

## PESQUISA DE *Staphylococcus aureus* EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) ARMAZENADA EM GELO

[Search of *Staphylococcus aureus* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored in ice]

Karoline Mikaelle de Paiva Soares<sup>1\*</sup>, Alex Augusto Gonçalves<sup>2</sup>, Lara Barbosa de Souza<sup>3</sup>, Jean Berg Alves da Silva<sup>4</sup>

1. Doutoranda em Ciência Animal. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

2. Professor Doutor, Coordenador do Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado (LAPESC), Departamento de Ciências Animais, UFERSA.

3. Discente do curso de graduação em Biotecnologia, Departamento de Ciências Animais, UFERSA.

4. Professor Doutor, Coordenador do Laboratório de Inspeção de Alimentos de Origem Animal (LIPOA), Departamento de Ciências Animais, UFERSA.

**RESUMO** - A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) possui características favoráveis a produção em larga escala, como a aceitação pelo consumidor. Porém, este produto pode veicular bactérias patogênicas o que representa um risco à saúde do consumidor. Dentre estas bactérias, destaca-se o *Staphylococcus aureus*, por associar-se à manipulação inadequada de alimentos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *S. aureus* em tilápia do Nilo armazenada em gelo, procedente de um viveiro de cultivo localizado no município de Apodi-RN. Neste contexto, capturou-se 108 amostras de tilápia do Nilo em um viveiro de cultivo localizado no município de Apodi-RN. A tilápia do Nilo foi armazenada em refrigeração sob três formas de apresentação (inteira, eviscerada e filé sem pele). Estas amostras foram analisadas durante o período de armazenamento quanto à presença de *S. aureus* seguindo a metodologia proposta pela IN 62 (2003) do MAPA. Detectou-se ausência de crescimento de *S. aureus* durante o armazenamento. Portanto, a tilápia do Nilo capturada em viveiro de cultivo localizado no município de Apodi-RN, armazenada em gelo não apresenta riscos ao consumidor quanto à presença de *S. aureus*.

**Palavras-chave:** tilápia, viveiro de cultivo, bactéria patogênica, riscos.

**ABSTRACT** - The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) has favorable characteristics will produce large, as the consumer acceptance. However, this product may carry pathogenic bacteria that pose a risk to consumer health. Among these bacteria, we highlight the *Staphylococcus aureus*, a partner with improper handling of food. Thus, this study aimed to investigate the presence of *S. aureus* in Nile tilapia stored on ice, coming from a pond culture in the city of Apodi-RN. In this context, captured, 108 samples of Nile tilapia in a pond culture in the city of Apodi-RN. The Nile tilapia was stored under refrigeration in three forms of presentation (whole eviscerated and fillet without skin). These samples were analyzed during the storage period for the presence of *S. aureus* following the methodology proposed by IN 62 (2003) of MAPA. Found be no growth of *S. aureus* during storage. Therefore, the Nile tilapia caught in pond culture in the city of Apodi-RN, stored on ice presents no risk to the consumer as to the presence of *S. aureus*.

**Keywords:** tilapia, farming, pathogenic bacteria, risks.

\* Autor para correspondência: karolinemikaelle@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A carne do pescado constitui uma fonte de proteínas de alto valor biológico, sendo em vários países, como os da Europa e da Ásia, a proteína de origem animal de maior consumo (Germano & Germano, 2008). Com relação à quantidade e qualidade das proteínas do pescado, o teor é sempre alto, variando entre 15 a 25%. O pescado apresenta todos os aminoácidos essenciais à alimentação humana. A digestibilidade é alta, acima de 95%, conforme a espécie, e superior a das carnes em geral e a do leite, devido à mínima quantidade de tecido conjuntivo. O valor biológico é elevado (próximo de 100), determinado pela alta absorção dos aminoácidos, e superior ao de outras fontes animais como ovos, leite e carne bovina (Baldisserotto & Radünz-Neto, 2004; Oetterer et al., 2006). Além disto, esse grupo de alimentos contém vitaminas, minerais e, sobretudo, um perfil lipídico diferenciado, por apresentar ácidos graxos poliinsaturados do grupo ômega-3, principalmente os ácidos dososaeanoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) (Araújo, 2008; Gonçalves, 2011).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi introduzida nos diferentes continentes e, atualmente, se encontram em criações comerciais de quase 100 países (Zanolo & Yamamura, 2006). É uma espécie de peixe de água doce, que apresenta porte intermediário e corpo comprimido lateralmente. São animais rústicos e resistentes que reúnem diversas características desejáveis para a produção em escala comercial. Além disso, a carne da tilápia apresenta uma elevada aceitação pelo mercado consumidor e a pele desses animais pode ser aproveitada na confecção de artigos como bolsas, calçados e cintos. As vísceras são utilizadas na produção de farinhas para alimentação animal (Bentsen et al., 1998; Fitzsimmons, 2000; SEBRAE, 2008; Filho et al., 2010).

A avaliação microbiológica em alimentos é usada na avaliação retrospectiva da qualidade microbiológica ou para avaliar a “segurança” presumível dos alimentos. Os testes microbiológicos possuem limitações como opção de controle de qualidade do pescado. Estas são as limitações do tempo, já que os resultados ficam disponíveis vários dias após o teste, bem como as dificuldades relacionadas com a amostragem, métodos analíticos e uso de microrganismos indicadores (Huss, 1997).

No Brasil, a Resolução RDC N° 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define os padrões microbiológicos para alimentos expostos a venda e a exportação e preconiza um limite de  $10^3$  UFC/g para *S. aureus*. As bactérias sobre as quais a Legislação estabelece os limites quase sempre não alteram a aparência do pescado, pois a razão de suas limitações decorre destas serem patogênicas ao homem e não deteriorativas do produto, como é o caso da *S. aureus*.

A segurança do pescado quanto ao padrão microbiológico é de suma importância, visto que as doenças transmitidas por alimentos têm sempre ocorrido em decorrência da falta de cuidados e

controle desde a aquisição da matéria prima até a manipulação e processamento (Marques et al., 2009). O *S. aureus* é uma bactéria patogênica que não faz parte da flora microbiana normal dos peixes. Este grupo microbiano é responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções do mundo e que *S. aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de origem alimentar, sendo normalmente transmitido aos alimentos por manipuladores (Gonçalves, 2011; Jay, 2005; Cunha Neto, 2002). Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi realizar pesquisa de *S. aureus* em tilápia do Nilo armazenada em gelo, oriunda de viveiro de cultivo localizado no município de Apodi-RN.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram obtidos da Unidade Demonstrativa de Cultivo de Tilápias em Gaiolas, localizada no município de Apodi (RN). Os peixes foram escolhidos aleatoriamente e tinham peso médio de 650 g. O abate foi realizado por hipotermia. Imediatamente após a morte, os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, onde os exemplares de tilápia do Nilo foram separados em três lotes distintos. Cada lote era constituído de 36 exemplares de peixes selecionados ao acaso.

Os peixes de cada lote foram submetidos a pré-tratamentos distintos antes do acondicionamento em caixas isotérmicas com gelo na proporção de 1:1 (gelo: peixe). Os peixes do primeiro lote foram apenas lavados com água potável. No segundo lote, as amostras foram lavadas e evisceradas. Já no terceiro lote de peixes, os mesmos foram filetados e a pele dos filés foi removida, através de uma despeliculadora elétrica de filés de peixe. Após este procedimento, os filés foram lavados com água potável para a retirada do excesso de sangue presente e colocados em embalagens plásticas.

As caixas isotérmicas foram armazenadas em uma câmara fria, com temperatura externa e interna de aproximadamente 4°C e 0°C, respectivamente. A temperatura interna e externa das amostras durante o período de armazenamento foi controlada diariamente através de um termômetro digital.

As análises para a contagem de *S. aureus* foram realizadas durante todo o armazenamento, partindo-se de um tempo zero e repetindo-se em intervalos regulares de 72 horas, durante 21 dias. Estas análises foram realizadas, em triplicata, de acordo com a metodologia proposta pela Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2003). Inicialmente, pesou-se, em balança analítica de precisão 25g de filé de tilápia, diluindo-se em 225 mL de Solução Salina Peptonada Tamponada a 0,1%. Através de um Stomacher, realizou-se a homogeneização do conteúdo durante 2 minutos, o que resultou na diluição de  $10^{-1}$ , e, a partir desta, realizaram-se as diluições subsequentes:  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e

$10^{-4}$ , pipetando-se 0,1 mL de cada diluição em tubos contendo 0,9 mL de Solução Salina Peptonada Tamponada a 0,1%. Após o preparo das diluições, realizou-se a semeadura em Agar Baird Parker, suplementado com solução de gema de ovo e telurito, o que permite a verificação das atividades proteolítica e lipolítica do *S. aureus* em temperatura de 37°C, durante 48 horas. Realizaram-se as contagens das colônias típicas e não típicas nas placas que continham entre 20 e 200 colônias.

Utilizou-se como teste confirmatório a prova da coagulase. Selecionaram-se três colônias típicas e atípicas, semeando-as em tubo estéril contendo caldo BHI. Os tubos foram incubados em estufa de cultivo bacteriológico, à temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após 24 horas, replicou-se 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho, que foram incubados a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 24 horas, verificando-se a presença ou ausência de formação de coágulos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do período de armazenamento nas três formas de apresentação detectou-se ausência de crescimento de *S. aureus*. Embora tenha sido detectado crescimento *Staphylococcus sp.*, todas as colônias reagiram de forma negativa ao teste da coagulase. Esses resultados foram próximos aos encontrados por Siqueira (2001), Santos et al. (2008), Dams et al. (1996), e diferentes dos obtidos Vieira et al. (2000).

Siqueira (2001) avaliou amostras de tilápia do Nilo eviscerada, irradiadas e não irradiadas, verificando ausência de *S. aureus*. Carne de piramutaba congelada foi analisada quanto à presença de *S. aureus* por Santos et al. (2008), que encontraram apenas duas amostras positivas entre 20 analisadas. Dams et al. (1996) realizaram contagens de *S. aureus* em pescadinha inteira, registrando contagens inferiores a 20 UFC/g em toda as amostras analisadas. Vieira et al. (2000) reportaram presença de *S. aureus* em todas as amostras de tilápia do Nilo recém capturadas analisadas em seu estudo.

A ausência de *S. aureus* em filés, encontrada no presente trabalho, também foi relatada por outros autores, como Nora et al. (2012) que avaliaram filés de pescado oriundo de diferentes indústrias pesqueiras, Simões et al. (2007) que avaliaram a qualidade microbiológica de filés de tilápia tailandesa (*Oreochromis spp.*) e Soares et al. (2011) que realizaram análise de *S. aureus* em 50 amostras de filés de peixes congelados.

A RDC 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece critérios microbiológicos para *S. aureus* de no máximo  $10^3$  UFC/g. Desta forma, as amostras de tilápia, nas formas inteira, eviscerada e em filé, analisadas no presente estudo mantiveram-se dentro dos limites aceitáveis pela legislação da ANVISA durante todo o armazenamento refrigerado, mesmo quando os peixes estavam em estágio avançado de deterioração. Tal

fato ocorreu conforme o esperado, já que o *S. aureus* é uma bactéria patogênica que não faz parte da flora microbiana normal dos peixes. A sua presença em alimentos, relaciona-se à contaminação, principalmente em etapas de manipulação, já que este micro-organismo pode estar presente nas mãos e mucosas dos manipuladores (Gonçalves, 2011; Jay, 2005). A ausência destes patógenos nas amostras avaliadas no presente estudo indicam uma boa qualidade higiênico-sanitária do ambiente de captura e uma boa manipulação pós-captura, sobretudo, nos filés que são submetidos à diversas etapas de manipulação e processamento e, por isso, são mais susceptíveis à contaminação microbiana. Porém, se esta manipulação ocorrer de forma correta, empregando princípios de boas práticas de higiene, torna-se possível a elaboração de um produto com ausência de riscos ao consumidor. Esse efeito benéfico é potencializado pelo armazenamento em gelo, sob refrigeração.

Cunha Neto et al. (2002) reforçam que o gênero *Staphylococcus* é responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções do mundo e que *S. aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de origem alimentar, sendo normalmente transmitido aos alimentos por manipuladores.

## CONCLUSÃO

As amostras de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) capturadas em viveiros de cultivo localizados no município de Apodi-RN, armazenadas em gelo, sob três formas de apresentação, não apresentam riscos ao consumidor quanto à presença de *Staphylococcus aureus*, portanto, estão em conformidade com a legislação brasileira em relação a este parâmetro microbiológico.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de pesquisa concedida ao primeiro autor.

## REFERÊNCIAS

- Araújo, J. M. A. 2008. *Química de Alimentos: Teoria e Prática*. 4ª ed. Editora UFV, Viçosa, 596p.
- Baldisserotto, B. & Radünz Neto, J. 2004. *Criação de Jundiá*. Editora UFSM, Santa Maria, 232p.
- Bentsen, H.B. et al. 1998. Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 160(1/2): 145-173.
- Brasil, 2001. Anvisa - Agência Nacional De Vigilância Sanitária, Resolução – RDC, nº. 12 de 2 de janeiro – *Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da União de 10/01/2001.
- Cunha Neto, A., Silva, C. G. M. & Stamford, T. L. M. 2002. *Staphylococcus Enterotoxigênicos em Alimentos in natura e*

- processados no Estado de Pernambuco, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(3): 263-271.
- Dams, R. I., Beirão, L. H. & Teixeira, E. 1996. Avaliação da qualidade microbiológica da pescadinha (*Cynoscion striatus*) inteira e em filés nos principais pontos críticos de controle de uma indústria de pescado congelado. *Boletim do CEPPA*, 14(2): 151-162.
- Filho, J. D. S., Frascá-Scorvo, C. M. D., Alves, J. M. C. & Souza, F. R. A. 2010. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39: 112-118.
- Fitzsimmons, K. 2000. *Tilapia: the most important aquaculture species of the 21st century*. In: International Symposium on Tilapia Aquaculture, 5, Rio de Janeiro. Anais... p.3-8.
- Germano, P. M. L. & Germano, P. M. L. 2008. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. 3ª ed. Editora Manole, São Paulo, 986p.
- Gonçalves, A. A. 2011. *Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação*. 1ª ed. Editora Ateneu, São Paulo, 608p.
- Huss, H. H. 1997. *Garantia de qualidade dos produtos da pesca*. (FAO Documento Técnico sobre Pescas, 334). FAO, Roma, 176p.
- Jay, J. M. 2005. *Microbiologia de Alimentos*. 6. ed. Editora Artmed, Porto Alegre, 711p.
- Marques, C. O., Seabre, L.M.J. & Damasceno, K.S.F.S.C. 2009. Qualidade microbiológica de produtos a base de sardinha (*Opisthonema oglium*). *Higiene Alimentar*. 23(174/175): 99-104.
- Nora, N. S., Espirito Santo, M. L. P., Carbonera, N., Gonçalves, L. M. & Sune Pfeifer Santanna, C. 2012. *Avaliação microbiológica de filés de pescados oriundos de diferentes indústrias pesqueiras*. XVIII CIC. Capturado em Janeiro de 2012. On line. Disponível na internet em: [http://www.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA\\_01314.pdf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_01314.pdf)
- Oetterer, M. Regitano-d'acre, M. A. B. & Spoto, M. H. F. 2006. *Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos*. 1ª ed. Editora Manole, Barueri, 612p.
- SEBRAE. 2012. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. *Aquicultura e Pesca: Tilápias*. (2008). 47 p. Capturado em Janeiro de 2012. On line. Disponível na internet em: [http://www.gipescado.com.br/arquivos/sebrae\\_tilapia.pdf](http://www.gipescado.com.br/arquivos/sebrae_tilapia.pdf)
- Santos, T. M., Martins, R. T., Santos, W. L. M. & Martins, N. E. 2008. Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físico-química da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) congelada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60(6): 1538-1545.
- Simões, M. R., Ribeiro, C. F. A, Ribeiro, S. C. A, Park, K.J. & Murr, F. E. X. 2007. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27(3): 608-613.
- Siqueira, A. A. Z. C. 2001. Efeito da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Dissertação de mestrado em Ciências*. Universidade de São Paulo, São Paulo, 137 p.
- Soares, V. M., Pereira, J. G., Izidoro, T. B., Martins, O. A., Pinto, J. P. A. N. & Biondi, G. F. 2011. Qualidade microbiológica de filés de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu – SP. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*. 13(2) 85-88.
- Vieira K.V.M., Maia, D.C.C., Janebro, D.I., Vieira, R.H.F. & Ceballos, B.S.O. 2000. Influência das condições higiênico-sanitário no processo de beneficiamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em filés congelados. *Higiene Alimentar*. 14(71):37-40.
- Zanolo, R. & Yamamura, M. H. 2006. Parasitas em tilápias do Nilo criadas em sistema de tanques-rede. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(2): 281-288.