

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Faculdade de Nutrição**

**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Análise microbiológica de filés de pescados resfriados e congelados comercializados na cidade de Pelotas-RS para detecção da presença de *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella ssp***

**Natascha Dornelles Roesch**

Pelotas/2022

NATASCHA DORNELLES ROESCH

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PESCADOS REFRIGERADOS E  
CONGELADOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PELOTAS-RS PARA  
DETECÇÃO DA PRESENÇA DE *Staphylococcus* coagulase positiva E  
*Salmonella ssp*

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos  
da Universidade Federal de Pelotas, como  
requisito parcial para a obtenção do título  
de Mestre em Nutrição e Alimentos

Orientadora: Profª Dra. Eduarda Hallal Duval

Coorientadora: Profª Dra. Rita de Cassia dos Santos da Conceição

Pelotas/2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

R718a Roesch, Natascha Dornelles

Análise microbiológicas de filés de pescados refrigerados e congelados comercializados na cidade de Pelotas - RS para detecção de staphylococcus coagulante positiva e salmonella ssp / Natascha Dornelles Roesch ; Eduarda Hallal Duval, orientadora ; Rita de Cássia dos Santos da Conceição, coorientadora. — Pelotas, 2022.

41 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Contaminação. 2. Salmonella. 3. Staphylococcus. I. Duval, Eduarda Hallal, orient. II. Conceição, Rita de Cássia dos Santos da, coorient. III. Título.

CDD : 641.1

Natascha Dornelles Roesch

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE PESCADOS REFRIGERADOS E  
CONGELADOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PELOTAS-RS PARA  
DETECÇÃO DA PRESENÇA DE *Staphylococcus* coagulase positiva e  
*Salmonella* ssp

Banca examinadora:

Eduarda Hallal Duval (Orientadora)

Dra. em Biotecnologia pela Universidade Federal de Santa Catarina (2011)

Éverton Fagonde da Silva

Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas (2008)

Eliezer Avila Gandra

Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel (2003)

*Dedico este trabalho a quem sempre esteve presente e acreditou  
incessantemente que seria possível, meu avô, Deuclides  
Dornelles.*

## **Agradeço...**

Primeiramente, ao meu pai Daniel Roesch, que mesmo com as poucas oportunidades que a vida lhe proporcionou nunca se opôs a nenhuma decisão que eu tomei, sempre me apoiando e se fazendo presente seja na minha vida ou escolhas acadêmicas.

A minha mãe, Sonia Dornelles, que no último ano me mostrou que quando realmente queremos algo, independente da dificuldade que poderemos enfrentar, devemos correr atrás. Por ser incessante em suas palavras de apoio e JAMAIS duvidar da minha capacidade, até quando eu mesma falhava nisto.

Ao meu avô, que sempre esteve presente com seus conselhos carinhosos e preocupados, que demonstrou todo seu amor e orgulho de forma única, jamais me deixando esquecer de que podemos chegar aonde queremos, basta querermos

Ao meu sobrinho Gustavo Dornelles, por ser o presente da minha vida, e desde o primeiro dia que sai de casa me pergunta se falta muito para voltar, que mesmo sem saber boa parte das coisas que eu faço, sempre tenta entender, e principalmente, por ter sempre me receber com os melhores abraços.

A dinda Tania Dornelles, por uma vida toda sendo mãe e amiga, por vislumbrar junto comigo cada pequena coisa que planejo, por se preocupar com coisas que muitas vezes não deveria, e demonstrar à sua maneira, todo o amor que nos rodeia, e principalmente, por me dar os melhores primos que alguém poderia escolher. Por tanto, ao Tales Dornelles e Yuri Dornelles, por cumprirem o papel de irmãos mais velhos com tanto êxito, mostrando que não precisamos nascer da mesma mãe para possuímos essa irmandade.

A dinda Maria Elisabeth, por ser tão especial e por me tratar tão bem, nunca medindo esforços para ajudar e se fazer presente.

A Janaina Gomes e Luiz Miritz, por fazerem o que muitas vezes pessoas com laços sanguíneos não fariam, por serem tão especiais em seus jeitos e falas, e a Jana, principalmente, por ter o melhor abraço que podemos receber longe de casa!

A "dinda" Eva, por me receber tão bem na família, criando um lugar seguro e cheio de amor, por tantos almoços e dias especiais compartilhar, me trazer, realmente, uma "casa de dinda" longe da casa das minhas dindas.

Ao Emanuel Bertizzolo, por ser esse amigo sensacional, com um coração incrível e palavras que quase sempre, me fazem chorar, por ser campeão de me dar feliz aniversário dois dias depois e colocar a culpa no fuso hehe, e principalmente pelo tanto que se fez presente quando ainda estávamos próximos.

Ao Leonardo Mendes e Letícia Cardoso, por serem, sem dúvida alguma, a melhor "dupla de casal" que poderia existir, por estarem sempre tão presentes na minha vida, e comemorarem junto cada conquista. A Letícia, em especial, por ser umas das melhores pessoas que já conheci na vida, por trazer consigo a sinceridade no olhar, a preocupação de uma mãe quando não estamos bem, e a cumplicidade de uma melhor amiga em todas as situações.

Ao meu namorado e parceiro de vida, Charlie Gomes, por estar sempre pronto para me acolher em momentos de fraqueza e ser, incessante no papel de apoiador, sempre me fazendo acreditar que posso e me mostrando caminhos que normalmente não se enxerga em momentos tortuosos, por comemorar cada conquista, seja ela mínima ou gigantesca, e com isso, a cada dia que passa, mais tijolinhos são colocados no nosso grande cogumelo verde. Por juntos termos feito a escolha de agregar em nossa vida a Willow e formado uma "família tradicional brasileira"; o serzinho mais surtado e especial de todo o mundo, a quem devo infinitos agradecimentos, por ser exatamente como é.

A minha coorientadora professora Rita de Cássia, a quem devo este projeto, por todos os ensinamentos e horas de bancada, por todas as caronas, músicas na rádio Alegria, pelas tantas conversas sobre a vida e os rumos que ela toma, e principalmente, por ser tão especial e dedicada com todos a sua volta.

A minha orientadora professora Eduarda Duval, pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho e pelos ensinamentos passados.

A Universidade Federal de Pelotas, o Programa de Pós-graduação de Nutrição e Alimentos e ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, por me possibilitarem o desenvolvimento do trabalho.

A CAPES, pelo auxílio financeiro durante o período de trabalho.

A todos que de alguma forma se fizeram presentes nesta caminhada.

Obrigada por tudo!

“Todos os nossos sonhos podem se tornar realidade;

Se tivermos a coragem de persegui-los.”

– Walt Disney

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> Placa de Petri contendo colônias típicas e colônias atípicas de <i>Staphylococcus</i> .....	30
<b>Figura 2</b> Eppendorf com plasma coagulado .....	31

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b>	Amostras de filés de pescados refrigerados e congeladas por espécie e estabelecimento do qual foram adquiridas.....	24
<b>Tabela 2</b>	Resultados obtidos pela análise dos files de pescados da peixaria 1.....	29
<b>Tabela 3</b>	Resultado obtidos pela análise dos filés de pescados da peixaria 3.....	30
<b>Tabela 4</b>	Resultados obtidos pela análise dos filés de pescados da peixaria 4.....	31

## Lista de abreviações

DTA's	Doenças Transmitidas por Alimentos
BHI	Caldo Cerebro Coração
XLD	Agar Xilose Lisina Desoxicolato
ATP	Água Peptonada Tamponada
SS	Solução Salina
BPF'S	Boas Praticas de Fabricação
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
OMS	Organização Mundial da Saude
RV	Rappaport Vassiliadis
TT	Tetrationato
LIA	Agar Ferro Lisina
EGO	Emulsão Gema de Ovo
TP	Telurito de Potassio
TSI	Triplo Sugar Iron
ONU	Organização das Nações Unidas
ANIVISA	Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria
BPLS	Agar Verde Brilhante

## Sumario

1. Introdução.....	15
2. Revisão Bibliográfica.....	16
2.1. Produção e consumo do pescado no mundo.....	16
2.2. Consumo de pescado no Brasil.....	17
2.3. Contaminação Microbiológica em Pescados .....	18
2.4. Doenças Transmitidas por Alimentos .....	19
2.5. <i>Salmonella</i> .....	20
2.6. <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	21
3. Objetivo.....	22
3.1. Objetivo Geral.....	22
3.2. Objetivos Específicos .....	22
4. Materiais e Métodos .....	23
4.1. Obtenção das amostras.....	23
4.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> .....	25
4.3. Quantificação de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	26
5. Resultados e Discussão .....	27
6. Considerações finais .....	36
7. Referências.....	37

## Resumo

ROESCH, Natascha Dornelles Análise microbiológica de filés de pescados na cidade de Pelotas-RS para detecção da presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* ssp. 2022. 41p. Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação de Nutrição e Alimentos – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.

O consumo de pescados devido a situação pandêmica vivida, teve um grande aumento, podendo estar associado a busca da população por alimentos mais saudáveis e com um maior valor nutricional, considerando as características que o pescado apresenta por possuir aminoácidos essenciais, minerais e um alto valor proteico. O aumento na demanda pode acabar afetando a qualidade do produto que chegará ao consumidor, e com isso, acarretando em diversas doenças de origem alimentar devido às contaminações bacterianas. O objetivo do trabalho foi analisar microbiologicamente filés de pescados encontrados no comércio da cidade de Pelotas-RS, a fim de obter resultados para a presença de *Salmonella* e contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva. As amostras foram obtidas refrigeradas em peixarias da cidade, sendo acondicionadas em gelo até o momento da preparação para análise, e as amostras congeladas foram obtidas no comércio de Pelotas, e mantidas congeladas até o momento da análise. As análises seguiram a ISO 6579:2002 para *Salmonella*, e a ISO 6888-1:2016 para *Staphylococcus* coagulase positiva, e expressos conforme a Instrução Normativa IN 60, de 23 de dezembro de 2019. Os resultados mostraram que das 41 amostras analisadas, sendo 39 refrigeradas e 2 congeladas, destas, 16 amostras apresentaram contagens para *Staphylococcus* coagulase positiva, porém, dentro dos limites da legislação. Em relação a *Salmonella*, 03 amostras apresentaram o patógeno. Estes resultados mostram que é importante seguir as BPF's durante os processos de preparo e uma cocção adequada do produto, para que seja evitada toxinfecções alimentares e contaminação cruzada através de utensílios ou alimentos.

**Palavras-chaves:** contaminação, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

## Abstract

ROESCH, Natascha Dornelles Microbiological analysis of fish fillets in the city of Pelotas-RS to detect the presence of *Staphylococcus coagulase positiva* and *Salmonella* ssp. 2022. 41p. Dissertation presented to the Graduate Program in Nutrition and Food – Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas - RS.

The consumption of fish, due to the pandemic situation experienced, had a large increase, which may be associated with the population's search for healthier foods with a greater nutritional value, considering the characteristics that fish has for having essential amino acids, minerals and a high value. protein. The increase in demand can end up affecting the quality of the product that will reach the consumer, and with that, causing several food-borne diseases due to bacterial contamination. The objective of this work was to microbiologically analyze fish fillets found in the market of the city of Pelotas-RS, in order to obtain results for the presence of *Salmonella* and *Staphylococcus coagulase positive* counts. The samples were obtained refrigerated in fishmongers in the city, being conditioned in ice until the moment of preparation for analysis, and the frozen samples were obtained in the commercial area of Pelotas, and kept frozen until the moment of analysis. The analyzes followed ISO 6579:2002 for *Salmonella*, and ISO 6888-1:2016 for coagulase-positive *Staphylococcus*, and expressed according to Normative Instruction IN 60, of December 23, 2019. The results showed that of the 41 samples analyzed, being 39 refrigerated and 2 frozen, of these, 16 samples presented counts for *Staphylococcus coagulase positive*, however, within the limits of the legislation. Regarding *Salmonella*, 03 samples showed the pathogen. These results show that it is important to follow the GMP's during the preparation processes and proper cooking of the product, in order to avoid food poisoning and cross-contamination through utensils or food.

Keywords: contamination, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

## 1. Introdução

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal, a partir do Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, ao termo pescado se definem os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, utilizados na alimentação humana (BRASIL, 2017).

Com a pandemia do COVID-19 houve uma busca por hábitos alimentares melhores, e o pescado vem se destacando como uma proteína animal de alto valor nutricional, aumentando mais ainda a procura por este insumo (XIMENES, 2021). Com isso, esta demanda vem sendo atendida pela aquicultura, pois os estoques pesqueiros naturais vêm sofrendo superexplorações (FAO, 2020).

O pescado possui um elevado valor nutricional. Em função da porcentagem proteica, presença de aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais como ferro, cálcio e fósforo, baixo teor de gordura, sendo ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega 3, além da melhor digestibilidade quando comparado aos demais produtos de origem animal, os pescados necessitam de cuidados redobrados na sua comercialização, considerando que se trata de um alimento de fácil deterioração (SILVA-JUNIOR et al. 2016; MACIEL, 2019; PASTRO et al., 2019).

Por ser um produto perecível, os processos em que ele passará até chegar à venda para o consumidor deve seguir os padrões sanitários adequados para que não cause riscos à saúde do consumidor final. Os maiores riscos de contaminação que estes produtos sofrem estão associados aos microrganismos patogênicos, como por exemplo *Salmonella* spp, *Staphylococcus coagulase positiva* e bactérias de origem fecal (MOURA et al. 2015; DE ALMEIDA, 2021), microrganismos estes que estão ligados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs).

Com o intuito de reduzir os riscos à saúde do consumidor, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu resoluções com boas práticas para os serviços alimentares RDC nº216/2004, e padrões

microbiológicos para alimentos nº12/2019, respaldando as ações de fiscalização da Vigilância Sanitária (BRASIL, 2010; BRASIL, 2016; BRASIL, 2019).

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1. Produção e consumo do pescado no mundo**

Segundo FAO (2020) a aquicultura vem crescendo exponencialmente desde os anos 90, e o aumento do consumo de pescados vem sendo sustentado pela aquicultura, estimando que em 2025 o Brasil deverá registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura.

Assim como a aquicultura vem tomando espaço na pesca no Brasil, a piscicultura no ano de 2020 passou por um aumento de 5,93% produzindo o valor de 802.930 toneladas no ano. Enquanto a produção brasileira gira próximo as 800.000 t, a pesca extrativa mundial é de 92 milhões de toneladas, e a aquicultura de 95 milhões de toneladas.

Segundo dados fornecidos pela FAO (2020), em 2010 era consumido no mundo aproximadamente 130 milhões de toneladas por ano de pescados, enquanto no ano de 2021 esse consumo foi de 160 milhões de toneladas, um aumento no consumo de 30 milhões de toneladas em 10 anos. Ao observar estes números e os valores de crescimento da pesca, percebe-se que este aumento comparado com o de consumo não é uniforme, diferente da aquicultura, que teve um aumento de aproximadamente 30 milhões de toneladas, no mesmo intervalo de tempo.

A ONU (Organização das Nações Unidas) estima que até 2050 possa haver um aumento de 25% da população quando comparada ao ano de 2020 (ONU, 2019), sendo assim, alimentar a população mundial talvez possa ser um desafio. Se seguir o aumento da aquicultura, piscicultura e pesca extrativa no Brasil e no mundo, aumentam as possibilidades de atender a demanda alimentar futura.

O consumo de pescados no mundo, segundo a FAO (2018) cresceu, dentre os anos 1961 a 2016, 3,2%, sendo maior que o aumento da população no mundo. Além disso, superou o aumento do consumo da carne, sendo de

2,8%. A média *per capita* subiu de 9 kg em 1961 para 20 Kg em 2015, e estima-se, que esse consumo deva chegar a 21,5 Kg em 2030, com um aumento aproximado de 1,5% ao ano.

Em 2018, foram produzidas no mundo 179 milhões de toneladas de pescados no mundo. Dentre os países que são produtores de pescados, a China ganha destaque, sendo a primeira colocada com 35% da produção de todos os países pertencentes a Ásia, que produz 34% dos pescados mundiais, seguida das Américas (14%), Europa (10%), África (7%) e Oceania (1%) (FAO, 2018).

Além da mudança que ocorreu com o passar dos anos no aumento do consumo, a FAO (2020) apontou que cerca de 87% da produção de 2018 foi destinada para o consumo humano, sendo um reflexo desse aumento, uma vez que em 1960 boa parte da produção era destinada a produção de farinhas e óleos de peixes.

A comercialização destes pescados pode ocorrer de diversas formas, mas 44% dela ocorre com os peixes ainda vivos em tanques, onde o consumidor o escolhe, frescos ou refrigerados, e isso pode acontecer pela falta de aplicação das tecnologias quando se refere a conservação dos pescados, ou até mesmo, a demanda sobre o produto, uma vez que pode ocorrer uma busca maior por produtos em sua forma fresca (FAO, 2020). Além da preferência por pescados frescos, observa-se que o consumo no mundo é maior em pescados de água doce, tendo em vista que no intervalo de 1986 a 2020 o consumo de pescados marinhos se manteve estável, os pescados de água doce, passaram por um aumento constante.

## **2.2. Consumo de pescado no Brasil**

O Brasil já foi considerado o país com maior potencial para o desenvolvimento da aquicultura e da pesca, porém, hoje ocupa o 13º lugar na produção de peixes em cativeiro e o 8º lugar na produção de peixes em água doce (FAO, 2020; XIMENES, 2021).

O Brasil possui plenas condições de se tornar um grande produtor de pescado, possibilitando alavancar o mercado doméstico, considerando a vasta extensão de costa marítima, que gira em torno de 8.500 Km. Além de possuir

12% da água doce disponível no planeta, conta com condições climáticas favoráveis e disponibilidade de mão de obra (BRASIL,2014).

Mesmo com as possibilidades de ser um grande produtor, o consumo de pescado no país ainda é muito pequeno, sendo menor de 4 Kg/hab/ano, um valor muito inferior quando comparado ao consumo de carne aviária que é de 42 Kg/hab/ano e da carne bovina (30 Kg/hab/ano) (PEIXE BR, 2021). Dentre todas as regiões do país, a região Norte é a que mais consome carne de peixe, o que pode ser influenciado pelos hábitos culturais adquiridos de povos indígenas, pela grande diversidade das espécies desta proteína animal e o número acentuado de receitas para prepará-los (MANGAS *et al.*, 2016).

O Rio Grande do Sul (RS) no ano de 2020 passou por uma grande estiagem, que acabou acarretando um prejuízo na produção por não ocorrer a renovação das águas. Mesmo sofrendo com este problema o estado teve o amparo da EMATER, e os resultados de 2020 puderam ser comemorados. O estado atualmente alcançou o 11º lugar no ranking de maior produtor do país, produzindo 26.102t (FAO, 2020).

Observando os índices no RS, ainda ocorre um maior consumo durante a Semana Santa. Segundo Lazzari *et al.* (2017), ao passar este período o consumo diminui significativamente, e para que possa ser mudado este panorama no Estado, é necessário que haja um incentivo para uma mudança de hábito da população, estimulando, por fim, um consumo regular anual.

### **2.3. Contaminação Microbiológica em Pescados**

O pescado pode ser contaminado por um grupo variado de microrganismos, assim como contaminações químicas, por meio de águas contaminadas ou poluídas (CAMPOS; PAIVA, 2012), apresentando enquanto vivo, a contaminação bacteriana principalmente na pele, brânquias e escamas, passando para os demais tecidos após a morte do animal (SANTIAGO *et al.*, 2013).

Além da contaminação ambiental, pode ocorrer no processo de pós-captura através da contaminação cruzada durante o transporte, armazenamento ou manuseio inadequado, como por exemplo, no processo de evisceração e

filetagem do pescado, ou até mesmo através do contato do pescado com o gelo usado para sua conservação (FERNANDES et al., 2018; DANTAS FILHO et al., 2020).

Mesmo podendo ser contaminado através do meio ambiente, no seu habitat natural e durante o processamento, é importante ressaltar que pode haver pescados que são criados por meio da piscicultura sob práticas inadequadas. Tanques superlotados, alimentação insuficiente e fatores de estresse, podem influenciar na susceptibilidade dos peixes a microrganismos patogênicos e doenças (AMAGLIANI et al., 2012; FERNANDES et al., 2018). A contaminação por bactérias patogênicas pode estar presente inclusive nas matérias primas usadas para a produção da ração, influenciando a microbiota animal (GAZAL et al, 2018).

Os maiores riscos de contaminação do insumo estão associados a microrganismos patogênicos como *Salmonella*, como encontrado por BARRETO (2020) e *Staphylococcus coagulase positiva* (COSTA et al.), além destes, podemos associar a contaminação a microrganismos dos grupos coliformes, como *Escherichia* e *Enterobacter* (MOURA, 2015), que podem ser responsáveis por surtos alimentares, podendo acarretar problemas sociais e econômicos. Neste contexto é necessário que ocorra o cumprimento das legislações e que os padrões sanitários sejam atendidos (Marchi et al. 2011).

#### **2.4. Doenças Transmitidas por Alimentos**

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) as doenças transmitidas por alimentos (DTA's) são aquelas de natureza infecciosa ou tóxica causada pela ingestão de alimentos ou água contaminados por agentes biológicos, químicos e/ou físicos, representando um sério risco a saúde humana (BRASIL, 2010). Essas doenças estão normalmente associadas a náuseas, vômitos e/ou diarreia, podendo ser associados ou não a febre (BRASIL, 2010).

Segundo BRASIL (2010), a contaminação da população ocorre por meio de ingestão de alimentos ou água contaminados, e nos últimos anos é possível observar um aumento do consumo de alimentos fora de casa, podendo ser alterado pelo estilo de vida, onde cada vez mais mulheres estão inseridas no

mercado de trabalho, além da população passar maior parte do tempo fora do domicílio, diminuindo o tempo que as pessoas dedicam a cozinha e aumento o número de pessoas trabalhando no ramo alimentício (MAIA; MAIA, 2017).

Ao falar dos alimentos produzidos para consumo da população, é relevante a presença das Boas Práticas de Fabricação (BPF), que consistem em um conjunto de normas empregadas em produtos e processos para certificar a qualidade e a segurança do alimento. Os equipamentos, a qualidade da matéria-prima, as condições higiênicas do ambiente de trabalho, as condições técnicas de manipulação dos alimentos, a saúde dos funcionários e a distribuição dos alimentos são fatores que tornam a produção dos alimentos seguros e de qualidade (BRASIL, 2004), além de programas de autocontrole que podem ser seguidos com intuito de manter a sanidade do produto.

Além do intuito de manter a qualidade dos alimentos, as BPF's evitam que ocorram surtos de doenças de origem alimentar, tendo em vista que de 2000 a 2017 foram notificados 12.503 surtos de DTA's no Brasil. Apenas 3.196 casos tiveram confirmação laboratorial. O agente foi identificado em apenas 2.593, sendo 92% destes de origem bacteriana (BRASIL, 2018).

## **2.5. *Salmonella***

Dos microrganismos que podem estar presentes nos alimentos, destaca-se a *Salmonella*, que pertence à família das *Enterobacteriaceae*, possuindo 2 espécies, é uma bactéria mesófila Gram-negativa, com multiplicação em pH próximo a neutralidade (6,5 a 7,5), possuindo a capacidade de sobrevivência entre 3,8 e 9,5 (RODRIGUES, 2018). Sua temperatura ideal está entre 35°C a 43°C, não sobrevivendo à temperatura de cozimento superior a 70°C. São bactérias anaeróbias facultativas, oxidase-negativa, não esporogênicas (JAJERE, 2019; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015; BRASIL, 2011).

As doenças alimentares transmitidas por microrganismos patogênicos são de grande preocupação para a indústria alimentícia. Dentre essas doenças, a Salmonelose, destaca-se como uma das principais doenças transmitidas por alimentos no Brasil e no mundo, apresentando um desafio para a saúde pública (BRASIL, 2011).

Para que ocorra a transmissão da doença, é necessário que aconteça a contaminação do alimento pela bactéria, destacando a presença em ovos, leite, carnes, sendo isolada predominantemente no intestino destes animais (MENDONÇA, 2016). A transmissão pode ter relação com a contaminação da água e alimentos com as matérias fecais, tendo em vista que o principal habitat da bactéria é o intestino humano e de animais de sangue quente. (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015; ZHU et al., 2017). Mesmo não sendo seu habitat natural no trato gastrointestinal do peixe, pode estar presente na pele, guelras e vísceras, passando para as demais áreas após o abate do animal (FERNANDES et al., 2018).

A origem dessa contaminação pode ocorrer no ambiente aquático por meio de contaminação fecal através do esgoto urbano e do esterco de animais que vivem perto dos criadouros destes pescados (BANIGA et al., 2019; TRAORÉ et al., 2015), onde a falta de saneamento básico contribui para este problema. Mas, vale ressaltar a necessidade do cuidado durante o processo pós-captura, durante o transporte, armazenamento e manuseio, buscando evitar a contaminação cruzada durante a evisceração e filetagem (FERNANDES et al., 2018; DANTAS FILHO et al., 2020).

Quando se refere a presença de *Salmonella* em produtos que virão a ser consumidos, segundo a IN° 60, de 23 de dezembro de 2019, o preconizado é ausência da bactéria em 25 g de amostra de pescados (peixes, crustáceos, moluscos) e miúdos (ovas, moela, bexiga natatória) crus, temperados ou não, frescos, resfriados ou congelados (BRASIL, 2019).

## **2.6. *Staphylococcus coagulase positiva***

O *Staphylococcus coagulase positiva* é uma das bactérias patógenas mais difundidas em relação a surtos alimentares, onde considera-se surto alimentares quando duas ou mais pessoas apresentam doenças alimentares similares resultantes da ingestão de líquidos ou alimentos contaminados ou de alimentos da mesma procedência causando intoxicações. (BRASIL, 2010; RASIGADE; DUMITRESCU, 2014). A bactéria apresenta três espécies que são capazes de causar doenças de origem alimentar, causando a intoxicação por meio das enterotoxinas pré-formadas nos alimentos; algumas destas bactérias

possuem um agravante, devido a resistência que alguns isolados podem apresentar a antibióticos (TURNER *et al.*, 2019).

*Staphylococcus* são cocos gram positivos, aeróbias facultativas, possuindo uma temperatura de crescimento ótima em 37°C, possuindo 84 espécies e 30 subespécies. São tolerantes a alta concentração de NaCl (10% a 20%), mas não são capazes de produzir toxina em concentrações superiores a 5%. São bactérias não esporuladas e normalmente não são capsuladas, apresentando por tanto, formato semelhante a cachos de uva, positivando na maioria das vezes para o teste de catalase. (ANVISA, 2008; FEITOSA *et al.*, 2017; FERRARI *et al.*, 2021; LPSN, 2022).

A contaminação por *Staphylococcus* está associada diretamente com os manipuladores dos alimentos, pontuando que este patógeno faz parte da microbiota humana normal, encontrado com uma frequência maior na pele e mucosas (ANVISA, 2008; OLIVEIRA; GONÇALVES, 2015).

Segundo a IN n° 60 de 23 de dezembro de 2019, ao analisar uma amostra de pescado, os resultados acima de  $1 \times 10^3$  são considerados de qualidade inaceitável, não estando aptos ao consumo humano.

### **3. Objetivo**

#### **3.1. Objetivo Geral**

O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de pescados refrigerados e congelados, comercializados na região de Pelotas, Rio Grande do Sul.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar a qualidade microbiológica de amostras de Linguado, Traíra, Bagre, Cação, Jundiá, Salmão e Tainha.
- Pesquisar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em filés refrigerados e congelados de pescados comercializados na cidade de Pelotas-RS.

- Quantificar a presença de *Salmonella ssp.* em filés refrigerados e congelados de pescados comercializados na cidade de Pelotas-RS.
- Expressar os dados segundo a IN n° 60 de 2019.

#### **4. Materiais e Métodos**

##### **4.1. Obtenção das amostras**

Foram analisadas 39 amostras de 7 espécies de pescados refrigerados, sendo elas Linguado, Traíra, Bagre, Cação, Jundiá, Salmão e Tainha, obtidas em 3 peixarias da cidade de Pelotas/RS. Além destas, também foram analisadas 2 amostras de filés congelados, sendo estas das espécies Linguado e Traíra, obtidas de um supermercado da cidade de Pelotas/RS. A relação das amostras por peixaria e espécie está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Amostras de filés de pescados refrigerados e congeladas por espécie e estabelecimento do qual foram adquiridas.

Número da Amostra	Espécie de Peixe	Peixaria (1,2,3)
226	Linguado	2
227	Traíra	2
228	Cação	2
229	Salmão	2
230	Traíra	2
231	Salmão	2
232	Linguado	2
233	Cação	2
234	Salmão	2
235	Traíra	2
236	Linguado	2
237	Cação	2
238	Linguado	1
239	Traíra	1
240	Salmão	1
241	Linguado	Cong
242	Traíra	Cong
243	Salmão	1
244	Traíra	1
245	Linguado	1
246	Cação	1
247	Linguado	2
248	Linguado	2
249	Cação	2
250	Salmão	2
251	Traíra	1
252	Cação	2
253	Linguado	1
254	Linguado	3
255	Jundiá	3
256	Tainha	3
257	Bagre	3
258	Cação	1
259	Linguado	1
260	Salmão	1
261	Cação	1
262	Cação	2
263	Salmão	2
264	Jundiá	2
265	Traíra	2
266	Linguado	2

A obtenção do pescado ocorria semanalmente, sendo analisadas de 4 a 8 amostras por etapa. Após a obtenção, as amostras eram armazenadas em caixa térmica para serem transportadas até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

#### **4.2. Pesquisa de *Salmonella***

A realização da análise de *Salmonella* foi baseada na ISO 6579:2002.

Após a recepção do material a ser analisado, preparo do material a ser utilizado e a higienização da bancada, era pesado aproximadamente 25g de amostras em placas de petri estéreis, utilizando talheres estéreis para a separação da amostra. Assim que era realizada a pesagem, as amostras eram dispostas em sacos estéreis que continham 225mL do pré-enriquecimento (ATP) sendo então homogeneizadas. Os sacos foram colocados em uma estufa a 37°C onde ficavam por 24hrs.

Posterior as 24hrs, as amostras eram retiradas da estufa para passarem para o processo de enriquecimento, que consistia em passar 0,1mL de amostra para tubos de ensaio que continham 10mL de RV, e 1,0mL de amostra para tubos que continham 10mL de TT, os tubos foram incubados por 24hrs a 42°C e 37°C, respectivamente.

Para o processo de semeadura em superfície, o material incubado era retirado da estufa e, uma alçada de cada tubo era transferida para placas de petri com os meios XLD e BPLS pelo processo de espalhamento por superfície. As placas eram colocadas invertidas em estufa a 37°C por 24hrs.

As placas que após o período de incubação apresentavam colônias características eram encaminhadas ao teste bioquímico, que consistia em selecionar a colônia que seria testada e, com uma agulha estéril, era retirada o material da colônia, e passado para os meios LIA e TSI por meio de uma agulhada na base do tubo e o estriamento na rampa do meio, e para o teste bioquímico em Agar Ureia, o qual recebia o material apenas pelo estriamento da sua rampa. Os testes eram incubados por 24hrs a 37°C.

Depois da realização de todos os processos, se os testes bioquímicos apresentassem características de *Salmonella*, a colônia era submetida ao teste sorológico, que consistia em dispor uma gota do soro somático sobre uma lâmina, retirar o material da rampa de crescimento dos meios utilizados com uma alça, fazendo a homogeneização. Caso ocorresse a aglutinação, confirmava-se a presença do patógeno.

Todos os processos realizados foram feitos em bancada próximo ao bico e Bunsen aceso, para evitar a contaminação dos materiais. A limpeza da bancada e das mãos era sempre feita utilizando álcool 70%.

#### **4.3. Quantificação de *Staphylococcus coagulase positiva***

A análise de *Staphylococcus coagulase positiva* foi baseada na ISO 6888-1:2016.

Os files de pescados passavam por uma pesagem em placas de petri com talheres estéreis, onde cada amostra era preparada contendo 25g. Com a pesagem realizada, a amostra era disposta em sacos estéreis com 225mL de solução salina e passava por um processo de homogeneização manual.

Após a amostra estar homogenia na solução inicial, era retirado 1,0mL de amostra e adicionado em tubos de ensaio com 9mL de solução salina e assim sucessivamente, realizando diluições seriadas. As análises eram realizadas em triplicata.

Transferia-se por meio de uma pipeta estéril 1,0 mL da suspensão inicial para três (3) placas de 90mm. Em seguida, eram preparadas diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , transferindo destas diluições 0,1 mL da amostra para as placas com o agar BHI. Espalhava-se o inóculo o mais rápido possível sobre a superfície do agar usando uma alça de drigalski, permitindo que as placas secassem em temperatura ambiente por aproximadamente 15 minutos antes da incubação. Para incubá-las, as placas eram invertidas e incubadas por 48 hrs a 37°C.

Após o período na estufa, as placas eram retiradas, passavam pela contagem do número de colônias típicas e atípicas quando apresentavam crescimento. Ocorria a seleção de cinco colônias típicas e cinco colônias atípicas, quando havia a presença.

Para realizar o teste, as colônias típicas e atípicas eram colocadas em tubos com 1,0mL de BHI, e incubadas em estufa a 37°C por 24hrs. Em seguida, o teste de coagulase era realizado, sendo feito com a utilização de plasma de cavalo. Em eppendorfs continham 0,3mL de plasma e era adicionado 0,1mL da amostra que foi inoculada em BHI, ficando na estufa por 24hrs a 37°C.

Ao fim do processo de incubação, os eppendorfs com o plasma e a amostra eram retirados da estufa, caso a bactéria fosse coagulase positiva, no fundo da vidraria ia se encontrar um coagulado, que, mesmo virando permanece intacto.

## **5. Resultados e Discussão**

No presente estudo, 39 amostras de filés de pescados refrigerados e 2 amostras de files congelados de 7 espécies diferentes foram analisadas buscando a detecção de *Salmonella ssp.* e contagens *Staphylococcus* coagulase positiva.

Das 41 amostras que foram analisadas, 3 delas apresentaram resultados característicos de *Salmonella* nos testes bioquímicos, confirmadas pelo teste sorológico. Em relação às contagens para *Staphylococcus* coagulase positiva, nenhuma amostra apresentou contagens superiores aquelas preconizadas pela legislação ( $1 \times 10^3$  UFC/g), porém 16 delas mostraram a presença do patógeno e, 2 destas apresentaram valores de contagens que, segundo a legislação, são classificadas como amostras de qualidade intermediária (entre  $1 \times 10^2$  UFC/g e  $1 \times 10^3$  UFC/g).

Os resultados que foram obtidos através das análises microbiológicas estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, sendo separados por peixaria onde foram obtidos.

**Tabela 2:** Resultados encontrados pelas análises dos files de pescados refrigerados obtidos da peixaria 1.

Número da Amostra	Peixaria	Contagem de <i>Staphylococcus</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Salmonella</i> (25g)
238	1	$2,3 \times 10^1$	Ausência
239	1	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
240	1	$3,0 \times 10^2$	Ausência
243	1	$3,0 \times 10^1$	Ausência
244	1	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
245	1	$1,5 \times 10^1$	Ausência
246	1	$1,5 \times 10^1$	Ausência
251	1	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
253	1	$1,9 \times 10^2$	Ausência
258	1	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
259	1	$3,6 \times 10^1$	Ausência
260	1	$3,5 \times 10^1$	Ausência
261	1	$1,0 \times 10^1$	Ausência

Ao analisar a Tabela 1, pode-se observar que a maioria das amostras analisadas (9 de 13) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva. Todos os resultados encontrados estavam de acordo com a legislação vigente, porém, 2 delas apresentam valores de contagens que as caracterizaram como amostras de qualidade intermediária. Em relação a presença de *Salmonella*, nenhuma amostra apresentou o patógeno.

**Tabela 3:** Resultados encontrados pela análise dos filés de pescados refrigerados obtidos na peixaria 2.

Número da Amostra	Peixaria	Contagem de <i>Staphylococcus</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Salmonella</i> (25g)
226	2	$7,2 \times 10^1$	Ausência
227	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
228	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
229	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
230	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
231	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
232	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
233	2	$1,0 \times 10^1$	Ausência
234	2	$2,6 \times 10^1$	Presença
235	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
236	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
237	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
247	2	$< 1,0 \times 10^1$	Presença
248	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
249	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
250	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
252	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
262	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
263	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
264	2	$1,0 \times 10^1$	Ausência
265	2	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
266	2	$< 1,0 \times 10^1$	Presença

Das 22 amostras apresentadas na Tabela 2, observa-se em sua grande maioria a ausência de detecção de ambos os microrganismos que estão sendo estudados, porém, ocorreu a presença de *Salmonella* em três amostras.

**Tabela 4:** Resultados obtidos pela análise dos filés de pescados refrigerados obtidos na peixaria 3.

Número da Amostra	Peixaria	Contagem de <i>Staphylococcus</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Salmonella</i> (25g)
254	3	$3,5 \times 10^1$	Ausência
255	3	$1,0 \times 10^1$	Ausência
256	3	$< 1,0 \times 10^1$	Ausência
257	3	$1,7 \times 10^1$	Ausência

Nos resultados apresentados na Tabela 3, pode-se observar a ausência de *Salmonella* em todas as amostras analisadas, mas, encontra-se valores de contagens (dentro dos limites apresentados pela legislação) para *Staphylococcus* coagulase positiva em 3 das quatro amostras analisadas.

Também foram analisadas 2 amostras de filés de pescados congeladas, nas quais não foram detectadas a presença dos microrganismos analisados neste trabalho.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nos alimentos está diretamente associada aos manipuladores, pontuando que este patógeno faz parte da microbiota humana normal, encontrado com uma frequência maior na pele e mucosas, e quando associado a uma higiene precária por meio dos manipuladores, dificilmente será encontrada uma amostra com contagem zero (ANVISA, 2008; OLIVEIRA; GONÇALVES, 2015). Segundo Junior e colaboradores (2019), *Staphylococcus* possui um crescimento ideal entre 7°C e 46°C, sendo bactérias sensíveis a tratamentos que utilizam o calor, como a pasteurização e a esterilização, porém, se mantém bem em temperaturas de resfriamento, comumente usadas em armazenamento dos alimentos.

Em um estudo realizado por COSTA e colaboradores (2018), 15 de 20 amostras de pescados apresentaram *Staphylococcus coagulase positiva*, sugerindo que está contaminação tem origem no gelo usado para conservação, o qual poderia estar contaminado, indo contra ao que o Decreto 9.013 (BRASIL, 2017) dispõe: “O gelo utilizado na conservação do pescado deve ser produzido a partir de água potável ou de água do mar limpa”. Além das condições de armazenamento que podem favorecer a contaminação cruzada dos alimentos, a manipulação incorreta dos produtos comercializados, através do contato, pode resultar amostra positivas para contagens de *Staphylococcus coagulase positiva* (Bujjamma; Padmavathi, 2015)

Segundo a ANVISA (2020), os locais de comercialização e manipulação dos pescados devem apresentar alguns cuidados necessários, como janelas ou aberturas de locais onde ocorre a manipulação do produto possuindo tela de proteção com o intuito de afastar e evitar a entrada de insetos ou outros animais, visto que, principalmente os insetos são veiculadores de microrganismos por

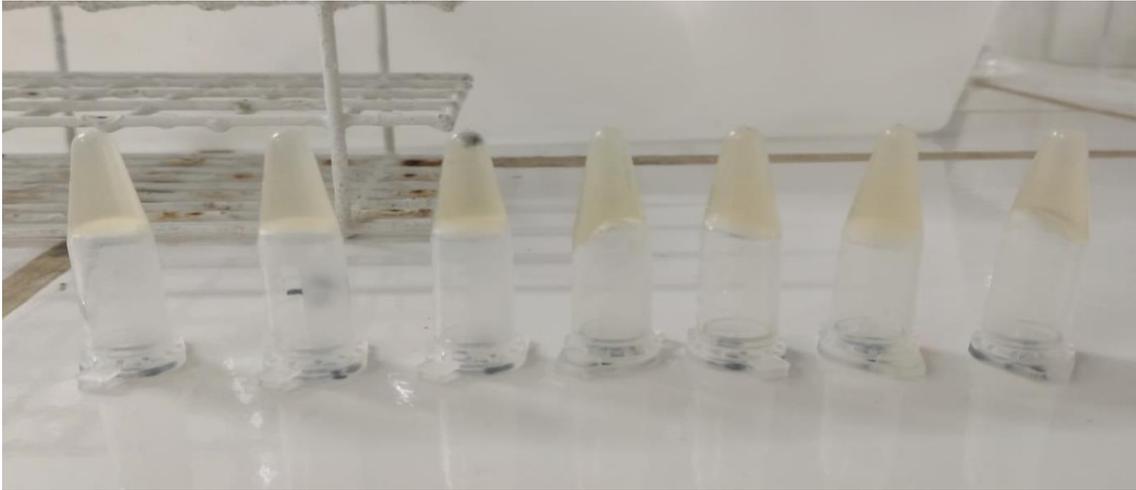
meio das patas, considerando que o inseto pode pousar em fezes e em seguida pousar em um alimento que irá direto para o consumo humano. Condições estas que não foram observadas nos locais onde foram adquiridas as amostras.

Neste trabalho, foram analisadas 39 amostras de filés de pescado refrigerados, de 7 espécies diferentes e, 2 amostras de filés de pescados congeladas de duas espécies diferentes. Destas, 16 amostras apresentaram contagem para *Staphylococcus* coagulase positiva após serem submetidas as análises recomendadas pela legislação, apresentando colônias características e positivando no teste de catalase como podemos ver nas figuras 1 e 2, posteriormente, com valores variando de  $1 \times 10^1$  UFC/g a  $3,0 \times 10^2$  UFC/g UFC/g, estando todas dentro do limite permitido segundo a IN 60, de 23 de dezembro de 2019, que preconiza  $1 \times 10^3$  UFC/g como limite máximo de contagens para este patógeno nas amostras analisadas.



**Figura 1:** Placa de Petri contendo colônias típicas e colônias atípicas de *Staphylococcus*.

**Fonte:** Autoria própria.



**Figura 2:** Eppendorf com plasma coagulado.

**Fonte:** autoria própria.

Dentre as 41 amostras analisadas, 13 foram obtidas na peixaria 1. Destas, 9 amostras apresentaram contagens positivas para *Staphylococcus* coagulase positiva, que, apesar de estarem dentro dos limites máximos exigidos pela legislação, duas foram classificadas como qualidade intermediária por apresentarem contagens de  $3,0 \times 10^2$  UFC/g e  $1,9 \times 10^2$  UFC/g, respectivamente (BRASIL, 2019).

Os resultados encontrados neste trabalho não colocam as amostras como um risco à saúde do consumidor, visto que todas as contagens estão abaixo do preconizado pela legislação vigente. Germano; Germano (2015), sugerem que o valor intoxicante se encontra em  $10^5$  UFC/g. O agente causador da intoxicação não é a bactéria em si, mas a enterotoxina liberada no alimento durante seu desenvolvimento, além das intoxicações alimentares terem suas causas, predominantemente, por cepas produtoras da enzima coagulase (SCHELIN *et al.*, 2011). Segundo Forsythe (2013), a intoxicação estafilocócica tem um início violento, com múltiplos sintomas como náusea, vômito, cólicas intestinais, podendo passar para sintomas mais graves como cefaleia, mudança de pressão e pulsação ou até mesmo câimbra muscular.

A higienização do local e do comerciante é importante, tendo em vista, que as pessoas que trabalham com o produto podem não reconhecer o risco de não higienizar as mãos após limpeza e filetagem dos peixes ou após terem contato com o dinheiro. Cortese *et al* (2016), em um estudo realizado em Florianópolis/SC, revelaram que 95% dos vendedores aos quais foram aplicados

um questionário, afirmaram manipular dinheiro e alimentos sem higienizar as mãos, e 65% afirmaram lavar as mãos durante o dia, mas com uma baixa frequência de higienização, em grande parte incorreta, uma vez que 24% afirmaram lavar só com água.

Independente do número de amostras com contagens encontradas em cada estabelecimento, todos as peixarias apresentaram contaminações, mesmo que singelas. Quando nos referimos às doenças veiculadas por alimentos, os pescados se encontram na 13<sup>a</sup> posição entre os alimentos veiculadores. Dentre os anos de 2012 e 2021, o número de pessoas envolvidas em surtos de doenças de origem alimentar foi de 104.839, sendo, aproximadamente, 1.990 contaminadas através da ingestão de pescados (BRASIL, 2022).

Entre os anos de 2012 e 2021, 37,7% dos casos de surtos de doenças de origem alimentar tiveram como local de ocorrência a residência da população. Em função disso, mesmo os valores de contagens encontrados neste trabalho estando dentro dos limiares de qualidade aceitável e qualidade intermediária segundo a legislação, (IN n° 60, 2019), é importante atentar-se para um cuidado com o tempo até o consumo desde do dia da compra, a maneira com que o pescado será armazenada, e se a temperatura de armazenamento será menor do que a de crescimento da bactéria, uma vez que a produção da toxina pode ser afetada pelo pH, atividade de água do produto, temperatura e atmosfera (SCHELIN *et al.* 2011).

Segundo a legislação brasileira não é permitido a presença de *Salmonella* em alimentos destinados ao consumo da população, tendo em vista o que a bactéria pode acarretar danos a saúde humana (BRASIL, 2019).

Dentre as 41 as amostras analisadas, 3 (7,5%) apresentaram características típicas da bactéria, foram submetidas ao teste sorológico, confirmando a presença do patógeno. Das amostras contaminadas, duas eram de Linguado e uma de Salmão.

A presença da *Salmonella* nas amostras de pescados sugere falha durante o manuseio dos pescados, uma vez que a *Salmonella* é uma Enterobactéria. Esta contaminação pode ter ocorrido no momento da captura, na limpeza do pescado, através dos materiais usados na evisceração e filetagem

(DANTAS FILHO *et al*, 2020), ou ainda durante o manuseio no momento da comercialização.

Como já descrito na literatura, *Salmonella* é um microrganismo produtor de biofilme em diferentes superfícies usadas na indústria de alimentos (PONTIN,2021). As três amostras que apresentaram *Salmonella* são oriundas da mesma peixaria (Peixaria 2), o que sugere que a contaminação esteja presente nas superfícies de manipulação destes pescados, visto que o intestino do pescado não é habitat natural deste patógeno em questão (GAZAL, et al., 2018).

A contaminação cruzada é definida como a transmissão de um patógeno de fontes naturalmente contaminadas para um produto pronto para o consumo, um exemplo disso é a transferência da bactéria naturalmente presente na carcaça do frango ou do suíno por meio de superfícies não higienizadas para alimentos que não possuem-na prontos para o consumo como saladas (TACHE, 2014), sendo uma preocupação quando alimentos contaminados chegam às cozinhas dos consumidores, mesmo que estes tenham que passar por processo térmico para serem consumidos (SOARES, 2020). Neste trabalho, uma das amostras positivas para *Salmonella* é filé de salmão, pescado que pode ser ingerido cru, o que agrava o risco oferecido ao consumidor.

Em um estudo realizado por BARRETO (2020) analisando filés congelados das espécies Sardinha, Merluza e Corvina, de 36 amostras avaliada, 5 apresentaram *Salmonella*. O autor sugere que a contaminação está associada a condições inadequadas de higiene e conservação do produto, deixando-o exposto em temperaturas elevadas, propiciando a contaminação e sobrevivência do microrganismo.

Entre a primeira amostra positiva para *Salmonella* (amostra 234) e a segunda (amostra 274) houve um intervalo de uma semana, visto que as coletas eram realizadas semanalmente. A proximidade entre as duas primeiras amostras positivas, sendo ambas da mesma peixaria, sugere contaminação proveniente do local, através de contaminação cruzada ou persistência do patógeno nos instrumentos ou superfícies de manuseio, conforme citado por SEIXAS e

colaboradores (2009), BOUBENDIR *et al* (2020) e MACHADO (2020), podendo acontecer por uma ineficiência no processo de higienização.

A *Salmonella* permanece viável em superfícies de contato com o alimento por longos períodos, segundo Carrasco (2012), além de ser formadora de biofilme em superfícies de plástico, cimento, borracha, vidro, aço inoxidável, resistindo as condições de secagem e limpeza do ambiente (STEENACKERS *et al.*, 2012). Com a adesão do filme, dificilmente ocorrerá a higienização da superfície de forma efetiva, sendo considerado um evento potencialmente perigoso, pelas contaminações que poderão se suceder (WANG, 2015). A presença na terceira amostra, está pré-disposta a uma associação de contaminação cruzada após a captura e manipulação, tendo em vista o espaçamento de um grupo amostral para outro.

A obtenção resultados confirmatórios para este patógeno em apenas uma peixaria, não excluem a possibilidade de que possa haver a presença de contaminação por *Salmonella* em outras, visto que não foi realizada análise em todas as peixarias da cidade. Além disto, a contaminação por este microrganismo por este microrganismo ocorre por meio de contaminação cruzada na amostra em questão, sendo influenciado pelo método de manuseio, o local de retirada e o manejo durante este processo, o cuidado com o material usado para filetagem e evisceração e a forma com que o alimento irá ficara armazenado, exposto e comercializado. Fatores que podem variar de acordo com os estabelecimentos não foram analisados e pessoas que fazem a extração destes animais do seu habitat.

## 6. Considerações finais

Os resultados encontrados durante a realização do trabalho estão dentro do preconizado em relação a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, mas fora do preconizado para *Salmonella*, segundo a legislação vigente (Instrução Normativa IN 60, de 23 de dezembro de 2019).

Estas contaminações apresentam falha dos responsáveis ao analisar de forma mais rigorosa todo o processo de comercialização do pescado na cidade de Pelotas.

Percebe-se a necessidade de que os órgãos competentes apresentem aos comerciantes a forma correta de processamento deste insumo, além de lhes sugerirem, em determinadas situações, locais de trabalho com melhores condições, podendo evitar a contaminação cruzada por meio de insetos ou animais que possam estar transitando nestes lugares, locais estes que estão citados na Cartilha de Boas Práticas para Serviços de Alimentação (ANVISA, 2020).

Ressaltando também, a importância do uso de EPI's durante esse manuseio, podendo evitar a contaminação, principalmente de *Staphylococcus* por ser uma bactéria que está naturalmente presente na pele e mucosas, onde a presença de máscaras, jalecos ou aventais seria de significativa importância.

Com tudo, os pescados oferecidos no comércio de Pelotas apresentarem uma boa condição sanitária quando observado somente a presença de *Staphylococcus*, sendo importante haver cuidados durante o armazenamento, preparo e cocção, para evitar a contaminação cruzada nos utensílios ou alimentos já prontos para o consumo, além do uso de alimentos frescos e sem nenhuma característica de deterioração. Em relação a *Salmonella*, os parâmetros estão fora do permitido na peixaria 2, visto que a legislação dispõe que o alimento só é apto quando ele possui a ausência da bactéria.

## 7. Referências

+2/5

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of Salmonella in seafood safety. Food Research International, London, v. 45, n. 2, p. 780-788, 2012.

ANISA. MC boas práticas. Brasília, Modulo 4 Gram-positivos2008. Disponível em: <Gram-positivos (anvisa.gov.br)> Acesso: 02 de março de 2022

ANVISA. Cartilha sobre Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/manuais-guias-e-orientacoes/cartilha-boas-praticas-para-servicos-de-alimentacao.pdf/view>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2022.

BARRETO, N. S. E. *et al.* Qualidade microbiológica e físico e química de peixes congelados comercializados em supermercados de Cruz das Almas, Bahia. Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 2,p.9099-9108 feb. 2020.

BOUBENDIR, S. *et al.* Research paper Salmonella contamination of broiler chicken carcasses at critical steps of the slaughter process and in the environment of two slaughter plants: Prevalence, genetic profiles and association with the final carcass status Salmonella contamination of broiler carcasses. Journal of Food Protection, 2020

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RIISPOA. Decreto 9.013, de 29 de março de 2017. Disponível em: <[http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro\\_ged/pdf/2511\\_GED.pdf](http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/2511_GED.pdf)> Acesso em: 21 de março de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Diretoria Colegiada, Brasília, DF. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. 2. ed. Brasília 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. 2. ed. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. 1aed. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária, Fundação Oswaldo Cruz. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância e Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil. Brasília, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Brasília, 2016.

BRASIL. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 de set. de 2004.

BUJJAMMA, P. & PADMAVATHI, P. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in fish samples of local domestic fish market. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, 427-433. 2015.

CAMPOS, D. S.; PAIVA, Z. C. Condição higiênico-sanitária do pescado comercializado em feira no município de Manaus-AM. *Cadernos de PósGraduação da FAZU*, v. 2, p.1-7, 2012.

CARRASCO, E., MORALES-RUEDA, A., & GARCÍA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and 352 recontamination by *Salmonella* in foods: a review. *Food Research International*, 45(2), 545-556. 2012

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Public Health Image Library, (PHIL), 2019. Disponível em: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=23250>

CORTESE, R. D. M., VEIROS, M. B., FELDMAN, C., & CAVALLI, S. B. Food safety and hygiene practices of vendors during the chain of street food production in Florianópolis, Brazil: A cross-sectional study. *Food Control*, 62, 178-186. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.027> (2016).

DANTAS FILHO, J. V. *et al.* Cadeia do pescado: Salmonella spp. como agente contaminante. *Revista Ciência e Saúde Animal*, v. 2, p. 49–68, 2020.

DE ALMEIDA, P. C.; MORALES, B. F. Análise das condições microbiológicas e higiênico-sanitárias da comercialização de pescado em mercados públicos de Itacoatiara, Amazonas, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 32247-32269, 2021.

FAO 2001-2020. FISHERIES AND AQUACULTURE TOPICS. FISHERIES STATISTICS AND INFORMATION. TOPICS FACT SHEETS. In: FAO Fisheries Division [online]. Rome. Updated 14 August 2020. <<https://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>> Acesso: 12 de janeiro de 2022.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. The State of World Fisheries and Aquaculture, Rome, 2018; 274p. 2018.

FEITOSA, A. C., *et al.* *Staphylococcus aureus* em alimentos. *Revista Desafios*, v. 4, n. 4, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15>, Acesso em: 20 de fevereiro de 2022.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2011. Disponível em: <Staphylococcus aureus em Ambientes de Saúde | | HAI CDC>. Acesso em 20 de fevereiro de 2022

FERNANDES, D. V. G. S.; *et al.* Salmonella spp. in the fish production chain: a review. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 48, n. 8, p. 1-11, e2018141, 2018

FERRARI, A. M., OLIVEIRA, J. D. S. C., & SÃO JOSÉ, J. F. B. D. Street food in Espírito Santo, Brazil: a study about good handling practices and food microbial quality. *Food Science and Technology*, Ahead of Print, 01-08. 2021.

GAZAL, L. E. S. *et al.* Salmonella sp. Em peixes- qual a importância para a sanidade do pescado? PESQUISA AGROPECUARIA GAÚCHA, Porto Alegre, v.24, ns.1/2, p. 55-64, 2018.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. 5. ed. Barueri (SP): Manole, p. 308-314, 2015.

JARVIS, N. A., *et al* An overview of Salmonella thermal destruction during food processing and preparation. Food Control, 68, 280-290. (2016)

LPSN. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. Disponível em: < <https://www.bacterio.net/>>. Acesso em 02 de abril de 2022.

MACHADO, G. B.; *et al.* Isolamento e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de Salmonella durante o abate de suínos. Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 8, p. 54405-54413 aug. 2020.

MACIEL, E. S. *et al.* Avaliação do consumo de pescado durante campanha de incentivo em comunidade universitária. Rev. Ciênc. Ext.v.15, n.1, p.93-100, 2019.

MAIA, M. D. O; MAIA, M. D. O. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de uma lanchonete no município de Limoeiro do Norte-CE. Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, v. 10, n. 1, 2017.

MOURA R.F *et al.* Avaliação microbiológica de sushis a base de salmão preparados em restaurantes especializados em culinária japonesa da região do Agreste Paraibano. Alimentação Humana. v. 21, 2015.

OLIVEIRA, N.S. de; GONÇALVES, T.B. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em creches da cidade de Juazeiro do Norte, CE. Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia, Juazeiro do Norte, v. 3, n. 1, p.3-8, ago. 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018. Disponível em: <CA0191EN.pdf (fao.org)> Acesso em: 13 de janeiro de 2022

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. FAO. Estadísticas de pesca y acuicultura. Disponível em: <FAO Departamento de pesca y acuicultura - Anuario de estadísticas de pesca y acuicultura - Producción de acuicultura> Acesso em: 13 de janeiro de 2022

PASTRO; D. C. *et al.* Use of molecular techniques for the analysis of the microbiological quality of fish marketed in the municipality of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Food Science and Technology*, Campinas, v. 39(Suppl. 1), p. 146-151, 2019.

PEIXE BR. Associação Brasileira da Piscicultura. (2021). Anuário 2021. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2021/> Acesso em: 20 de janeiro de 2022

PONTIN KP, BORGES KA, FURIAN TQ, CARVALHO D, WILSMANN DE, CARDOSO HRP, *et al.* Antimicrobial activity of copper surfaces against biofilm formation by *Salmonella Enteritidis* and its potential application in the poultry industry. *Food Microbiology*. 2021.

RASIGADE; J. P., DUMITRESCU; O., LINA; G. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Microbiol Infect.*;20(7):587–588. 2014.

RODRIGUES, D. P. Salmoneloses aviárias e saúde pública. ANAIS DO 19º SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA E 10º BRASIL SUL POULTRY FAIR, v. 89, p. 98, 2018.

SEIXAS, N.F; TOCHETTO, R; FERRAZ, S.M. Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.2, p. 634-640. 2009

SILVA, F. J. F. DA *et al.* Compra do Pescado na Feira de Juruá: Fatores que influenciam na tomada de decisão. *Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFAM*, v. 10, n. 1, p. 16–24, 2016.

SILVA-JÚNIOR, A. C. S; *et al.* Aspectos higiênico-sanitários na comercialização no Mercado de Pescado Igarapé das Mulheres, Macapá-AP. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, v. 6, n. 4, 2016.

SOARES, V. M.; PEREIRA, J. G.; GARCIA, L. N. H.; PINTO, J. P. A. N. Salmonella em frangos e a contaminação cruzada por meio de superfícies de corte em cozinhas domésticas. *Vet. e Zootec.*; 27: 001-012, 2020.

STEENACKERS, H. et al. Salmonella biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*. v. 45, p. 502–531. 2012.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 6a ed. São Paulo: Livraria Attheneu, 912 p., 2015.

TURNER N. A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(4):203–218.

UNITED NATIONS. DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS POPULATION DYNAMICS. World Population Prospects 2019. Disponível em: [https:// population.un.org/wpp/DataQuery/](https://population.un.org/wpp/DataQuery/)

WANG, H., ZHANG, X., ZHANG, Q., YE, K., XU, X., & ZHOU, G. Comparison of microbial transfer rates from Salmonella spp. biofilm growth on stainless steel to selected processed and raw meat. *Food Control*, 50, 574-580, 2015.

XIMENES, Luciano Feijão. Produção de pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro. 2021.