*), 15 (quinze) de tambaqui (*Collossoma macropomum*) e 15 (quinze) de pirarucu (*Arapaima gigas*), no período de julho de 1992 a março de 1993. Foram realizadas contagens de microrganismos mesófilos, psicrófilos, determinação de coliformes totais e fecais, pesquisa de *Staphylococcus aureus* e salmonelas. Foram encontradas 33 (73,4%) amostras positivas para coliformes fecais e 9 (20%) para *S. aureus*, fora do padrão microbiológico de qualidade. A contagem de microrganismos mesófilos apresentou variação de 30×10^2 ufc/g a 25×10^6 ufc/g enquanto que a contagem dos psicrófilos, variou de 10^2 ufc/g a 12×10^6 ufc/g. As contagens de *S. aureus* apresentaram variação de < 10 ufc/g a 57×10^3 ufc/g, enquanto que a pesquisa de *Salmonella* sp foi negativa. Os resultados obtidos evidenciam deficiências na estocagem e manipulação inadequada da matéria-prima, visto que o nível de contaminação aumentou conforme o grau de manipulação.

- * Trabalho subvencionado pela SUDAM/INPA-Am.
** Coord. de Pesquisas em Ciências da Saúde do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).
**** Dep. Ciências Pesqueiras, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade da Amazônia.

1 INTRODUÇÃO

Manaus encontra-se no centro da maior bacia hidrográfica do planeta, o que proporciona a população grande oferta de recursos pesqueiros. Este fato contribui para que o consumo de pescado per capita seja o mais elevado de todas as cidades brasileiras, ou seja, aproximadamente 49 kg/ano (2).

Devido a oferta regular de pescado existente na região, a população tem o hábito de adquirí-lo preferencialmente **in natura** e/ou refrigerado. Porém, com o crescimento populacional registrado nos últimos anos, em épocas de entressafra a demanda tem sido superior a oferta nos principais pontos de venda do produto na cidade, que são as feiras livres e os mercados públicos. A comercialização de pescado foi estimulada promovendo o surgimento de diversas casas comerciais ("boutiques" como são conhecidas) especializadas em venda de pescado congelado, seja em filés, em postas ou inteiro.

Em geral o pescado é adquirido na feira da Panair ou em municípios do interior do Estado, transportado em caixas de poliestireno expandido até o local onde são processados e congelados em freezers a temperaturas próximas de -18°C .

O pescado **in natura** possui microflora natural acompanhante e a extensão da contaminação pós-captura depende de diversos fatores relacionados com a morfologia, o tipo de captura, os cuidados higiênicos e a estocagem sob refrigeração. Sendo a pesca praticada na região de forma artesanal, poucas são as condições de conservação respeitadas entre as fases de captura e comercialização.

Via de regra, o pescado vem sendo processado e estocado de forma inadequada. Segundo LEITÃO, umidade e temperatura inadequadas na estocagem são os principais fatores que determinam a ação bacteriana no tecido muscular, acelerando o processo de deterioração (8).

Vários autores concordam que a contaminação microbiana mais importante em pescado processado, ocorre durante a fase de manipulação e/ou filetagem da produção (10, 14).

Associando-se o processo de captura ao processamento manual praticado, há possibilidade de ocorrer contaminação em diversos níveis, e assim sendo, este trabalho foi realizado com intuito de verificar a qualidade microbiológica do pescado congelado que vem sendo comercializado na cidade de Manaus.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAGEM

Três espécies ictiicas foram selecionadas devido a preferência popular: pirarucu (*Arapaima gigas*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e tucunaré (*Cichla ocellaris*). Quarenta e cinco amostras de pescado congelado embaladas em saco de polietileno, foram adquiridas em diferentes pontos comerciais da cidade de Manaus (AM), na condição de consumidor, entre julho/92 e março/93, as quais foram classificadas em filés (pirarucu), em postas (tambaqui) e em carcaça escamada/eviscerada (tucunaré). Em seguida as amostras foram levadas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos da Coordenação de Pesquisas em Ciências da Saúde, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), e processadas para as contagens de microrganismos mesófilos, psicrófilos, determinação de coliformes totais e fecais, pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *salmonellas*, segundo metodologia recomendada pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (6).

2.2 PREPARO DAS AMOSTRAS E SUAS DILUIÇÕES

Utilizando-se técnicas assépticas, foram pesadas 25 g de cada amostra e adicionadas a 225 mL de água peptonada a 0,1%, pH=7.0, esterilizada. Homogeneizou-se em liquidificador previamente esteril, durante aproximadamente 2 min, obtendo-se desta maneira a diluição inicial de 10^{-1} . A partir desta diluição, procedeu-se mais quatro (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5}) utilizando também como diluente água peptonada a 0,1% pH= 7.0.

2.3 CONTAGEM PADRÃO DE MICRORGANISMOS AERÓBIOS MESÓFILOS E PSICRÓFILOS OU FACULTATIVOS VIÁVEIS EM PLACAS - CPP

Para a contagem dos microrganismos mesófilos e psicrófilos, inóculos de 1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-5}) foram colocados em placas de Petri, vertendo-se a seguir, 15 mL de ágar padrão, previamente fundido e resfriado a 43°C, com homogeneização. Após a solidificação, as placas foram incubadas para a pesquisa de mesófilos a 37°C por 48 horas e psicrófilos a 5°C, por 10 dias. Após os períodos de incubação realizou-se contagens nas placas com 30 a 300 unidades formadoras de colônias (ufc), as quais foram multiplicadas pelo fator de diluição.

2.4 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES TOTAIS E FECALIS

A partir das diluições 10^{-1} a 10^{-5} do alimento, foram realizadas as determinações do NMP de coliformes totais, utilizando-se o meio de cultura caldo lauril sulfato

triptose com tubo de Durham invertido, com período de incubação a 37°C de 48 horas e caldo EC a 44,5°C por 48 horas para coliformes fecais. Os resultados foram determinados utilizando-se a Tabela de Hoskins (12).

2.5 CONTAGEM DE *Staphylococcus aureus*

Para a contagem de *S. aureus*, foram tomadas alíquotas de 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-5}) e semeadas na superfície do ágar Baird Parker em placas e incubadas a 37°C por 48 horas. As placas que apresentavam unidades formadoras de colônias características foram selecionadas para as contagens e realização das seguintes provas: catalase, coagulase, oxidação e fermentação da glicose e prova de termonuclease (5).

2.6 PESQUISA DE *Salmonella* sp

Foram tomadas 25 g de cada amostra do alimento e submetidas a enriquecimento prévio em 225 mL de água peptonada tamponada, pH 7.2, as quais foram homogeneizadas e incubadas a 37°C por 16 a 20 horas (13). Posteriormente, 1 mL do homogeneizado, foi semeado em caldo selenito cistina - novobiocina 0,4% e em caldo tetracionato bili-verde brilhante e incubados em duas temperaturas (37°C em estufa e 43°C em banho-maria), por 18 horas. Para o isolamento de colônias, o homogeneizado foi semeado na superfície dos meios ágar SS e ágar verde brilhante e incubados a 37°C, por 48 horas. As colônias suspeitas foram incubadas em meios triple sugar iron agar (TSI) e lysine iron agar (LIA), incubados a 37°C por 24 horas. Em virtude das colônias isoladas não terem apresentado nos meios de identificação presuntiva TSI e LIA, reações que indicassem possível presença de Salmonelas, não foram realizadas outras provas bioquímicas e sorológicas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das contagens dos microrganismos pesquisados em pescado congelado. Constatou-se a presença de microrganismos nas 45 amostras analisadas, observando-se variação bem acentuada no nível de contaminação: mesófilos, 30×10^2 a 25×10^6 UFC/g; psicrófilos, 10^2 a 12×10^6 UFC/g; coliformes totais, < 10 UFC/g a 24×10^4 UFC/g; Coliformes fecais, 3,6 a 24×10^4 UFC/g; *S. aureus*, < 10 UFC/g a 57×10^3 UFC/g. A presença de Salmonela não foi detectada em nenhuma das amostras.

A porcentagem de microrganismos presentes nas amostras, distribuídas por intervalos de classe, é mostrada na Tabela 2.

TABELA 1 - CONTAGEM DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS, PSICRÓFILOS, COLIFORMESTOTAIS, COLIFORMESFECAIS, *Staphylococcus aureus* E PESQUISA DE *Salmonellas*, EM 45 AMOSTRAS DE PESCADO CONGELADO COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE MANAUS/AM

Amostras	Microrganismos					Pesquisa de <i>Salmonellas</i> sp
	MESÓFILOS (37°C) (UFC/g)	PSICRÓFILOS (5°C) (UFC/g)	COLIFORMES TOTAIS (NMP/g)	COLIFORMES FECAIS (NMP/g)	<i>S.aureus</i> (UFC/g)	
1	55.000	30.000	2.400	2.400	1.300	AUSÊNCIA
2	20.000	18.000	48.000	15.000	600	“
3	600.000	18.000	2.400	240	0	“
4	36.000	30.000	4.300	93	1.000	“
5	100.000	16.000	240.000	240.000	400	“
6	84.000	86.000	2.300	93.000	200	“
7	12.000	30.000	4.300	2.300	300	“
8	580.000	230.000	230.000	230.000	300	“
9	100.000	300	93	93	0	“
10	130.000	12.000	240.000	930	12.000	“
11	67.000	20.000	1.500	210	23.000	“
12	210.000	30.000	110.000	2.100	500	“
13	26.000	28.000	1.500	1.500	700	“
14	28.000	18.000	240	93	300	“
15	12.000	180	43	23	500	“
16	62.000	15.000	21.000	930	200	“
17	60.000	3.000	4.800	75	300	“
18	19.000	200	1.100	210	600	“
19	80.000	3.000	15.000	930	1.400	“
20	600.000	200	4.300	210	300	“
21	80.000	100	930	150	1.000	“
22	82.000	400	21.000	21.000	700	“
23	230.000	2.000	48.000	48.000	600	“
24	3.000	118.000	930	930	200	“
25	23.000	100	9.300	1.500	3.800	“
26	28.000	2.000	430	150	300	“
27	8.000	1.000	9.1	3.6	0	“
28	2.000.000	6.000	240.000	9.300	500	“
29	22.000	10.000	2.400	430	200	“
30	21.000	30.000	930	93	100	“
31	16.000	35.000	930	23	0	“
32	1.000.000	400.000	48.000	93	200	“
33	80.000	3.000	430	430	10	“
34	6.400.000	700.000	15.000	930	300	“
35	6.400.000	2.700.000	240.000	240.000	20	“
36	900.000	3.000	21.000	150	0	“
37	8.000	2.000	430	0	0	“
38	8.000.000	800.000	240.000	4.300	1.600	“
39	12.000.000	12.000.000	240.000	230	200	“
40	10.000.000	1.000.000	240.000	4.300	100	“
41	1.100.000	2.000.000	1.500	930	300	“
42	11.000.000	10.000.000	21.000	75	200	“
43	12.000.000	11.000.000	2.100	230	800	“
44	25.000.000	2.000.000	240.000	240.000	57.000	“
45	1.500.000	1.000.000	240.000	230	800	“

TABELA 2 - INTERVALO DE CLASSE, NÚMERO E PORCENTAGEM DE MICRORGANISMOS MESÓFILOS, PSICRÓFILOS, COLIFORMES TOTAIS, COLIFORMES FECAIS E *S.aureus* POR GRAMA DE MATERIAL EXAMINADO - MANAUS/AM

CONTAGEM	ANÁLISES / AMOSTRAS											
	MESÓFILOS (37°C) (CPP) (UFC/g)		PSICRÓFILOS (75°C) (CPP) (UFC/g)		COLIFORMES TOTAIS (NMP/g)		COLIFORMES FECAIS (NMP/g)		<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
0	-	-	-	-	1	2.2	2	4.4	6	13.6		
10	-	-	-	-	2	4.4	10	22.2	2	4.4		
10 ²	-	-	-	7	15.6	8	17.8	18	40.0	28	62.3	
10 ³	3	6.7	10	22.2	14	31.1	8	17.8	6	13.3		
10 ⁴	21	46.7	16	36.6	9	20.0	3	6.7	3	6.7		
10 ⁵	9	20.0	4	8.9	11	24.5	4	8.9	-	-		
10 ⁶	7	15.6	5	11.0	-	-	-	-	-	-		
10 ⁷	5	11.0	3	6.7	-	-	-	-	-	-		
10 ⁸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
TOTAL	45	100.0	45	100.0	45	100.0	45	100.0	45	100.0		

Das 45 amostras analisadas, 33 (73,4%) encontraram-se fora do padrão microbiológico para coliformes fecais, segundo a Legislação em vigor (6). Estudos realizados de bacterimetria e colimetria em filés de pescado congelados constataram que 85,26% das amostras, estavam abaixo do padrão recomendado para NMP de coliformes fecais (1). Os coliformes fecais, não fazem parte da microflora natural do pescado, exceto se o mesmo for procedente de águas poluídas. Considerando que os locais de pesca ficam há vários dias de barco da cidade de Manaus, a presença dessas bactérias indicadoras nas amostras seria proveniente das operações inadequadas de processamento ou da água (7, 9).

As análises indicaram que 9 (20%) amostras estavam fora do padrão para *S. aureus* (6). Segundo EIROA (3), o *S. aureus* desenvolve-se muito bem quando o alimento previamente contaminado é mantido sob refrigeração em grandes volumes por várias horas, fato sempre observado por ocasião da coleta das amostras. Este resultado difere do encontrado em filés de pescado congelados vendidos no Rio de Janeiro, onde 50% das amostras apresentaram contaminação por *S. aureus* (11).

A contagem de mesófilos aeróbios ou facultativos, revelou que 21 amostras (46,6%) apresentaram níveis elevados entre 10^5 e 10^7 UFC/g, sendo que 26,6% foram iguais ou superiores a 10^6 UFC/g, porém inferiores a 10^8 UFC/g. Tais resultados indicam evidentes fontes de contaminação que vão desde o transporte à comercialização do produto, levando a crer na ocorrência de descongelamento não controlado, ou falhas na manutenção de temperaturas adequadas na estocagem (8). Resultados igualmente preocupantes foram encontrados por ROBBS et al (11), quando analisaram filés de pescado congelados vendidos a varejo no Rio de Janeiro (70,1%).

A incidência de aeróbios psicrófilos na faixa de 10^5 a 10^8 UFC/g, alcançou o percentual de 26,6%, comprovando as condições higiênicas deficientes com que são feitas as operações de processamento, empacotamento e estocagem (8). O tucunaré (inteiro eviscerado), foi a espécie que em geral apresentou menor índice de contaminação, seguido pelo tambaqui (em postas) e pirarucu (filé) (Tabela 3). Torna-se evidente a manipulação inadequada da matéria-prima, pois o grau de contaminação encontrado é inversamente proporcional ao grau de manipulação de cada produto. Para *S. aureus*, indicador de manipulação, encontrou-se os seguintes níveis máximos por espécie: pirarucu 57×10^3 UFC/g, tambaqui 23×10^3 UFC/g e tucunaré 10^3 UFC/g. No pirarucu comercializado em filés, o nível de contaminação foi muito superior ao das demais espécies pois evidentemente, sofrem maior grau de manipulação.

TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE ASPECTOS DE PESCAO EXAMINADOS, SEGUNDO AS ESPÉCIES, TIPOS DE APRESENTAÇÃO, UTILIZAÇÃO E AMPLITUDE DE VARIAÇÃO DAS CONTAGENS DOS MICROORGANISMOS PESQUISADOS, MANAUS/AM

ESPÉCIE/TIPO DE APRESENTAÇÃO FORMA	NÚMERO DE AMOSTRAS	VALORES	ANÁLISES				
			MESÓFIOS (37°C) (UFC/g)	PSICRÓFIOS (5°C) (UFC/g)	COLIFORMES TOTAIS (NMP/g)	COLIFORMES FECALIS (NMP/g)	<i>S.aureus</i> (UFC/g)
TUCUNARÉ (INTEIRO) (EVISCERADO)	15	MÍNIMO	3.000	100	9,1	3,6	<10
		MÁXIMO	12.000.000	11.000.000	240.000	9.300	1.000
TAMBAQUI (EM POSTAS)	15	MÍNIMO	21.000	200	240	75	<10
		MÁXIMO	10.000.000	11.000.000	24.000	240.000	23.000
PIRARUCU (FILETEADO)	15	MÍNIMO	8.000	100	1.500	93	20
		MÁXIMO	25.000.000	12.000.000	240.000	240.000	57.000
TOTAL	45						

Deve-se considerar o despreparo dos manipuladores empregados na cadeia de comercialização do pescado congelado, desde a recepção até a estocagem para venda. Além desse fato, o acondicionamento da matéria-prima a baixas temperaturas restringe-se ao uso de gelo triturado ou em escamas, em proporções e/ou condições inadequadas de uso (7). Deve-se considerar ainda que o congelamento/estocagem são feitos em freezer (-18°C), com alta densidade do produto, até a comercialização. Nessa rústica cadeia de frio, o congelamento é feito de forma lenta sendo que todos os microrganismos presentes, microflora natural e indicadores (4), têm chance de se desenvolverem enquanto o congelamento não atinge o centro do produto.

4 CONCLUSÃO

Constatou-se a presença de microrganismos nas 45 amostras analisadas, tendo sido negativa a pesquisa de *Salmonella sp.* Segundo a legislação em vigor, 73,4% das amostras encontraram-se fora do padrão microbiológico para coliformes fecais e 20% para *S. aureus*. Tais resultados indicam deficiência na estocagem, em manipulação inadequada da matéria-prima, considerando que o nível de contaminação aumentou conforme o grau de manipulação.

Abstract

Forty-five frozen fish samples were analysed, including 15 of tucunare (*Cichla ocellaris*), 15 of tambaqui (*Colossoma macropomum*), and 15 of pirarucu (*Arapaima gigas*), between July 1992 and March 1993. It was carried out microorganisms counts such as mesophilic and psychophilic, total and faecal coliforme, as well as the research on *S.aureus* and *Salmonella sp.* Thirty three samples (73,4%) were positive for faecal coliforms and 9 (20%), to *S.aureus*, out of microbiological standard of quality. The *Salmonella sp* research was negative, but the counts of mesophilic and psychophilic microorganisms indicated contamination. These results showed that, storage and handling of raw material were not appropriate.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BARROS, G.C. Bacterimetria e colimetria de filés de pescado congelados coletados no Rio de Janeiro, **Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.**, v. 10, p. 69-73, 1975
- 2 COMISSÃO PASORAL DA TERRA - REGIÃO NORTE 1 AM/RR. **Preservação dos lagos e rios e pesca comercial no Amazonas.** Manaus/AM. 1991, 19 p.
- 3 EIROA, M.N.U. Aspectos microbiológicos relacionados à conservação e ao consumo de pescado. **B. SBCTA.** Campinas, n. 54, p. 9-37, dezembro. 1980.

4. GELLI, D.S. Análise microbiológica de pescado marinho. in: KAI, M., RUIVO, U.I. **Controle de qualidade de pescado**. São Paulo : Leopoldianum Edições Layola, 1988, p. 59-67.
 5. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods : Their significance and methods of enumeration**. 2. ed., Toronto : University of Toronto Press, Toronto, 1978, v. 1.
 6. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods : Sampling for microbiological analysis - Principles and specific applications**. 2. ed. University of Toronto Press. 1978. v. 2.
 7. JESUS, R.S., LESSI, E. Consumo de gelo em caixas isoladas e nas urnas de barcos pesqueiros comerciais no Estado do Amazonas, Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas. v. 12, n. 1, p. 26-34, 1992.
 8. LEITÃO, M.F.F. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. **Bol. do ITAL**. Campinas. n. 50, p. 1-35, mar/abr. 1977.
 9. LISTON, J. Sanitation and the seafoods industry **Association of food and Drug Officials of the United States Quarterly Bulletin**, v. 34, p. 158-162, 1970.
 10. NICKERSON, J.T.R. E GOLDBLITH, S.A. A study of the microbiological quality of haddock fillets and shucked, soft-shelled clams processed and marketed in the greater Boston area. **J. Milk and food techn.** v. 27, p. 7-12. 1964.
 11. ROBBS, P.G., BARROS, G.C., SOLÉ-VERNIN, C. Estudo sobre a presença de *Staphylococcus* e *Salmonella* em filés de pescado congelados para consumo no Rio de Janeiro. **Pesq. agropec. bras., Sér. Vet.** v. 10, p. 75-77. 1975.
 12. ROBERT, J.B., FOSTER, D.M. Most probable number determination. In : Food and Drug Administration, Division of Microbiology. **Bacteriological analytical manual**. 6. ed. Arlington, 1984. App. III.
 13. VAN SCHOTHORST, M., VAN LEUSDEN, F.M. Studies on the isolation of injured salmonellae from foods. **Zentrallatt für Bakteriologie, Parasiten Kund Intelections Krankheiten und Higiene Abt.I Orig.** v. 221, p. 19-29. 1972.
 14. VARGA, S., ANDERSON, G.W. Significance of coliformes and enterococci in fish products. **Appl. Microbol.** v. 16, p. 193-196, 1968.
- 10 B.CEPPA, Curitiba, v. 14, n. 1, jan./jun.1996