

 *Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

2



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

RAPHAËL AUGUSTE DANTAS

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (*Anomalocardia  
brasiliiana*) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) EMBALADOS EM DIFERENTES  
ATMOSFERAS E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO E CONGELAMENTO.

SALVADOR  
2010



RAPHAËL AUGUSTE DANTAS

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (*Anomalocardia brasiliensis*) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) EMBALADOS EM DIFERENTES ATMOSFERAS E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO E CONGELAMENTO.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a conclusão do Mestrado Acadêmico em Ciência de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aláise Gil Guimarães.  
Co-orientador: Prof. Dr. Celso Duarte Carvalho Filho.

SALVADOR  
2010

**Sistema de Bibliotecas - UFBA**

Dantas, Raphaël Auguste.

Avaliação microbiológica e físico-química de vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e siri (Família Portunidae) embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração e congelamento / Raphaël Auguste Dantas. - 2010.  
220 f. : il.

Inclui anexo.

Orientadora: Profª Drª Alaise Gil Guimarães.

Co-orientador: Prof. Dr. Celso Duarte Carvalho Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2010.

1. Alimentos congelados - Conservação. 2. Mariscos - Microbiologia. 3. Siri - Microbiologia.  
4. Alimentos - Deterioração. 5. Higiene alimentar. I. Guimarães, Alaise Gil. II. Carvalho Filho, Celso Duarte. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD - 664.94

CDU - 637.567/48

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (*Anomalocardia brasiliiana*) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) EMBALADOS EM DIFERENTES ATMOSFERAS E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO E CONGELAMENTO.

### RESUMO GERAL

Os moluscos bivalves e crustáceos são encontrados ao longo de praticamente todo o litoral brasileiro e são utilizados na composição de diversos pratos típicos da culinária regional. A Baía de Todos os Santos é um dos maiores pólos baianos de extrativismo de mariscos, porém as marisqueiras da região utilizam técnicas rudimentares para processar este tipo de alimento, pois, a maioria, desconhece os conceitos básicos das Boas Práticas de Fabricação. A carne dos mariscos é altamente perecível e pode transmitir microrganismos com potencial patogênico, caso haja falhas higiênicas nas suas etapas de processamento. Entretanto, o risco que a população enfrenta ao consumir este tipo de alimento não depende, unicamente, da aplicação correta de técnicas higiênicas durante seu processamento e da aplicação do frio durante o seu armazenamento. O tipo de marisco ingerido, a estação do ano e a qualidade das águas estuárias onde estes foram coletados também influenciam, diretamente, a qualidade do produto final. Neste trabalho, foi avaliada a qualidade higiênico-sanitária de vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e de siris da Família Portunidae processados nos distritos de Mutá, Pirajuía e Ourives pertencentes ao município de Jaguaripe e no município de Salinas da Margarida, todos situados no entorno da Baía de Todos os Santos. Foi acompanhada cada etapa de processamento dos mariscos através da tomada de tempo e temperatura e pesquisa da presença de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva nos utensílios e na superfície das mãos das marisqueiras. Em seguida, foram aliqüotadas amostras de 250 gramas dos mariscos após o processamento, em pacotes individuais em embalagens sem vácuo e a vácuo em igual proporção. Parte do marisco foi refrigerada (7°C) e outra parte congelada (-18°C). A vida útil do produto foi avaliada através de sucessivas análises microbiológicas e físico-químicas realizadas com 0, 3, 6, 9 e 12 dias de armazenamento para os mariscos refrigerados e 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 meses para os mariscos congelados. As análises microbiológicas foram compostas por contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, microrganismos psicrófilos totais, bolores e leveduras, clostrídios sulfito redutores, estafilococos coagulase positiva, coliformes termotolerantes com identificação de *E. coli* e pesquisa de *Salmonella* spp para os mariscos congelados realizados de acordo com metodologia proposta pela *American Public Health Association*. Para os mariscos refrigerados, foram realizadas as mesmas análises microbiológicas, além da determinação do número mais provável de *Vibrio parahaemolyticus*. Foram realizadas análises físico-químicas de pH e Reações de Éber para H<sub>2</sub>S e amônia. Os resultados das análises foram submetidos a regressões lineares para correlacionar o tempo de armazenamento com o pH e os parâmetros microbiológicos. As etapas de processamento dos mariscos consistiram de colheita/captura, lavagem, cocção, catação e estocagem sob refrigeração. Durante a



cozção, a temperatura dos mariscos ultrapassou os 98°C durante um tempo médio de 15 minutos para o vôngole e nove minutos para o siri. Durante a colheita e catação do vôngole, 30% e 50% das marisqueiras, respectivamente, apresentaram contaminação da superfície das mãos por estafilococos coagulase positiva, enquanto durante a catação do siri, 60% das marisqueiras mostraram contaminação da superfície das mãos por essa bactéria. Os utensílios usados para conter os mariscos após a catação apresentaram presença de estafilococos coagulase positiva em 30% para o vôngole e 40% para o siri; 20% e 40% das mãos das marisqueiras mostraram contaminação por *E. coli* durante a colheita e catação do vôngole, respectivamente; 20% dos utensílios utilizados para o processamento do vôngole também estavam contaminados por essa bactéria. Não foi encontrada *E. coli* nas mãos das marisqueiras e utensílios utilizados durante as etapas de processamento do siri. *V. parahaemolyticus* e *Salmonella* não foram isolados nos dois mariscos analisados. As amostras de siri também não apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes/*E. coli* e clostrídios sulfito redutores. Entretanto, foi encontrado contagem de microrganismos mesófilos de até 9,19 LogUFCg<sup>-1</sup> para o vôngole refrigerado e 8,88 LogUFCg<sup>-1</sup> para as amostras de siri refrigerado. Os microrganismos psicrófilos alcançaram valores de até 8,24 LogUFCg<sup>-1</sup> para o vôngole refrigerado e 10,17 LogUFCg<sup>-1</sup> para o siri refrigerado. Os bolores e leveduras foram afetados pelas baixas temperaturas e pelo vácuo oscilando suas contagens ao redor de 3 LogUFCg<sup>-1</sup> para ambos os mariscos. Os estafilococos coagulase positiva alcançaram valor máximo de 5,31 LogUFCg<sup>-1</sup> no vôngole refrigerado e 7 LogUFCg<sup>-1</sup> no siri refrigerado. O vôngole apresentou contaminação de até 3,54 LogUFCg<sup>-1</sup> para coliformes termotolerantes e 2,11 LogUFCg<sup>-1</sup> para clostrídios sulfito redutores. Quanto às análises físico-químicas, os testes de amônia e H<sub>2</sub>S não se mostraram bons parâmetros para a avaliação da vida útil do siri apresentando resultado positivo no momento zero para as amostras refrigeradas e congeladas nos dois tipos de embalagens. Entretanto, para as amostras de vôngole refrigerado, nos dois tipos de atmosfera, o teste foi eficiente demonstrando resultado positivo no sexto dia de armazenamento do produto. No vôngole congelado, o teste de amônia revelou o processo de deterioração do produto com três meses de armazenamento, enquanto o teste de H<sub>2</sub>S revelou deterioração do produto em seis meses. Quanto ao pH, o vôngole atingiu o valor mais baixo (6,18) com três dias de armazenamento para as amostras refrigeradas em embalagem sem vácuo. Para o siri, o valor mais alto (8,65) foi alcançado com nove dias de armazenamento para as amostras refrigeradas em embalagem sem vácuo. O congelamento se revelou a melhor opção para armazenar os mariscos, uma vez que estendeu a vida útil dos mariscos por cinco meses, enquanto as amostras sob refrigeração tiveram vida útil de seis dias. A aplicação do vácuo não se mostrou vantajosa em relação às amostras embaladas sem vácuo. Uma melhor higiene das mãos e utensílios das marisqueiras utilizados durante a catação dos mariscos seria importante para reduzir significativamente a contaminação da carne processada por estafilococos coagulase positiva e *E. coli* e, provavelmente, aumentaria a vida de prateleira dos mesmos.

Palavras chave: refrigerado, congelado, vôngole, siri, higiene e deterioração.

MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL EVALUATION OF CLAM (*Anomalocardia brasiliiana*) AND CRAB (FAMILY PORTUNIDAE) PACKAGING IN DIFFERENT ATMOSPHERES AND STORED UNDER REFRIGERATION AND FREEZING.

### ABSTRACT

The bivalve molluscs and crustaceans are found throughout almost the entire Brazilian coast and are used in the composition of various dishes of regional cuisine. The Baía de Todos os Santos is one of the largest clusters of Bahia extraction of seafood, but the shellfishers of the region use very rudimentary techniques to process this type of food, therefore, most know the basic concepts of Good Manufacturing Practices. The meat of seafood is highly perishable and can transmit microorganisms with pathogenic potential, if there is poor hygiene in their steps of procedure. However, the risks that people face when using this type of food depends not only of the application of proper hygienic techniques during their processing and application of cold during their storage. The type of seafood eaten, the season and quality of estuarine waters where they were collected also influence directly the quality of the final product. This research evaluated the quality of clams (*Anomalocardia brasiliiana*) and the Family Portunidae crabs processed in the Jaguaripê districts of Mutá, Pirajuía and Ourives and the municipality of Salinas da Margarida, all located around the Baía de Todos os Santos. Was monitored each step of the processing of seafood through the registration of time and temperature and the presence of *Escherichia coli* and *S. aureus* on the surface of utensils and hands of shellfishers. Then aliquots in put individual packages of were 250 grams in packages without vacuum and vacuum samples of shellfish after processing. Part of the seafood was chilled (7°C) and another part was frozen (-18°C). The shelf life of the product was evaluated by successive analysis of microbiological and physico-chemical performed with 0, 3, 6, 9 and 12 days of storage for the chilled seafood and 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months for frozen seafood. The microbiological tests were composed of counts of mesophilic aerobic microorganisms and facultative anaerobes, microorganisms psychrophilic total, molds and yeasts, sulphite reducing clostridia, *S. aureus*, thermotolerant coliforms with identification of *E. coli* and *Salmonella* spp search for frozen seafood conducted according to methodology proposed by the American Public Health Association. For chilled seafood, were counting the same microorganisms in addition to determining the most probable number of *Vibrio parahaemolyticus*. Were analyzed for physico-chemical of pH and Eberç reactions for H<sub>2</sub>S and ammonia. To correlate the time of storage with the pH and microbiological parameters were linear regressions. The stages of processing of seafood are sampling/capture, washing, cooking, collecting and storage under refrigeration. During cooking, the temperature of seafood exceeded 98°C for a median time of 15 minutes for clams and nine minutes for the crab. During the harvest and the collecting clams, 30% and 50% of shellfishers, respectively, were contaminated by the hands of the surface *S. aureus*, while during the collecting crab, 60% of the shellfishers of the area were contaminated by the bacteria from the hands. The tools used to contain seafood after collecting showed presence of

*S. aureus* in 30% to clams and 40% for crabs. 20% and 40% of the hands of the shellfishers were contaminated by *E. coli* during the harvest and the clams collecting respectively. 20% of the utensils used for processing the clams were also contaminated by the bacteria. Was not found *E. coli* on the hands and utensils of shellfishers in the processing of crab. Was not isolated *V. parahaemolyticus* and *Salmonella* in two seafood analyzed. Samples of crabs also showed no contamination with thermotolerant coliforms, *E. coli* and sulphite reducing clostridia. However, we for the found counts of mesophilic microorganisms of up to 9.19 LogUFCg<sup>-1</sup> for the refrigerated clams and 8.88 LogUFCg<sup>-1</sup> for the samples of crab chilled. The microorganisms psychrophilic reached values up to 8.24 LogUFCg<sup>-1</sup> the refrigerated clams and 10.17 LogUFCg<sup>-1</sup> for the refrigerated crab. Yeasts and molds were affected by low temperatures and the vacuum oscillated around of 3 LogUFCg<sup>-1</sup> for both seafood. The *S. aureus* reached maximum value the 5.31 LogUFCg<sup>-1</sup> for refrigerated clams and 7 LogUFCg<sup>-1</sup> in the cold crab. The clams showed contamination by thermotolerant coliforms up to 3.54 LogUFCg<sup>-1</sup> and 2.11 LogUFCg<sup>-1</sup> for sulphite reducing clostridia. How the physical-chemical tests, tests for ammonia and H<sub>2</sub>S were not good parameters for evaluating the useful life of the crab showing positive at zero for the samples chilled and frozen in two types of packaging. However, it was effective for samples of clams showing positive result for the clams refrigerated within two types of atmosphere with only six days of storage. In clams frozen, the test for ammonia revealed the deterioration process with three months of storage, while the H<sub>2</sub>S test took six months. As the pH, the clams reached the lowest value (6.18) with three days of refrigerated storage for samples in a package with air. For the crab, the highest (8.65) was achieved with nine days of storage for samples chilled in a package with air. The freezing has proved to be the best form of storage because the extended life of the seafood for five months, while the seafood under refrigeration had life of six days. The application of vacuum was not advantage for samples packaged with air. Better hygiene hand of shellfishers and utensils used during the collecting of seafood is important to significantly reduce the contamination of meat processed by *S. aureus* and *E. coli* and probably increase the shelf life of them.

Keywords: refrigerated, frozen, clams, crab, hygiene and deterioration.

## AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi o resultado do trabalho árduo de muitas pessoas envolvidas com o avanço da ciência no estado da Bahia. A CAPES, a Fapesb e diversas unidades da UFBA colaboraram para o desenvolvimento desta dissertação. O título de mestre em Ciência de Alimentos é mais um importante degrau que subo em minha jornada profissional. Deste ponto mais alto, posso olhar para trás e vislumbrar todo caminho que percorri até chegar onde estou, sem esquecer aqueles que me ajudaram a vencer todos os obstáculos que encontrei pela frente. Pela conclusão desta valiosa etapa de minha vida acadêmica, gostaria de agradecer a:

A Deus, a Força Maior que rege todo o universo e que não me desamparou, por um só segundo, durante a realização de cada uma das etapas desse trabalho.

Aos meus familiares e prezados amigos que me incentivaram a trilhar o caminho rumo à ciência e a pesquisa científica.

Minha mãe, Dr<sup>a</sup>. Tânia Regina Dantas que sempre foi um exemplo de vida e determinação, que me inspirou a explorar as possibilidades do saber e a gostar de descobrir os segredos do mundo em que vivemos. O resultado de sua dedicação excepcional surge com a conclusão de mais um trabalho acadêmico, que marca um momento único de nossas vidas.

A minha esposa, Lidiane Almeida de Oliveira pela paciência e compreensão frente às horas dispensadas no laboratório e diante do computador para me dedicar aos estudos e a produção deste trabalho.

Aos docentes e funcionários da Faculdade de Farmácia, em especial àqueles vinculados ao Mestrado Acadêmico em Ciências de Alimentos. Gostaria de agradecer, também, aos colegas do Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia (LASAB) da Escola de Medicina Veterinária e aos coordenadores e estudantes do Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos (LAMEB) vinculado ao Instituto de Biologia da UFBA pelo apoio técnico concedido durante a realização dos experimentos laboratoriais.

A professora e atual coordenadora do Mestrado Acadêmico em Ciência de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, Dr<sup>a</sup>. Aláise Gil Guimarães, orientadora, chefe, amiga e quase mãe.

Ao professor do Mestrado Acadêmico em Ciência de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, Dr. Celso Duarte Carvalho Filho. O co-orientador e principal colaborador deste trabalho.

A professora do Mestrado Acadêmico em Ciência de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, Dr<sup>a</sup>. Rogéria Comastri de Castro Almeida pelas valiosas contribuições ao longo de toda a realização deste trabalho, desde a qualificação até a avaliação final da dissertação.

A professora da Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Dr<sup>a</sup> Norma Suely Evangelista Barreto pelas observações realizadas durante a avaliação final da dissertação.

A professora Dr<sup>a</sup>. Maria Spínola Miranda, ex-coordenadora do Mestrado Acadêmico em Ciência de Alimentos e coordenadora do Laboratório de Controle de Qualidade II onde foram realizadas as análises físico-químicas deste trabalho. Muito obrigado por ter me guiado na realização deste árduo trabalho e ter ampliando meus horizontes para um novo mundo, que até então, era totalmente desconhecido para mim.

A professora Clícia Capibaripe Leite, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, coordenadora do Laboratório de Microbiologia de Alimentos situado na mesma instituição, pelo inestimável apoio técnico.

A professora Dr<sup>a</sup>. Tânia Barros, coordenadora do Laboratório de Microbiologia Clínica e atual Coordenadora do Curso de Especialização em Microbiologia, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia pela parceria realizada, onde parte das análises microbiológicas e físico-químicas foi realizada em seu laboratório.

Ao professor João Lycio Filho, ex-coordenador do Curso de Especialização em Microbiologia, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, por ceder o seu laboratório para a realização de parte das análises microbiológicas.

A professora Dr<sup>a</sup>. Rosemary, coordenadora do Laboratório de Bromatologia, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, pela realização da análise centesimal dos mariscos.

A professora Dr<sup>a</sup>. Lia Muniz Fernandes, da Escola de Medicina Veterinária, da Universidade Federal da Bahia e coordenadora do Laboratório de Sanidade Avícola da Bahia . LASAB, por ceder parte dos meios de cultura e equipamentos utilizados nesta pesquisa. Gostaria de agradecer também aos colegas e estudantes do LASAB que também colaboraram, de alguma forma, na realização deste trabalho.

A diretora do Instituto de Biologia, da Universidade Federal da Bahia e coordenadora do Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos (LAMEB), Marlene C. Peso de Aguiar e a bióloga Ana Clara Silva de Jesus, também vinculada ao LAMEB, pela identificação zoológica dos mariscos.

A professora Dr<sup>a</sup>. Ryzia do Mestrado em Ciências de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia por sua colaboração.

Aos colegas do mestrado, em especial a Henrique Reis Sereno, Daniela Benevides e Roberta Barbosa de Meneses que me auxiliaram na pesquisa, participando desde a discussão teórica do conteúdo do trabalho até a lavagem das vidrarias utilizadas nas análises laboratoriais. Aos outros colegas, cujos nomes foram suprimidos, mas não esquecidos, agradeço muito a colaboração.

A todos os funcionários e estagiários do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia, em especial a Andréia, Lene, Cristiane (Ane), Rejane, e seu Manoel. Sem a ajuda de vocês, eu não poderia, se quer, esterilizar as vidrarias ou meios de culturas utilizados durante a pesquisa.

As estudantes da graduação em Farmácia Monique Elen Araújo e Larissa e a estudante em Medicina Veterinária Laís pelo auxílio técnico na realização das análises microbiológicas e físico-químicas.

A CAPES pelo apoio financeiro na forma de uma bolsa de mestrado.

A FAPESB pela concessão de apoio financeiro para custear a compra de parte dos materiais utilizados para as análises microbiológicas, como meio de cultura, vidrarias e equipamentos.



## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
CAPITULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
<b>Figura 1:</b> Imagem de satélite da NASA da área estudada .....	31
<b>Figura 2:</b> Desenho esquemático da área estudada .....	32
CAPITULO II: AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICOS-SANITÁRIAS E DO BINÔMIO TEMPO/TEMPERATURA DURANTE O PROCESSAMENTO DE VÔNGOLE ( <i>Anomalocardia brasiliensis</i> ) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE).	
<b>Figura 1:</b> Marisqueira escavando a areia a procura do vôngole .....	89
<b>Figura 2:</b> Grupo de marisqueiras escavando a areia a procura do vôngole .....	89
<b>Figura 3:</b> Instrumentos metálicos como facas, colheres e garfos encurvados utilizados como escavador .....	90
<b>Figura 4:</b> Vôngole recém-coletado .....	91
<b>Figura 5:</b> Foto aproximada do vôngole recém-coletado .....	91
<b>Figura 6:</b> Lavagem do vôngole na água do mar para a retirada da areia e outras sujidades .....	92
<b>Figura 7:</b> Detalhe do vôngole após a lavagem na água do mar .....	92
<b>Figura 8:</b> Estocagem do vôngole em temperatura ambiente por até 48 horas ..	93
<b>Figura 9:</b> Etapa de cocção para abertura das conchas do vôngole .....	94
<b>Figura 10:</b> Fervura máxima do vôngole para aberturas das carapaças .....	95
<b>Figura 11:</b> Balaio de palha onde é retirada a água liberada durante a cocção do vôngole .....	95
<b>Figura 12:</b> Bancada de separação manual das conchas e carne do vôngole .....	96
<b>Figura 13:</b> Vôngole após a cocção sendo colocado sobre a mesa para catação ..	96
<b>Figura 14:</b> Utensílios contendo carne do vôngole recém-catada .....	97
<b>Figura 15:</b> Recipiente utilizado para enxágue das mãos durante a catação .....	98
<b>Figura 16:</b> Insetos pousam, constantemente, sobre a carne catada do vôngole ..	98
<b>Figura 17:</b> Pacote contendo um quilo de vôngole catado .....	99

<b>Figura 18:</b> Conchas de vôngole desprezadas na calçada após o processamento .....	100
<b>Figura 19:</b> Conchas de vôngole e outro molusco bivalve da região, utilizadas para decoração da fachada de uma casa no município de Salinas da Margarida .....	100
<b>Figura 20:</b> Esquema gráfico das etapas de processamento do vôngole .....	101
<b>Figura 21:</b> Detalhe da armadilha para a captura dos siris .....	102
<b>Figura 22:</b> Armadilhas para captura dos siris sendo lançadas por pescador .....	103
<b>Figura 23:</b> Lavagem dos siris em água torneiral após a cocção .....	104
<b>Figura 24:</b> Pinças de siris separadas das carapaças para catação .....	105
<b>Figura 25:</b> Separação manual da carne das patas e pinças dos siris .....	105
<b>Figura 26:</b> Esquema gráfico das etapas de processamento do siri .....	107

**CAPITULO III: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE  
 (*Anomalocardia brasiliiana*) PROCESSADO, REFRIGERADO E CONGELADO EM  
 DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.**

<b>Figura 1:</b> Porcionamento do vôngole coletado em cada amostragem .....	127
<b>Figura 2:</b> Análises microbiológicas do vôngole refrigerado e congelado .....	131
<b>Figura 3:</b> Curva de crescimento dos microrganismos no vôngole refrigerado em embalagem sem vácuo .....	172
<b>Figura 4:</b> Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole refrigerado em embalagem a vácuo .....	172
<b>Figura 5:</b> Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole congelado em embalagem sem vácuo .....	173
<b>Figura 6:</b> Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole congelado em embalagem a vácuo .....	173

**CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE SIRIS  
 (FAMÍLIA PORTUNIDAE) PROCESSADOS, REFRIGERADOS E CONGELADOS EM  
 DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.**

<b>Figura 1:</b> Distribuição e destino das porções de siri catado .....	180
<b>Figura 2:</b> Análise microbiológica dos siris refrigerados e congelados .....	184



**Figura 3:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri refrigerado em embalagem com ar 216

**Figura 4:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri refrigerado em embalagem a vácuo ..... 216

**Figura 5:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri congelado em embalagem com ar 217

**Figura 6:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri congelado em embalagem a vácuo ..... 217

**LISTA DE TABELAS**

	<b>Pág.</b>
<p>CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICOS-SANITÁRIAS E DO BINÔMIO TEMPO/TEMPERATURA DURANTE O PROCESSAMENTO DE VÔNGOLE (<i>Anomalocardia brasiliiana</i>) E SIRIS (FAMÍLIA PORTUNIDAE).</p>	
<p><b>Tabela 1:</b> Intervalo médio de tempo e temperatura para cada etapa de processamento do vôngole, e porcentagens de amostras positivas para os microrganismos pesquisados nas mãos das marisqueiras e nos recipientes utilizados na catação do vôngole .....</p>	101
<p><b>Tabela 2:</b> Intervalo médio de tempo e temperatura para cada etapa de processamento do siri, desvios padrões e porcentagens de %wabs+ positivos para os microrganismos pesquisados nas mãos das marisqueiras e nos recipientes utilizados .....</p>	107
<p>CAPITULO III: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (<i>Anomalocardia brasiliiana</i>) PROCESSADO, REFRIGERADO E CONGELADO EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.</p>	
<p><b>Tabela 1:</b> Valores médios da análise centesimal do vôngole e seus respectivos desvios padrões .....</p>	136
<p><b>Tabela 2:</b> Médias de pH das amostras de vôngole refrigerado .....</p>	140
<p><b>Tabela 3:</b> Médias de pH das amostras de vôngole congelado .....</p>	141
<p><b>Tabela 4:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> ..</p>	144
<p><b>Tabela 5:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado embalado sem vácuo (continuação) .....</p>	145
<p><b>Tabela 6:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> .....</p>	145
<p><b>Tabela 7:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado em embalagem a vácuo (continuação) .....</p>	146
<p><b>Tabela 8:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> ..</p>	146

<b>Tabela 9:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado em embalagem sem vácuo (continuação) .....	147
<b>Tabela 10:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg <sup>-1</sup> .....	147
<b>Tabela 11:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado em embalagem a vácuo (continuação) .....	148
<b>CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) PROCESSADOS, REFRIGERADOS E CONGELADOS EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.</b>	
<b>Tabela 1:</b> Valores da análise centesimal de siri e seus respectivos desvios padrões .....	189
<b>Tabela 2:</b> Médias de pH das amostras de siri refrigerado .....	193
<b>Tabela 3:</b> Médias de pH das amostras de siri congelado .....	193
<b>Tabela 4:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri refrigerado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg <sup>-1</sup> ....	199
<b>Tabela 5:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri refrigerado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg <sup>-1</sup> .....	199
<b>Tabela 6:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri congelado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg <sup>-1</sup> .....	200
<b>Tabela 7:</b> Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri congelado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg <sup>-1</sup> .....	200

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
INTRODUÇÃO GERAL .....	21
OBJETIVOS .....	23
Objetivo geral .....	23
Objetivos específicos .....	23
<b>CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
1. A COLHEITA E O CONSUMO DE MARISCOS .....	25
2. BENEFÍCIOS DA INGESTÃO REGULAR DE PESCADO .....	27
3. A IMPORTÂNCIA DOS MARISCOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS .....	28
4. A ÁREA DE ESTUDO .....	29
5. CARACTERIZAÇÃO DOS MARISCOS .....	33
6. DETERIORAÇÃO EM PESCADO .....	38
7. MICRORGANISMOS COM POTENCIAL PATOGÊNICO TRANSMITIDOS PELA INGESTÃO DE PESCADO .....	44
7.1. Vibrios .....	49
7.2. Estafilococos coagulase positiva .....	55
7.3. Coliformes .....	58
7.4. <i>Salmonella</i> .....	60
7.5. Bacilos Gram positivos .....	61
7.6. Outros microrganismos com potencial patogênico .....	64
8. REFERÊNCIAS .....	67
<b>CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICOS-SANITÁRIAS E DO BINÔMIO TEMPO/TEMPERATURA DURANTE O PROCESSAMENTO DE VÔNGOLE (<i>Anomalocardia brasíliana</i>) E SIRI (FAMILÍA PORTUNIDAE)</b>	
RESUMO .....	82
ABSTRACT .....	83
1. INTRODUÇÃO .....	84
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	86

2.1. Material .....	86
2.2. Métodos .....	87
2.2.1. Acompanhamento das etapas de processamento dos mariscos ...	87
2.2.2. Análise estatística .....	88
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	88
3.1. Etapas de processamento do vôngole .....	88
3.2. Etapas de processamento do siri .....	102
3.3. Discussões .....	107
4. CONCLUSÃO .....	115
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	116
6. REFERÊNCIAS .....	117
<b>CAPÍTULO III: ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE</b>	
<b>(<i>Anomalocardia brasiliiana</i>) PROCESSADO, REFRIGERADO E CONGELADO EM</b>	
<b>DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS</b>	
RESUMO .....	122
ABSTRACT .....	123
1. INTRODUÇÃO .....	124
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	126
2.1. Material .....	126
2.2. Métodos .....	128
2.2.1. Identificação zoológica .....	128
2.2.2. Análise centesimal .....	128
2.2.3. Análise físico-química .....	129
2.2.4. Análise microbiológica .....	130
2.2.5. Análise estatística .....	135
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	135
3.1. Identificação zoológica .....	135
3.2. Análise centesimal .....	136
3.3. Análise físico-química .....	139
3.4. Análise microbiológica .....	144
4. CONCLUSÃO .....	163

5. REFERÊNCIAS .....	164
CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) PROCESSADOS, REFRIGERADOS E CONGELADOS EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS	
RESUMO .....	175
ABSTRACT .....	176
1. INTRODUÇÃO .....	177
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	179
2.1. Material .....	179
2.2. Métodos .....	181
2.2.1. Identificação zoológica .....	181
2.2.1. Análise centesimal .....	181
2.2.3. Análise físico-química .....	182
2.2.4. Análise microbiológica .....	183
2.2.5. Análise estatística .....	188
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	188
3.1. Identificação zoológica .....	188
3.2. Análise centesimal .....	189
3.3. Análise físico-química .....	190
3.4. Análise microbiológica .....	194
4. CONCLUSÃO .....	206
5. REFERÊNCIAS .....	207
6. ANEXO .....	215
CONCLUSÃO FINAL .....	218
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	219



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## INTRODUÇÃO GERAL

Os mariscos são animais invertebrados que vivem em ambientes marinhos, águas estuarinas ou enterrados na lama de mangues e podem ser consumidos como alimento pelo homem. Os mariscos podem ser encontrados ao longo de, praticamente, toda a costa brasileira e são compostos por dois grandes grupos: moluscos bivalves e crustáceos. Os moluscos bivalves possuem corpo mole revestido por uma concha dura e dupla. Já os crustáceos, ao invés de concha, possuem um resistente exoesqueleto calcário que envolve seus músculos e vísceras. Como exemplos de moluscos bivalves pode-se citar o vôngole, a lambreta, o mexilhão, a vieira, o mapé, o sururu e a ostra e como exemplos de crustáceos têm-se o caranguejo, o siri, o guaiamu, o aratu, o camarão e a lagosta.

A utilização de mariscos como alimento é algo muito versátil. Eles são consumidos numa variedade de pratos específicos, principalmente pela população que vive em cidades litorâneas ou próximas ao mar. A gastronomia refinada oferece pratos como cauda de lagostas, camarões empanados e ostras cruas, enquanto a cozinha popular prepara aperitivos como os caldos de lambreta e de sururu. A culinária baiana, em particular, utiliza bastante esses tipos de frutos do mar na composição de pratos típicos regionais, como moquecas ou ensopados.

Os frutos do mar, em especial os mariscos, podem ser veiculadores de diversos microrganismos com potencial patogênico. Esses microrganismos podem ser oriundos da microbiota endógena, ou introduzidos durante as etapas de colheita, beneficiamento e estocagem e também possuem importante papel na deterioração do pescado. Porém, nem todo marisco oferece o mesmo risco de causar doença de origem alimentar. O perigo ao consumir este tipo de alimento depende do tipo de marisco ingerido, estação do ano em que foi colhido, qualidade das águas onde os mesmos habitavam, cuidados durante o seu processamento e a forma de armazenamento do produto final.

A Baía de Todos os Santos é um dos maiores pólos baianos de extrativismo de frutos do mar. Para um grande número de famílias que vivem em municípios e pequenos distritos situados em seu entorno, a colheita e venda de diversos tipos de mariscos é a principal atividade econômica. Essas pessoas são nomeadas, genericamente, como ~~marisqueiras~~, apesar de nem sempre serem do sexo feminino ou terem essa atividade como única fonte de renda.



A maior parte dos moluscos bivalves e crustáceos encontrados nas praias e estuários da Baía de Todos os Santos é colhida, consumida ou comercializada na forma de catado de mariscos pela população local, sendo que uma grande proporção destes é processada de forma artesanal e sem os devidos cuidados recomendados pelas Boas Práticas de Fabricação (BPF), seja pela falta de estrutura física adequada, carência de utensílios apropriados ou de conhecimento a respeito dos conceitos básicos em Segurança Alimentar.

Para a obtenção de um catado de boa qualidade, o processamento dos mariscos deve ser realizado em local limpo e arejado, com instrumentos previamente sanitizados e o produto final deve ser armazenado sob resfriamento. O trinômio tempo, higiene e temperatura são determinantes para a manutenção das qualidades sensoriais do produto, tanto após o processamento, quanto durante o período de armazenamento.

Tendo em vista que nas localidades da Baía de Todos os Santos, o processo de colheita e separação da carne dos mariscos de suas conchas e carapaças segue um fluxograma sem controle higiênico-sanitário rigoroso, é provável que a carga microbiana inicial neste alimento seja relativamente alta, podendo haver presença de microrganismos com potencial patogênico. Também é possível, que durante seu processamento, haja sobrevivência de parte da microbiota endógena ou introdução de microrganismos exógenos acima de valores toleráveis, através das mãos e utensílios contaminados das marisqueiras.

O armazenamento do marisco, sem a correta conservação pelo frio, pode propiciar o aumento da população microbiana inicial a níveis indesejáveis, com consequente produção de metabólitos tóxicos de sabor e odor desagradáveis e deterioração precoce do alimento.

Para adiar os sinais de deterioração e, conseqüentemente, prolongar a vida útil dos mariscos processados, a aplicação de técnicas modernas de conservação, como as embalagens a vácuo, pode ser uma boa alternativa. No entanto, o uso exclusivo desse tipo de embalagem não é capaz de ampliar a vida de prateleira do produto, sendo necessário associar este recurso com pelo menos outro obstáculo, como o resfriamento, para obter êxito na tentativa de reduzir o desenvolvimento microbiano, principal responsável pela deterioração dos mariscos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária e estabelecer a vida útil dos catados de vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e siri (Família Portunidae) armazenados em diferentes temperaturas de resfriamento, embalados sem vácuo e a vácuo.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o binômio tempo/temperatura em cada etapa do processamento do vôngole e siri.
- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária das etapas de processamento dos mariscos através da pesquisa de estafilococos coagulase positiva, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* presente nas mãos das marisqueiras e nos utensílios utilizados durante a sua catação.
- Mensurar a contaminação por microrganismos com potencial patogênico presente, inicialmente, no catado de mariscos através das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, psicrófilos, bolores e leveduras, clostrídios sulfito redutor, coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* spp.
- Comparar a progressão das alterações microbiológicas e físico-químicas dos mariscos armazenados sob refrigeração (7°C) em embalagem sem vácuo e a vácuo.
- Comparar a progressão das alterações microbiológicas e físico-químicas dos mariscos armazenados sob congelamento (-18°C) em embalagem sem vácuo e a vácuo.
- Estabelecer a vida útil do catado de vôngole e siri sob as diferentes temperaturas de resfriamento, em embalagem sem vácuo e a vácuo.



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## **CAPITULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1. A COLHEITA E O CONSUMO DE MARISCOS.

No mundo, a colheita e o consumo de pescado e seus derivados é enorme, tendo em vista que muitas regiões têm a pesca e a colheita de mariscos como importante fonte de alimento e renda. O pescado representa  $\frac{1}{4}$  da oferta mundial de proteína de origem animal (RALL, CARDOSO e XAVIER, 2008). Em alguns países asiáticos, chega a ser a principal fonte de proteína animal (TOMITA et al., 2006).

Entretanto no Brasil, o consumo é bem inferior à média mundial. A falta de conhecimento, de grande parte da população brasileira, a respeito dos benefícios da ingestão constante de pescado e seus derivados e a oferta de um produto de má qualidade são uns dos principais fatores para o consumo reduzido do produto no país (SILVA et al., 2008).

Segundo Aveiro (2007), no Brasil, o consumo de alimentos de origem aquática é de aproximadamente 5,6 Kg/habitante/ano muito abaixo dos 13,1 Kg/habitante/ano recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Prentice e Sainz (2005) afirmam que, no Brasil, o índice de consumo de pescado *per capita* por ano gira em torno de 6,7 Kg.

A aquicultura tem contribuído, significativamente, para o aumento da disponibilidade de pescado no mundo. Nos últimos 25 anos, a atividade cresceu em média, 10%, contra 1,6% da pesca extrativista (FURLAN, 2004). Porém, a maior parte do pescado consumido no mundo ainda é oriundo da pesca extrativista. Segundo dados da FAO, a produção mundial de pescado pela aquicultura no ano de 1996 foi de 26,4 milhões de toneladas contra 94,6 milhões de toneladas da pesca de captura (PEREIRA, 2003).

A produção de moluscos bivalves, como mexilhões e ostras, é uma nova alternativa comercial que vem sendo difundida com sucesso através de alguns restaurantes de culinária sofisticada. Entretanto, a maricultura ainda é bastante reduzida no país, sendo Santa Catarina o estado com a maior experiência no setor, contribuindo com 93% da produção nacional de mexilhões (FURLAN, 2004). De acordo com Pereira (2003) a maior parte dos mariscos consumidos no país ainda tem origem

na pesca extrativista, consequência da falta de modernização da frota pesqueira e de pesquisas voltadas para aumentar o aproveitamento sustentável dos recursos pesqueiros disponíveis na costa brasileira.

O Brasil é um país de dimensões continentais e detém uma larga faixa litorânea banhada pelo Oceano Atlântico, com elevada capacidade de produção tanto para a pesca extrativista, quanto para a aquicultura. A extensão do litoral brasileiro é de aproximadamente 8.400 Km, estendendo-se desde o Cabo Orange (5°N) até o Chuí (34°S), sendo a maior parte sujeita aos climas tropicais e subtropicais (RAMOS, 2001). A soma desses fatores torna o potencial pesqueiro do país enorme, favorecendo a proliferação de uma grande variedade de peixes, moluscos e crustáceos que são explorados tanto pela pesca industrial quanto pela artesanal.

Os crustáceos e moluscos, são ingredientes de muitos pratos da culinária brasileira, em especial da culinária regional nordestina, na forma de moquecas, bobós, ensopados e frigideiras, principalmente em cidades onde a pesca é uma das principais atividades econômicas de subsistência (GUIMARÃES, 2002).

O hábito de comer pratos à base de pescado *in natura*, como sashimi ou ostras cruas, é uma sofisticação gastronômica que, gradativamente, tem adquirido novos adeptos no Brasil (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993). À medida que a população se desenvolve culturalmente, passam a exigir alimentos mais saudáveis e o pescado é uma boa opção devido ao seu alto valor biológico e baixo teor de lipídios (LIUSON, 2003).

Entretanto, mesmo com este consumo reduzido, os índices de produção de pescado no Brasil são significativos. Segundo dados do Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (CEPENE), do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), em 2005, foram produzidos, apenas na região Nordeste, 9.014 toneladas de moluscos e 32.759,6 toneladas de crustáceos, sendo 603,1 toneladas de vôngole e 2.302,9 toneladas de siri. Na Bahia, a produção de siri foi de 928,7 toneladas, enquanto não houve estimativa para a produção de vôngole (BRASIL, 2006).

Apesar dos dados demonstrarem um volume de produção anual razoável, a colheita de mariscos, principalmente ao longo do litoral nordestino, se resume à pesca

artesanal ou de pequena escala onde as famílias ribeirinhas capturam pequenos volumes diários de pescado com os objetivos de subsistência ou comercial, podendo não ser a única atividade econômica que executam (CARVALHO et al., 2006).

## 2. BENEFÍCIOS DA INGESTÃO REGULAR DE PESCADO.

Nos últimos anos, a publicidade sobre os efeitos benéficos obtidos com a ingestão regular de pescado e a difusão da culinária asiática no país, com destaque para a japonesa, incentivou ao brasileiro aumentar o consumo de frutos do mar e seus derivados. Além do conteúdo protéico de elevado valor biológico, dos pequenos valores calóricos e de lipídios, os mariscos também contêm quantidades consideráveis de minerais como zinco, ferro e cobre (PEDROSA e COZZOLINO, 2001).

A carne de pescado além de possuir excelente digestibilidade é rica em aminoácidos essenciais (BORGHESI, ARRUDA e OETTERTER, 2007). Ela também é fonte de vitamina A, D, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, niacina e cerca de 10% de sua proteína é formada pelo aminoácido lisina, um importante aminoácido essencial (SANTOS, 2006).

A carne de mariscos também é rica em ácidos graxos insaturados e poliinsaturados, em especial o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), além de possuírem pequenas concentrações de ácidos graxos saturados totais (AVEIRO, 2007). Os ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega-3 (EPA e DHA) e ômega-6 (ácido linoléico) são importantes agentes antioxidantes favorecendo o desenvolvimento do sistema nervoso, a hidratação da pele, o bom funcionamento da visão e do sistema imune, controlando o surgimento de enfermidades cardiovasculares, agindo na prevenção de vários tipos de câncer e retardando o envelhecimento (LIRA et al., 2004).

Alguns pesquisadores da área da ciência de alimentos tentam aumentar a aceitação da carne de pescado no mercado nacional e a disponibilidade de produtos com melhor qualidade, desenvolvendo novas tecnologias como lingüiças, empanados e marinados a base de carne de pescado (BISPO et al., 2004).

### 3. A IMPORTÂNCIA DOS MARISCOS NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS.

Historicamente, a pesca é uma das atividades mais importantes em algumas cidades afastadas dos centros urbanos, tanto do ponto de vista como produtora de alimento, quanto de empregadora de elevado contingente de mão-de-obra (RAMOS, 2001). No entorno da Baía de Todos os Santos, há muito tempo, a pesca e a colheita artesanal de mariscos são umas das principais fontes de renda das comunidades ribeirinhas (BAHIA, 2008). Entretanto, a crescente degradação antrópica dos ecossistemas estuarinos, aliados a sobrepesca e a pesca predatória continuam reduzindo a diversidade biológica, principalmente de espécies das comunidades nectônicas e bentônicas (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇA-LOPES, 2001).

Segundo Ribeiro (2004) a maior ameaça a diversidade malacológica é a degradação de seu habitat. Uma das principais formas de degradação dos ambientes costeiros é o desenfreado avanço urbano, crescente drenagem de efluentes de esgotos sem tratamento prévio sobre rios e águas costeiras, com conseqüente poluição dos sedimentos estuarinos, o substrato desse ecossistema (PONCE et al., 2008). Ribeiro (2004) cita que o derramamento de resíduos químicos provenientes de atividades portuárias próximas a estuários pode ser responsável pela exclusão de espécies marinhas mais susceptíveis. A expansão dessa atividade e a construção de novos portos, cada vez maiores, seria responsável, em parte, pelo desequilíbrio observado nesses ecossistemas.

Os pescadores e marisqueiras das cidades ribeirinhas situadas no entorno da Baía de Todos os Santos, superam as dificuldades impostas pela falta de incentivo à atividade pesqueira de pequena escala e a diminuição do volume das capturas, reinventando esta profissão que deixa de ser, para eles, apenas comércio e passa a ser cultura, sendo transmitida de geração a geração. Geralmente, a tarefa de guiar as pequenas embarcações até alto mar e pescar fica a cargo dos homens, enquanto as mulheres seguem até as praias e estuários para colher todo tipo de crustáceos e moluscos bivalves e, assim, complementar a renda familiar.

Os estuários são um dos ambientes prediletos dos mariscos, por ser propício para sua reprodução e alimentação (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇALOPES, 2001). O estuário é definido como um corpo d'água costeiro, semi-fechado, ligado livremente ao mar aberto, possuindo características físicas e biológicas exclusivas desse ecossistema (ALMEIDA, A. O., et al., 2006).

O estuário formado pela Baía de Todos os Santos é fonte de diversas espécies de mariscos para as comunidades ribeirinhas que residem em seu entorno. Esses mariscos são bastante utilizados como ingredientes de pratos da culinária regional nordestina, principalmente nas cidades onde a pesca é tradição e uma das atividades econômicas mais importantes. Em alguns de seus distritos e municípios, os mariscos são utilizados como fonte de renda, e as pessoas que os comercializam são comumente conhecidas como *marisqueiras*.

#### 4. A ÁREA DE ESTUDO.

A Baía de Todos os Santos é a maior reentrância da costa brasileira e a segunda maior baía do mundo, com 1.052 Km<sup>2</sup> abrigando 56 ilhas, sendo a maior e mais importante a ilha de Itaparica. Constitui-se num ambiente estuarino-lagunar de clima tropical úmido. Foi nominada em 1º de novembro de 1501, dia de todos os santos segundo a religião católica, quando uma expedição portuguesa comandada por Gaspar de Lemos desembarcou nas terras recém-descobertas por Pedro Álvares Cabral. É dela que vem o nome do estado (BAHIA, 2009).

Muitos rios como o Subaé, o Jaguaripe e o Paraguaçu desembocam na Baía de Todos os Santos formando estuários com extensa área de manguezais, importantes para a região, tanto do ponto de vista da diversidade biológica, quanto do sustento de várias famílias que vivem da pesca e colheita de mariscos (GUIMARÃES, 2002).

Para ordenar as atividades socioeconômicas e preservar os locais de grande significado ecológico, a Baía de Todos os Santos se tornou Área de Proteção Ambiental através do Decreto Estadual 7.595 de 5 de junho de 1999 (BAHIA, 2009).



Segundo o Instituto do Meio Ambiente (IMA), antigo Centro de Recursos Ambientais (CRA), vivem aproximadamente três milhões de pessoas nos 16 municípios que margeiam a Baía de Todos os Santos e a pesca artesanal, de uma forma geral, é a principal fonte de renda dessas comunidades ribeirinhas (BAHIA, 2008).

A pesquisa foi realizada nos distritos de Mutá, Pirajuía e Ourives pertencentes ao município de Jaguaripe e no município de Salinas da Margarida. Muitos habitantes dessas localidades possuem a colheita de mariscos como uma das principais fontes de renda.

O município de Jaguaripe está situado na latitude  $13^{\circ}06'48''S$  e longitude  $38^{\circ}53'44''O$  e possui uma população de 16.207 pessoas numa área de 891 Km<sup>2</sup> estimada pelo Censo de 2007 segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (BRASIL, 2009).

Salinas da Margarida foi criada em 1962, a partir do desmembramento de territórios da ilha de Itaparica e parte da cidade de Maragojipe. Recebeu esse nome por causa da extração de sal nas terras de uma senhora chamada Margarida (BAHIA, 2009). Está situado na latitude  $12^{\circ}52'16''S$  e longitude  $38^{\circ}45'52''O$  e possui área territorial de 148 km<sup>2</sup>, com uma população estimada de 13.090 habitantes pelo Censo de 2007 do IBGE (BRASIL, 2009).

Ambas são cidades de pequeno porte, que vivem da pesca, turismo e de um tímido comércio.

As Figuras 1 e 2 ilustram, através de uma foto de satélite e um desenho esquemático, respectivamente, a região onde foi desenvolvido este trabalho.



Figura 1: Foto de satélite da NASA da área estudada.



**Figura 2:** Desenho esquemático da área estudada.  
Fonte: [http://www.fis.ufba.br/~ossamu/Fotos/Bom\\_Jesus.ht](http://www.fis.ufba.br/~ossamu/Fotos/Bom_Jesus.ht)

## 5. CARACTERIZAÇÃO DOS MARISCOS.

Dentro das comunidades bentônicas que vivem nas proximidades dos estuários, os moluscos bivalves e crustáceos são importantes grupos zoológicos que necessitam do perfeito equilíbrio ambiental para a manutenção de suas populações (PEDRERO, 2001). Segundo Carvalho et al. (2006) os pescadores e marisqueiras da localidade de Nagé, situada no estuário do Rio Paraguaçu, Bahia, relataram que, em menos de 50 anos, houve uma redução expressiva dos estoques pesqueiros da região, devido à excessiva intervenção humana sobre o ambiente, pesca predatória de camarão com rede-de-arrasto, culminando com a construção da barragem de Pedra do Cavalo que alterou, parcialmente, o estuário.

O Filo Mollusca é o segundo maior Filo, em número de espécies, do planeta. Estimativas especulam que possa haver de 80.000 a 120.000 tipos diferentes de moluscos no mundo, sendo que cerca de 1.600 ocorrem na costa brasileira (RIBEIRO, 2004). Dentre essa infinidade de moluscos, cerca de 8.000 pertencem a Classe Bivalvia. Os primeiros registros fósseis de moluscos com conchas calcárias datam do período Cambriano os tornando um dos fósseis animais mais antigos já encontrados (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).

A classe Bivalvia, também é chamada de Pelecypoda ou ainda Lamellibrachiata e é composta por moluscos marinhos e de água doce adaptados à exploração do habitat bentônico infaunal (BRUSCA e BRUSCA, 2007). Esta Classe é composta por espécies de ostras, mexilhões, vieiras e teredos, incluindo cerca de 8.000 espécies recentemente descritas, sendo que são, aproximadamente, 6.700 espécies de água salgada. O nome utilizado comumente para bivalve é marisco, sendo correto chamar qualquer bivalve de marisco, mesmo que ele seja uma vieira ou uma ostra (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).

Os bivalves são formados por moluscos de conchas achatadas lateralmente (RIBEIRO, 2004). Esses animais são dotados de duas conchas articuladas ou valvas que protegem os tecidos moles destes organismos (BISPO et al., 2004). Uma concha

bivalve típica consiste de duas valvas calcárias, simétricas (equivalves), ovais, que se articulam uma com a outra dorsalmente (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).

Os moluscos bivalves são, primariamente, micrófagos ou suspensívoros (BRUSCA e BRUSCA, 2007). Muitos bivalves modernos usam as brânquias para filtrar o fitoplâncton, microrganismos e a matéria orgânica particulada em suspensão na água (PEREIRA et al., 2006). Esses seres filtradores depuram as sujidades do local onde habitam, alimentando-se das pequenas partículas dispersa nas águas (PEDRERO, 2001). Por isso, possuem a capacidade de acumular, em altas densidades, contaminantes das águas costeiras onde vivem, principalmente se estas receberem grande afluxo de esgoto sem tratamento como ocorre na maior parte dos grandes centros urbanos brasileiros (SERRA et al., 2004).

Esses contaminantes podem ser bactérias, protozoários ou vírus patogênicos, além de metais pesados, pesticidas e outros compostos químicos tóxicos (GALVÃO et al., 2006). Os moluscos bivalves podem vir a ser um problema de saúde pública, devido a sua forma de alimentação através da filtração e pelo hábito de serem consumidos crus ou insuficientemente cozidos (PEREIRA et al., 2007).

Há casos na literatura, de moluscos bivalves incriminados como veiculadores de microrganismos patogênicos. Em 1988, ocorreu em Xangai, o maior surto de Hepatite A da história, com mais de 300.000 casos atribuídos ao consumo de mexilhões não-cozidos provenientes de águas poluídas (BROOKS, BUTEL e MORSE, 2005).

Mesmo reconhecendo a possibilidade de ocorrência de doença transmitida por alimentos (DTA), a produção mundial de moluscos bivalves evoluiu de 0,9 milhão de toneladas em 1950 para 11 milhões em 2002 representando mais de 8% da produção pesqueira mundial neste mesmo ano (BISPO et al., 2004).

Um dos bivalves encontrados ao longo de praticamente toda a costa brasileira é o *Anomalocardia brasiliana*. Ele é conhecido pelos nomes populares de vôngole, chumbinho e berbigão (GUIMARÃES, 2002). Serra et al. (2004) denominam o *A. brasiliana* como sarnambi. Ele ainda é conhecido como *clams* nos Estados Unidos e Canadá, *almejas* na Europa e na maioria dos países da América Latina. Outras denominações utilizadas em diversas regiões do Brasil são maçonin, papa-fumo, samanguaiá e marisco pedra (AVEIRO, 2007).

A concha do *A. brasiliiana* possui formato triangular com coloração variando desde totalmente escura, até o amarelo esbranquiçado com linhas concêntricas bem delineadas (NARCHI, 1974 apud GUIMARÃES, 2002). Ele habita as zonas entre-marés, de fundo arenoso ou areno-lodoso, sempre enterrados a pequenas profundidades. Está presente desde as Índias Ocidentais até o Uruguai (AVEIRO, 2007).

Segundo Lira et al. (2004) o *A. brasiliiana* é um dos moluscos de maior importância comercial encontrado no Complexo Estuarino das Lagoas Mundaú/Manguaba no estado de Alagoas. Ele é um dos bivalves mais predados nos estuários da Baía de Todos os Santos devido sua abundância na região, facilidade de colheita, crescimento acelerado, rápida multiplicação e reprodução em praticamente todo o ano, sendo mais intenso nos meses mais quentes (GUIMARÃES, 2002).

Já os siris, pertencem ao Filo Arthropoda, Subfilo Crustacea, Classe Malacostraca, Ordem Decapoda (BRUSCA e BRUSCA, 2007). Estudos afirmam que os ancestrais dos crustáceos tiveram origem exclusivamente marinha (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005). A Ordem Decapoda agrupa várias Famílias, como a Portunidae, que possui diversas espécies exploradas pelo homem ao longo de boa parte da costa do continente americano banhada pelo Oceano Atlântico (FERNANDES et al., 2006).

Os crustáceos são bastante úteis porque, além de serem um alimento muito apreciado na cozinha de praticamente todas as nacionalidades, têm sua carapaça aproveitada como fonte de fibra e produção de quitina e quitosana (RIBEIRO, 2004). A quitosana é um polissacarídeo solúvel em água, derivado do processo de desacetilação alcalina da quitina, com capacidade de formar compostos biodegradáveis e é utilizada na biomedicina para reduzir a absorção de gorduras presente nos alimentos, reconstituição fisiológica da pele e na confecção de fios de sutura com propriedades bactericidas, fungicidas e cicatrizantes. Também é utilizada na indústria de cosméticos, agricultura e indústria de alimentos para a produção de biofilmes permeáveis e tratamento de água (BORGOGNONI, POLAKIEWICZ e PITOMBO, 2006; MOURA et al., 2006).

O táxon Crustacea engloba cerca de 42.000 espécies descritas de caranguejos, siris, camarões, lagostins, lagostas entre outras, sendo o único grande táxon de artrópodes, predominantemente aquático (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).



Os macrocrustáceos, como os siris, são um dos mais importantes grupos zoológicos dos ambientes costeiros, pois além de ser importante recurso pesqueiro é uma fonte de alimentação tanto no estágio larval, quanto na idade adulta, para os animais carnívoros que vivem neste ecossistema, tornando-se um importante elo trófico entre produtores primários (fitoplâncton) e consumidores em níveis tróficos superiores (TEIXEIRA e SÁ, 1998).

Grande parte dos portunídeos são predadores chaves do ambiente costeiro, pois controlam a diversidade, abundância e estrutura de várias comunidades bentônicas alimentando-se, principalmente, de moluscos bivalves, gastrópodes, outros crustáceos e organismos em decomposição (FERREIRA e DdNCAO, 2008).

A temperatura, a profundidade e o tipo de fundo são fatores ambientais que interferem, diretamente, na distribuição das espécies de crustáceos marinhos nos diferentes estágios de sua vida (SEVERINO-RODRIGUES, GUERRA e GRAÇA-LOPES, 2002). A distribuição dos portunídeos no ambiente pode representar a distribuição de outros megabentos devido a sua dinâmica de ocupação (KEUNECKE et al., 2008).

Parte considerável da fauna bentônica ligada às águas estuarinas é constituída por crustáceos, porém a poluição de seu habitat, ocasionado pelo desenvolvimento urbano acelerado, tem diminuído tanto quantitativamente quanto a variedade das espécies de Portunidae na costa brasileira (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇA-LOPES, 2001).

Segundo Fernandes et al. (2006) ao longo da costa brasileira são encontradas 21 espécies da família Portunidae e o gênero *Callinectes* é um dos mais importantes agrupando numerosas espécies de siris. *Callinectes* quer dizer % que nada bonito+ (WAKASA, 2003). Os membros da Família Portunidae são os nadadores mais ágeis dentre todos os crustáceos. O seu último par de apêndices torácicos é largo, achatado distalmente e se assemelha a remos possibilitando aos siris nadar, eventualmente, com grande rapidez para escapar de predadores (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).

Os siris do gênero *Callinectes* são bastante explorados nas baías e estuários da costa leste americana, tanto na América do Norte, quanto na América do Sul (BRANCO e MASUNARI, 1992). Na Baía de Chesapeake (EUA), o *Callinectes sapidus* é o mais

importante siri com valor comercial, constituindo parte considerável do comércio de pescado no país (RUPPERT, FOX e BARNES, 2005).

A captura de siris do gênero *Callinectes* é uma das atividades de extrativismo mais antigas do Brasil e muitas comunidades ribeirinhas têm essa prática como principal fonte de renda (BARRETO, BATISTA-LEITE e AGUIAR, 2006).

No entanto, este importante recurso pesqueiro ainda é explorado de forma muito artesanal e fica difícil precisar, através de cálculos estatísticos, a real produção deste fruto do mar ao longo de toda a costa brasileira (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇA-LOPES, 2001). Entretanto, há alguns dados disponíveis na literatura. A produção média anual na Lagoa de Mundaú, em Alagoas, foi de 62,5 toneladas entre os anos de 1967 a 1971 e em 1977, no Paraná, foi de 93 toneladas (BRANCO e MASUNARI, 1992). A pesca do siri alcançou, em 2004, uma produção de 1.344,5 toneladas e a Bahia foi o estado que mais contribuiu com esse montante, com uma produção de 481 toneladas correspondente a 8,25% da produção brasileira (KEUNECKE, 2006).

Siris do gênero *Callinectes* possuem nomes populares como siri-azul, siri-açú ou siri-tinga sendo encontrados no Atlântico Ocidental, Bermudas, Flórida, Golfo do México, Antilhas, Brasil e Argentina (BARRETO, BATISTA-LEITE e AGUIAR, 2006). Eles habitam estuários lodosos, manguezais, praias arenosas a lodosas até oceanos de 75 metros de profundidade (BRANCO e THIVES, 1991). Podem ser encontrados em águas salinas de enseadas ou em águas salobras na foz de rios e em pantanais (FERNANDES et al., 2006). O tempo médio de vida desses crustáceos é superior a dois anos (KEUNECKE et al., 2008).

Dentro do gênero *Callinectes* há diversas espécies como *C. danae*, *C. sapidus*, *C. ornatus* e *C. bocourti* aos quais a indústria pesqueira e as colônias de pescadores detêm profundo interesse (TEIXEIRA e SÁ, 1998). A distribuição do *Callinectes danae* é restrita ao litoral banhado pelo Oceano Atlântico, ocorrendo num espaço geográfico contido entre a Flórida e a Argentina (BRANCO e AVILAR, 1992).

No Brasil ele é encontrado desde a Paraíba até o Rio Grande do Sul, tolerando ampla variação de salinidade. Das sete espécies do gênero *Callinectes* encontradas no Brasil, o *C. danae* é o mais comum (BRANCO e THIVES, 1991). As fêmeas costumam



canalizar sua energia para a reprodução desde a maturação gonadal até a liberação dos ovos, enquanto os machos investem no crescimento (KEUNECKE et al., 2008). As fêmeas atingem o tamanho de primeira maturação, em média, com 8,4 cm de largura de carapaça e com um ano e meio de idade (BRANCO e AVILAR, 1992).

O *Callinectes ornatus* também tem sua distribuição restrita as praias banhadas pelo Atlântico e pode ser encontrado da região da Carolina do Norte (EUA) ao Rio Grande do Sul. Habita desde a desembocadura dos rios até oceanos de 75 metros de profundidade, com maior frequência de casais em ecdise e cópula durante as estações de outono e inverno e ocorrendo o surgimento de fêmeas ovígeras durante a primavera (BRANCO e LUNARDON-BRANCO, 1993).

*Callinectes danae* e *C. ornatus* são duas espécies simpátricas e sintópicas. Constituem recurso pesqueiro valioso, além de serem muito capturadas como fauna acompanhante nas pescarias de arrasto de camarões realizadas no sudeste e sul do Brasil (KEUNECKE et al., 2008). Severino-Rodrigues, Guerra e Graça-Lopes (2002) relatam que uma diversidade de crustáceos é aprisionada como fauna acompanhante da carcinocultura durante a pesca do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) no estado de São Paulo. Carvalho et al. (2006) mencionam, em seu trabalho, que durante a pesca artesanal do camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) próximo ao estuário do Rio Paraguaçu é capturado um pequeno volume de siris como fauna acompanhante.

## 6. DETERIORAÇÃO EM PESCADO.

Deterioração é o conjunto de alterações inaceitáveis ocorridas no alimento durante seu armazenamento, sendo impossível impedi-las e possível somente adiá-las (VIEIRA, 2004). Os alimentos deteriorados, quando comparados aos alimentos frescos, apresentam-se alterados, principalmente ao paladar e olfato humano. Essas alterações, geralmente, atribuem características sensoriais desagradáveis ao produto como alteração da cor, textura frágil ou odor acre (FORSYTHE, 2005).

A deterioração em pescado compreende todas as alterações que ocorrem desde a captura até a putrefação (BRITTO et al., 2007). A perda do frescor nesse tipo de alimento é o reflexo de mecanismos microbiológicos e físico-químicos que ocorrem simultaneamente após a sua morte (ALMEIDA, N. M., et al., 2006).

O pescado é um dos tipos de alimentos mais susceptíveis à deterioração, devido à elevada atividade de água, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e ao pH próximo a neutralidade (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Isso torna o pescado mais susceptível a deterioração do que a carne vermelha, pois o seu processo autolítico é mais intenso e sua menor acidez favorece a multiplicação microbiana (VIEIRA, 2004).

Do ponto de vista biológico, os frutos do mar, quando processados de maneira insuficiente e armazenados com uso inadequado da cadeia do frio, estão sujeitos a deterioração, seja pela atividade de suas próprias enzimas, processos de rancificação das gorduras ou pela atividade de microrganismos deteriorantes (JAY, 2005). Gram e Dalgaard (2002) afirmam que os microrganismos são a principal causa de deterioração em pescado. No entanto, a ação de enzimas autolíticas, desidratação, oxidação, danos físicos, entre outros são fatores significativos neste processo e, geralmente, a deterioração ocorre pela associação de mais de um desses fatores (ROBSON, KELLY e LATCHFORD, 2007).

As enzimas autolíticas são provenientes dos sucos digestivos, tecidos e pele do pescado (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Nos mariscos, a deterioração se dá, inicialmente, pela ação das enzimas proteolíticas endógenas e logo em seguida pelas bactérias deteriorantes que invadem o tecido do animal (VIEIRA, 2004). Crustáceos, como camarões, são ricos em catepsinas, enzima com ação proteolítica, importante no seu processo de deterioração (JAY, 2005).

As enzimas autolíticas atuam sobre as macromoléculas de proteínas, gorduras, carboidratos e ácidos nucleicos resultando na produção de substâncias nitrogenadas não protéicas como inosina, ribose e uréia. Esses substratos são metabolizados pelas bactérias e transformados em outras substâncias, em sua maioria voláteis, responsáveis por profundas alterações sensoriais do pescado (CORDEIRO, 2005).

Creatina, taurina, betaínas, ácido úrico, anserina e carnosina são exemplos de outras substâncias nitrogenadas não protéicas presentes na carne de pescado que são utilizadas pelos microrganismos deteriorantes como fonte de carbono e nitrogênio para produzir suas próprias macromoléculas (VIEIRA, 2004). A ação direta dos microrganismos sobre as gorduras leva a produção de aldeídos e cetonas que alteram o odor característico do pescado (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007).

Os moluscos bivalves possuem elevada concentração de carboidratos diferindo dos outros pescados, sendo esta a principal reserva energética nestes organismos (CORDEIRO, 2005). Durante o processo de deterioração, bactérias autóctones do ambiente marinho, como algumas espécies de vibrios, utilizam esses carboidratos em seu metabolismo (VIEIRA, 2004). A deterioração neste tipo de marisco ocorre, predominantemente, pela fermentação do glicogênio pelos microrganismos com consequente produção de ácido lático e outros ácidos orgânicos (FURLAN et al., 2007).

A microbiota dos mariscos está diretamente relacionada com o seu habitat e é tão variada quanto maior for a poluição das águas que estes advém (VIEIRA, 2004). As águas contaminadas de estuários e bacias pesqueiras podem transmitir microrganismos com potencial patogênico aos mariscos, sendo que os moluscos bivalves são os mais susceptíveis à poluição ambiental devido a sua forma de alimentação (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

Uma vez que a água costeira das regiões tropicais, dificilmente, ultrapassa a temperatura de 25°C, as condições são mais favoráveis ao crescimento de microrganismos psicrotróficos (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Em cinco dias de armazenamento, esses microrganismos podem alcançar concentrações superiores a 10<sup>8</sup> UFC/g, mesmo se o alimento for refrigerado (FORSYTHE, 2005). Em lagostas, foram encontradas contagens de microrganismos psicrotrófilos de 10<sup>9</sup> a 10<sup>10</sup> UFC/g quando os meios de cultura foram incubados a 5 e 25°C (VIEIRA, 2004).

Porém, no pescado vivo, sua carne é microbiologicamente estéril, desde que o exemplar esteja sadio (RIBEIRO, 2004). Imediatamente após a morte, a carne de pescado é rapidamente colonizada por diversos microrganismos endógenos e exógenos. Esses microrganismos podem ser oriundos da superfície corpórea, dos intestinos, das guelras ou brânquias do pescado, das águas e sedimentos onde estes

habitam ou introduzidos durante seu processamento, estocagem, distribuição e preparo para consumo (JAY, 2005).

Dentre os microrganismos, as bactérias são os principais agentes biodeteriorantes de pescado, porém quando houver condições seletivas como pH ácido, atividade de água inferior a 0,94, temperaturas abaixo de 28°C ou substrato rico em carboidratos serão os bolores e leveduras os microrganismos envolvidos na putrefação. O crescimento dos micélios fúngicos torna o pescado inaceitável ao consumo humano e alguns desses fungos podem ser micotoxigênicos (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

As leveduras são regularmente distribuídas nas águas estuarinas, ainda que em menor quantidade que as bactérias ocorrendo casualmente no pescado (VIEIRA, 2004). Alguns bolores e leveduras são psicrotróficos e podem causar deterioração em pescado, mesmo que estes sejam armazenados em temperaturas de refrigeração. Como exemplo de espécies de bolores com capacidade de crescer em baixas temperaturas tem-se *Penicilium*, *Cladosporium*, *Trichothecium* e *Aspergillus* (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Quanto às bactérias, nos mariscos sabe-se que há presença de gêneros bacterianos Gram negativos como *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Cytophaga*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Shewanella* e *Vibrio*. Também há presença de bactérias Gram positivas como *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Sarcina* e *Streptococcus* (VIEIRA, 2004).

Em pescado de águas marinhas temperadas predomina uma microbiota Gram-negativa psicrotrófica (PANTAZI et al., 2008). Em pescado de águas tropicais, apesar de predominarem microrganismos Gram negativos psicrotróficos, característicos do ambiente marinho, há quantidade considerável de bactérias Gram positivas mesófilas (JAY, 2005). Quando o pescado é armazenado sob temperatura ambiente, as bactérias mesófilas encontram um ótimo substrato para sua multiplicação (GONÇALVES, 1998).

Entretanto, a maior parte dos microrganismos deteriorantes em pescado marinho são psicrófilos ou psicrotróficos (VIEIRA, 2004). O pescado tropical se conserva melhor em baixas temperaturas do que o pescado de águas frias devido à proporção de microrganismos psicrófilos, maior neste último. Estes microrganismos se multiplicam

mais rapidamente do que os mesófilos durante a estocagem sob resfriamento alterando as características sensoriais do produto (BRITTO et al., 2007). Os moluscos bivalves de regiões tropicais, por exemplo, apresentam qualidade satisfatória quando a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos for inferior a  $5 \times 10^6$  UFC/g (RIBEIRO, 2004).

Bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Alteromonas* e *Shewanella* com destaque para *Shewanella putrefaciens* são os principais microrganismos envolvidos na deterioração do pescado (HOBBS, 1991). No entanto, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e alguns microrganismos Gram-positivos foram incriminados como os principais decompositores de crustáceos como siris e caranguejos. Algumas espécies psicrotróficas de *Pseudomonas* são capazes de causar uma lenta deterioração nos mariscos mesmo que estes sejam armazenados à temperatura de  $-3^{\circ}\text{C}$  (VIEIRA, 2004).

O crescimento microbiano em pescado armazenado sem a aplicação correta do frio é perigoso, pois além da deterioração precoce, há a possibilidade de produção de aminas biogênicas como a histamina (ANDRADE et al., 2008). As análises quantitativas de aminas biogênicas associadas às contagens microbiológicas são utilizadas pela indústria alimentícia para estudar o processo de deterioração em carnes e pescado (NTZIMANI et al., 2008).

Quando o pescado é estocado em temperatura ambiente ou, em menor grau, em temperatura de refrigeração superior a  $0^{\circ}\text{C}$ , a biota residual se multiplica consumindo os nutrientes como aminoácidos e extratos nitrogenados, convertendo-os em bases voláteis nitrogenadas (JACKSON et al., 2007). Estes produtos da ação microbiana, como é o caso do indol, escatol e indolacetato, dependem, exclusivamente, do desenvolvimento de bactérias produtoras da enzima triptofanase como algumas espécies de *Proteus*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Bacillus* entre outras. Esses microrganismos convertem o aminoácido triptofano, presente na carne do pescado, em indol, que pode alterar as características sensoriais do alimento quando acumulados em níveis superiores a  $25\mu\text{g}/100\text{g}$  de pescado tornando-o impróprio para o consumo (LEITÃO e RIOS, 2000). A degradação bacteriana do aminoácido lisina resulta na formação de cadaverina e  $\text{CO}_2$  e confere odor desagradável ao pescado deteriorado (BRITTO et al., 2007).

A produção de substâncias como o H<sub>2</sub>S, aldeídos, cetonas, poliaminas, amônia, indol, trimetilamina, cadaverina, putrescina e ácidos graxos de baixo peso molecular são exemplos de substâncias indicativas do grau de deterioração do pescado (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007). A formação de aminas, sulfetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos, seja pela atividade das enzimas do próprio pescado, seja pela ação microbiana são as formas mais comuns de deterioração desta classe de alimento (ROBSON, KELLY e LATCHFORD, 2007). A detecção de H<sub>2</sub>S e amônia são uns dos parâmetros físico-químicos utilizados na determinação da vida de prateleira de pescados (GRAM e DALGAARD, 2002).

A vida de prateleira corresponde ao tempo de armazenamento necessário para serem percebidas alterações sensoriais. A vida de prateleira é dependente, principalmente, do crescimento da microbiota deteriorante e dos obstáculos impostos para evitar essa proliferação (FORSYTHE, 2005). Ela pode ser determinada pela sequência de análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de amostras de um mesmo lote de alimento tomadas durante um tempo estipulado (FONTES et al., 2007).

O crescimento da microbiota deteriorante pode ser inibido por diversas tecnologias. A aplicação de obstáculos ou barreiras (obstáculos de Listner) para ampliar a vida de prateleira dos alimentos é comum na indústria e têm-se como exemplos resfriamento, congelamento, secagem, cura e uso de embalagens com níveis reduzidos de oxigênio (*Reduced Oxygen Packaging* . ROP) ou atmosfera modificada (*Modified Atmosphere Packaging* . MAP), entre outras (FORSYTHE, 2005).

Pantazi et al. (2008) estudaram a vida de prateleira do peixe espada mediterrâneo (*Xiphias gladius*) conservado sob resfriamento em atmosferas modificadas e determinaram a presença de *Pseudomonas* spp., bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S, membros da família Enterobacteriaceae e bactérias produtoras de ácido lático. A *Shewanella putrefaciens* foi a mais importante bactéria produtora de H<sub>2</sub>S encontrada.

Lagostas armazenadas em gelo não apresentaram muita variação de cor, odor, textura e outros parâmetros como pH e bases voláteis totais em até seis dias de armazenamento notando-se alterações nesses parâmetros do sétimo ao décimo terceiro dia de armazenamento, sendo que no último dia a lagosta se apresentava imprópria para o consumo (VIEIRA, 2004).



BRITTO et al. (2007) concluíram que o jaraqui (*Semaprochilodus* spp.) armazenado em gelo apresentou vida de prateleira de 18 a 21 dias, sendo isolados espécies de *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas* e *Bacillus*.

Em outro estudo realizado em camarão pitú (*Macrobrachium rosenbergii*) conservado em gelo por 19 dias demonstrou-se que a microbiota deteriorante era composta por algumas espécies de *Pseudomonas*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Shewanella putrefaciens* (LALITHA e SURENDRAN, 2006).

Atualmente estão sendo desenvolvidos softwares, como o *Seafood Spoilage Predictor* (SSP), para simular a cinética de crescimento dos microrganismos deteriorantes em pescado e avaliar a sua melhor forma de conservação (DALGAARD, BUCH e SILBERG, 2002).

Dentre as várias barreiras aplicadas pela indústria para ampliar a vida de prateleira dos alimentos, o acondicionamento em embalagem a vácuo vem sendo utilizado cada vez com maior frequência (PANTAZI et al., 2008; PRENTICE e SAINZ, 2005; SERDENGECTI, YILDIRIM e GOKOGLU, 2006). No entanto, a aplicação deste método de conservação, isoladamente, não é suficiente para conservar o pescado, sendo necessário adicionar outras barreiras como a estocagem em baixas temperaturas (FORSYTHE, 2005). Essa tecnologia diminui o crescimento de microrganismos deteriorantes aeróbios estritos, como bactérias do gênero *Pseudomonas* e bolores, a ação enzimática autolítica e a oxidação das gorduras (PRENTICE e SAINZ, 2005).

## **7. MICRORGANISMOS COM POTENCIAL PATOGÊNICO TRANSMITIDOS PELA INGESTÃO DE PESCADO.**

O pescado é uma fonte importante de proteína animal, entretanto, ele também é um importante alimento envolvido em surtos de origem alimentar (HUSS, REILLY e EMBAREK, 2000). O hábito de comer pratos à base de pescado cru é uma sofisticação gastronômica que vem sendo difundida pelo Brasil, principalmente em alguns restaurantes da culinária oriental. Caso a qualidade da matéria prima não seja

rigorosamente controlada, o pescado pode causar diversas enfermidades transmitidas por alimentos (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define doença transmitida por alimentos (DTA) como sendo aquela de natureza infecciosa ou tóxica que têm acesso ao organismo humano através da ingestão de alimentos contaminados (PIRES et al., 2002). De acordo com o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), as bactérias são responsáveis por cerca de 70% dos surtos alimentares e 95% dos casos de intoxicação alimentar (ANDRADE, SILVA e BRABES 2003).

Segundo Ramos (2001) a pesca artesanal emprega barcos pequenos e equipamentos rústicos, de baixo custo e pouco sofisticados. Muitas vezes é realizada em âmbito familiar e por não dispor de total aparato, pode ser responsável pela contaminação do pescado. Durante as etapas de processamento, as marisqueiras podem introduzir microrganismos com potencial patogênico por serem portadoras, sintomáticas ou assintomáticas, ou por hábitos higiênicos inadequados ou ainda por utilizarem métodos anti-higiênicos (ANDRADE, SILVA e BRABES, 2003).

No entanto, não é possível inferir o verdadeiro risco ao se ingerir mariscos colhidos na região da Baía de Todos os Santos, uma vez que não há relatos suficientes para estabelecer, criteriosamente, a epidemiologia das DTA veiculadas por mariscos da região. Os surtos são subnotificados, seja pela deficiência de serviço médico nas comunidades mais afastadas, ou pela gravidade branda e autolimitada causada pela maioria das toxinfecções transmitidas pelo pescado (GONÇALVES, 1998).

A preparação de alimentos em condições adequadas de higiene tem sido, por muitos anos, o requisito básico e a primeira linha de defesa contra microrganismos patogênicos (ANDRADE, SILVA e BRABES, 2003). A falta de conhecimento em BPF pela maior parte das marisqueiras que manipulam os mariscos é outra provável fonte de contaminação microbiológica.

A limpeza do ambiente de trabalho e correta sanitização de aparelhos e utensílios são necessários para assegurar uma pequena carga microbiana e baixos índices de patógenos no produto final, principalmente quando se lida com pescado (VIEIRA, 2004). Requisitos básicos, como boa higiene pessoal, higienização frequente das mãos durante o processamento do alimento e intenso combate às pragas poderiam



minimizar a contaminação microbiológica do produto e prolongar a sua vida de prateleira além de reduzir a possibilidade de transmissão de DTA.

A ingestão de mariscos pode expor o consumidor a perigos químicos e microbiológicos sejam eles autóctones do ambiente marinho ou adquirido durante o processamento (GALVÃO et al., 2006). Sumner e Ross (2002) listam alguns riscos oferecidos pela ingestão de pescado consumidos na Austrália como a presença de vírus humanos, toxinas bacterianas, algas toxigênicas em moluscos bivalves, contaminação por bactérias e protozoários patogênicos, desenvolvimento de *Clostridium botulinum* em pescados defumados embalados a vácuo, resíduo de mercúrio e outros metais pesados, parasitas intestinais em sushi e sashimi, entre outros.

Entretanto, as autoridades internacionais da área de proteção dos alimentos, como o *Food and Drug Administration* (FDA) e o *International Commission on Microbiological Specification for Foods* (ICMFS), incriminam as bactérias como principal risco a saúde pública pela ingestão de pescado contaminado (UNGAR, GERMANO E GERMANO, 1992). No entanto, para que os patógenos consigam causar doença é necessário que o alimento ingerido contenha um número de células viáveis (ou endósporos, no caso de bactérias esporuladas) ou apenas toxinas pré-elaboradas numa dose mínima capaz de causar doença (GONÇALVES, 1998).

O intenso afluxo de águas residuais sobre o mar, proveniente da atividade industrial e das descargas de esgotos das cidades, vem comprometendo a qualidade sanitária das águas costeiras e expondo os organismos bentônicos a microrganismos com potencial patogênico (PEDRERO, 2001). Os mariscos, sobretudo os moluscos bivalves, devido ao seu método de alimentação, são altamente propícios a albergarem microrganismos com potencial patogênico oriundos de águas residuais que por ventura possam estar dispersos na coluna de água e sedimento dos estuários (GUIMARÃES, 2002). Análises microbiológicas de moluscos bivalves crus têm sido empregadas como sentinelas da qualidade das águas costeiras, pois os resultados são indicativos da microbiota ambiental de onde o marisco foi colhido (RIBEIRO, 2004).

A depuração é um dos métodos mais indicados para os moluscos bivalves e é realizada, visando-se reduzir o teor de sílica e de bactérias presente nesses

organismos. Ela é um processo em que os moluscos bivalves são deixados em tanques contendo água limpa e corrente durante um tempo pré-determinado (VIEIRA, 2004). A eficiência desse processo depende do tipo de tanque, tempo de depuração, da temperatura, turbidez, oxigenação e salinidade da água, da espécie de bivalve a ser depurado, da contaminação inicial e do tipo de contaminante presente no molusco (SOCCOL, 2002).

As DTA causadas pela ingestão de mariscos contaminados vão desde síndromes diarréicas hiperagudas e autolimitadas, como a intoxicação estafilocócica, a graves infecções gastrintestinais ocasionadas por alguns sorotipos de *Salmonella*. Isto representa um risco à população que consome pratos a base de mariscos, tendo em vista que produtos de origem marinha são importantes vetores de toxinfecções bacterianas causadas por *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, espécies patogênicas de *Vibrios*, entre outras (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

Segundo Pereira et al. (2006) há dois grupos de bactérias relevantes para a saúde pública em produtos de origem marinha. O primeiro grupo é formada por bactérias presente naturalmente no ambiente marinho como *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum* do tipo E, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. vulnificus*. O segundo grupo é originária da contaminação da água estuarina com resíduos humanos ou durante seu processamento. Neste último grupo estão o *Staphylococcus aureus*, bactérias da Família Enterobacteriaceae como *Salmonella* e *Escherichia coli*, entre outras.

Em busca de conhecer a epidemiologia das DTA veiculadas por mariscos, têm sido realizados muitos estudos sobre os fatores que podem influenciar diretamente a microbiota endógena desses organismos. DePaola et al. (2003) constataram que os níveis de *V. parahaemolyticus* em ostras provenientes da Baía Móvel, Alabama, oscilaram entre  $10^2$  a  $10^3$  UFC/g de abril a novembro, porém no período compreendido entre dezembro a março não foi possível isolar a bactéria das ostras nos dois pontos de coleta. A temperatura da água influenciou diretamente a presença de *V. parahaemolyticus* nas amostras de ostras.

Deepanjali et al. (2005) observaram que em países tropicais, as contagens de microrganismos nas ostras, como coliformes termotolerantes e *V. parahaemolyticus*, oscilam entre a época de seca e chuva.

Zimmerman et al. (2007) examinaram a relação entre fatores ambientais como salinidade, temperatura da superfície da água e turbidez com a população total de *V. parahaemolyticus* encontrados em ostras e na coluna de água em pesquisa realizada em duas regiões do norte do Golfo do México (Alabama e Mississipi). Ficou demonstrado, através de uma análise de regressão, que esses parâmetros possuem influência estatística significativa sobre a população de *V. parahaemolyticus* em ostras e na água do mar.

Serra et al. (2004) pesquisaram a ocorrência de *V. parahaemolyticus* em moluscos *in natura* capturados no estuário do Rio Anil em São Luís do Maranhão e observaram, que a contagem deste microrganismo obedece às oscilações de salinidade e temperatura durante as estações do ano.

Guimarães (2002) estudou a influência de fatores ambientais como temperatura, salinidade e pH sobre a incidência de *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* em *Anomalocardia brasiliensis*, sedimentos e água do mar do município de Salinas da Margarida e constatou que a temperatura da água variou de 25 a 32°C com média de 28,65°C (DP  $\pm 2,9^\circ\text{C}$ ), a salinidade variou de 29 a 36‰ com média de 32,478‰ (DP  $\pm 1,67\%$ ) e o pH variou de 7,8 a 8,26 com média de 8,08 (DP  $\pm 0,08$ ). A temperatura da região apresentou-se numa faixa excelente para o crescimento de espécies de vibrios, porém a salinidade influenciou negativamente uma vez que águas com valores médios acima de 30‰ são consideradas salinas segundo a Resolução nº 20 do CONAMA, de 18 de junho de 1986. O pH das águas da região estava dentro da faixa de normalidade para a água do mar.

Apesar da depuração e do armazenamento sob refrigeração (4-8°C) ou em gelo (0°C) serem indicados pelas BPF para o processamento de frutos do mar como moluscos bivalves, a pesca artesanal, dificilmente segue essas recomendações (PEREIRA, VIANA e RODRIGUES, 2004). O abuso da temperatura de armazenamento pode facilitar a proliferação de alguns microrganismos com potencial patogênico.

A RDC nº 12, da ANVISA, no item 7b, referente a moluscos bivalves, carne de siri e similares cozidos, temperados e não, resfriados ou congelados, determina a ausência de *Salmonella* sp em 25 gramas e um máximo de  $5 \times 10$  UFC/g de coliformes termotolerantes e  $10^3$  UFC/g de estafilococos coagulase positiva (BRASIL, 2001). O item 22b da mesma legislação, além das exigências do item 7b, indica concentração máxima de  $10^3$  UFC/g para *V. parahaemolyticus* em pratos prontos para consumo à base de pescado e similares crus.

No entanto, há relatos de mariscos coletados na costa brasileira que apresentaram presença de *Escherichia coli* (VIEIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2006), *Salmonella* (FURLAN, 2004), *V. parahaemolyticus* (GUIMARÃES, 2002; PEREIRA, VIANA e RODRIGUES, 2004; PEREIRA et al., 2007; SOUZA et al., 2004) e *V. vulnificus* (GUIMARÃES, 2002; BARROS et al., 2007).

### 7.1. VÍBRIOS.

Os vibrios são membros da Família Vibrionaceae (HOLT et al., 1994). Segundo Koneman et al. (2001) são bastonetes retos ou curvos, Gram negativos, não esporogênicos, móveis por flagelo monotríquio, oxidase e catalase positivas e fermentam glicose sem produção de gás.

A maior parte dos vibrios são autóctones do ambiente marinho, porém nem todos os vibrios são patogênicos (PEREIRA et al., 2007). De acordo com o DSMZ (*Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH - German Collection of Microorganisms and Cell Culture*) existe um total de 87 espécies de vibrios (DSMZ, 2009). Segundo Franco e Landgraf (2005) 10 espécies de vibrios são consideradas patogênicas para o homem. Trabulsi e Alterthum (2005) afirmam que as espécies de *Vibrio* com capacidade de causar síndrome gastroentérica são: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* e *V. fluvialis*. Uma outra espécie, o *V. vulnificus*, é responsável por casos graves de sepse e infecção de feridas. O *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* são, notadamente, as principais espécies com potencial patogênico que podem ser transmitidos por pescado (BAUER et al., 2006).

Dentre esses três, o *V. parahaemolyticus* é a principal espécie incriminada como causador de DTA em decorrência da ingestão de pescado contaminado, principalmente, aqueles ingeridos crus ou mal cozidos (VONGXAY et al., 2008). No Japão, o *V. parahaemolyticus* é responsável por 70% dos casos de gastroenterite associados com a ingestão de pescado (DEEPANJALI et al., 2005).

O *V. parahaemolyticus* já foi isolado em todo tipo de pescado incluindo bacalhau, sardinha, cavala, mexilhão, polvo, camarão, caranguejo, lagostim, lagosta, vieira e ostras (SU e LIU, 2007). Geralmente, o *V. parahaemolyticus* é ingerido pelos moluscos bivalves ao se associar ao plâncton disperso nas águas marítimas (SOUZA, 2007). Ele é um patógeno relevante distribuído nas águas de regiões costeiras de clima temperado e tropical de todo o mundo, sendo mais prevalente nos meses de verão, sugerindo uma sazonalidade (PEREIRA et al., 2007).

Fuenzalida et al. (2007) ao analisarem, durante um ano, 309 amostras de mariscos oriundas de Puerto Montt, sul do Chile, encontraram presença de *V. parahaemolyticus* apenas nos mariscos coletados durante os meses de verão.

O *V. parahaemolyticus* é relativamente frágil a alterações térmicas extremas, sendo sensível a altas temperaturas (>80°C) e estocagem em temperaturas de refrigeração (FRANCO e LANDGRAF, 2005). Não se desenvolvem em temperaturas abaixo de 4°C (MUNTADA-GARRIGA et al., 1995; SOUZA, 2007).

Pereira et al. (2007) analisaram mexilhões *in natura* e após sofrer um pré-cozimento expondo o marisco ao vapor de água por aproximadamente três minutos. Os mexilhões *in natura* representaram 64,7% das cepas de *V. parahaemolyticus* isoladas, contra apenas 35,3% dos mexilhões pré-cozidos. A temperatura de pré-cozimento foi capaz de reduzir a carga de *V. parahaemolyticus* nos mexilhões, comprovando a sensibilidade desse microrganismo frente ao calor.

Muntada-Garriga et al. (1995) inocularam concentrações diferentes de *V. parahaemolyticus* em carne de ostras (*Crassostrea gigas*) resfriada sob diversas temperaturas (4°C, 0°C, -18°C e -24°C) e estudaram o comportamento da população desse microrganismo em função do tempo. Foi observada a inativação de todas as células de *V. parahaemolyticus*. O tempo necessário para a ocorrência deste fato dependeu apenas da concentração inoculada.

Entretanto, Jiang e Chai (1996) afirmam que as células de *V. parahaemolyticus* presente em alimentos armazenados sob baixas temperaturas, ao invés de serem totalmente destruídas são induzidas a entrarem num estágio viável mais não cultivável (VNC).

A gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* tem sua origem, quase que exclusivamente, pela ingestão de pescado contaminado, uma vez que outros alimentos que não possuam origem marinha, dificilmente estarão contaminados por esse microrganismo (JAY, 2005).

Os sintomas e sinais clínicos mais comuns são diarreia, dores abdominais, náuseas, vômito e cefaléia com febre ou hipotermia. O período de incubação está compreendido entre 4 a 96 horas (WONG et al., 2000). Magalhães et al. (1991) concluíram que os sintomas clínicos mais frequentemente relatados pelos pacientes acometidos com gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* foram cólicas abdominais (78,6%), náuseas (64,2%), vômito (42,8%), cefaléia (42,8), febre (35,7%) e calafrios (28,6%).

A hemolisina termoestável direta (*Thermostable Direct Hemolysin* - TDH) é, provavelmente, o principal fator de patogenicidade do *V. parahaemolyticus* devido a sua capacidade de produzir alterações inflamatórias na mucosa intestinal de animais de laboratório (SERRA et al., 2004). A TDH é citotóxica e cardiotóxica (KONEMAN et al., 2001). Outras possíveis toxinas envolvidas nos surtos causados por *V. parahaemolyticus* são a *thermostable related hemolysin* (TRH) e a *thermolabile hemolysin* (TLH) (PEREIRA et al., 2007).

A TDH é frequentemente associada com o Fenômeno de Kanagawa, observado quando cepas suspeitas são cultivadas em ágar Wagatsuma. A ação da TDH sobre os eritrócitos humanos presentes neste ágar causa um tipo de  $\beta$ -hemólise característica. Mais de 90% das cepas de *V. parahaemolyticus* isoladas de pacientes acometidos com gastroenterite tem demonstrado positividade para o Fenômeno de Kanagawa, contra cerca de 2% apenas dos isolados ambientais (CABRERA-GARCÍA, VÁZQUEZ-SALINAS e QUIÑONES-RAMÍREZ, 2004).

Recentemente, foi observado que algumas cepas possuem a capacidade de hidrolisar uréia e frequentemente são isoladas a partir de casos clínicos, sugerindo forte



relação entre cepas Kanagawa positivas, hidrólise da uréia e produção de TDH ou TRH. Pesquisas apontam que cepas de *V. parahaemolyticus* Kanagawa positivas isoladas do ambiente estuarino podem ter como reservatório os sedimentos costeiros, a concha de moluscos e a carapaça de copépodes. No entanto, estudos recentes demonstraram que cepas de *V. parahaemolyticus* Kanagawa negativas também podem causar surtos alimentares (PEREIRA, VIANA e RODRIGUES, 2004).

Lee et al. (2008) pesquisam os genes *tdh* e *trh* em cepas patogênicas de *V. parahaemolyticus* presentes em ostras vendidas no comércio varejista da Coréia, utilizando o PCR multiplex. De um total de 72 cepas encontradas, nenhuma apresentou o gene *tdh* e apenas uma o gene *trh*.

Estudos epidemiológicos baseados nos antígenos O e K foram utilizados por algum tempo para determinar a origem das cepas de *V. parahaemolyticus*, entretanto, com o surgimento de sorotipos dominantes, estes dados não têm sido mais tão relevantes (VUDDHAKUL et al., 2000). Desde 1996, a emergência do clone O3:K6 de *V. parahaemolyticus* em países asiáticos vem preocupando as autoridades em saúde pública do mundo inteiro (WONG et al., 2000). Este sorotipo mudou, drasticamente, a epidemiologia do *V. parahaemolyticus*, sendo a primeira cepa pandêmica deste microrganismo (QUILICI et al., 2005). Apesar deste sorotipo ter sido identificado, anteriormente, na Indonésia e no Japão, a pandemia parece ter iniciado em 1996, na cidade de Calcutá, Índia, quando este sorotipo foi responsável por 80% dos casos de gastroenterites seguidas de hospitalização (NAIR et al., 2007).

Já foram notificados surtos alimentares causados por este clone na Tailândia, Taiwan, Laos, Coréia, Estados Unidos e Japão (HARA-KUDO et al., 2001). Bhuiyan et al. (2002) entre os anos de 1998 e 2000, isolaram este sorotipo de 28 pacientes atendidos no Centro de Atendimento e Pesquisa Clínica do Instituto Internacional de Estudos de Doenças Diarréicas em Dhaka, Bangladesh.

Vuddhakul et al. (2000) encontraram na Tailândia a presença deste sorotipo em amostras fecais de pacientes com diarreia, peixes e nos mais diversos tipos de mariscos incluindo ostras, mexilhões e camarões. Deepanjali et al. (2005) encontraram uma amostra de ostra (*Crassostrea madrasensis*) na Índia contaminada com este sorotipo.

Chowdhury et al. (2004) afirmam que este sorotipo foi responsável por 32,3% dos casos de gastroenterite causados por *V. parahaemolyticus* na Província de Khanh Hoa, Vietnã, entre 1997 e 1999. Quilici et al. (2005) identificaram este clone em cinco surtos que ocorreram na França entre 1997 e 2004. Ansaruzzaman et al. (2005) isolaram este clone de 32 amostras de pacientes com gastroenterite em Beira, Moçambique.

Segundo Zabala, García e Espejo (2009) o *V. parahaemolyticus* O3:K6 causou, em 2004, um surto no Chile, com cerca de 8.000 vítimas. No Brasil, Pereira et al. (2007) isolaram este sorotipo em mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. Leal et al. (2008) encontraram este clone em dois surtos de diarreia e vários casos isolados em Pernambuco.

Por causa de presença constante no ambiente marinho e, sobretudo em mariscos, muitos são os estudos recentes sobre a ecologia e transmissão de espécies de vibrios por pescado (SU e LIU, 2007).

Guimarães (2002) ao estudar o molusco *Anomalocardia brasiliana* no município de Salinas da Margarida encontrou contaminação por *V. parahaemolyticus* em 64,5% e *V. vulnificus* em 3,2%.

Cabrera-García, Vázquez-Salinas e Quiñones-Ramírez (2004) ao analisar 75 amostras de ostras *in natura* proveniente do Golfo do México encontraram nove cepas de *V. parahaemolyticus*.

Sagoo, Little e Greenwood (2007) encontraram *V. parahaemolyticus* em 0,4% das 682 amostras de crustáceos e moluscos bivalves analisados na Inglaterra com contagens variando de  $10^2$  a  $10^6$  UFC/g.

Pereira (2003) ao analisar 86 amostras de mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozidos encontraram uma incidência de *V. parahaemolyticus* de 5,85% e 3,19%, respectivamente. Também foram encontradas outras espécies de vibrios (*V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. cincinnatiensis*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. furnissii*, *V. anguillarum*, *V. aestuarinus* e *V. harveyi*).

Barros et al. (2007) encontraram 140 cepas de *Vibrio* sacarose negativas em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) comercializadas em duas barracas na Praia do Futuro em Fortaleza, Ceará. Deste total, apenas 57 foram identificadas até o gênero, sendo o



mais predominante *V. parahaemolyticus* (31), *V. mimicus* (14), *V. harveyi* (6) e *V. vulnificus* (6).

Lhafi e Kühne (2007) analisaram, entre junho de 2004 a maio de 2005, um total de 90 amostras de mexilhões azuis (*Mytilus edulis*) e aproximadamente 26,5% estavam contaminados com *V. parahaemolyticus*.

Bauer et al. (2006) encontraram *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. vulnificus* em mexilhões azuis (*Mytilus edulis*) da Noruega nas proporções de 10,3%, 1% e 0,1%, respectivamente.

Pereira et al. (2007) encontraram 11,6% de mexilhões cultivados na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, contaminados por *V. parahaemolyticus*. Foram encontrados os sorotipos O1:K25, O2:K30, O3:K6, O5:KUN (untypeable), O8:K60, O9:K56, O10:KUN e O10:K52.

Souza et al. (2004) encontraram uma cepa de *V. parahaemolyticus* Kanagawa negativa e *V. cholerae* em 33,3% das amostras de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas do estuário do rio Cocó, Fortaleza, Ceará.

Pereira, Viana e Rodrigues (2004) isolaram 45 sorotipos diferentes de *V. parahaemolyticus* de ostras e mexilhões no Rio de Janeiro, sendo que 36,2% eram urease positivas.

Pinto et al. (2006) encontraram a presença de *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus* em 76% e 32%, respectivamente, de um total de 38 amostras de *Mytilus galloprovincialis* utilizando o multiplex-PCR.

Landeiro et al. (2006) ao pesquisarem microrganismos patogênicos em alimentos preparados à base de pescado chamaram a atenção para aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) no fluxograma de processamento desse tipo de alimento. Foram estudados diversos alimentos contendo pescados e percebeu-se que durante o preparo da mariscada foi introduzido o *V. parahaemolyticus*.

Bang, Drake e Jaykus (2007) encontraram *V. vulnificus* em mariscos armazenados sobre refrigeração revelando o perigo existente nesse alimento quando mal acondicionado. Wang e Levin (2006) encontraram *V. vulnificus* em mexilhão utilizando real-time PCR.

Atualmente, estão sendo testadas técnicas mais modernas de identificação para abreviar o longo período necessário para concluir o diagnóstico microbiológico de espécies de vibrios. Richards, Watson e Parveen (2005) testaram um meio de cultura fluorogênico para detecção rápida e quantificação de membros da Família Vibrionaceae a partir de amostras de água do mar, mariscos, detritos e amostras clínicas. Dalmasso, Civera e Bottero (2009) desenvolveram uma técnica de PCR multiplex *Primer-Extension Reaction* capaz de identificar seis tipos diferentes de vibrios potencialmente patogênicos para humanos a partir de produtos de pescado. São eles *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus* e *V. fluvialis*.

## 7.2. ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA.

Porém a microbiota dos mariscos não é composta apenas pelos microrganismos autóctones do ambiente marinho. Muitas bactérias que não são encontradas naturalmente nesse tipo de alimento são introduzidas durante o seu processamento (CORDEIRO, 2005). A manipulação da carne de marisco é um ponto crítico durante o seu processamento e estudos demonstraram que esta etapa infere um risco considerável de contaminação (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992).

Porém, apenas uma boa higiene durante a manipulação não é suficiente para assegurar uma total inocuidade do alimento produzido. Outras atitudes preventivas devem ser somadas, como aplicação correta da cadeia do frio (FORSYTHE, 2005). Germano, Oliveira e Germano (1993) sugerem que as etapas de processamento e armazenamento são aquelas com maior risco de contaminação, devido a manipulação ou conservação inadequada do pescado. Mesmo em unidades industriais de produção de alimento, onde o processamento é rigorosamente controlado, pode ocorrer contaminação do produto (PIRES et al., 2002).

*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus* e outros organismos relacionados com o trato respiratório, com a pele e os cabelos humanos são as bactérias mais comuns no ambiente de processamento de alimentos (ANDRADE, SILVA e BRABES 2003).

A manipulação inadequada dos mariscos durante seu processamento é uma importante via de transmissão de bactérias do gênero *Staphylococcus*, com destaque para os estafilococos coagulase positiva (ECP), que encontram neste tipo de alimento, ambiente propício para sua multiplicação (GALVÃO et al., 2006). Este grupo é o mais importante causador de intoxicação alimentar pela ingestão de pescado contaminado com algum sorotipo de enterotoxina estafilocócica, apesar de já terem sido diagnosticadas espécies de *Staphylococcus* coagulase negativa enterotoxigênicas (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993). *S. epidermidis* é o mais importante *Staphylococcus* coagulase negativa (ECN) produtor de enterotoxina (PEREIRA et al., 1999). *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. xylosus* e *S. warneri* são outras espécies de ECN produtores de enterotoxinas, mesmo que em baixas quantidades (PEREIRA et al., 2000).

Os *Staphylococcus* estão agrupados na Família Micrococcaceae junto com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus* (HOLT et al., 1994). Segundo Silva e Gandra (2001) o gênero *Staphylococcus* é formado por 32 espécies, sendo o *Staphylococcus aureus* o mais importante relacionado a surtos de intoxicação alimentar. Porém, surtos já foram atribuídos a outras espécies de estafilococos coagulase positiva, como *S. hyicus* e *S. intermedius*.

Apesar do *S. aureus* ser encontrado em diferentes regiões do corpo humano, o seu principal habitat são as fossas nasais, nasofaringe e orofaringe. A presença dos *S. aureus* das mãos resulta do contato destas com áreas de maior contaminação como o nariz e a boca (PEREIRA et al., 1999).

Por vários mecanismos, cepas enterotoxigênicas de *S. aureus* podem deixar a superfície das mãos dos manipuladores portadores dessa bactéria e atingir a vestimenta, o mobiliário, os utensílios e equipamentos utilizados no processamento dos alimentos (VANZO e AZEVEDO, 2003).

Estima-se que o *S. aureus* esteja presente em 20 a 40% das fossas nasais humanas de adultos saudáveis (SILVA e GANDRA, 2001). Carvalho e Serafini (1996) observaram *S. aureus* nas proporções de 40,91% em mãos, 43,18% em orofaringe e 47,73% em nasofaringe de 44 trabalhadores da cozinha industrial do Restaurante Universitário da Universidade Federal de Goiás (UFG).

A produção de enterotoxinas estafilocócicas (EE) é especialmente perigosa, pois estas suportam a temperatura de fervura da água por mais de trinta minutos sem serem inativadas (VIEIRA et al, 1998). Alguns sorotipos de enterotoxina estafilocócica podem se manter ativos após autoclavagem a 120°C por 15 minutos (GONÇALVES, 1998).

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas extracelulares hidrossolúveis de baixo peso molecular (SILVA e GANDRA, 2001), sendo um exemplo clássico de superantígeno (TORTORA, FUNKE e CASE, 2005). Cunha, Oliveira e Hirooka (1996) relatam a existência de sete tipos sorológicos de enterotoxinas estafilocócicas (EEA, EEB, EEC<sub>1</sub>, EEC<sub>2</sub>, EEC<sub>3</sub>, EED, e EEE). Silva e Gandra (2001) comentam sobre a existência de mais dois sorotipos (EEH e EEI), sendo que a EEA é o sorotipo mais comum.

Jay (2005) afirma que, em 1992, foi à primeira vez que o gene para a produção de EEG foi citado, mas a toxina não foi isolada antes de 1998. Outra exotoxina produzida por *S. aureus*, com significância em alimentos, porém menos importante que as EE, é a DNase ou Termonuclease (TNase), uma proteína termoestável capaz de clivar tanto DNA quanto RNA (PEREIRA et al., 2000).

O período de incubação da intoxicação estafilocócica é de quatro horas, em média. Os sintomas surgem após a ingestão de alimentos contaminados com a toxina pré-elaborada, podendo variar de uma a seis horas. Os sintomas mais frequentes são náuseas, vômito, cólicas abdominais, diarreia com consequente desidratação, sudorese, cefaléia e eventualmente diminuição da temperatura corporal. A síndrome pode durar de 24 a 48 horas (SILVA e GANDRA, 2001). A dose mínima de EEA capaz de causar sintomas de intoxicação gira em torno de 100 a 200 ng (PEREIRA et al., 2000). Em crianças e idosos, a intoxicação estafilocócica pode ser fatal, porém, em indivíduos adultos imunocompetentes, geralmente, ela é autolimitada (GONÇALVES, 1998).

A intensidade dos sintomas é influenciada pela sensibilidade individual e é diretamente proporcional à quantidade de EE contida no alimento e da quantidade de alimento ingerido (TORTORA, FUNKE e CASE, 2005). Segundo Cunha, Oliveira e Hirooka (1996) os sintomas cessam em cerca de um a três dias após o seu início.

### 7.3. COLIFORMES.

Outro grupo importante de microrganismos que pode contaminar os mariscos é formado por alguns membros da Família Enterobacteriaceae conhecidos, genericamente, como coliformes (RIBEIRO, 2004). Segundo Murray (2002) este grupo é composto por 20 gêneros bacterianos entre bactérias exclusivamente entéricas e microrganismos de origem não fecal. Koneman et al. (2001) afirmam que a Família Enterobacteriaceae alberga 139 espécies contidas em 31 gêneros.

Os coliformes são bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 a 48 horas a 35°C (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). Eles podem ser móveis por flagelos peritríquios ou imóveis, são catalase positivos, oxidase negativos, reduzem nitrato a nitrito e possuem um conteúdo de 39-59% de DNA G + C (BROOKS, BUTEL e MORSE, 2005). Os coliformes totais são encontrados no solo, água, plantas e no trato intestinal de homens e animais (GERMANO e GERMANO, 2001).

Dentro desse grupo, existem os chamados coliformes termotolerantes, que são aqueles capazes de fermentar a lactose à temperatura de 44,5-45,5°C (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997). Eles são indicadores de má qualidade higiênico-sanitária de processamento e chegam até os mariscos pela água estuarina poluída ou mãos e utensílios contaminados (VIEIRA et al., 2008). O principal representante deste grupo é a *Escherichia coli*, microrganismo oriundo, exclusivamente, do trato gastrointestinal de homens e animais (GONÇALVES, 1998). Este microrganismo é o principal parâmetro para a avaliação do nível de poluição fecal em corpos d'água e alimentos, uma vez que as técnicas para cultivo e identificação desta bactéria estão bem definidas e padronizadas (RIBEIRO, 2004).

A *E. coli* pode não ser o microrganismo mais patogênico veiculado por mariscos, mas é um importante indicador de contaminação fecal recente, podendo alertar a possível presença de microrganismos mais virulentos que também possuem transmissão oro-fecal como *Salmonella* e o vírus da Hepatite A (FURLAN, 2004).

Uma das formas de contaminação dos mariscos por *E. coli* é através de dejetos provenientes de águas residuais de esgoto que podem contaminar as águas estuarinas

onde estes habitam, principalmente os moluscos bivalves (SERRA et al., 2004). Vieira et al. (2008) afirmam que o meio urbano dá origem a várias vias de contaminação das águas costeiras, tais como as ligações clandestinas de esgotos às galerias pluviais que favorecem a presença desses microrganismos nos estuários. Por isso, tanto os coliformes totais, quanto os coliformes termotolerantes e em especial a *E. coli* são utilizados para avaliar a qualidade sanitária dos bivalves, pois estes possuem a capacidade de acumular, em grandes quantidades, os microrganismos dissolvidos na água em que vivem (CORDEIRO, 2005).

A maior parte das *E. coli* é inofensiva para indivíduos imunocompetentes, desde que confinadas ao lúmen do trato gastrointestinal (TEOPHILO et al., 2002). Entretanto, alguns sorotipos de *E. coli*, como a *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC ou *E. coli* O:157;H:7) são altamente patogênicas e capazes de desencadear quadros severos de gastroenterite alimentar (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

Teophilo et al. (2002) encontraram 14 cepas enterotoxigênicas de *E. coli* a partir de vermelho (*Lutjanus purpureus*) e camarão (*Xiphopenaeus kroyeri*). Dessas 14 cepas, sete eram produtoras de enterotoxina termolábil (Lt) e sete produtoras de enterotoxina termoestável (St).

Vieira et al. (2008) encontraram contaminação variando de  $<1,8$  a  $3,5 \times 10^3$  NMP/g para coliformes totais e de  $<1,8$  a  $2,8 \times 10^3$  NMP/g para coliformes termotolerantes em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) do estuário do Rio Pacoti (Ceará).

Ribeiro (2004) encontrou coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* em análise do molusco bivalve *Tivela mactroides* coletado na enseada de Caraguatatuba, São Paulo, e percebeu que o NMP desses microrganismos diminuía quando o marisco era armazenado a temperaturas mais baixas e por um tempo maior.

Furlan (2004) encontrou contagens variando de  $2,5 \times 10$  a  $2,3 \times 10^3$  NMP/g para coliformes totais e de  $3,1$  a  $3,2 \times 10^2$  NMP/g para coliformes termotolerantes em mexilhões cultivados na região de Ubatuba, São Paulo.

#### 7.4. SALMONELLA.

Uma patologia importante transmitida por pescado é aquela causada por bactérias do gênero *Salmonella*. Pertencentes a família Enterobacteriaceae, esta bactéria é envolvida em casos graves de enterite pela ingestão de diversos tipos de alimentos (PONCE et al., 2008). O grande problema da *Salmonella* é que ela pode ser excretada dias ou mesmo meses nas fezes de portadores assintomáticos (CARVALHO e SERAFINI, 1996).

Segundo o *Bergey's Determinative Bacteriology* bactérias do gênero *Salmonella* são bastonetes Gram negativos, não produtores de esporos, não fermentadores de lactose e sacarose e citocromo-oxidase negativos (HOLT et al., 1994).

A *Salmonella* não existe originalmente no pescado coletado de áreas sem contaminação ambiental. As correntes marinhas, sedimentação, temperatura, luz e competição com outros microrganismos são uns dos fatores que interferem na sobrevivência da *Salmonella* no ambiente marítimo. Entretanto, a contaminação das águas costeiras pelas descargas de efluentes de esgotos representa importante via de transmissão desse microrganismo, principalmente para os moluscos bivalves. Espécies de *Salmonella* podem ser, eventualmente, encontradas em pescado, sobretudo em moluscos, colhidos de áreas contaminadas por esgotos urbanos. No entanto, a principal forma de contaminação por esse microrganismo é através de falhas na manipulação (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

A incidência de *Salmonella* spp. em pescado é alta nos países africanos e do Pacífico Central (PONCE et al., 2008). Porém, em países europeus, na Rússia e nos Estados Unidos a incidência é baixa. Em países da Ásia, varia muito sendo em torno de 30% no Vietnã e 0,7% na Coreia do Sul (HEINITZ et al., 2000).

Vários estudos encontraram a presença de espécies de *Salmonella*, coliformes e *E. coli* em pescado no Vietnã, Índia, Sri Lanka, Tailândia, Taiwan e Japão (BHASKAR et al., 1998; DALSGAARD et al., 1995; HATHA e LAKSHMANAPERUMALSAMY, 1997; IYER e VARMA, 1990; KUMAR et al., 2003; PHAN et al., 2005).



Heinitz et al. (2000) analisaram, entre os anos de 1990 e 1998, a presença de espécies de *Salmonella* em pescados importados nos Estados Unidos. Foi encontrada uma incidência de 7,2%, sendo *Salmonella* Weltevreden o sorotipo mais prevalente.

Brands et al. (2005) analisaram ostras importadas comercializadas em mercados dos Estados Unidos e encontraram 7,4% contaminada com *Salmonella*, sendo que o sorotipo que predominou foi *Salmonella* Newport (cerca de 77% dos isolados).

Ponce et al. (2008) encontraram 64 sorotipos diferentes de *Salmonella enterica* em pescado importados pelos Estados Unidos de outros países entre os anos de 2000-2005 utilizando a sorotipagem molecular. Dentre os isolados prevaleceu a *Salmonella* Weltevreden (17,6%), seguida da *Salmonella* Newport (7,6%), *Salmonella* Saintpaul (6,2%), *Salmonella* Senftenberg (4,8%), *Salmonella* Lexington (4,3%), *Salmonella* Virchow (3,3%), *Salmonella* Bareity (3,3%), *Salmonella* Enteritidis (2,9%), *Salmonella* Paratyphi-B Bioser Java (2,4%), *Salmonella* Brunei (2,4%) e *Salmonella* Java (2,4%).

No Brasil, Furlan (2004) encontrou a presença de *Salmonella* em 6,7% da carne de mexilhões cultivados na região de Ubatuba, São Paulo.

Dams et al. (1996) ao examinarem pescadinha (*Cynoscion striatus*) isolaram *Salmonella* spp em 80% de filés e em 40% do peixe inteiro congelado.

Liuson (2003) encontrou presença de *Salmonella* em 7,8% de amostras de tilápias oriundas de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo.

## 7.5. BACILOS GRAM POSITIVOS.

As bactérias Gram-negativas são predominantes em pescado, mais existem alguns bacilos Gram-positivos que quando presente em pescado podem causar DTA (JAY, 2005). Cepas psicrotróficas de *Bacillus cereus* também podem crescer em pescado refrigerado produzindo uma toxina emética responsável pelo quadro de toxiose alimentar (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993). O *B. cereus* possui dois quadros de intoxicação: a síndrome diarréica e a síndrome emética (GONÇALVES, 1998). Galvão et al. (2006) encontraram contagens de  $5 \times 10^2$  UFC/g de *B. cereus* em mexilhões cultivados na região de Ubatuba, São Paulo.



No entanto, das espécies Gram-positivas que podem ser transmitidas pelo pescado, sem dúvida, as mais perigosas pertencem ao gênero *Clostridium* (JAY, 2005).

Os clostrídios são bacilos, Gram positivos, esporogênicos, anaeróbios estritos (HOLT et al., 1994). Algumas espécies de clostrídios residem normalmente nos intestinos de peixes e mariscos (HUSS, 1997). Os clostrídios tipicamente marinhos oferecem um risco à conservação de pescado em embalagens a vácuo ou com atmosfera modificada com pequeno teor de oxigênio (PRENTICE e SAINZ, 2005).

A presença desses microrganismos pode causar toxinfecções alimentares pela ingestão de pescado contaminado. Dentro esse gênero, o mais comum em pescado é o *Clostridium botulinum* (JAY, 2005).

O *C. botulinum* é encontrado no solo, em legumes, verduras, frutas, sedimentos aquáticos ou nos intestinos de animais e seres humanos onde vive como saprófita, mas sua capacidade de viver no ambiente na forma esporulada, por muito tempo, torna essa bactéria quase que onipresente (BROOKS, BUTEL e MORSE, 2005). Já foram identificados sete tipos sorológicos de *C. botulinum*, mais somente os sorotipos A, B, E e F foram identificados causando doença em humanos (MIMS et al., 2005). O *C. botulinum* do tipo E é o maior causador de casos de botulismo por consumo de pescado e seus derivados como pescado defumado, em escabeche, caviar e produtos submetidos à maturação (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

Em humanos, o *C. botulinum* e suas toxinas causam quatro tipos de enfermidades: botulismo alimentar, botulismo por feridas, colonização intestinal em adultos e botulismo infantil. O botulismo alimentar é a única forma ocasionada pela ingestão de alimentos contaminados com a toxina botulínica pré-formada. As outras três formas de botulismo são causadas pela germinação dos esporos em feridas ou no trato intestinal (CERESER et al., 2008).

A toxina botulínica é uma proteína simples termolábil e a mais potente exotoxina bacteriana conhecida pelo homem (BROOKS, BUTEL e MORSE, 2005). Ela é inativada a temperatura de 80°C durante 30 minutos ou 100°C por 5 minutos (CERESER et al., 2008). Um pH abaixo de 4,5 impede a produção da toxina botulínica na maior parte dos alimentos (GONÇALVES, 1998). Ela é uma neurotoxina que age sobre as terminações nervosas periféricas das junções mioneurais impedindo a propagação do impulso

nervoso (MIMS et al., 2005). Não há conhecimento da dose letal dessa toxina em humanos, mas é possível estipular esse valor com resultados obtidos em primatas. Para a toxina do tipo A cerca de 0,09 a 0,15 $\mu$ g por via intravenosa ou intramuscular ou 70 $\mu$ g por via oral seriam suficientes para levar a óbito um homem de aproximadamente 70 quilos (CERESER et al., 2008). Um grama seria suficiente para matar 10 milhões de pessoas (MIMS et al., 2005).

O botulismo é a mais importante intoxicação alimentar uma vez que suas vítimas, frequentemente, vêm a óbito e aquelas que sobrevivem, muitas vezes, permanecem com graves sequelas (GONÇALVES, 1998). Nos Estados Unidos, entre os anos de 1899 a 1995, ocorreram 1.026 surtos de botulismo envolvendo 2.444 casos com 1.040 óbitos (GELLI, JAKABI e SOUZA, 2002).

Nos casos de botulismo alimentar, após a ingestão de alimentos contaminados, a toxina botulínica é absorvida no intestino e chega até o sangue. Pela via hematogênica, segue até as sinapses dos nervos periféricos bloqueando a liberação de acetilcolina tanto nos neurônios motores quanto naqueles do sistema nervoso autônomo (MIMS et al., 2005). Os principais sintomas e sinais clínicos observados são: paralisia simétrica flácida descendente com diplopia, disartria, disfonia e disfagia (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). No início da doença é possível observar manifestações clínicas gastrointestinais como náusea, vômito, diarreia transitória ou severa constipação (GELLI, JAKABI e SOUZA, 2002). O botulismo possui elevada mortalidade que pode variar de 30 a 65% dos casos. A ausência da microbiota intestinal em lactentes os tornam mais susceptíveis a colonização do trato intestinal pelo *C. botulinum*, que passa a produzir a toxina gerando o quadro de botulismo infantil (CERESER et al., 2008).

Baker et al. (1990) avaliaram o risco potencial do crescimento e da produção de toxina por *C. botulinum* do tipo E inoculados artificialmente em *Salmonella* e salmão a vácuo e em atmosfera modificada (100%CO<sub>2</sub>), mantidos refrigerados por até 4°C por 60 dias. Eles demonstraram que os esporos suportaram ambos os tratamentos mantendo-se viáveis por todo o experimento.

Além do *C. botulinum*, outros tipos de clostrídios sulfito redutores como o *Clostridium perfringens*, são incriminados por causarem enfermidade pela ingestão de pescado contaminado (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993). A toxinfecção

alimentar por *C. perfringens* causa doença branda detectada em todo o mundo, principalmente na forma de surtos (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). Essa patologia ocorre através da liberação de uma enterotoxina durante a esporulação do *C. perfringens* no intestino, que causa sinais clínicos, como diarreia aguda, náuseas e dores abdominais em 8-24 horas (BROOKS, BUTEL e MORSE, 2005).

## 7.6. OUTROS MICRORGANISMOS COM POTENCIAL PATOGENICO.

Recentemente, têm sido isolados outros patógenos emergentes em pescado como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria* e *Plesiomonas shigelloides* (HUDSON e MOTT, 1993; HUSS, 1997; JØRGENSEN e HUSS, 1998). *L. monocytogenes*, *A. hydrophila*, *Y. enterocolitica* são microrganismos psicrotópicos capazes de se desenvolver lentamente quando o alimento é armazenado sob refrigeração (JAY, 2005). A principal forma de transmissão de algumas espécies de *Aeromonas* e *P. shigelloides* é hídrica, sendo relacionadas em causar DTA após ingestão de pescado contaminado (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

Pereira (2003) encontrou *Aeromonas media*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* biótipo *veronii*, *A. veronii* biótipo *sobria*, *A. trota*, *A. jandaei*, *A. schubertii* e *Plesiomonas shigelloide* em mexilhões *in natura* e pré-cozidos oriundos da estação experimental de cultivo de mexilhões em Jurujuba, Niterói, Rio de Janeiro.

Britto et al. (2007) encontraram a presença de *Aeromonas* sp e *Plesiomonas* sp em jaraqui capturados no Amazonas e conservados em gelo. Gunsalam et al. (2006) isolaram 13 cepas de *Aeromonas hydrophila* a partir de lagostas na Malásia.

Moharem, Raj e Janardhana (2007) isolarem através de técnicas convencionais de cultivo, algumas espécies de *Listeria* presente em diversos tipos de pescados frescos, incluindo camarões e caranguejos, comercializados em mercados varejistas no sul da Índia. Os autores encontraram *L. innocua* (30,49%), *L. grayi* (4,9%), *L. monocytogenes* (1,83%) e *L. seelgeri* (0,6%).

Hudson e Mott (1993) avaliaram o crescimento desses três patógenos em salmão defumado resfriado a 5 e 10°C armazenado em atmosfera com ar e a vácuo.

Eles observaram que a *L. monocytogenes* cresceu em todas as quatro condições demonstrando o perigo da presença deste patógeno em pescado mesmo que este seja mantido em condições adequadas de refrigeração. *Aeromonas hydrophila* cresceu somente a temperatura de 10°C e a *Yersinia enterocolitica* cresceu em três condições, com exceção da atmosfera com ar refrigerada a 5°C.

Guyader et al. (2009) isolaram Norovírus de ostras com o método de real-time reverse transcription-PCR. Eles comprovaram que o mecanismo de filtração dos moluscos bivalves, principalmente de ostras, é capaz de acumular quantidades suficientes do vírus para causar doença humana.

No ambiente marinho, existem algumas algas plantônicas, na sua maioria dinoflageladas, da qual os moluscos se alimentam e que podem produzir toxinas que se acumulam em seus predadores, podendo causar diversos distúrbios em pessoas que venham a consumir estes moluscos. Os sinais clínicos vão desde sinais gastroentéricos até mesmo sintomas neurológicos (FORSYTHE, 2005).

Apesar de relatos de mariscos como causadores de surtos de protozooses não serem comuns, a ocorrência natural de *Giardia* e *Cryptosporidium* já foram reportadas em diversos países (LEAL e FRANCO, 2008).

Landeiro et al. (2006) ao pesquisarem microrganismos patogênicos em alimentos preparados à base de pescado, chamaram a atenção para aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) no fluxograma de processamento desse tipo de alimento como alternativa de prevenção de DTA. Keeratipibul, Techaruwichit e Chaturongkasumrit (2009) consideram o APPCC como uma boa alternativa para o controle da contaminação microbiológica de pescado. Heinitz et al. (2000) recomendam a implantação do APPCC no processamento de pescado para reduzir a incidência de *Salmonella*.

No Brasil, a aplicação do sistema APPCC para o pescado está regulamentada pela Portaria 1428 de 02 de dezembro de 1993 do Ministério da Saúde e pelas Portarias 11, 13 e 23 de 1993 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RIBEIRO, 2004).

Desta forma, o cuidado com o pescado durante a colheita, transporte, processamento e armazenamento são fundamentais para diminuir o risco de



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

transmissão de qualquer perigo, seja ele químico ou microbiológico, por este tipo de alimento.

## 8. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. O.; COELHO, P. A.; SANTOS, J. T. A.; FERRAZ, N. R. Crustáceos decápodos estuarinos de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**. v. 6, n. 2, p. 1-24, 2006.

ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**. v. 36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.

ANDRADE, C. S.; DRUZIAN, J. I.; LEITE, C. C.; CARVALHO FILHO, C. D.; MIRANDA, M. P. S.; MACÊDO, C. S.; GUIMARÃES, A. G. Determinação da microbiota histamina positiva em camarão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 67, n. 1, p. 45-49, 2008.

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciências Agrotécnicas**. v. 27, n. 3, p. 590-596, 2003.

ANSARUZZAMAN, M.; LUCAS, M.; DEEN, J. L.; BHUIYAN, N. A.; WANG, X-Y.; SAFA, A.; SULTANA, M.; CHOWDHURY, A.; NAIR, G. B.; SACK, D. A.; SEIDLEIN, L. V.; PURI, M. K.; ALI, M.; CHAIGNAT, C-L.; CLEMENS, J. D.; BARRETO, A. Pandemic serovars (O3:K6 and O4:K68) of *Vibrio parahaemolyticus* associated with diarrhea in Mozambique: spread of the pandemic into the African continent. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 43, n. 6, p. 2559-2562, 2005.

AVEIRO, M. V. **Análise nutricional, microbiológica e histológica do berbigão *Anomalocardia brasiliana* da Reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Remapi) Florianópolis/SC**. Dissertação (Mestrado), Florianópolis: UFSC, 2007, 77 f.

BAHIA. Secretaria do Meio Ambiente. **SeAmbiente**. Publicação do Instituto do Meio Ambiente . IMA. Ano 1, n.1, edição semestral. Disponível em: [www.ima.ba.gov.br](http://www.ima.ba.gov.br). Acessado em: 23 de novembro de 2008.

BAHIA. Secretaria de Turismo do Estado da Bahia. **Bahia de Todos os Santos**. Disponível em: <http://www.setur.ba.gov.br/roteiros/baia/baia.asp>. Acessado em: 25 de janeiro de 2009.

Formatado: Português (Brasil)

BAKER, D. A.; GENIGEORGIS, C.; GLOVER, J.; RAZAVILAR, V. Growth and toxigenesis of *C. botulinum* type E in fishes packaged under modified atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**. v. 10, n. 3/4, p. 269-289, 1990.

BANG, W.; DRAKE, M. A.; JAYKUS, L. A. Recovery and detection of *Vibrio vulnificus* during cold storage. **Food Microbiology**. v. 24, n. 6, p. 664-670, 2007.

Formatado: Inglês (E.U.A.)

Formatado: Inglês (E.U.A.)

Formatado: Inglês (E.U.A.)

BARRETO, A. V.; BATISTA-LEITE, L. M. A.; AGUIAR, M. C. A. Maturidade sexual das fêmeas de *Callinectes danae* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) nos estuários dos Rios Botafogo e Carrapicho, Itamaracá, Pe, Brasil. **Iheringia Série Zoologia**. v. 96, n. 2, p. 141-146, 2006.

BARROS, L. M. O.; SOUZA, O. V.; LIMA, E. A.; MACRAE, A.; VIEIRA, G. H. F.; VIEIRA, R. H. S. F. Vibrios sacarose negativos isolados de ostras *Crassostrea rhizophorae* comercializadas em barracas de praia na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Boletim Técnico Científico Cepnor**. v. 7, n. 1, p. 9-16, 2007.

BAUER, A.; ØSTENSVIK, Ø.; FLORVÅG, M.; ØRMEN, Ø.; RØRVIK, L. M. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* V. *cholerae* and V. *vulnificus* in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*). **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, n. 4, p. 3058-3061, 2006.

BHASKAR, N.; SETTY, T. M. R.; MONDAL, S.; JOSEPH, M. A.; RAJU, C. V.; RAGHUNATH, B. S.; ANANTHA, C. S. Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*). **Food Microbiology**. v. 15, n. 5, p. 511-519, 1998.

Formatado: Inglês (E.U.A.)

BHUIYAN, N. A.; ANSARUZZAMAN, M.; KAMRUZZAMAN, M.; ALAM, K.; CHOWDHURY, N. R.; NISHIBUCHI, M.; FARUQUE, S. M.; SACK, D. A.; TAKEDA, Y.; NAIR, G. B. Prevalence of the pandemic genotype of *Vibrio parahaemolyticus* in Dhaka, Bangladesh, and significance of its distribution across different serotypes. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 40, n. 1, p. 284-286, 2002.

BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; ANDRADE, G.; LEITE, C. C. Aproveitamento industrial de marisco na produção de linguiça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 664-668, 2004.

BORGHESI, R.; ARRUDA, L. F.; OETTERTER, M. A silagem de pescado na alimentação de organismos aquáticos. **B. CEEPA**. Curitiba. v. 25, n. 2, p. 329-339, 2007.

BORGOGNONI, C. F.; POLAKIEWICZ, B.; PITOMBO, R. N. M. Estabilidade de emulsões de D-limoneno em quitosana modificada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 3, p. 502-508, 2006.

BRANCO, J. O.; AVILAR, M. G. Fecundidade em *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 9, n. 3/4, p. 167-173, 1992.

BRANCO, J. O.; LUNARDON-BRANCO, M. J. Aspectos da biologia de *Callinectes ornatus* Ordway, 1563 (Decapoda, Portunidae) da região de Matinhos, Paraná, Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. v. 36, n. 3, p. 489-496, 1993.



BRANCO, J. O.; MASUNARI, S. Crescimento de *Callinectes danae* Smith (Decapoda, Portunidae) da Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 9, n. 1/2, p. 53-66, 1992.

BRANCO, J. O.; THIVES, A. Relação peso/largura, fator de condição e tamanho de primeira maturação de *Callinectes danae* Smith, 1869 (Crustacea, Portunidae) no manguezal do Itacorubi, Santa Catarina, Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. v. 34, n. 3/4, p. 415-424, 1991.

BRANDS, D. A.; BILLINGTON, S. J.; LEVINE, J. F.; JOENS, L. A. Genotypes and antibiotic resistance of *Salmonella* Newport isolates from US market oysters. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 2, n. 1, p. 111-114, 2005.

Formatado: Inglês (E.U.A.)

Formatado: Inglês (E.U.A.)

Formatado: Inglês (E.U.A.)

Formatado: Inglês (E.U.A.)

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília: DF, 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste. **Boletim Estatístico da Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil**. 2006. Disponível em: [www.icmbio.gov.br/cepene/](http://www.icmbio.gov.br/cepene/). Acessado em: 26 de fevereiro de 2009.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: [www.ibge.gov.br/home/](http://www.ibge.gov.br/home/). Acessado em: 26 de fevereiro de 2009.

BRITTO, E. N.; LESSI, E.; CARDOSO, A. L.; FALCÃO, P. T.; SANTOS, J. G. Deterioração bacteriológica do jaraqui *Semaprochilodus* spp. capturado no estado do Amazonas e conservado em gelo. **Acta Amazônica**. v. 37, n. 3, p. 457-464, 2007.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia médica**. 22ª Ed. Tradução: Patrícia Lydie Voeux. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2005, 653 p.

BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. Tradução: Fábio Lang da Silveira. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 968 p.

CABRERA-GARCÍA, M. E.; VÁZQUEZ-SALINAS, C.; QUIÑONES-RAMÍREZ, E. I. Serologic and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and fish products of the Gulf of Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 70, n. 11, p. 6401-6406, 2004.

CARVALHO, C. O.; SERAFINI, A. B. Grupos de microrganismos isolados da orofaringe, nasofaringe e das mãos dos trabalhadores do restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Higiene Alimentar**. v. 10, n. 45, p. 19-24, 1996.



CARVALHO, M. C.; AGUIAR, M. C. P.; SANTOS, M. C. F.; MAGALHÃES, J. A. D. Pesca artesanal do camarão-rosa, *Farfantepenaeus subtilis* (Pérez-Farfante, 1967) (Crustacea, Penaeidae), na Baía de Iguape, Bahia, Brasil. **Boletim Técnico-Científico do CEPENE**. v. 14, n. 2, p. 73-80, 2006.

CERESER, N. D.; COSTA, F. M. R.; ROSSI JUNIOR, O. D.; SILVA, D. A. R.; SPEROTTO, V. R. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**. v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

CHOWDHURY, A.; ISHIBASHI, M.; THIEM, V. D.; TUYET, D. T. N.; TUNG, T. V.; CHIEN, B. T.; SEIDLEIN, L. V.; CANH, D. G.; CLEMENS, J.; TRACH, D. D.; NISHIBUCHI, M. Emergence and serovar transition of *Vibrio parahaemolyticus* pandemic strains isolated during a diarrhea outbreak in Vietnam between 1997 and 1999. **Microbiology and Immunology**. v. 48, n. 4, p. 319-327, 2004.

CORDEIRO, D. **Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção, congelamento e armazenamento**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2005, 82 f.

CUNHA, M. L. R. S.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; HIROOKA, E. Y. Generalidade sobre enterotoxinas estafilocócicas em alimentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**. v. 17, p. 9-22, 1996.

DALGAARD, P.; BUCH, P.; SILBERG, S. Seafood Spoilage Predictor . development and distribution of a product specific application software. **International Journal of Food Microbiology**. v. 73, n. 2-3, p. 343-349, 2002.

DALMASSO, A.; CIVERA, T.; BOTTERO, M. T. Multiplex primer-extension reaction assay for identification of six pathogenic vibrios. **International Journal of Food Microbiology**. v. 129, n. 1, p. 21-25, 2009.

DALSGAARD, A.; HUSS, H. H.; KITTIKUN, A. H.; LARSEN, J. L. Prevalence of *Vibrio cholerae* and *Salmonella* in a major shrimp production area in Thailand. **International Journal of Food Microbiology**. v. 28, n. 1, p. 101-113, 1995.

DAMS, R. I.; BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E. 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 Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. v.14, n. 2, p. 151-162, 1996.

DEEPANJALI, A.; KUMAR, H. S.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 71, n. 7, p. 3575-3580, 2005

DEPAOLA, A.; NORDSTROM, J. L.; BOWERS, J. C.; WELLS, J. G.; COOK, D. W. Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 69, n. 3, p. 1521-1526, 2003.

DSMZ. **Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH - German Collection of Microorganisms and Cell Culture**. Disponível em: <http://www.dsmz.de/index.htm>. Acessado em: 12 de julho de 2009.

FERNANDES, J. M.; ROSA, D. M.; ARAÚJO, C. C. V.; RIPOLI, L. V.; SANTOS, H. S. Biologia e distribuição temporal de *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Crustacea, Portunidae) em uma praia arenosa da Ilha do Frade, Vitória-ES. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**. n. 20, p. 59-71, 2006.

FERREIRA, L. S.; DINCAO, F. Crescimento de *Callinectes sapidus* (Crustacea, Decapoda, Portunidae) no estuário da laguna dos Patos, RS, Brasil. **Iheringia Série Zoológica**. v. 98, n. 1, p. 70-77, 2008.

FONTES, M. C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, n. 5, p. 1308-1315, 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Reimpressão. Tradução: Maria Carelina Minardi Guimarães. Porto Alegre: Artmed, 2005, 424 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005, 182 p.

FUENZALIDA, L.; ARMIJO, L.; ZABALA, B.; HERNÁNDEZ, C.; RIOSECO, M. L.; RIQUELME, C.; ESPEJO, R. T. *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated during investigation of the summer 2006 seafood related diarrhea outbreaks in two regions of Chile. **International Journal of Food Microbiology**. v. 117, n. 3, p. 270-275, 2007.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2004, 106 f.

FURLAN, E. F.; GALVÃO, J. A.; SALÁN, E. O.; YOKOYAMA, V. A.; OETTERER, M. Estabilidade físico-química e mercado do mexilhão (*Perna perna*) cultivado em Ubatuba - SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 3, p. 516-523, 2007.

GALVÃO, J. A.; FURLAN, E. F.; SALÁN, E. O.; PORTO, E.; OETTERER, M. Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) da água e dos mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP. **Ciências Agrotécnicas**. v. 30, n. 6, p. 1124-1129, 2006.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Botulism: A laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 44, n. 6, p. 321-324, 2002.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, 629 p.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar**. v. 7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções alimentares: uma revisão. **Higiene Alimentar**. v. 12, n. 53, p. 38-44, 1998.

GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria . problems and solutions. **Current Opinious in Biotechnology**. v. 13, n. 3, p. 262-266, 2002.

GUIMARÃES, A. G. **Contaminação do molusco *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791), por *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus*, na região Norte da Baía de Todos os Santos**. Tese (Doutorado), Campinas: Unicamp, 2002, 120 f.

GUNSALAM, J. W.; RADU, S.; BENJAMIN, P. G.; SELAMAT, J.; ROBIN, T. Evidence of cross-contamination of *Aeromonas hydrophila* by fingerprinting: significance for food safety. **Journal of Food Safety**. v. 26, n. 4, p. 302-312, 2006.

GUYADER, F. S.; PARNAUDEAU, S.; SCHAEFFER, J.; BOSCH, A.; LOISY, F.; POMMEPUY, M.; ATMAR, R. L. Detection and quantification of Noroviruses in shellfish. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 75, n. 3, p. 618-624, 2009.

HARA-KUDO, Y.; NISHINA, T.; NAKAGAWA, H.; KONUMA, H.; HASEGAWA, J.; KUMAGAI, S. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 68, n. 12, p. 5819-5823, 2001.

HATHA, A. A. M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India. **Food Microbiology**. v. 14, n. 2, p. 111-116, 1997.

HEINITZ, M. L.; RUBLE, R. D.; WAGNER, D. E.; TATINI, S. R. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **Journal of Food Protection**. v. 63, n. 5, p. 579-592, 2000.

HOBBS, G. Fish: microbiological spoilage and safety. **Food Science and Technology Today**. v. 5, n. 3, p. 166-173, 1991.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9<sup>o</sup> ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1994. 787 p.

HUDSON, J. A.; MOTT, S. J. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* on cold-smoked salmon under refrigeration and mild temperature abuse. **Food Microbiology**. v. 10, n. 1, p. 61-68, 1993.

HUSS, H. H. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. **Food Control**. v. 8, n. 2, p. 91-98, 1997.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**. v.11, n. 2, p. 149-156, 2000.

IYER, T. S. G.; VARMA, P. R. G. Sources of contamination with *Salmonella* during processing of frozen shrimp. **Fishing Technology**. v. 27, p. 60-63, 1990.

JACKSON, V.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A.; KENNEDY, J.; BOLTON, D. J. The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. **Food Control**. v. 18, n. 4, p. 346-351, 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª ed. Tradução Eduardo Cesar Tondo. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

JIANG, X.; CHAI, T-J. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* at low temperature under starvation conditions and subsequent resuscitation of viable, nonculturable cells. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 62, n. 4, p. 1300-1305, 1996.

JØRGENSEN, L. V.; HUSS, H. H. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. **International Journal of Food Microbiology**. v. 42, n. 1/2, p. 127-131, 1998.

KEERATIPIBUL, S.; TECHARUWICHIT, P.; CHATURONGKASUMRIT, Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. **Food Control**. v. 20, n. 3, p. 289-293, 2009.

KEUNECKE, K. A. **Efeito da pesca de arrasto do camarão-rosa sobre a dinâmica populacional de *Callinectes danae* e *C. ornatus* (Crustacea, Portunidae) na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil**. Tese (Doutorado), Niterói: UFF, 2006, 141 f.

KEUNECKE, K. A.; DUNCAO, F.; MOREIRA, F. N.; SILVA JR, D. R.; VERANI, J. R. Idade e crescimento de *Callinectes danae* e *C. ornatus* (Crustacea, Decapoda) na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia Série Zoologia**. v. 98, n. 2, p. 231-235, 2008.

KONEMAM, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JUNIOR, W. C. **Diagnóstico Microbiológico É Texto e Atlas Colorido**. 5ª ed. Tradução: Arlete Emily Cury. Colorado: Medsi Editora Médica e Científica Ltda, 2001. 1465 p.

KUMAR, H. S.; SUNIL, R.; VENUGOPAL, M. N.; KARUNASAGAR, I. Detection of *Salmonella* spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. **International Journal of Food Microbiology**. v. 88, n. 1, p. 91-95, 2003.

LALITHA, K.; SURENDRAN, P. K. Microbiological changes in farm reared freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) in ice. **Food Control**. v. 17, n. 10, p. 802-807, 2006.

LANDEIRO, C. M. P. A.; ALMEIDA, R. C. C.; NASCIMENTO, A. T. M.; FERREIRA, J. S.; YANO, T.; ALMEIDA, P. F. Hazards and critical control points in Brazilian seafood dish preparation. **Food Control**. v. 18, n. 5, p. 513-520, 2006.

LEAL, D. A. G.; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: metodologias de detecção e normas de controle. **Revista Panamericana de Infectologia**. v. 10, n. 4, p. 48-57, 2008.

LEAL, N. C.; SILVA, S. C.; CAVALCANTI, V. O.; FIGUEIROA, Â. C. T. A.; NUNES, V. V. F.; MIRALLES, I. S.; HOFER, E. *Vibrio parahaemolyticus* serovar O3:K6 gastroenteritis in northeast Brazil. **Journal of Applied Microbiology**. v. 105, n. 3, p. 691-697, 2008.

LEE, J-K.; JUNG, D-W.; EOM, S-Y.; OH, S-W.; KIM, Y.; KWAK, H-S.; KIM, Y-H. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. **Food Control**. v. 19, n. 10, p. 990-994, 2008.

LEITÃO M. F. F.; RIOS D. P. A. Microbiological and chemical changes in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under refrigeration. **Brazilian Journal Microbiology**. v. 31, n. 3, p. 178-183, 2000.

LHAFI, S. K.; KÜHNE, M. Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea (Short communication). **International Journal of Food Microbiology**. v. 116, n. 2, p. 297-300, 2007.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; SANTANA, L. S.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C.; OMENA, C. M. B.; SILVA NETA, M. L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 4, p. 529-237, 2004.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Dissertação (Mestrado), São Paulo: USP, 2003, 93 f.

MAGALHÃES, V.; LIMA, R. A.; TATENO, S.; MAGALHÃES, M. Gastroenteritis humanas associadas a *Vibrio parahaemolyticus* no Recife, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 33, n. 1, p. 64-68, 1991.

MIMS, C.; DOCKRELL, H. M.; GOERING, R. V.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; ZUCKERMAN, M. **Microbiologia médica**. 3ª ed. Tradução: Adriana Rodrigues Fonseca et al. Rio de Janeiro: Elsevier. 2005, 709 p.

MOHAREM, A. S.; RAJ, A. P. C.; JANARDHANA G. R. Incidence of *Listeria* specie in seafood products of Mysore, India. **Journal of Food Safety**. v. 27, n. 4, p. 362-372, 2007.

MOURA, C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C.; ALMEIDA, J.; PINTO, L. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto. **Vetor**. v. 16, n. 1/2, p. 37-45, 2006.

MUNTADA-GARRIGA, J. M.; RODRIGUEZ-JEREZ, J. J.; LOPEZ-SABATER, E. I.; MORA-VENTURA, M. T. Effects of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. **Letters in Applied Microbiology**. v. 20, n. 4, p. 225-227, 1995.

MURRAY, P. R. **Microbiologia clínica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2002, 372 p.

NTZIMANI, A. G.; PALEOLOGOS, E. K.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Formation of biogenic amines and relation to microbial flora and sensory changes in smoked turkey breast fillets stored under various packaging conditions at 4°C. **Food Microbiology**. v. 25, n. 3, p. 509-517, 2008.

PANTAZI, D.; PAPAVERGOU, A.; POURNIS, N.; KONTOMIMINAS, M. G.; SAVVAIDIS, I. N. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. **Food Microbiology**. v. 25, n. p. 136-143, 2008.

PEDRERO, S. P. **Detección y caracterización de virus patógenos humanos en muestras ambientales y moluscos bivalvos**. Tese (Doutorado). Barcelona: UB, 2001, 300 f.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos na cidade de Natal/RN. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n. 2, p. 154-157, 2001.

PEREIRA, C. S. **A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a saúde pública É Contexto político-social e microbiológico**. Tese (Doutorado), Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003, 177 f.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 40, n. 1, p. 56-59, 2007.



PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 591-595, 2004.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis. Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 37, p. 159-163, 2006.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERGDOLL, M. S. Estafilococos e Alimentos: Possibilidade de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**. v.13, n. 66/67, p. 48-55, 1999.

\_\_\_\_\_. Estafilococos: até onde sua importância em alimentos. **Higiene Alimentar**. v. 14, n. 68/69, p. 32-40, 2000.

PHAN, T. T.; KHAI, L. T.; OGASAWARA, N.; TAM, N. T.; OKATANI, A. T.; AKIBA, M.; HAYASHIDANI, H. Contamination of *Salmonella* in retail meats and shrimps in the Mekong Delta, Vietnam. **Journal of Food Protection**. v. 68, n. 5, p. 1077-1080, 2005.

PINTO, A.; CICCARESE, G.; FONTANAROSA, M.; TERIO, V.; TANTILLO, G. Detection of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish samples using collagenase-targeted multiplex-PCR. **Journal of Food Safety**. v. 26, n. 2, p. 150-159, 2006.

PIRES, E. F.; SHINOHARA, N. K. S.; RÊGO, J. C.; LIMA, S. C.; STAMFORD, T. L. M. Surtos de toxinfecções alimentares em unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**. v. 16, n. 101, p. 20-24, 2002.

PONCE, E.; KHAN, A.; CHENG, C.-M.; SUMMAGE-WEST, C.; CERNIGLIA, C. E. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden from imported seafood. **Food Microbiology**. v. 25, n. 1, p. 29-35, 2008.

PRENTICE, C.; SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1, p. 127-131, 2005.

NAIR, B. G.; RAMAMURTHY, T.; BHATTACHARYA, S. K.; DUTTA, B.; TAKEDA, Y.; SACK, D. A. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3K6 and its serovariants. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 20, n. 1, p. 39-48, 2007.

QUILICI, M.-L.; ROBERT-PILLOT, A.; PICART, J.; FOURNIER, J.-M. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 spread, France. **Emerging Infectious Diseases**. v. 11, n. 7, p. 1148-1149, 2005.

RALL, V. L. M.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes termotolerantes em pescados frescos e congelados. **PUBVET**. v. 2, n. 39, 2008.



RAMOS, V. O. C. **Pesca, pescadores e políticas públicas no Baixo São Francisco, Sergipe-Brasil.** Dissertação (Mestrado). Aracajú: UFS, 2001, 158f.

RIBEIRO, F. A. **Análise do efeito de diferentes métodos de conservação na determinação da contaminação da carne do molusco bivalve *Tivela mactroides* por coliformes totais e fecais.** Monografia (Graduação). São João da Boa Vista: Centro Universitário da Fundação de Ensino Otávio Bastos, 2004, 54 f.

RICHARDS, G. P.; WATSON, M. A.; PARVEEN, S. Development of a simple and rapid fluorogenic procedure for identification of Vibrionaceae family members. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 71, n. 7, p. 3524-3527, 2005.

ROBSON, A. A.; KELLY, M. S.; LATCHFORD, J. W. Effect of temperature on the spoilage rate of whole, unprocessed crabs: *Carcinus maenas*, *Necora puber* and *Cancer pagurus* (Short communication). **Food Microbiology.** v. 24, n. 4, p. 419-424, 2007.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva.** 7ª Ed. Tradução Antônio Carlos Marques. São Paulo: Roca, 2005, 1145 p.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; GREENWOOD, M. Microbiological study of cooked crustaceans and molluscan shellfish from UK production and retail establishments. **International Journal of Environmental Health Research.** v. 17, n. 3, p. 219-230, 2007.

SANTOS, C. A. M. L. A qualidade do pescado e a segurança dos alimentos. **Anais do II SIMCOPE (Simpósio de Controle do Pescado).** São Vicente: SP, 2006. Disponível em: [ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade\\_pescado.pdf](ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade_pescado.pdf). Acessado em: 17 de abril de 2009.

SERDENGECTI, N.; YILDIRIM, I.; GOKOGLU, N. Effects of sodium lactate, sodium acetate and sodium diacetate on microbiological quality of vacuum-packed beef during refrigerated storage. **Journal of Food Safety.** v. 26, n. 1, p. 62-71, 2006.

SERRA, C. L. M.; CAVALCANTE, P. R.; COELHO, L. M. A.; NASCIMENTO, A. R.; COUTINHO, M. F. O. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em sarnambi (*Anomalocardia brasiliensis*) e sururu (*Mytella falcata*) capturados no estuário do Rio Anil, São Luis, Ma. **Higiene Alimentar.** v. 18, n. 116/117, p. 73-78, 2004.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D. S. F.; GRAÇA-LOPES, R. Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do Perequê, estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca.** v. 28, n. 1, p. 33-48, 2002.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J. B.; GRAÇA-LOPES, R. Pesca artesanal de siris (Crustacea, Decapoda, Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 27, n. 1, p. 7-19, 2001.

SILVA, E. V. C.; SILVA, G. F.; AMARAL, A. J. L.; SANTANA, M. E. B. elaboração e caracterização do fiambre de peixe a partir da gurijuba. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 2, n. 2, p. 15-24, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536 p.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: Patogenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**. v. 18, n. 122, p. 32-40, 2001.

SOCCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2002, 141 f.

SOUZA, D. B. R. **Recuperação de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* inoculadas em camarão marinho, *Litopenaeus vannamei*, submetidas às temperaturas de resfriamento e congelamento**. Dissertação (Mestrado), Fortaleza: UFC, 2007, 64 f.

SOUZA, O. V.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENEZES, F. G. R.; REIS, C. M. F.; HOFER, E. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in oyster, *Cassostrea rhizophorae*, collected from a natural nursery in the Cocó river estuary, Fortaleza, Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 46, n. 2, p. 59-62, 2004

SUMNER, J.; ROSS, T. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. **International Journal of Food Microbiology**. v. 77, n. 1/2, p. 55-59, 2002.

SU, Y-C.; LIU, C. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. **Food Microbiology**. v. 24, n. 6, p. 549-558, 2007.

TEIXEIRA, R. L.; SÁ, H. S. Abundância de macrocrustáceos decápodos nas áreas rasas do Complexo Lagunar Mundaú/Manguaba, Al. **Revista Brasileira de Biologia**. v. 58, n. 3, p. 393-404, 1998.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

TEOPHILO, G.; VIEIRA, R. F.; RODRIGUES, D. P.; MENEZES, F. R. *Escherichia coli* isolated from seafood: toxicity and plasmid profiles. **International Microbiology**. v. 5, n. 1, p. 11-14, 2002.

TOMITA, R.; FURLAN, É. F.; NEIVA, C. R. P.; LEMOS NETO, M. J.; PÉREZ, A. C. A.; BORTOLAZZO, M. A. B.; MANTOVANI, D. B. M.; SILVEIRA, N. F. A.; OLIVEIRA, J. P. M.; LÔBO, A. M. C.; MORAES, H. S.; PAULA, D.; RIVIEIRA JUNIOR, F. J.; LIMA, T. R. Qualidade físico-química do pescado marinho refrigerado em diferentes formas de apresentação. **Anais do II SIMCOPE É Simpósio de controle do pescado**. São Paulo: Instituto de Pesca, v. 1, p. 1-4, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8ª ed. Tradução: Roberta Marchiori Martins. Porto Alegre: Artmed, 2005, 894 p.

Formatados: Marcadores e numeração

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª ed. Rio de Janeiro-São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 718 p.

Formatados: Marcadores e numeração

UNGAR, M. L.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Riscos e consequências da manipulação de alimentos para a saúde pública. **Higiene Alimentar**. v. 6, n. 21, p. 14-17, 1992.

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos . perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. **Higiene Alimentar**. v. 17, n. 104/105, 2003.

Formatados: Marcadores e numeração

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004, 380 p.

Formatados: Marcadores e numeração

VIEIRA, R. H. S. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R.; CARVALHO, F. C. T.; FONTELES FILHO, A. A. contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

VIEIRA, R. H. S. F.; TAVARES, L. A.; GAMBAR, R. C.; PEREIRA, M. L. *S. aureus* em camarão fresco e superfícies de bancadas da feira livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE. . Registros de pontos críticos e medidas de controle. **Higiene Alimentar**. v. 152, n. 55, p. 47-50, 1998.

VONGXAY, K.; WANG, S.; ZHANG, X.; WU, B.; HU, H.; PAN, Z.; CHEN, S.; FANG, W. Pathogenetic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from clinical and seafood sources. **International Journal of Food Microbiology**. v. 126, n. 1/2, p. 71-75, 2008.

UDDHAKUL, V.; CHOWDHURY, A.; LAOHAPRERTTHISAN, V.; PUNGRASAMEE, P.; PATARARUNGRONG, N.; THIANMONTRI, P.; ISHIBASHI, M.; MATSUMOTO, C.; NISHIBUCHI, M. Isolation of a pandemic O3:K6 clone of a *Vibrio parahaemolyticus* strains from environmental and clinical sources in Thailand. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66, n. 6, p. 2685-2689, 2000.

Formatados: Marcadores e numeração

WAKASA, Y. S. **Contaminação mercurial em siris e caranguejos da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado), Niterói: UFF, 2003, 97 f.

WANG, S.; LEVIN, R. E. Rapid quantification of *Vibrio vulnificus* in clams (*Protochaca staminea*) using real-time PCR. **Food Microbiology**. v. 23, n. 8, p. 757-761, 2006.

WONG, H-C.; LIU, S-H.; WANG, T-K.; LEE, C-L.; CHIOU, C-S.; LIU, D-P.; NISHIBUCHI, M.; LEE, B-K. Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 from Asia. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66, n. 9, p. 3981-3986, 2000.

ZABALA, B.; GARCÍA, K.; ESPEJO R. T. Enhancement of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 pandemic strains ultraviolet light sensitivity due to natural lysogenization by a telomeric phage. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 75, n. 2, p. 366-373, 2009.

ZIMMERMAN, A. M.; DEPAOLA, A.; BOWERS, J. C.; KRANTZ, J. A.; NORDSTROM, J. L.; JOHNSON, C. N.; GRIMES, D. J. Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 73, n. 23, p. 7589-7596, 2007.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**CAPÍTULO II:**  
**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICOS-SANITÁRIAS E DO BINÔMIO**  
**TEMPO/TEMPERATURA DURANTE O PROCESSAMENTO DE VÔNGOLE**  
**(*Anomalocardia brasiliana*) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE)**

## AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICOS-SANITÁRIAS E DO BINÔMIO TEMPO/TEMPERATURA DURANTE O PROCESSAMENTO DE VÔNGOLE (*Anomalocardia brasiliiana*) E SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE).

### RESUMO

Os mariscos são fontes de nutrição e renda para muitas populações ribeirinhas que vivem no entorno da Baía de Todos os Santos. No entanto, nesta região, sua forma de processamento é artesanal e não há um rigoroso controle sanitário, podendo influenciar, diretamente, a qualidade final do produto. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária das etapas de processamento do vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e siri (Família Portunidae) processados nos distritos de Mutá, Pirajuía e Ourives pertencentes ao município de Jaguaripe e no município de Salinas da Margarida, todos situados no entorno da Baía de Todos os Santos. Foi acompanhada cada etapa de processamento dos mariscos através do registro de tempo e temperatura. Em seguida, foram realizadas análises microbiológicas da superfície das mãos das marisqueiras e de seus utensílios, com o auxílio de swabs comerciais. Foram pesquisadas a presença de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva, principais microrganismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária. As etapas de processamento dos mariscos consistiam em colheita/captura, lavagem, estocagem, cocção, catação e armazenamento sob resfriamento. As marisqueiras levavam ao redor de uma hora para ferver os mariscos e depois realizavam a separação manual da carne de suas conchas e carapaças. A catação foi identificada como a etapa crítica no fluxograma dos mariscos, porque os microrganismos introduzidos neste estágio não são eliminados nas etapas posteriores, podendo se multiplicar no alimento, permanecer ainda durante seu armazenamento e ocasionar a deterioração precoce do produto ou tornar o alimento um veiculador de doença de origem alimentar. Não foi isolado *E. coli* nas mãos das marisqueiras e nos utensílios usados na catação do siri. Entretanto, no vôngole, observou-se a presença de *E. coli* em: 20% e 40% das amostras colhidas das mãos das marisqueiras durante as etapas de colheita e catação, respectivamente, e 20% nas amostras dos recipientes utilizados durante a catação do vôngole. No siri, os estafilococos coagulase positiva foram isolados numa proporção de 60% e 40% nas amostras das mãos das marisqueiras e nos recipientes utilizados durante a catação, respectivamente. No vôngole, foi isolado estafilococos coagulase positiva em 30% e 50% das amostras das mãos das marisqueiras durante a colheita e catação, respectivamente e em 30% dos utensílios utilizados durante a etapa de catação. Esses dados demonstram que o processamento artesanal dos mariscos pode facilitar a contaminação de sua carne com microrganismos com potencial patogênico.

Palavras chaves: processamento de marisco, Baía de Todos os Santos, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## EVALUATION OF HEALTH-HYGIENIC CONDITIONS AND TIME/TEMPERATURE BINOMIAL DURING THE PROCESSING OF CLAM (*Anomalocardia brasiliiana*) AND CRAB (FAMILY PORTUNIDAE).

### ABSTRACT

The shellfish are sources of nutrition and income for many coastal living around the Baía de Todos os Santos. However, in this region, their way of processing is handmade and there is not a strict sanitary control, that can influence directly the quality of the final product. This study aimed to evaluate the hygienic-sanitary quality of the stages of processing clams (*Anomalocardia brasiliiana*) and crabs (Family Portunidae) processed in the Jaguaripe districts of Mutá, Pirajuía and Ourives and the municipality of Salinas da Margarida all located around the Baía de Todos os Santos. Was accompanied each step of processing of seafood by taking the time and temperature. Then, we carried out microbiological analysis of the surface of the hands of the shellfishers and its tools, with the aid of swabs trade. We studied the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, microorganisms main indicators of hygienic and sanitary quality. The steps of processing of seafood are sampling/capture, washing, storage, cooking, collecting, and storage under cooling. The shellfishers took around an hour to boil seafood and then performed a manual separation of meat from their shells. The collecting is the critical step in the flowchart of seafood because the microorganisms introduced in this way are not deleted in the later stages, can multiply in the food, stay in it during its storage and lead to early deterioration of the product or make the food a vehicle for disease of food source. There were no *E. coli* in the hands of the shellfishers and the utensils used in collecting the crab. However, there was the presence of *E. coli* in 20% of the clams shellfishers hands during the harvest, 40% for collecting and 20% of the container used during the collecting clams. The *S. aureus* was found in a proportion of 60% in the hands of the shellfishers and 40% in containers during collecting the crab, while the clams there were 30% in the hands during the harvest, 50% in the hands during collecting and 30% of containers. These data show that the craft can facilitate the processing of meat of seafood contaminated with microorganisms with pathogenic potential.

Keywords: processing of shellfish, Baía de Todos os Santos, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.



## 1. INTRODUÇÃO

Há muito tempo os frutos do mar, como peixes e mariscos, fazem parte da dieta humana. Sabe-se que os chineses e gregos antigos utilizavam peixes salgados em suas dietas e transmitiram essa tecnologia para outras civilizações, como os romanos (JAY, 2005).

A pesca influenciou, consideravelmente, a ocupação humana próxima ao litoral em todo o mundo e ainda hoje é a fonte de renda para muitas comunidades (AVEIRO, 2007). Somente no ano de 2003, a produção mundial de pescado chegou a 132 milhões de toneladas, porém seu consumo se concentra em alguns países (ALMEIDA et al., 2006).

A média *per capita* de consumo de pescado no Brasil é pequena, quando comparada à média de consumo em países asiáticos, onde o pescado é a principal fonte de proteína animal (PRENTICE e SAINZ, 2005). A carne vermelha e de frango, frequentemente, substituem o pescado na dieta de muitos brasileiros, seja por sua elevada disponibilidade nos mercados varejistas, ou pela tradição de utilizar esse tipo de ingrediente na confecção de grande parte dos pratos consumidos diariamente.

No Brasil, o consumo de mariscos é menor ainda e é concentrado nas capitais e em cidades litorâneas de grande e médio porte. Segundo Furlan (2004) a oferta de produtos pesqueiros no Brasil é insatisfatória e este é um dos principais motivos para o seu consumo reduzido.

Em busca de melhor qualidade de vida, a população vem despertando para os benefícios do consumo frequente de pescado e seus derivados por conter baixos valores calóricos e pequena quantidade de gordura quando comparado com a carne bovina (AVEIRO, 2007). O consumo de peixes, moluscos e crustáceos vem sendo incentivado pelos especialistas como uma das melhores formas de ingerir ácidos graxos poliinsaturados das classes Omega 3 e Omega 6 que possuem propriedades antioxidantes. O consumo regular de pescado pode prevenir contra o envelhecimento, doenças de pele, obesidade e doenças cardiovasculares (LIRA et al., 2004).

Nos municípios e distritos situados no entorno da Baía de Todos os Santos, é comum encontrar famílias inteiras que vivem da pesca e colheita de mariscos, sendo estas atividades as principais fontes de alimento e renda de muitas famílias ribeirinhas (GUIMARÃES, 2002). O destino dos mariscos processados nesta região pode ser o consumo, venda direta ao turista ou para a população local, venda a atravessadores que encaminham o pescado aos mercados consumidores ou mais raramente a venda direta a restaurantes e fornecedores em grandes centros urbanos.

Os mariscos processados, indevidamente, podem causar diversos tipos de toxinfecções bacterianas no homem (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993). Por isso, necessitam de cuidados durante seu processamento, armazenamento e transporte até os centros consumidores.

Segundo Ungar, Germano e Germano (1992) a má higiene pessoal do manipulador, limpeza deficiente das instalações e utensílios associados à má utilização da temperatura no preparo e conservação são as principais causas da presença de microrganismos patogênicos em pescados.

As doenças transmitidas por alimentos, à base de mariscos, podem ser prevenidas através da correta utilização da cocção, prevenção da recontaminação após a cocção, estocagem sob resfriamento e descarte daqueles que apresentem sinais de deterioração (GONÇALVES, 1998).

Felizmente, nas últimas décadas, os especialistas da área de alimentos conseguiram entender a etiologia e os mecanismos de patogenicidade de muitos patógenos transmitidos por alimentos, culminando com a descoberta de microrganismos emergentes, que até então, não eram tidos como patogênicos (MAHON et al., 2006). Por isso, foi possível criar técnicas, como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), para minimizar a contaminação dos alimentos por microrganismos patogênicos (LANDEIRO et al., 2006).

De maneira enfática, estudos apontam o manipulador como o principal reservatório de espécies de estafilococos, bactéria com comprovada capacidade de causar intoxicação alimentar (PEREIRA et al., 1999). O processamento manual para retirada da carne de dentro das conchas e carapaças após um rápido cozimento é a

principal causa de contaminação dos mariscos por bactérias do gênero *Staphylococcus* durante o seu beneficiamento (VIEIRA, 2004).

Muitas vezes, a falta de recursos e conhecimentos básicos em Boas Práticas de Fabricação (BPF) por boa parte das marisqueiras faz com que os mariscos sejam processados em condições insuficientes de higiene. Por tudo isso, estes é um importante alimento envolvido em surtos de toxinfecções alimentares, ressaltando a necessidade de pesquisas sobre sua qualidade (HUSS, REILLY e EMBAREK, 2000). As práticas higiênicas durante as etapas de processamento dos frutos do mar são fundamentais para um produto com pequena carga microbiana inicial e ausência de patógenos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária de amostras de mãos, utensílios e alimento, nas diversas etapas de processamento do vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) e siris da Família Portunidae, colhidos e processados nos distritos de Mutá, Pirajuía e Ourives, pertencentes ao município de Jaguaripe e no município de Salinas da Margarida, todos situados no entorno da Baía de Todos os Santos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAL

Foram utilizados swabs+ do tipo Stuart Copan® para análise da presença de microrganismos com potencial patogênico na superfície das mãos das marisqueiras durante as etapas de colheita e catação e nos recipientes utilizados para conter a carne dos mariscos durante a etapa de catação.

Também foi utilizado termômetro digital para aferição da temperatura do marisco durante as etapas de colheita, lavagem, cocção e catação dos mariscos.

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. ACOMPANHAMENTO DAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO DOS MARISCOS.

As etapas de processamento dos mariscos foram acompanhadas *in loco*. Para alcançar uma média e obter o desvio padrão de cada parâmetro foram tomadas 10 medidas diferentes de tempo e temperatura de cada etapa.

Para avaliação das condições de higiene das etapas de processamento foi pesquisada a presença de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva (ECP), microrganismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária. Os microrganismos foram obtidos através da fricção de swabs bacteriológicos comerciais estéreis sobre a superfície das mãos das marisqueiras e no interior dos recipientes utilizados para conter os mariscos já catados. Foram coletadas 10 amostras distintas de cada etapa, totalizando 30 amostras da superfície das mãos e 20 amostras dos recipientes.

Em um intervalo máximo de 24 horas, transportaram-se os swabs dentro de caixas isotérmicas até a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, onde se processou as análises microbiológicas.

Ao chegar ao laboratório, os swabs foram pressionados levemente sobre a superfície do *Chromocult Coliform Agar*<sup>®</sup> (CCA) e em seguida sobre o ágar Baird-Parker (BP) para isolamento de *E. coli* e ECP, respectivamente.

O CCA foi incubado a 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica (ENTIS et al., 2001). As colônias de tamanho médio e de cor violeta, suspeitas de serem *E. coli*, foram submetidas aos testes bioquímicos IMViC, H<sub>2</sub>S e motilidade para confirmação do diagnóstico (teste de utilização do citrato em ágar citrato de Simmons; H<sub>2</sub>S, indol e motilidade em meio semi-sólido SIM; Voges Proskauer e vermelho de metila em caldo VM-VP) (VERMELHO et al., 2006).

O BP foi incubado por 48 horas a 37°C em estufa bacteriológica. As colônias típicas foram repicadas para ágar nutriente e incubadas por 24 horas a 37°C. Essas culturas foram submetidas à prova de catalase em lâmina com solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 4%. Aquelas que apresentaram resultado positivo foram

imediatamente confirmadas através do teste de coagulase utilizando-se o Kit de soroaglutinação rápida Staphclin® (LANCETTE e BENNETT, 2001). Este Kit é capaz de realizar a identificação do microrganismo em nível de espécie, pois pesquisa, simultaneamente, a presença do %Clumping factor+ (fator de coagulação ou fator de agregação ligado à célula) e da Proteína A, fatores que existem em conjunto, apenas no *Staphylococcus aureus* (KONEMAN et al., 2001).

### 2.2.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada segundo CALLEGARI-JACQUES (2004) e foi composta pela estatística descritiva com média e desvio padrão do tempo e temperatura das etapas de processamento.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

O fluxograma de processamento dos mariscos são muito semelhante e consiste nas etapas de: colheita/captura, lavagem em água do mar, transporte até o local de processamento, armazenamento em temperatura ambiente, cocção para abertura das conchas e carapaças, catação da carne e armazenamento sobre congelamento em refrigerador doméstico. Algumas marisqueiras realizavam lavagens adicionais do marisco em água torneiral tratada, principalmente para o siri.

### 3.1. ETAPAS DE PROCESSAMENTO DO VÔNGOLE.

O vôngole vive enterrado sob uma fina camada de areia da praia. A sua colheita é realizada durante a maré baixa, quando o mar recua deixando à mostra uma larga faixa de areia (Figuras 1 e 2). As marisqueiras identificam esta etapa como %mariscar+ ou %cavar o marisco+. Tradicionalmente, o ato de %mariscar+ e processar os mariscos recém-coletados é tarefa das mulheres, entretanto não foi incomum encontrar homens



cavando a areia da praia à procura do vôngole ou a lama do mangue em busca de outros moluscos bivalves como %ururus+, %ambretas+e ostras.



**Figura 1:** Marisqueira escavando a areia a procura do vôngole. Praia de Mutá.



**Figura 2:** Grupo de marisqueiras escavando a areia a procura do vôngole. Praia de Mutá.

Para a remoção da camada de areia que encobre o vôngole, as marisqueiras utilizavam instrumentos denominados *cavadores* que pode ser um garfo, faca, colher ou qualquer outra peça metálica retorcida no meio formando um ângulo reto (Figura 3).

Raramente, foi observado, durante a pesquisa, um cavador que não fosse uma peça metálica, provavelmente porque peças de madeira ou plástico são menos resistentes aos processos de oxidação causada pela água do mar e erosão mecânica causada pelo contato prolongado entre o cavador e a areia da praia. Elas reviravam as areias da praia, quatro horas por dia, em média, a procura do vôngole até o momento em que a maré subia o suficiente para submergir o banco de areia.



**Figura 3:** Instrumentos metálicos como facas, colheres e garfos encurvados utilizados como *cavador*.

As marisqueiras cavavam até acumularem quantidade suficiente para encher os recipientes como cestos, baldes, latas, sacos ou sacolas das mais diversas utilizadas com a finalidade de transportar o marisco colhido até o local de armazenamento (Figura 4 e 5). Durante esse processo, o vôngole alcançou uma temperatura média de 28,85°C (DP= ± 4,7°C).

A análise microbiológica da superfície das mãos das marisqueiras durante esta etapa revelou a presença de estafilococos coagulase positiva em três (30%) e *Escherichia coli* em duas (20%) de um total de dez amostras tomadas.





**Figura 4:** Vôngole recém-coletado.



**Figura 5:** Foto aproximada do vôngole recém-coletado.

Após a colheita, o vôngole era lavado com água do mar por sete minutos e meio, em média, para retirada de sujidades externas maiores, como areia da praia, antes de ser transportado até a residência das marisqueiras, ainda vivo, dentro dos recipientes (Figura 6). Na Figura 7 é possível observar o vôngole após ser submetido à lavagem.



**Figura 6:** Lavagem do vôngole na água do mar para retirada da areia e outras sujidades.



**Figura 7:** Detalhe do vôngole após a lavagem na água do mar.



As marisqueiras possuem o hábito de estocar o vôngole vivo, em baldes, sacos ou latas, expostos, à temperatura ambiente, por até 48 horas antes de fervê-los (Figura 8).



**Figura 8:** Estocagem do vôngole em temperatura ambiente por até 48 horas.

Ao chegar em sua residência, normalmente, a marisqueira processava o vôngole cavado nos dias anteriores. Em alguns casos elas uniam a colheita do dia, ao montante coletado no dia anterior, a fim de obter maior volume de marisco processado. Elas também poderiam estocá-lo para ser processado posteriormente, caso o volume coletado tivesse sido pequeno.

Depois de estocado, as marisqueiras submetem o vôngole a um aquecimento para que as conchas se abram espontaneamente (Figuras 9 e 10). Esta cocção, geralmente, é realizada em fogo a lenha, em área externa à sua residência como no quintal ou na frente de suas casas.

Antes de submeter o vôngole a cocção, era comum que as marisqueiras lavassem o marisco com água torneiral.

Elas adicionavam o vôngole lavado em panelas próprias para isso e as levavam ao fogo. É significativo relatar que, geralmente, as panelas reservadas para a cocção dos mariscos estavam em más condições de conservação.

Ao aplicar calor sobre o vôngole, este liberou um resíduo de água do mar retido dentro das conchas e essa água foi responsável pelo cozimento do mesmo.

O vôngole foi aquecido por 52,5 minutos, em média (DP=  $\pm 9$  minutos). A temperatura de cocção chegou a 100,2°C com média de 98,95°C (DP=  $\pm 0,6^\circ\text{C}$ ) durante a fervura, permanecendo a temperatura máxima de fervura por 15,5 minutos, em média (DP=  $\pm 4$  minutos).



**Figura 9:** Etapa de cocção para abertura das conchas do vôngole.





**Figura 10:** Fervura máxima do vôngole para abertura das carapaças.

Ao final da cocção, já com as conchas abertas, prosseguiu-se à etapa identificada pelas marisqueiras como %batação do marisco+. A água liberada pelo vôngole durante a cocção foi escorrida, ainda quente, ao verter o vôngole fervido em um balaio de palha, normalmente em ambiente externo a residência das marisqueiras (Figura 11).



**Figura 11:** Balaio de palha onde é retirada a água liberada durante a cocção do vôngole.

O vôngole permaneceu resfriando, por poucos minutos, sem nenhuma proteção, em temperatura ambiente, até que atingisse uma temperatura confortável para iniciar a retirada manual da carne de dentro das conchas. Algumas marisqueiras realizavam a separação entre a carne e as conchas do vôngole dentro de suas residências, enquanto outras o faziam em ambiente externo, geralmente, no mesmo local onde era realizada a cocção sobre mesas improvisadas (Figuras 12 e 13).



**Figura 12:** Bancada de separação manual das conchas e carne do vôngole.



**Figura 13:** Vôngole após a cocção sendo colocado sobre a mesa para catação.



Ao iniciar a catação, o vôngole se encontrava a uma temperatura média de 32,8°C (DP= ± 5,3°C). Ao final, sua temperatura média era de 21,9°C (DP= ± 2,1°C). As marisqueiras utilizaram, em média, uma hora e quarenta minutos para processar entre um e três quilos de vôngole cozido. Na etapa de catação, observou-se que cinco (50%) marisqueiras apresentaram estafilococos coagulase positiva na superfície das mãos e quatro (40%) tinham as mãos contaminadas por *E. coli*. Já nos utensílios utilizados para conter o marisco processado (Figura 14), foram encontrados três (30%) contaminados com estafilococos coagulase positiva e dois (20%) com *E. coli*.



**Figura 14:** Utensílios contendo carne do vôngole recém-catada.

Durante a catação do vôngole, algumas marisqueiras colocavam um pequeno recipiente com água torneiral ao lado da pilha de vôngole fervido para enxágue periódico das mãos. Esta água não era substituída ao longo do processamento, podendo representar um importante fômite para a contaminação cruzada (Figura 15).





**Figura 15:** Recipiente utilizado para enxágue das mãos durante a catação.

Durante a etapa de catação, era constante a presença de insetos, principalmente moscas, atraídos pelo forte odor do marisco. Os insetos possuíam livre acesso ao marisco catado (Figura 16). Algumas marisqueiras cobriam o marisco catado com panos para evitar esse contato.



**Figura 16:** Insetos pousam, constantemente, sobre a carne catada do vôngole.

Depois da etapa de catação, as marisqueiras porcionavam e ensacavam o vôngole catado em pacotes individuais de um quilo (Figura 17) e, em menor frequência, em pacotes individuais de meio quilo e armazenados em congelador (-8°C) ou, mais raramente, em freezer doméstico (-18°C). Durante esse porcionamento, algumas marisqueiras utilizavam sacos limpos para alimentos que eram adquiridos para essa finalidade. Entretanto, outras reutilizavam sacos plásticos como sacos de açúcar ou similares para armazenar o vôngole porcionado.



**Figura 17:** Pacote contendo um quilo de vôngole catado.

Durante a pesquisa, verificou-se, também, que a maior parte das marisqueiras não possui balança em suas residências para pesar o marisco catado. Então, para resolver este problema, elas utilizavam latas metálicas pequenas para ~~pesar~~ pesar os mariscos. Cinco latas cheias equivalem a um quilo de marisco. Porém, muitas dessas latas apresentavam processo avançado de oxidação e eram utilizadas para quantificar diferentes tipos de mariscos favorecendo, mais uma vez, a contaminação cruzada.

Ao final do processamento, as marisqueiras descartavam as cascas dos mariscos na frente de suas residências formando enormes pilhas (Figura 18). É comum, em distritos como Pirajuía, observar pilhas de cascas de vôngole identificando a casa das marisqueiras.



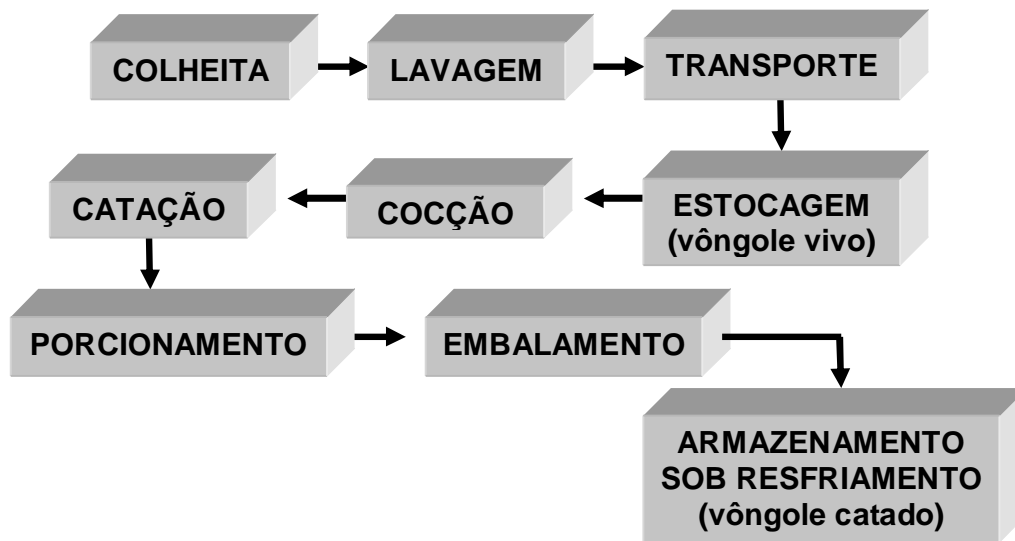
**Figura 18:** Conchas de vôngole desprezadas na calçada após o processamento.

Essas cascas são aproveitadas pela construção cívica local como substituto de materiais convencionais como pedregulhos e pedriscos, podendo ser utilizado para pavimentar o piso das casas. Em menor frequência essas conchas são utilizadas para confecção de peças de artesanato e decoração em geral (Figura 19).



**Figura 19:** Conchas de vôngole e outro molusco bivalve da região, utilizadas para decoração da fachada de uma casa no município de Salinas da Margarida.

A Figura 20 apresenta um resumo das etapas de processamento do vôngole e a Tabela 1 sintetiza cada uma das etapas através dos seus respectivos valores de tempo, temperatura e porcentagens de microrganismos com potencial patogênico encontrados.



**Figura 20:** Esquema gráfico das etapas de processamento do vôngole.

**Tabela 1:** Intervalo médio de tempo e temperatura para cada etapa de processamento do vôngole e porcentagens de amostras positivas para os microrganismos pesquisados nas mãos das marisqueiras e nos recipientes utilizados na catação do vôngole.

	Tempo	Temperatura	ECP	<i>E. coli</i>
<b>Colheita</b>	4h ±0,5h	28,85°C ±4,7	Mãos: 3 (30%)	Mãos: 2 (20%)
<b>Lavagem</b>	7,5q±1,5q	22,35°C ±2,45	NA	NA
<b>Cocção</b>	Total: 52,5q±9q Ferv: 15,5q±4q	98,95°C ±0,6	NA	NA
<b>Catação</b>	1h 40q±36q	Inicial: 32,8°C ±5,3 Final: 21,9°C ±2,1	Mãos: 5 (50%) Vasilha: 3 (30%)	Mãos: 4 (40%) Vasilha: 2 (20%)
<b>Armazenamento</b>	6 meses*	-8°C	NA	NA

Ferv: Fervura ± Desvio Padrão h: Horas ± minutos NA: Não analisado \* Dado relatado



### 3.2. ETAPAS DE PROCESSAMENTO DO SIRI.

Na região estudada, a captura do siri é realizada através de armadilhas contendo iscas que são submersas em águas marítimas próximas à costa (Figura 21). As iscas podem ser pequenos peixes ou vísceras de peixes maiores colhidos anteriormente.



**Figura 21:** Detalhe da armadilha para a captura dos siris.

As armadilhas são lançadas no mar no final do dia e ficam submersas durante, aproximadamente, 12 horas (Figura 22).

Pela manhã, bem cedo, as armadilhas são recolhidas repletas de siris e peixes que entram durante a noite para se alimentar das iscas e ficam ali aprisionados.



**Figura 22:** Armadilhas para captura dos siris sendo lançadas por pescador.

O siri é transportado ainda vivo, dentro das armadilhas, até o local de processamento, geralmente a própria casa da marisqueira. A sobrevivência dos siris depois de retirados da água é pequena, mesmo num curto intervalo de tempo e sob temperaturas ambientes mais brandas. O processamento deste tipo de marisco precisa ser o mais breve possível, com risco de perda do produto caso sejam armazenados fora da temperatura de resfriamento.

Ao chegar no local de processamento, os siris e peixes capturados são retirados de dentro das armadilhas e separados. A maior parte dos siris ainda chega vivo, porém bastante debilitados. A separação é manual e sem o uso de luvas até mesmo para espécies de peixes venenosos como o baiacu.

Imediatamente após o transporte, foi realizada a cocção para separação das carapaças. Esta etapa é muito parecida com aquela realizada para o desconchamento do vôngole. A única diferença é que, ao contrário do vôngole, nos siris foi adicionado pequeno volume de água torneiral. Os siris foram aquecidos por uma hora e quinze

minutos, em média, sendo o tempo médio de fervura somente de nove minutos. Os siris apresentaram temperatura média de fervura de 98,9°C (DP= ± 0,5°C).

Após um resfriamento parcial ele é lavado mais uma vez em água torneiral (Figura 23) e inicia-se a separação da carne do siri e de sua carapaça.



**Figura 23:** Lavagem dos siris em água torneiral após a cocção.

A retirada da carne de dentro das carapaças dos siris também é denominada pelas marisqueiras como **catação**. Geralmente, todos os membros adultos da família da marisqueira auxiliam na etapa de abertura das carapaças, pois é um trabalho minucioso e requer muito tempo para ser realizado por apenas uma pessoa. Qualquer demora na execução da catação pode levar a uma exposição prolongada dos siris cozidos a temperatura ambiente, causando a deterioração precoce do catado de siri.

Antes de iniciar a catação, as marisqueiras separam as patas e pinças do cefalotórax do siri (Figura 24). Toda o catado de siri é proveniente da carne das pinças e, em alguns casos, das patas também.





**Figura 24:** Pinças de siris separadas das carapaças para catação.

O processo de catação dos siris leva muito mais tempo do que a catação do vôngole, pois para ter acesso a sua carne, a marisqueira precisa quebrar cada segmento das patas e principalmente das pinças com o auxílio de uma faca (Figura 25).



**Figura 25:** Separação manual da carne das patas e pinças dos siris.

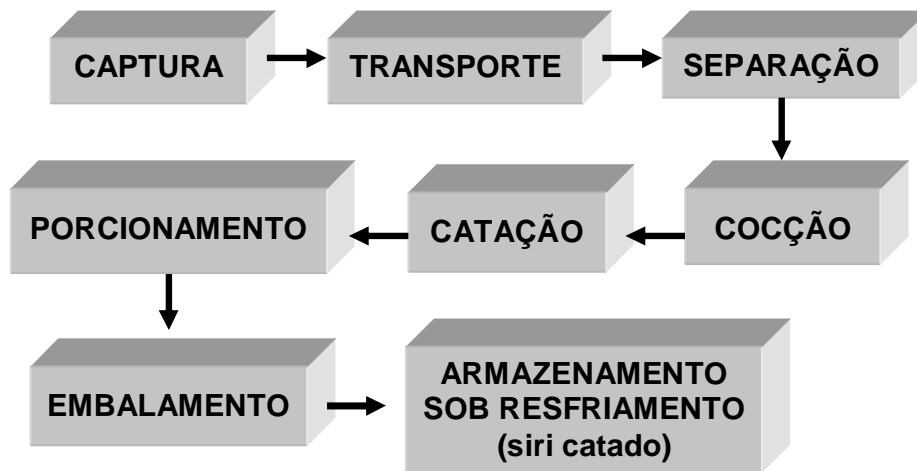
A temperatura média inicial de catação foi de 37,35°C (DP= ± 2,4°C). O tempo médio total de catação foi de três horas e cinquenta minutos para cerca de dois quilos de siri catado. Ao final, a temperatura média da carne catada de siri era de 22,25°C (DP= ± 3,8°C).

Nesta etapa observou-se contaminação com estafilococos coagulase positiva em seis (60%) dos dez swabs+ que foram utilizados para colher amostras de microrganismos da superfície das mãos das marisqueiras. Quatro (40%) dos dez utensílios utilizados para conter a carne catada do siri também apresentaram contaminação por estafilococos coagulase positiva.

Não foi encontrada *E. coli* nos swabs+ utilizados para colher amostras da superfície dos utensílios e das mãos das marisqueiras durante a catação. Durante esta etapa, é constante a presença de insetos, principalmente moscas, atraídos pelo forte odor exalado pelas carapaças dos siris que são amontoadas no chão ao lado da carne catada.

O armazenamento da carne processada do siri é igual ao do vôngole, congelada em refrigerador doméstico (-8°C) e com menor frequência em freezer (-18°C) por até seis meses. As marisqueiras relatam que o congelamento do catado de siri altera propriedades sensoriais como textura, alterando assim o seu *flavour* característico. As marisqueiras relataram que para consumo do siri em saladas, pequenas quantidades eram armazenadas a temperatura de refrigeração (entre 3 e 9°C) por cerca de três a cinco dias.

A Figura 26 traz um esquema gráfico das etapas de processamento do siri. Na Tabela 2 está descrito, em resumo, as etapas de processamento com suas respectivas médias de tempo e temperatura e seus desvios padrões.



**Figura 26:** Esquema gráfico das etapas de processamento do siri.

**Tabela 2:** Intervalo médio de tempo e temperatura para cada etapa de processamento do siri e porcentagens de %wabs+ positivos para os microrganismos pesquisados nas mãos das marisqueiras e nos utensílios utilizados.

	Tempo	Temperatura	ECP	<i>E. coli</i>
<b>Cocção</b>	Total: 1h 15q±14q			
	Fervura: 9q±2,5q	98,9° ±0,5	NA	NA
<b>Catação</b>	3h 50q±42q	Inicial: 37,35° ±2,4	Mãos: 6 (60%)	Mãos: 0 (0%)
		Final: 22,25° ±3,8	Vasilha: 4 (40%)	Vasilha: 0 (0%)
<b>Armazenamento</b>	6 meses*	-8°C	NA	NA

Ferv: Fervura      h: Horas      ±minutos      NA: Não analisado      \* Dado relatado.

### 3.3. DISCUSSÃO.

A abundância e o fácil acesso ao vôngole são fatores que estimulam os habitantes que vivem no entorno da Baía de Todos os Santos a praticarem a sua colheita seja como fonte alimentar ou como atividade rentável. Entretanto, a captura do siri na região, exige equipamentos mais sofisticados do que os utilizados na colheita do

vôngole como pequenos barcos e as armadilhas. Nem todas as marisqueiras visitadas nesta pesquisa dispunham de barcos, por isso, a captura do siri, na região, é realizada por um pequeno número de famílias, quando comparado com o contingente de marisqueiras que colhem o vôngole.

De acordo com Barreto, Batista-Leite e Aguiar (2006), no Nordeste, a captura do siri ocorre de forma bastante rudimentar, na maioria dos casos com o uso de embarcações não motorizadas do tipo canoa ou similar e com aparelhos de pesca dos tipos puçá, rede de arrasto ou rede de espera, sendo que este último foi à técnica observada nesta pesquisa. Severino-Rodrigues, Pita e Graça-Lopes (2001) ao realizarem estudo sobre a pesca artesanal de siris no estuário de Santos e São Vicente (SP) relataram que a forma de colheita do siri era através do *espindel-de-iscas*, método diferente do observado na região da Baía de Todos os Santos. O uso de rede de arrasto na carcinocultura também é uma forma de capturar crustáceos, como fauna acompanhante, nas pescarias destinadas a camarões realizadas no sudeste e sul do Brasil (KEUNECKE et al., 2008).

O beneficiamento dos mariscos, na região da Baía de Todos os Santos se enquadra, perfeitamente, na descrição feita por Carvalho et al. (2006) para a pesca artesanal. Segundo os autores, esta atividade se caracteriza por apresentar grande variedade de tipos de barcos e instrumentos, que possuem baixo custo operacional, podendo ser executada tanto em plataformas continentais, ilhas, estuários e recifes de corais e possuir muitas formas de comercialização, desde a venda direta ao consumidor até a venda em grandes mercados consumidores com o auxílio dos *atravessadores*.

Com o intuito de obter o maior rendimento possível em cada captura, foi observado que a maior parte das marisqueiras da região coleta siris de todos os tamanhos, inclusive fêmeas ovígeras, das quais são comercializadas suas ovas, separadamente. Santos (1990) também observou em sua pesquisa, na Baía de Vitória, Espírito Santo, a pesca de fêmeas ovígeras pelas marisqueiras ao longo de todo o ano, confirmando que essa prática não é exclusiva da pesca do siri na região.

A retirada de grandes quantidades de fêmeas na época de postura pode prejudicar o equilíbrio das espécies de siris da região, caracterizando uma pesca predatória. A Portaria nº N-024 de 26 de julho de 1983 regulamenta a exploração das

espécies *Callinectes danae* e *Callinectes sapidus* em águas territoriais brasileiras, proibindo em qualquer época do ano, a captura, industrialização e comercialização de fêmeas ovígeras e de indivíduos de ambos os sexos com largura de carapaça inferior a 12 cm (BARRETO, BATISTA-LEITE e AGUIAR, 2006).

Segundo Carvalho et al. (2006) a renda familiar, para a maioria dos pescadores e marisqueiras, depende da atividade pesqueira. Com o passar dos anos, a degradação dos ambientes estuarinos, a sobrepesca e a pesca predatória diminuíram, gradativamente, o volume diário de capturas. Por isso, as marisqueiras buscam o maior rendimento possível do montante capturado, aproveitando espécimes de ambos os sexos e de todos os tamanhos, muitas vezes, infringindo a legislação vigente.

As outras etapas de processamento dos mariscos da região utilizam equipamentos tão simples quanto os que são usados em sua colheita/captura. Barros et al. (2007) recomendam a depuração dos moluscos bivalves antes da sua comercialização com a finalidade de reduzir o número de microrganismos com potencial patogênico oriundos do ambiente marinho, como bactérias do gênero *Vibrio*, que podem ser veiculadas por esse tipo de alimento.

No entanto, é utópico exigir que as marisqueiras disponham, em suas residências, de tanques de depuração, devidamente equipados e calibrados. A menos que elas se organizem em associações ou cooperativas, dificilmente, este objetivo será alcançado, individualmente.

A higiene dos utensílios e do ambiente de processamento dos mariscos estudados nesta pesquisa se demonstrou insatisfatória, como pode ser observado nas imagens do capítulo anterior. Dois dos principais motivos para isso são a falta de recursos que se investidos poderiam aumentar o preço do catado e reduzir sua demanda no mercado e a falta de conhecimento das conseqüências da contaminação microbiana. A manipulação do catado de mariscos deve ser a mais cuidadosa possível e deve-se melhorar tanto o ambiente de processamento quanto a higiene pessoal do manipulador. Segundo Ungar, Germano e Germano (1992) o termo %manipulador de alimentos+ se aplica a qualquer pessoa que tenha contato direto com um produto comestível, em qualquer etapa de seu beneficiamento. Sendo assim, as marisqueiras



se enquadram perfeitamente nesta definição, uma vez que são elas que realizam todas as etapas de processamento dos mariscos.

Ao longo do trabalho foi possível constatar que o processamento dos mariscos, na região estudada, utiliza equipamentos e técnicas rudimentares e muitas vezes, ineficientes para lidar com um alimento tão sensível a deterioração microbiana como a carne de pescado. Isso pode ser confirmado através dos resultados das análises microbiológicas expressas nas Tabelas 1 e 2, pois os estafilococos coagulase positiva encontrados nas amostras da superfície das mãos das marisqueiras e dos utensílios durante as etapas de processamento de ambos os mariscos podem ser introduzidos na carne dos mariscos durante sua manipulação. Também foi encontrada presença de *E. coli* nas amostras das mãos das marisqueiras e nos utensílios durante as etapas de colheita e catação do vôngole. Estes dados são preocupantes, considerando a possibilidade de sobrevivência desses microrganismos indicadores durante o armazenamento sob resfriamento dos catados.

Logo após a colheita/captura os mariscos seguem por etapas diferentes. Os siris são coccionados imediatamente, enquanto o vôngole é armazenado em temperatura ambiente por até 48 horas. Este armazenamento não é perigoso, desde que o vôngole permaneça vivo e não tenha contato com outros animais como insetos e roedores. Segundo Aveiro (2007) o vôngole suporta até 240 horas em anorexia, com a temperatura limite de 42°C.

A cocção é uma etapa comum do processamento de ambos os mariscos. O vôngole e o siri são submetidos a um aquecimento em água fervente, sem que haja controle, rigoroso, do tempo e da temperatura de cocção. A finalidade da cocção é minimizar a ação microbiana e facilitar o processo de separação da carne das conchas e carapaças. Porém, a cocção é realizada pelas próprias mariscadeiras, que, geralmente, não possuem equipamentos ou treinamento técnico para fazê-lo corretamente e pode ocorrer um subprocessamento da matéria-prima.

A cocção é um processo, relativamente, eficiente para a redução da microbiota endógena uma vez que atinge temperatura média próxima a 100°C por, aproximadamente, quinze minutos para o vôngole e nove minutos para o siri. Esta

temperatura é capaz de destruir grande parte das formas vegetativas dos microrganismos endógenos com potencial patogênico (JAY, 2005).

Apesar da cocção agir reduzindo a contaminação microbiana inicial deste tipo de alimento, esse processo deve ter vários fatores controlados, como tempo e temperatura de cocção, distribuição do calor por todo o marisco processado, manipulação em ambiente fechado e higienizado e com utensílios sanificados corretamente. Silva Junior (2001) afirma que a cocção precisa atingir 74°C em todo o alimento e permanecer a essa temperatura por pelo menos cinco minutos para que haja redução significativa da carga microbiana. A cocção de ambos os mariscos ultrapassou essa temperatura, por tempo superior a cinco minutos, o que significa que esta etapa do processamento é onde ocorre a destruição da microbiota endógena oriunda do ambiente de onde os mariscos foram extraídos.

Pereira, Viana e Rodrigues (2004) alertam que os mariscos, sobretudo moluscos bivalves, devem ser processados em ambiente limpo e sanitizado, acondicionados adequadamente sob temperatura de refrigeração além de sofrer cocção a temperatura de aproximadamente 100°C por cerca de 30 minutos para evitar a transmissão de patógenos. Os valores sugeridos por esses autores são mais exigentes e devem ser utilizados por indústrias de processamento de pescado e imitado pelas marisqueiras da região da Baía de Todos os Santos que processam elevadas quantidades, pois ao aquecer grandes volumes de mariscos em temperaturas mais elevadas, por um tempo prolongado, há melhor distribuição do calor em todo o marisco processado e conseqüentemente, maior redução da carga microbiana em todo o produto.

Entretanto, a cocção pode, eventualmente, ser incapaz de destruir toda a microbiota residente, principalmente se houver presença de microrganismos esporulados. Quando o tempo e a temperatura de cocção são inferiores àquelas preconizadas para a produção de um produto de qualidade, ocorre à multiplicação microbiana no alimento, mesmo que este seja mantido em ambiente refrigerado (EVANGELISTA, 2005). No entanto, a maior parte dos microrganismos encontrados nos alimentos após a cocção são introduzidos em etapas posteriores de manipulação (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992).



Diversos estudos demonstram que a manipulação infere uma probabilidade de contaminação considerável, principalmente em alimentos a base de pescado e seus derivados (CORDEIRO, 2005; PEREIRA, VIANA e RODRIGUES, 2004). Pode ocorrer contaminação por diversos gêneros microbianos durante essa manipulação desprotegida, com destaque para os estafilococos coagulase positiva, importantes agentes causadores de intoxicação alimentar estafilocócica pela produção de diversos sorotipos de enterotoxinas (VIEIRA et al., 1998). Segundo Germano, Oliveira e Germano (1993) a possibilidade dos manipuladores de alimentos veicularem patógenos está, diretamente, relacionada com o grau de contato que eles possuem com o alimento.

Após a cocção, caso não sejam tomados os cuidados necessários, é muito alta a possibilidade de recontaminação dos mariscos pela manipulação, durante a etapa de catação (SILVA JUNIOR, 2001). Esta afirmação foi comprovada com os resultados das análises microbiológicas da superfície das mãos e utensílios das marisqueiras.

A presença frequente de estafilococos coagulase positiva nas mãos e utensílios das marisqueiras foi um resultado significativo, uma vez que algumas linhagens deste microrganismo são capazes de produzir potentes enterotoxinas termoestáveis (CUNHA, OLIVEIRA e HIROOKA, 1996). O grande número de surtos de intoxicação estafilocócica se deve ao fato de que esse microrganismo está presente nas mãos de grande quantidade de manipuladores de alimentos (CARVALHO e SERAFINI, 1996).

Produtos previamente processados pelo calor e manipulados posteriormente, como é o caso dos mariscos, são os alimentos mais propícios para o crescimento estafilocócico, porque a microbiota residente foi destruída durante a cocção e os estafilococos não necessitam competir por espaço e pelos nutrientes disponíveis (CUNHA, OLIVEIRA e HIROOKA, 1996). Assim, os estafilococos podem se multiplicar livremente, alcançando contagens superiores a  $10^6$  UFC/g, e culminar com a produção de enterotoxinas (CARMO et al., 1996).

Barreto (2001) ao pesquisar a presença de *S. aureus* na boca, saliva, cavidade nasal e mãos de 60 manipuladores de duas diferentes indústrias de pescado em Fortaleza, Ceará, encontrou 60% de positividade nos indivíduos analisados, alertando sobre, a possibilidade de transmissão desta bactéria através das etapas de

manipulação dos alimentos, caso não sejam utilizados, corretamente, os equipamentos de proteção individual como luvas, gorro e máscara.

Mas, os estafilococos coagulase positiva não são os únicos perigos presentes nas mãos dos manipuladores de alimentos. Há o risco da presença de portadores assintomáticos de outros microrganismos patogênicos como cepas enteropatogênicas de *E. coli* e sorotipos de *Salmonella* (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992).

Durante esta pesquisa, foi observado algumas práticas não indicadas para a manipulação de alimentos. Algumas marisqueiras catam o vôngole, diretamente, no chão ou em superfícies não sanitizadas. As marisqueiras que catam siris são aquelas que se dedicam exclusivamente a esta atividade, uma vez que para a captura é indispensável à posse de pequenas embarcações e dezenas de armadilhas. Como o siri catado possui maior valor comercial do que os outros mariscos, tanto do ponto de vista do preço por quilo, quanto pela procura pelos mercados consumidores, as marisqueiras dedicam cuidado maior ao processamento desse marisco. Este deve ser o provável motivo da ausência de *E. coli* nas mãos e recipientes utilizados em seu processamento.

As etapas de processamento do siri apresentaram contaminação apenas por estafilococos coagulase positiva, não sendo isolado coliformes termotolerantes e *E. coli* nas análises microbiológicas deste tipo de marisco.

Keeratipibul, Techaruwichit e Chaturongkasumrit (2009) avaliaram, através de %wabs+bacteriológicos, a contaminação das superfícies de equipamentos e utensílios numa indústria de beneficiamento de camarão na Tailândia. Os %wabs+contaminados foram semeados em *Chromocult coliform agar*<sup>®</sup> para a pesquisa de coliformes totais, semelhante a metodologia aplicada neste trabalho. Segundo esses autores, o instrumental, como tábuas e facas, e equipamentos, como o tanque de gelo e a seladora a vácuo, estavam isentos ou apresentaram pequena prevalência de coliformes totais, enquanto as etapas de processamento que envolvia diretamente o manipulador, como o corte manual do camarão (média de 15,05% de positividade), apresentaram contaminação significativa. Os resultados encontrados pelos autores reforçam, mais uma vez, que a presença de microrganismos indicadores de higiene deficiente, devem ser combatidos através da aplicação correta das BPF.

O uso de luvas descartáveis e a sanitização prévia dos recipientes pelo calor ou através de agentes sanitizantes como solução clorada com 200 p.p.m. de cloro ativo durante a catação dos mariscos seriam importantes formas de prevenir a sua recontaminação. Segundo Vieira (2004) a aplicação das BPF evitaria a recontaminação dos mariscos após a cocção. Ungar, Germano e Germano (1992) afirmam que os manipuladores de alimentos necessitam ter noções em higiene de alimentos, desde que sejam respeitadas suas respectivas limitações.

Também foi observado que a reutilização de sacos plásticos para embalar o siri catado é raro, fenômeno esse observado com muito mais frequência para o vôngole. Geralmente, as marisqueiras utilizavam sacos plásticos descartáveis novos adquiridos especificamente para isso. Porém, o uso das latinhas para pesagem também foi observado no processamento do siri.

A higiene é ponto crucial no processamento de qualquer alimento. Porém, uma boa higiene das mãos das marisqueiras durante a catação dos mariscos e uso de utensílios, previamente, sanitizados não é suficiente para assegurar uma total inocuidade do alimento produzido. Mesmo tendo todos esses cuidados, pode ocorrer a transmissão de patógenos, toxinas e a deterioração precoce do alimento (ANDRADE, SILVA e BRABES, 2003). Pires et al. (2002) afirmam que até mesmo em unidades de alimentação e nutrição, onde o processamento do alimento é rigorosamente controlado, pode ocorrer contaminação do produto.

Depois das bactérias, os principais contaminantes dos moluscos bivalves são: parasitas gastrointestinais, resíduos de agrotóxicos, medicamentos veterinários e metais pesados (RIBEIRO, 2004). Esses perigos podem ser endógenos da matéria prima e não podem ser evitados apenas com a sanitização de mãos e utensílios.

Para minimizar os surtos de doença de origem alimentar deve-se controlar a contaminação, a multiplicação e a sobrevivência dos microrganismos nos utensílios, equipamentos e na superfície das mãos dos manipuladores utilizando-se, corretamente, técnicas higiênicas e soluções antissépticas e saneantes (ANDRADE, SILVA e BRABES, 2003). Outras ações preventivas devem ser somadas como aplicação correta do frio durante o armazenamento e empacotamento em embalagens não reutilizadas e que atendam as condições do produto.

#### 4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi observado que a maior parte das marisqueiras realiza o processamento tanto do vôngole, quanto do siri de maneira artesanal e utilizando instrumentos e utensílios muito rudimentares e de baixa qualidade higiênico-sanitária. A grande maioria delas não possui equipamentos adequados ou treinamento técnico para processar, corretamente, os mariscos e por isso pode levar a um subprocessamento da matéria-prima.

As etapas de processamento dos dois mariscos estudados diferiram na forma da colheita do vôngole e da captura dos siris, o tempo entre colheita e cocção e a forma de separar a carne das conchas do vôngole, quanto à separação da carne das carapaças das pinças e patas dos siris. A catação é a principal etapa do fluxograma de ambos os mariscos, pois é onde pode ocorrer a introdução de microrganismos com potencial patogênico, através da superfície das mãos e utensílios contaminados das marisqueiras, porque grande parte da microbiota endógena dos mariscos, provavelmente, foi destruída durante a cocção.

As etapas de processamento dos mariscos investigados oferecem risco de contaminação por microrganismos com potencial patogênico, tendo em vista que foram observados a presença de *E. coli* e estafilococos coagulase positiva, importantes bioindicadores de deficiência higiênico-sanitária, na análise microbiológica da superfície das mãos das marisqueiras e dos utensílios utilizados durante a catação.



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Os resultados microbiológicos encontrados nesta pesquisa indicam a necessidade da atenção e melhor atuação da vigilância sanitária (ANVISA) e dos respectivos órgãos municipais e estaduais competentes no sentido de fiscalizar a qualidade desses alimentos, indentificar os pontos críticos de seu processamento e capacitar as marisqueiras nos conceitos de Boas Práticas de Fabricação com a finalidade de oferecer um alimento seguro à população dos municípios e distritos do entorno da Baía de Todos os Santos e das regiões circunvizinhas, incluindo Salvador e região metropolitana que são os principais mercados consumidores desses frutos do mar.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**. v. 36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.
- ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciências Agrotécnicas**. v. 27, n. 3, p. 590, 596, 2003.
- AVEIRO, M. V. **Análise nutricional, microbiológica e histológica do berbigão *Anomalocardia brasiliana* da Reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Remapi) Florianópolis/SC**. Dissertação (Mestrado), Florianópolis: UFSC, 2007, 77 f.
- BARRETO, A. V.; BATISTA-LEITE, L. M. A.; AGUIAR, M. C. A. Maturidade sexual das fêmeas de *Callinectes danae* (Crustácea, Decapoda, Portunidae) nos estuários dos rios Botafogo e Carrapicho, Itamaracá, Pe, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**. v. 96, n. 2, p. 141-146, 2006.
- BARRETO, N. S. E. **Investigação sobre possíveis portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus*, em duas indústrias de pesca de Fortaleza**. Dissertação (Mestrado), Fortaleza: UFC, 2001, 94 f.
- BARROS, L. M. O.; SOUZA, O. V.; LIMA, E. A.; MACRAE, A.; VIEIRA, G. H. F.; VIEIRA, R. H. S. F. Vibrios sacarose negativos isolados de ostras *Crassostrea rhizophorae* comercializadas em barracas de praia na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Boletim Técnico Científico Cepnor**. v. 7, n. 1, p. 9-16, 2007.
- CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: Princípios e aplicações**. 1<sup>o</sup> reimpressão, Porto Alegre: Editora Artmed, 2004.
- CARMO, L. S.; VIEIRA, A. C.; REIS, J. D. P.; NASCIMENTO, R. S.; PEREIRA, M. L.; SANTOS, E. J.; BERGDOLL, M. S. *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* present in food implicated in food poisoning. **Revista de Microbiologia**. v. 27, p. 122-125, 1996.
- CARVALHO, C. O.; SERAFINI, A. B. Grupos de Microrganismos Isolados da Orofaringe, Nasofaringe e das mãos dos trabalhadores do Restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Higiene Alimentar**. v. 10, n. 45, p. 19-24, 1996.
- CARVALHO, M. C.; AGUIAR, M. C. P.; SANTOS, M. C. F.; MAGALHÃES, J. A. D. Pesca artesanal do camarão-rosa, *Farfantepenaeus subtilis* (Pérez-Farfante, 1967) (Crustacea, Penaeidae), na Baía de Iguape, Bahia, Brasil. **Boletim técnico-científico do CEPENE**. v. 14, n. 2, p. 73-80, 2006.



CORDEIRO, D. **Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção, congelamento e armazenamento.** Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2005, 82 f.

CUNHA, M. L. R. S.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; HIROOKA, E. Y. Generalidade sobre enterotoxinas estafilocócicas em alimentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas.** v. 17, p. 9-22, 1996.

ENTIS, P.; FUNG, D. Y. C.; GRIFFITHS, M. W.; MCLNTYRE, L.; RUSSELL, S.; SHARPE, A. N.; TORTORELLO, M. L. Rapid methods for detection, identification and enumeration. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA.** 4<sup>o</sup> ed. Washington: 2001.

EVANGELISTA, J. **Alimentos: um estudo abrangente.** São Paulo: SP. Editora Atheneu, p. 540, 2005.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos.** Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2004, 106 f.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar.** v. 7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções Alimentares: Uma Revisão. **Higiene Alimentar.** v. 12, n. 53, p. 38-44, 1998.

GUIMARÃES, A. G. **Contaminação do molusco *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791), por *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus*, na região Norte da Baía de Todos os Santos.** Tese (Doutorado), Campinas: Unicamp, 2002, 120 f.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control.** v.11, n. 2, p. 149-156, 2000.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** 6<sup>o</sup> ed. Tradução Eduardo Cesar Tondo. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711 p.

KEERATIPIBUL, S.; TECHARUWICHIT, P.; CHATURONGKASUMRIT, Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. **Food Control.** v. 20, n. 3, p. 289-293, 2009.

KEUNECKE, K. A.; DUNCAO, F.; MOREIRA, F. N.; SILVA JR, D. R.; VERANI, J. R. Idade e crescimento de *Callinectes danae* e *C. ornatus* (Crustacea, Decapoda) na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia Série Zoologia.** v. 98, n. 2, p. 231-235, 2008.

LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4<sup>o</sup> ed. Washington: 2001.

LANDEIRO, C. M. P. A.; ALMEIDA, R. C. C.; NASCIMENTO, A. T. M.; FERREIRA, J. S.; YANO, T.; ALMEIDA, P. F. Hazards and critical control points in Brazilian seafood dish preparation. **Food Control**. v. 18, n. 5, p. 513-520, 2006.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; SANTANA, L. S.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C.; OMENA, C. M. B.; SILVA NETA, M. L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 4, p. 529-237, 2004.

MAHON, D.; COWAN, C.; HENCHION, M.; FANNING, M. Food-handling practices of irish beef consumers. **Journal of Food Safety**. v. 26, n. 1, p. 72-81, 2006.

PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 591-595, 2004.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERGDOLL, M. S. Estafilococos e Alimentos: Possibilidade de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**. v.13, n. 66/67, p. 48-55, 1999.

PIRES, E. F.; SHINOHARA, N. K. S.; RÊGO, J. C.; LIMA, S. C.; STAMFORD, T. L. M. Surtos de toxinfecções alimentares em unidades de alimentação e nutrição. **Higiene Alimentar**. v. 16, n. 101, p. 20-24, 2002.

PRENTICE, C.; SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1, p. 127-131, 2005.

RIBEIRO, F. A. **Análise do efeito de diferentes métodos de conservação na determinação da contaminação da carne do molusco bivalve *Tivela mactroides* por coliformes totais e fecais**. Monografia (graduação). São João da Boa Vista: Centro Universitário da Fundação de Ensino Otávio Bastos, 2004, 54 f.

SANTOS, H. S. Relação entre a fecundidade e o tamanho do corpo do siri-tinga, *Callinectes danae*, (Crustacea, Portunidae) na Baía de Vitória, Espírito Santo. **Revista Cult UFES**. v. 43, p. 67-73, 1990.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J. B.; GRAÇA-LOPES, R. Pesca artesanal de siris (Crustacea, Decapoda, Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 27, n. 1, p. 7-19, 2001.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D. S. F.; GRAÇA-LOPES, R. Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do Perequê, estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 28, n. 1, p. 33-48, 2002.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiénico-sanitário em Alimentos**. 4<sup>o</sup> ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 475 p.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

UNGAR, M. L.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Riscos e Conseqüências da Manipulação de Alimentos para a Saúde Pública. **Higiene Alimentar**. v. 6, n. 21, p. 14-17, 1992.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4<sup>o</sup> ed. Washington: 2001.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: RJ. Guanabara Koogan, 2006, 239 p.

VIEIRA, R. H. S. F.; TAVARES, L. A.; GAMBAR, R. C.; PEREIRA, M. L. *S. aureus* em camarão fresco e superfícies de bancadas da feira livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE. . Registros de pontos críticos e medidas de controle. **Higiene Alimentar**. v. 152, n. 55, p. 47-50, 1998.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004, 380 p.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**CAPÍTULO III:**  
**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (*Anomalocardia*  
*brasiliensis*) PROCESSADO, REFRIGERADO E CONGELADO EM DIFERENTES  
TIPOS DE EMBALAGENS**

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE VÔNGOLE (*Anomalocardia brasiliiana*) PROCESSADO, REFRIGERADO E CONGELADO EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.

## RESUMO

O vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) é importante fonte nutricional e de renda para as comunidades ribeirinhas da região do entorno da Baía de Todos os Santos. Para adiar a deterioração e manter suas características sensoriais, a carne dos moluscos bivalves deve ser armazenada sob resfriamento em gelo ou em equipamento de refrigeração adequado. Seu processamento também deve utilizar estratégias rigorosas contra a contaminação bacteriana, principal responsável pela deterioração deste tipo de alimento. O objetivo deste trabalho foi comparar a progressão das alterações microbiológicas e físico-químicas de vôngole armazenado em embalagem sem vácuo e em embalagem a vácuo. O vôngole foi estocado em temperatura de refrigeração (7°C) e congelamento (-18°C) e foi adquirido de marisqueiras dos distritos de Ourives, Pirajuía e Mutá e do município de Salinas da Margarida, todos situados no entorno da Baía de Todos os Santos. As amostras refrigeradas foram analisadas com zero, três, seis, nove e doze dias e as congeladas (-18°C) foram analisadas mensalmente durante seis meses de armazenamento. Foram realizados análises microbiológicas para contagens de coliformes termotolerantes com identificação de *Escherichia coli*, Estafilococos coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores, microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, microrganismos psicrófilos, bolores e leveduras, pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de *Vibrio parahaemolyticus* apenas para as amostras refrigeradas. As análises físico-químicas foram compostas pela determinação do pH, H<sub>2</sub>S e amônia estas duas últimas segundo as Reações de Éber. Não foi encontrado *Salmonella* nas amostras de ambos os tipos de embalagens utilizadas armazenadas sob refrigeração e congelamento. Também não foi encontrado *V. parahaemolyticus* nas amostras refrigeradas, nos dois tipos de embalagens. Entretanto, foram encontrados coliformes termotolerantes, *E. coli*, Estafilococos coagulase positiva e valores expressivos de microrganismos mesófilos, psicrófilos e bolores e leveduras em ambas as formas de armazenamento e nos dois tipos de embalagens. Também foi observada a presença de clostrídios sulfito redutores nas amostras embaladas a vácuo. Esses resultados confirmam que o processamento realizado pelas marisqueiras apresenta falha higiênico-sanitária e pode oferecer riscos a saúde do consumidor. A implantação das Boas Práticas de Fabricação seria a melhor forma de sanar esse problema.

Palavras chaves: vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*), deterioração microbiológica, refrigeração, congelamento e embalagem a vácuo.

MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS OF CLAMS (*Anomalocardia brasiliiana*) PROCESSING, REFRIGERATED AND FROZEN IN DIFFERENT TYPES OF PACKAGING.

**ABSTRACT**

The clams (*Anomalocardia brasiliiana*) is an important source of income and nutrition for coastal communities in the region around the Baía de Todos os Santos. To delay the deterioration and maintain their sensory characteristics, the meat from the bivalve molluscs should be stored under cooling on ice or in refrigeration equipment appropriate. Its processing should also apply stringent strategies against bacterial contamination, primarily responsible for the deterioration of such food. The objective was to compare the progression of changes microbiological and physico-chemical of clams stored in the package with air and in vacuum packaging. The clams was stored at refrigeration temperature (7 ° C) and freezing (-18 ° C) was purchased from shellfishers and the districts of Ourives, Pirajuía and Mutá and the city of Salinas da Margarida all located around the Baía de Todos os Santos. The chilled samples were analyzed with zero, three, six, nine and twelve days and frozen (-18 ° C) were examined monthly for six months of storage. Microbiological tests were performed for counts of thermotolerant coliforms with identification of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sulphite reducing clostridia, aerobic mesophilic microorganisms and facultative anaerobes, microorganisms psychrophilic total, molds and yeasts, search for *Salmonella* spp and *Vibrio parahaemolyticus* count only for samples chilled second techniques recommended by the American Public Health Association (APHA). The physico-chemical analysis were made by determining the pH, H<sub>2</sub>S and ammonia according to the latter two reactions of Eber in accordance with the methodology proposed by the Institute Adolfo Lutz. No *Salmonella* was found in both types of packaging in the samples stored under refrigeration and freezing. Was not found *V. parahaemolyticus* in samples chilled in the two types of packaging. However, we found thermotolerant coliforms, *E. coli*, *S. aureus* and expressive values of mesophilic microorganisms, molds and yeasts and psychrophilic in both forms of storage and the two types of packaging. There was the presence of sulphite reducing clostridia in samples packaged under vacuum. These results confirm that the processing performed by shellfishers fail hygiene and health and can provide health risks to consumers. The implementation of Good Manufacturing Practices is the best way to remedy this problem.

Keywords: *Anomalocardia brasiliiana*, microbiological deterioration, cooling, freezing and vacuum packaging.



## 1. INTRODUÇÃO

Os moluscos bivalves são animais invertebrados que vivem em áreas marinhas, próximas aos estuários, como praias, mangues e enseadas (PEDRERO, 2001). Eles são encontrados ao longo de toda a costa brasileira e muitos são consumidos como alimento (FURLAN, 2004). Um importante molusco bivalve comestível encontrado na costa baiana é o vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) (BISPO et al., 2004). O vôngole, a depender da região, também é conhecido por sarnambi, maçunin, berbigão, papa-fumo ou chumbinho (AVEIRO, 2007; GUIMARÃES, 2002).

O vôngole, assim como outros moluscos bivalves marinhos e de áreas intermareais, constituem importante fonte nutritiva e de renda para algumas famílias ribeirinhas que vivem próximas aos estuários (BARREIRA e ARAÚJO, 2005). Estes são consumidos em pratos típicos da culinária regional e são excelentes fontes de proteína animal de elevado valor biológico (LIRA, 2004).

Um dos problemas que os mariscos apresentam é sua rápida deterioração quando comparados a carne vermelha ou de aves (VIEIRA, 2004). Fatores intrínsecos do pescado como pH tendendo a neutralidade, elevados teores protéicos e de outros constituintes nitrogenados, maior quantidade de catepsinas, menor quantidade de tecido conjuntivo, quando comparado à carne vermelha, e a maior atividade de água, tornam o pescado mais susceptível a ação microbiana, sua principal forma de deterioração (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Nos países tropicais, o adensamento populacional urbano próximo ao litoral, principalmente às margens de rios e estuários, reflete-se na qualidade das águas costeiras e nos organismos que ali residem (LIUSON, 2003). O íntimo contato entre os mariscos e os sedimentos bentônicos é outro grande problema, pois estes podem estar contaminados com microrganismos patogênicos oriundos das águas residuais que são lançadas, *in natura*, nos rios urbanos que desembocam no mar, uma vez que apenas 20% de todo o esgoto que é produzido no país sofre tratamento (LEAL e FRANCO, 2008).

Os moluscos bivalves são os mais susceptíveis a essa forma de contaminação, porque se alimentam filtrando a água do mar onde vivem, retendo e concentrando as partículas ali dissolvidas (KURAL et al., 2008). Essa filtração é a responsável direta pelo grande acúmulo, nos bivalves, de substâncias tóxicas e microrganismos patogênicos que porventura, estejam dispersos na água (GALVÃO et al., 2006).

Diversas técnicas como depuração, pré-cozimento, defumação, congelamento por ar circundante em IQF (*individual quick frozen*), processamento em alta pressão, aplicação de embalagens com atmosfera modificada e vácuo vêm sendo estudadas com a finalidade de estender a vida de prateleira do pescado e minimizar a transmissão de patógenos (CORDEIRO, 2005; KURAL et al., 2008; PANTAZI et al., 2008; PRENTICE e SAINZ, 2005; RIBEIRO, 2004; TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007; TURAN et al., 2008).

Para adiar a deterioração, o pescado é frequentemente armazenado em gelo, a temperatura média de 0°C, desde a sua colheita até o momento de comercialização, e esta temperatura é um dos parâmetros responsáveis pela conservação das características sensoriais do produto (ALMEIDA et al., 2006). A aplicação correta do frio durante o armazenamento do pescado é de importância crucial para manutenção da qualidade do produto final (GRAM e HUSS, 1996).

Apesar dessa constatação, é comum observar, em feiras livres da capital e interior do estado da Bahia, os mariscos serem vendidos sem a devida refrigeração, o que pode abreviar sua vida de prateleira e pôr em risco a saúde do consumidor. Esta prática induz o pescado a uma rápida deterioração, tornando-o impróprio para o consumo, com a agravante de favorecer o crescimento de microrganismos com potencial patogênico e a produção de metabólitos tóxicos como a histamina (ANDRADE et al., 2008).

A conservação do pescado em embalagens a vácuo é uma tecnologia que vem sendo implantada, em alguns países, com o intuito de prolongar a sua vida de prateleira (PANTAZI et al., 2008). No entanto, apenas a utilização de embalagens a vácuo não é suficiente para a conservação do alimento, sendo necessário somar outro obstáculo como a aplicação do frio (ARASHISAR et al., 2004).

O resfriamento a vácuo consiste na aplicação do frio durante o armazenamento do alimento em embalagens onde foi retirado, completamente, o ar de seu interior. O objetivo desta técnica é reduzir a ação das enzimas autolíticas, a oxidação das gorduras e controlar o crescimento de microrganismos aeróbios estritos como bolores e algumas espécies bacterianas responsáveis pela deterioração do pescado (PRENTICE e SAINZ, 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o tempo de vida útil do vôngole (*Anomalocardia brasiliiana*) processado na Baía de Todos os Santos, armazenado sob diferentes temperaturas de resfriamento e porcionado em embalagens na presença de ar e a vácuo, através de análises microbiológicas e físico-químicas periódicas durante o tempo de estocagem proposto. Ao final do trabalho, determinaram-se, nas condições do experimento, o tempo de vida útil do vôngole e sua melhor forma de acondicionamento.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAL

Aproximadamente, 13 quilos de vôngole cozido e catado foram adquiridos em duas amostragens de pouco mais de seis quilos cada. A primeira amostragem foi adquirida em maio de 2008 e a segunda amostragem em julho de 2008.

Cada amostragem foi dividida num total de 24 porções, sendo que 12 porções foram embaladas em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade com presença de ar e 12 porções em sacos plásticos crayovac a vácuo. Cada porção continha 250 gramas de catado de vôngole. O vácuo foi obtido utilizando uma seladora da marca Selavac® em um estabelecimento comercial próximo do ponto de colheita no momento zero do estudo.

A Figura 1 demonstra, de forma esquemática, a distribuição e o destino do vôngole resfriado em cada amostragem.

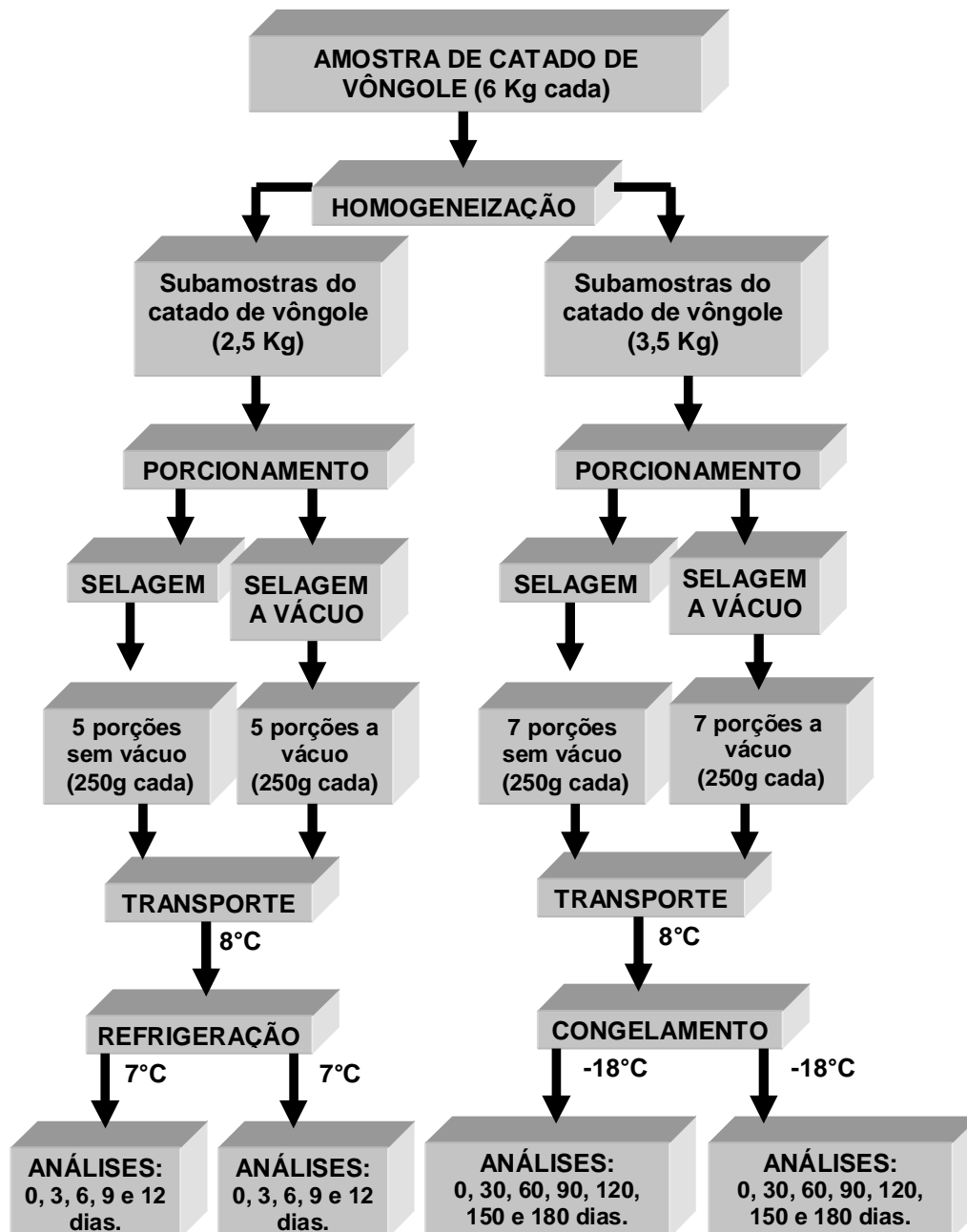


Figura 1: Porcionamento do vôngole coletado em cada amostragem.

As amostras refrigeradas foram armazenadas por até doze dias em refrigerador comum (geladeira doméstica) à temperatura média de 7°C (desvio padrão de  $\pm 2,6^\circ\text{C}$ ) e as amostras congeladas foram armazenadas em freezer por até seis meses à temperatura média de  $-18^\circ\text{C}$ . As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas num total de 48 amostras das duas amostragens. Também foram utilizadas três amostras de vôngole em embalagem com presença de ar para a análise centesimal do produto. As amostras de vôngole foram adquiridas imediatamente após o processamento, diretamente de marisqueiras do município de Salinas da Margarida e dos distritos de Mutá, Ourives e Pirajuía, pertencentes ao município de Jaguaripe, sendo que todos estão situados no entorno da Baía de Todos os Santos.

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. IDENTIFICAÇÃO ZOOLOGICA.

Espécimes congelados de vôngole foram transportados em caixas isotérmicas ao Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, onde ocorreu a identificação zoológica.

### 2.2.2. ANÁLISE CENTESIMAL.

A análise centesimal foi realizada no Laboratório de Bromatologia situado na Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia utilizando-se o vôngole fresco. Ela foi composta pelos testes de umidade, cinzas, lipídios, proteína e carboidratos.

A umidade foi obtida através da perda por dissecação . secagem direta em mufla a  $105^\circ\text{C}$ .

As cinzas foram quantificadas pela técnica de resíduo por incineração.

A análise de lipídios segundo a técnica de extração direta em Soxhlet.

A análise de proteína pelo método Kjeldahl clássico.

O valor da concentração de carboidratos foi obtido pela diferença entre 100 e a soma percentual dos outros parâmetros (fração NIFEXT).

O experimento foi realizado em triplicata para cada parâmetro. Todas as técnicas foram realizadas segundo metodologia proposta pelo Manual de Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

O cálculo para o valor calórico total foi realizado a partir da soma dos produtos dos coeficientes calóricos correspondentes aos valores encontrados. Os coeficientes são 4 Kcal/g para proteína, 9 Kcal/g para lipídios e 4 Kcal/g para a fração NIFEXT (LIRA et al., 2004).

### 2.2.3. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.

A análise físico-química foi composta por verificação do pH e determinação de  $H_2S$  e amônia através das Reações de Éber. As metodologias das três técnicas utilizadas estão descritas no Manual de métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

Os parâmetros escolhidos para análise foram selecionados com base na literatura científica (ARASHISAR et al., 2004; BISPO et al., 2004; BRASIL, 2005; CORDEIRO, 2005; FONTES et al., 2007; FURLAN et al., 2007; GALVÃO et al., 2006; GERMANO e GERMANO, 2001; HUSS, REILLY e EMBAREK, 2000; PANTAZI et al., 2008; PRENTICE e SAINZ, 2005).

Aproximadamente, 100 gramas da amostra eram trituradas em liquidificador até a obtenção de uma massa homogênea.

Para a aferição do pH foi pesado 10g de marisco triturado. Em seguida, a amostra foi diluída em 100 mL de água deionizada. A leitura foi realizada em pHmêtro de bancada (medidor de pH/mV Quimis) calibrado com tampões conforme orientação do fabricante.

Para o teste de  $H_2S$ , segundo a Reação de Éber, foi pesado 10g da amostra e adicionado em um erlenmeyer de 250 mL. A boca do erlenmeyer foi vedada com papel de filtro embebido com uma solução de acetato de chumbo a 5% preso por uma fita adesiva. O erlenmeyer foi levado ao banho-maria fervendo e colocado sobre um



suporte sem que tocasse a superfície da água em ebulição ficando suspenso por, aproximadamente, 3cm. Deixou-se o erlenmeyer sobre o suporte por cerca de 10 minutos e procedeu-se à leitura observando a presença de uma mancha escurecida em caso de teste positivo. A ausência da mancha escura é indicativa de teste negativo.

Para a determinação de amônia, segundo a Reação de Éber, foi adicionada pequena quantidade do Reagente de Éber (ácido clorídrico/éter/álcool etílico absoluto numa proporção de 1:1:3) em um becker pequeno. Com um arame, colheu-se pequenas alíquotas da amostra e introduziu-se no becker sem que esse tocasse em suas paredes ou na superfície do reagente. A formação de vapores esbranquiçados durante a aproximação da amostra com a superfície do reagente representava resultado positivo.

As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata, em cada momento do estudo.

#### 2.2.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.

As porções embaladas foram transportadas resfriadas à temperatura de 8 a 10°C no interior de caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. O tempo de transporte não ultrapassou seis horas. Ao chegar no laboratório, procedeu-se à análise de uma porção correspondendo ao tempo zero. As porções restantes foram refrigeradas a 7°C ( $\pm 2,6^\circ\text{C}$ ) em refrigerador doméstico ou congeladas em freezer a  $-18^\circ\text{C}$  para posterior realização das análises laboratoriais.

As porções foram submetidas a exames microbiológicos em intervalos regulares utilizando metodologia proposta pela *American Public Health Association* (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 2001) e pelo Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). Os experimentos foram realizados sempre em duplicata.

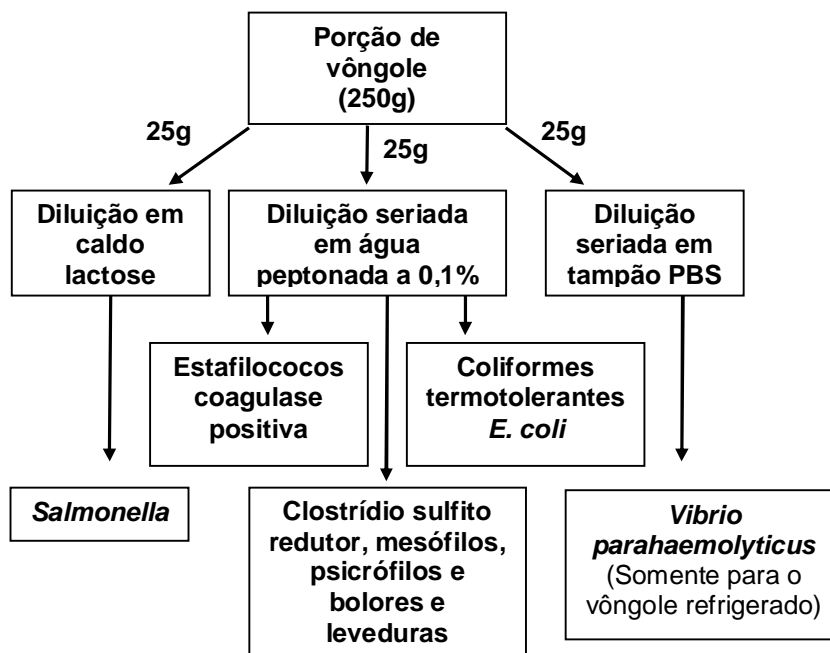
Foram realizados contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, microrganismos psicrófilos, bolores e leveduras, clostrídios sulfito redutores, estafilococos coagulase positiva e coliformes termotolerantes com

identificação de *Escherichia coli*, além da determinação de *Vibrio parahaemolyticus* e pesquisa de *Salmonella* spp em 25 gramas da amostra (COOK et al., 2001).

Para realização da primeira diluição seriada foi pesada, assepticamente, 25 gramas de vôngole em sacos plásticos estéreis do tipo Bag light® e adicionado 225 mL de água peptonada a 0,1% (AP) a fim de realizar a diluição  $10^{-1}$ . As alíquotas foram agitadas em homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minutos durante dois minutos.

Em seguida, foi retirado 1mL da diluição  $10^{-1}$  e adicionado em um tubo contendo 9mL de AP para obtenção da diluição  $10^{-2}$  e assim, sucessivamente, até a obtenção da última diluição, que variou de acordo com o momento da análise (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). Imediatamente, foram pipetadas alíquotas das respectivas diluições, para realização das contagens microbiológicas.

A Figura 2 detalha o fluxograma de análise microbiológica de uma porção de vôngole, tanto refrigerado quanto congelado.



**Figura 2:** Análises microbiológicas do vôngole refrigerado e congelado.

Para contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos foi utilizado o *Plate Count Agar* (PCA) através de inoculação em profundidade e incubação a 37°C por 48 horas com as placas invertidas. Os resultados das contagens foram expressos em LogUFCg<sup>-1</sup> do produto (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Foi escolhida a técnica de inoculação em profundidade ou *Rour-plate+* para os microrganismos mesófilos, pois o limite diagnóstico desta técnica é de apenas 1 LogUFCg<sup>-1</sup>, contra um limite mínimo de 2 LogUFCg<sup>-1</sup> para a técnica de inoculação em superfície, tornando a primeira técnica dez vezes mais sensível (VERMELHO et al., 2006).

Para a contagem de microrganismos psicrófilos foi realizada uma semeadura em superfície, em PCA e incubada por sete dias com as placas invertidas à temperatura de refrigeração (7°C). Os resultados das contagens foram expressos em LogUFCg<sup>-1</sup> (COUSIN, JAY e VASAVADA, 2001).

A contagem de bolores e leveduras foi realizada em Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). O ágar DRBC foi inoculado através da semeadura em superfície e incubado por três a cinco dias à temperatura de 25°C sem que as placas estivessem invertidas. Os resultados das contagens foram expressos em LogUFCg<sup>-1</sup> (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Para a contagem de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Escherichia coli* foi utilizado o meio cromogênico *Chromocult Coliform Agar*<sup>®</sup> (CCA) através da inoculação em superfície e incubado a 37°C por 24 horas com as placas invertidas. As colônias de tamanho médio e coloração violeta foram identificadas como coliformes termotolerantes. As contagens de coliformes termotolerantes foram expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> (ENTIS et al., 2001).

As colônias suspeitas de serem *E. coli*, foram confirmadas através dos testes bioquímicos IMViC, H<sub>2</sub>S e motilidade (MENG, FENG e DOYLE, 2001). Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *E. coli*.

As contagens de clostrídios sulfito redutores foram realizadas através do plaqueamento em profundidade em Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) coberto com uma sobrecamada do mesmo meio, incubado a 46°C por 48 horas em jarra de anaerobiose, sem que as placas estivessem invertidas. Para manutenção da atmosfera

anaeróbia no interior da jarra foi utilizado o redutor de anaerobiose Anaerogen<sup>®</sup>. Os resultados foram expressos em LogUFCg<sup>-1</sup> (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Para contagem de estafilococos coagulase positiva foi utilizado o Ágar Baird-Parker (BP) com plaqueamento em superfície, incubado por 48 horas a 37°C com as placas invertidas (LANCETTE e BENNETT, 2001). As colônias típicas com centro escuro e a presença dos halos de lecitinase e lipase foram submetidas à prova bioquímica de catalase e a soroglutinação rápida com o kit comercial Staphclin<sup>®</sup>. Os resultados foram expressos em LogUFCg<sup>-1</sup> (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada segundo metodologia proposta por Andrews et al. (2001). Para realização do pré-enriquecimento, foram adicionados, em condições assépticas, 25 gramas de vôngole, em saco plástico estéril do tipo Bag light<sup>®</sup>. Prosseguiu-se com a adição de 225 mL de caldo lactosado simples (CLS) e agitação em homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minutos durante dois minutos. O homogeneizado foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C.

Após a incubação, alíquotas de 0,1 e 1 mL foram transferidas, assepticamente, para caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis R10 e caldo tetrationato verde brilhante, respectivamente. O caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis R10 foi incubado em banho-maria a 42°C, enquanto o caldo tetrationato verde brilhante foi incubado a 37°C em estufa bacteriológica, ambos por 24 horas.

Depois desta nova etapa de incubação, alçadas dos dois caldos foram transferidas para placas descartáveis divididas contendo ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) e ágar entérico de Hektoen (He) e incubadas invertidas a temperatura de 37°C por 24 horas.

Retiraram-se duas a três colônias típicas de cada meio para realização das provas bioquímicas de triagem. As colônias típicas foram inoculadas, simultaneamente, em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e ágar lisina ferro (LIA).

As cepas que apresentaram perfil compatível com espécies de *Salmonella* nas provas bioquímicas de triagem foram identificadas através de provas confirmativas compostas pelo teste de citrato em ágar citrato de Simmons, produção de indol, H<sub>2</sub>S e motilidade em meio SIM, metabolismo da glicose pelos testes de vermelho de metila

(VM) e Voges-Proskauer (VP) em caldo VM-VP, fermentação do dulcitol em caldo vermelho de fenol suplementado com 0,5% de dulcitol, redução do malonato em caldo malonato modificado, produção de urease em ágar uréia de Christensen, crescimento em caldo triptona a 1% e por fim foi confirmado o diagnóstico através dos testes sorológicos polivalente somático e flagelar.

Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* em 25 gramas da amostra, tendo em vista que a legislação vigente no país, a RDC n° 12, rejeita alimentos com a presença deste microrganismo em 25 gramas da amostra (BRASIL, 2001).

A pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada apenas no vôngole refrigerado. Para quantificação de *V. parahaemolyticus* utilizou-se a técnica dos Tubos Múltiplos ou Número Mais Provável (NMP) baseada na metodologia proposta por Kaysner e DePaola Junior (2001).

Em condições assépticas, foram adicionados 25 gramas de vôngole, em saco plástico estéril do tipo Bag light®. A amostra foi diluída em 225mL de tampão salina fosfato (PBS) para realizar a diluição seriada decimal. Ela foi misturada em homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minuto durante dois minutos.

Imediatamente após a homogeneização da diluição  $10^{-1}$ , foi coletado 1mL do homogeneizado e transferido para um tubo contendo 9mL de PBS estéril a fim de realizar a diluição  $10^{-2}$ . Misturou-se em agitador de tubos do tipo vórtex e transferiu-se 1 mL para um outro tubo contendo 9mL de PBS estéril para realizar a terceira e última diluição ( $10^{-3}$ ).

Foi transferido 1 mL de cada diluição para uma série de três tubos contendo Água Peptonada Alcalina estéril (APA), totalizando nove tubos por amostra. Cada tubo contendo 9mL de APA mais 1mL da respectiva diluição foi incubado em estufa bacteriológica a 37°C por 18 horas (VERMELHO et al., 2006).

Os tubos que após a incubação, apresentavam turbidez e crescimento de uma película na superfície do APA, foram considerados suspeitos. Com o auxílio da alça de platina, pequenas alíquotas eram semeadas na superfície das placas de Ágar Tioglicolato Citrato Bile Sacarose (TCBS) pela técnica de esgotamento por estrias e

incubadas por mais 18 horas a 37°C para observação de colônias típicas (KAYSNER e DEPAOLA JUNIOR, 2001).

As colônias de coloração característica (verde azulado) foram submetidas aos testes bioquímicos de oxidase, halofilismo com crescimento em caldo triptona 1% com diversas concentrações de NaCl (0, 3, 6, 8 e 10%) incubadas a 30°C por 24h, teste de motilidade e produção de indol em meio SIM com 3% de NaCl incubado a 30°C por 24h e teste de oxidação e fermentação de glicose, celobiose, sacarose, maltose, trealose, lactose e manitol em meio Oxidação-Fermentação (OF) incubados a 37°C por 48h. As contagens foram expressas em NMP/g de vôngole e as amostras confirmadas foram inoculadas em Ágar Wagatsuma para observação do Fenômeno de Kanagawa (KONEMAM et al., 2001).

#### 2.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

A análise estatística foi realizada segundo Callegari-Jacques (2004). Ela é composta por uma Análise de Variância (ANOVA) para os valores de análise centesimal utilizando o programa estatístico SISVAR<sup>®</sup> e pela estatística descritiva dos dados paramétricos em cada momento da pesquisa. Também foi realizada uma Regressão Linear e estabelecido o R<sup>2</sup> e a equação do gráfico pelo programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. IDENTIFICAÇÃO ZOOLOGICA.

O molusco bivalve nomeado, genericamente, como vôngole foi identificado, sistematicamente, pelo Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia como *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791).



O vôngole pertence ao Filo Mollusca, Classe Bivalvia, Subclasse Lamellibranchia, Família Veneridae (AVEIRO, 2007).

Guimarães (2002) o descreve como pertencente à Ordem Verenoida, Superfamília Veneroidea e Sub-família Chioninae.

### 3.2. ANÁLISE CENTESIMAL.

Os valores encontrados na determinação da umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos estão expressos, em porcentagem, na Tabela 1. O valor calórico está expresso em Kcal/100g de vôngole. Valores seguidos por letras iguais não diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1:** Valores médios da análise centesimal do vôngole e seus respectivos desvios padrões (n=3).

	<b>Valores (Média ± DP)</b>
<b>Umidade</b>	74,71 <sup>a</sup> ± 0,87
<b>Cinzas</b>	2,36 <sup>a</sup> ± 0,41
<b>Lipídios</b>	0,93 <sup>a</sup> ± 0,02
<b>Proteínas</b>	18,73 <sup>a</sup> ± 1,01
<b>Carboidratos</b>	3,27 <sup>b</sup>
<b>Valor calórico</b>	96,37 <sup>b</sup>

DP: Desvio Padrão.

Com o resultado da análise centesimal foi possível estabelecer a proporção dos principais nutrientes presentes no catado de vôngole obtido na região da Baía de Todos os Santos. O marisco estudado apresentou considerável concentração protéica (18,73) e pequena concentração lipídica (0,93) contribuindo para a afirmativa de que os mariscos são um alimento saudável (PEDROSA e COZZOLINO, 2001).

Segundo Jay (2005) os mariscos apresentam concentrações médias de 80,3% para umidade, 3,4% para carboidratos, 12,8% para proteínas, 1,4% para lipídios e 2,1%

para cinzas. Apesar dos resultados obtidos nesta pesquisa apresentarem valores próximos a essas médias é importante salientar que esses índices podem variar em virtude do tipo de marisco, da estação do ano, salinidade, temperatura da água, disponibilidade de plâncton nas águas estuarinas, estágio reprodutivo e sexo dos espécimes capturados, entre outros fatores (AVEIRO, 2007). Isto é confirmado quando comparamos os valores encontrados com os de outros tipos de mariscos, ou quando comparamos dados do mesmo tipo de marisco oriundos de diferentes regiões.

Cordeiro (2005) encontrou 81% de umidade, 7,5% de proteína, 1,5% de lipídios, 1,9% de cinzas e 8,1% de carboidratos para o mexilhão (*Perna perna*) processado através de imersão em água em ebulição por 10 minutos.

Furlan (2004) realizou análise centesimal de mexilhão (*Perna perna*) colhido em três praias de Ubatuba, São Paulo, no período de novembro de 2002 a março de 2003. Ela encontrou médias de 83,76% para umidade, 9,09% para proteína, 1,14% para lipídios, 1,79% para cinzas, 4,22% para carboidratos e 62,76 Kcal/100g para o valor calórico.

Ribeiro (2004) cita que a composição centesimal das partes comestíveis de moluscos e crustáceos giram nas proporções de 70 a 85% de água, 20 a 25% de proteínas, 1 a 10% de gordura, 0,1 a 1% de carboidratos e 1 a 1,5% de minerais. No entanto, esses valores são altamente variáveis para cada espécie, mas sempre com pequenas concentrações de gordura e elevado teor protéico. O valor encontrado de umidade está dentro desse limite. Os valores de proteína (18,73%) e lipídios (0,93%) encontrados no vôngole, estão ligeiramente abaixo desses limites. Os valores de carboidratos (3,27%) e cinzas (2,36%) estão ligeiramente acima desses limites.

Guimarães (2002) encontrou 84,53% de umidade, 7,95% de proteínas, 0,6% de lipídios, 3,66% de cinzas, 3,29% para carboidratos e 50,23 Kcal/g para o valor calórico em *Anomalocardia brasiliiana* antes do processamento coletados na cidade de Salinas da Margarida. A proporção de carboidratos foi muito próxima daquela encontrada na pesquisa. A maior umidade, menor conteúdo protéico, menor valor de lipídios, maior valor de cinzas e menor valor calórico, provavelmente, se deve as variações sazonais que ocorrem com os moluscos bivalves ao longo de seu ciclo de vida (AVEIRO, 2007).

Pedrosa e Cozzolino (2001) realizaram análise centesimal em diversos tipos de mariscos, inclusive *Anomalocardia brasiliiana*, provenientes da cidade de Natal (Rio Grande do Norte). Os autores encontraram teores de 83,89% de umidade, 11,24% de proteínas, 0,92% de lipídios, 1,76% de cinzas, 2,19% para Fração NIFEXT e valor calórico de 62 Kcal/g para *A. brasiliiana* submetida a uma cocção de 35 minutos. O valor de lipídios está semelhante, enquanto a umidade, encontrada neste trabalho, foi menor ao relatado pelos autores da pesquisa citada acima. A proteína, as cinzas, os carboidratos e o valor calórico, no trabalho supracitado, apresentaram valores inferiores aos encontrados neste experimento. Talvez, a maior proporção de umidade encontrada nos mariscos de Natal, seja o responsável pela redução dos valores dos outros componentes hidrossolúveis.

Lira et al. (2004) utilizaram metodologia semelhante para análise centesimal de diversos tipos de moluscos crus e cozidos incluindo a *A. brasiliiana*. A exceção foi à análise de lipídios que estes utilizaram o método de Folch. Eles encontraram 75,35% de umidade, 17,46% de proteína, 2,68% de lipídios, 2,24% de cinzas, 2,39 para a fração NIFEXT e 103,52 Kcal/g para a base úmida de *A. brasiliiana* cru. Todos os valores, com exceção dos lipídios, estão muito próximos aos encontrados neste experimento.

Aveiro (2007) encontrou valores de composição centesimal em *Anomalocardia brasiliiana* cozido de 79,13% de umidade, 13,25% de proteínas, 1,63% de lipídios, 4,37% de carboidratos, 1,62% de cinzas e 85,15Kcal/100g de valor calórico no outono de 2006. Na primavera do mesmo ano, encontrou 76,65% de umidade, 14,02% de proteínas, 1,23% de lipídios, 6,68% de carboidratos, 1,42% de cinzas e 93,87 Kcal/100g de valor calórico. Os valores desta pesquisa estão mais próximos aos apresentados pelas análises da primavera, com exceção dos carboidratos e cinzas que estão mais próximos daqueles apresentados durante o outono.

Os microrganismos podem utilizar esses nutrientes como fonte energética ou para a construção de suas macromoléculas. Essa atividade metabólica pode alterar as características sensoriais do produto pela produção de metabólitos voláteis como H<sub>2</sub>S, amônia, cetonas e aldeídos (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007).

### 3.3. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.

Os testes de  $H_2S$  e amônia se mostraram eficientes para determinação da vida útil do vôngole resfriado. Este, tanto em embalagem com presença de ar quanto a vácuo, apresentou resultado positivo para os testes de amônia e  $H_2S$ , somente a partir do sexto dia de armazenamento. A ação da microbiota deteriorante sobre o glicogênio, as proteínas, aminoácidos livres e outras substâncias nitrogenadas não protéicas presentes na carne do vôngole resultaram na liberação desses compostos voláteis (FURLAN, 2004).

Para o vôngole congelado, tanto em embalagem com ar quanto a vácuo, o resultado do teste de amônia foi negativo nas duas amostragens somente no momento zero. Com um e dois meses de armazenamento a  $-18^\circ C$ , o resultado do teste de amônia foi positivo para apenas uma, das duas amostras, em ambos os tipos de embalagem. A partir do terceiro mês de armazenamento o teste de amônia apresentou resultado positivo para as duas amostragens nos dois tipos de embalagem.

O teste de  $H_2S$  apresentou resultado negativo para as duas amostragens de vôngole, sobre as duas formas de embalagens, no momento zero e nos dois primeiros meses de armazenamento. Entre o terceiro e quinto mês de armazenamento, o resultado foi positivo em apenas uma amostragem para os dois tipos de embalagens. No sexto mês as duas amostragens dos dois tipos de embalagens apresentaram resultado positivo.

No vôngole congelado, o teste de amônia se mostrou mais sensível, porque apresentou resultado positivo para uma das amostras a partir do primeiro mês de armazenamento, enquanto o teste de  $H_2S$  apresentou resultado positivo para uma das amostras somente depois de três meses de armazenamento.

A Tabela 2 apresenta as médias de pH para cada momento do estudo da vida útil de vôngole refrigerado, o  $R^2$  e as equações das regressões lineares para esse parâmetro.

**Tabela 2:** Médias de pH das amostras de vôngole refrigerado.

Dias	Embalagem sem vácuo	Embalagem a vácuo
0	6,44	6,44
3	6,18	6,35
6	6,26	6,21
9	6,34	6,42
12	6,33	6,23
R <sup>2</sup>	0,0096	0,2789
Equação	$y = -0,002x + 6,322$	$y = -0,0117x + 6,398$

Ao longo do estudo, ocorreu uma leve diminuição do pH (acidificação) no vôngole refrigerado, tanto em embalagem sem vácuo quanto a vácuo. As duas equações de regressão linear demonstram relação decrescente para ambas as formas de embalagem, comprovando a tendência de acidificação das amostras refrigeradas ao longo do período de estocagem. No entanto, os valores reduzidos dos R<sup>2</sup> mostram que há pequena correlação entre o tempo de armazenamento do vôngole refrigerado e o pH.

Ao comparar às equações das regressões lineares é possível perceber que a acidificação média das amostras em embalagem a vácuo foi maior. Porém, a velocidade de acidificação das amostras a vácuo foi menor do que as amostras em embalagem sem vácuo. Em apenas três dias de armazenamento, o vôngole em embalagem com ar atingiu seu valor de pH mais baixo, enquanto as amostras embaladas a vácuo levaram seis dias para atingirem seu valor mais baixo de pH.

Nas amostras embaladas sem vácuo, os contaminantes, tanto aeróbios estritos como anaeróbios facultativos, se desenvolveram rapidamente consumindo grande parte das reservas de carboidratos, produzindo elevada quantidade de ácidos voláteis e ocasionando queda do pH com apenas três dias de armazenamento. Porém, nas amostras embaladas a vácuo houve desenvolvimento de menor variedade de microrganismos. Apenas as bactérias com capacidade de se desenvolverem em atmosfera anaeróbia fermentaram os carboidratos durante os seis primeiros dias de estocagem, pois o baixo teor de oxigênio no interior das embalagens limitou o

crescimento de algumas espécies e as obrigou a utilizar os carboidratos pela via fermentativa.

Entretanto, a partir do terceiro dia de armazenamento para as amostras em embalagem com ar e do sexto dia para amostras em embalagem a vácuo, o pH passou a alcalinizar, provavelmente pelo término das reservas de glicogênio e pela ação dos microrganismos deteriorantes sobre outras fontes energéticas como proteínas e outros compostos nitrogenados não protéicos resultando na produção de metabólitos alcalinos (JACKSON et al., 2007).

A Tabela 3 apresenta as médias de pH para cada momento do estudo da vida útil de vôngole congelado além do  $R^2$  e das equações das regressões lineares.

**Tabela 3:** Médias de pH das amostras de vôngole congelado.

Meses	Embalagem sem vácuo	Embalagem a vácuo
0	6,86	6,86
1	6,38	6,42
2	6,53	6,53
3	6,42	6,6
4	6,57	6,56
5	6,76	6,64
6	6,87	6,8
$R^2$	0,1045	0,0229
<b>Equação</b>	$y = 0,0305x + 6,5334$	$y = 0,0107x + 6,595$

As equações das regressões lineares do vôngole congelado demonstraram pequena relação crescente, ao contrário do que foi constatado no vôngole refrigerado, onde houve relação decrescente. Isto denota que as amostras congeladas apresentaram pequena tendência à alcalinização ao longo do período de armazenamento, apesar de ter ocorrido acidificação no primeiro mês de estocagem para ambos os tipos de embalagens. O pH do vôngole em embalagem a vácuo oscilou pouco, enquanto as amostras em embalagem sem vácuo variaram numa maior amplitude.



Atividade de água ( $A_a$ ), pH, bases voláteis totais (BVT), ácidos voláteis totais, trimetilamina, ácido tiobarbitúrico, indol, aminas biogênicas, entre outros, são exemplos de parâmetros físico-químicos utilizados para estipular a vida de prateleira em pescado (ANDRADE et al., 2008; ARASHISAR et al., 2004; BISPO et al., 2004; BRASIL, 2005; CORDEIRO, 2005; FONTES et al., 2007; FURLAN et al., 2007; GALVÃO et al., 2006; GERMANO e GERMANO, 2001; PANTAZI et al., 2008).

Os parâmetros mais importantes para os mariscos são as bases voláteis totais como amônia e trimetilamina e ácidos voláteis como o  $H_2S$ , sendo fundamental a pesquisa destes dados para estimar a sua vida de prateleira (GARCIA, 2005). Devido à elevada quantidade de carboidratos e pequena acidez da carne dos moluscos bivalves quando frescos, o pH também é uma boa opção para estipular sua vida de prateleira (FURLAN et al., 2007). Segundo Jay (2005) as bactérias, presentes na superfície do pescado, fermentam suas reservas de glicogênio tornando o pH mais ácido ao longo do período de estocagem.

A diminuição de pH, provavelmente, é resultado da fermentação do glicogênio pelos microrganismos deteriorantes, pois os moluscos bivalves acumulam suas reservas de energia na forma de carboidratos e não como gordura, como a maioria dos animais (RIBEIRO, 2004).

A maior quantidade de carboidratos na composição centesimal do vôngole é relevante para a forma que este alimento se deteriora. A ação dos microrganismos sobre o glicogênio presente nos moluscos bivalves produz ácido lático e outros ácidos orgânicos com consequente redução gradativa de seu pH, exatamente como foi observado nesta pesquisa (FURLAN et al., 2007).

Galvão et al. (2006) observaram que o pH de mexilhões frescos variou de 5,66 a 6,81, semelhante ao pH do vôngole no momento zero do período de vida útil que correspondeu a 6,44. É necessário considerar que, mesmo ambos sendo moluscos bivalves, há diferença entre as espécies.

Turan et al. (2008) ao analisarem o pH de mexilhões defumados armazenados sob refrigeração ( $4^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ) por 18 dias observaram que este variou de 4,85 a 4,51. O vôngole, apesar de apresentar pH mais elevado que os mexilhões defumados, também apresentou tendência de acidificação ao longo do período de armazenamento sob

refrigeração, confirmando assim, que a principal forma de deterioração nos moluscos bivalves refrigerados é a fermentação de suas reservas de carboidratos.

Segundo Furlan et al. (2007) moluscos bivalves frescos provenientes de águas quentes podem permanecer viáveis para o consumo por oito a doze dias quando armazenados a 0°C, ou sete dias para o molusco cozido e armazenado a temperatura de 4°C. Essa última afirmação é compatível com os resultados encontrados, pois o vôngole levou seis dias armazenado a  $\pm 7^\circ\text{C}$  para apresentar sinais perceptíveis de deterioração.

A redução do valor médio de pH que ocorreu no primeiro mês de armazenamento para ambos os tipos de embalagens se deve, provavelmente, a produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos pela microbiota psicrófila a partir da fermentação dos carboidratos de reserva (FURLAN et al., 2007). Provavelmente, as fontes de carboidratos fermentáveis foram esgotadas pelos microrganismos deteriorantes que conseguiram se desenvolver lentamente à temperatura de  $-18^\circ\text{C}$  no primeiro mês de armazenamento. Então, a partir desse momento, os microrganismos passaram a agir sobre as proteínas, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não protéicas, passando a produzir bases voláteis como trimetilamina e amônia e a alcalinizar o pH das amostras congeladas (JACKSON et al., 2007). Isto fica mais visível a partir do quarto mês de armazenamento para ambos os tipos de embalagens quando o pH do vôngole se elevou até próximo da neutralidade.

Bispo et al. (2004) encontraram valor de pH de 6,40 para a carne de vôngole congelada adquirida de marisqueiras da cidade de Salinas da Margarida. Esse valor é bastante próximo do encontrado neste trabalho.

Todavia, os valores de  $R^2$  foram muito baixos, demonstrando que há pequena correlação entre o tempo de armazenamento sob congelamento e pH para ambos os tipos de embalagem.

Segundo Fontes et al. (2007) o crescimento de bactérias é a mais importante causa de deterioração em pescado e sua atividade metabólica resulta na produção de aminas, sulfetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos que alteram as características sensoriais do produto armazenado.

### 3.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

O vôngole apresentou contaminação por alguns microrganismos com potencial patogênico como coliformes termotolerantes, *E. coli*, estafilococos coagulase positiva e clostrídios sulfito redutores nos dois tipos de embalagens, em ambas as formas de refrigeração. Também foram encontradas contagens expressivas de microrganismos mesófilos e psicrófilos. As contagens de bolores e leveduras permaneceram em valores próximos ao longo de todo o estudo. Não foram encontrados *Vibrio parahaemolyticus* e espécies de *Salmonella* no vôngole analisado.

As Tabelas de 4 a 11 apresentam as contagens microbiológicas e os valores de suas respectivas equações de regressão linear e  $R^2$ .

Nos anexos deste capítulo, as figuras 3 e 4 demonstram, através de gráficos, as curvas de crescimentos dos microrganismos analisados no vôngole refrigerado e as figuras 5 e 6 demonstram as curvas de crescimento dos microrganismos em vôngole congelado.

**Tabela 4:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado (7°C) em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Dias	Mesófilos	Psicrófilos	Bolores e leveduras	Estafilococos coagulase positiva
0	7,23	6,22	3,51	5,31
3	8,18	6,55	3,71	5,14
6	8,22	7,14	3,52	5,22
9	7,68	7,22	3,66	4,49
12	8,17	8,15	3,83	4,27
$R^2$	0,2552	0,9378	0,4783	0,8369
Equação	$y = 0,0463x + 7,6175$	$y = 0,1509x + 6,1482$	$y = 0,0197x + 3,5279$	$y = -0,091x + 5,4296$

**Tabela 5:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado (7°C) em embalagem sem vácuo (continuação).

Dias	Coliformes a 45°C (LogUFCg <sup>-1</sup> )	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
0	3,16	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
3	3,32	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
6	3,54	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
9	3,13	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
12	3,23	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
R <sup>2</sup>	0,0024	NA	NA	NA
<b>Equação</b>	$y = -0,0017x + 3,285$	NA	NA	NA

NA= Não se aplica.

**Tabela 6:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado (7°C) embalado a vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Dias	Mesófilos	Psicrófilos	Bolores e leveduras	Estafilococos coagulase positiva	Clostrídios sulfito redutor
0	7,23	6,22	3,51	5,31	1,1
3	7,26	6,64	3,46	5,13	2,11
6	8,61	7,15	3,29	5,19	1,5
9	7,63	7,236	3,37	4,52	1,2
12	9,19	8,237	3,41	4,22	1,45
R <sup>2</sup>	0,6018	0,9346	0,2983	0,8538	0,0071
<b>Equação</b>	$y = 0,143x + 7,1221$	$y = 0,1561x + 6,1545$	$y = -0,0096x + 3,464$	$y = -0,0927x + 5,427$	$y = -0,007x + 1,514$

**Tabela 7:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole refrigerado (7°C) embalado a vácuo (continuação).

Dias	Coliformes a 45°C (LogUFCg <sup>-1</sup> )	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
0	3,16	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
3	2,8	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
6	3,13	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
9	1,5	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
12	3,47	Presença	Ausência	<3 NMP/mL
R <sup>2</sup>	0,0188	NA	NA	NA
Equação	$y = -0,0223x + 2,947$	NA	NA	NA

NA= Não se aplica.

**Tabela 8:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado (-18°C) em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Meses	Mesófilos	Psicrófilos	Bolores e leveduras	Estafilococos coagulase-positiva
0	7,16	7,11	4,2	4,55
1	7,11	6,4	3,43	4,6
2	6,73	6,97	3,54	4,33
3	7,15	6,77	3,20	4,36
4	7,18	6,79	3,12	4,28
5	6,74	7,13	3,13	4,25
6	6,4	7,32	2,7	3,5
R <sup>2</sup>	0,4286	0,236	0,8359	0,6879
Equação	$y = -0,0919x + 7,1989$	$y = 0,069x + 6,7179$	$y = -0,1988x + 3,9211$	$y = -0,1393x + 4,6829$

**Tabela 9:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado (-18°C) em embalagem sem vácuo (continuação).

Meses	Coliformes a 45°C (LogUFCg <sup>-1</sup> )	<i>E. coli</i>	Salmonella
0	3,27	Presença	Ausência
1	2,6	Presença	Ausência
2	2,15	Presença	Ausência
3	<2	Ausência	Ausência
4	<2	Ausência	Ausência
5	2,1	Presença	Ausência
6	<2	Ausência	Ausência
R <sup>2</sup>	0,6451	NA	NA
Equação	$y = -0,1766x + 2,832$	NA	NA

NA= Não se aplica.

**Tabela 10:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado (-18°C) em embalagem á vacuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Meses	Mesófilos	Psicrófilos	Bolores e leveduras	Clostrídios sulfito redutor
0	7,16	7,11	4,2	1,4
1	7,65	6,69	3,36	1,5
2	6,32	6,11	3,45	1,35
3	6,5	7,10	3,46	<1
4	7,16	7,10	3,33	1,25
5	7,12	7,15	2,9	1,15
6	6,52	7,4	2,6	1,15
R <sup>2</sup>	0,1189	0,2541	0,8149	0,4844
Equação	$y = -0,0768x + 7,1472$	$y = 0,0992x + 6,6545$	$y = -0,2128x + 3,9572$	$y = -0,0554x + 1,4232$



**Tabela 11:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em vôngole congelado (-18°C) em embalagem á vácuo (continuação).

Meses	Coliformes a		Estafilococos	
	45°C (LogUFCg <sup>-1</sup> )	<i>E. coli</i>	coagulase positiva (LogUFCg <sup>-1</sup> )	<i>Samonella</i>
0	3,27	Presença	4,55	Ausência
1	2,1	Presença	4,80	Ausência
2	2,5	Presença	4,2	Ausência
3	<2	Ausência	4,46	Ausência
4	<2	Ausência	4,11	Ausência
5	<2	Ausência	4,4	Ausência
6	<2	Ausência	3,49	Ausência
R <sup>2</sup>	0,5293	NA	0,5619	NA
Equação	$y = -0,1605x + 2,748$	NA	$y = -0,1457x + 4,7229$	NA

NA= Não se aplica.

A presença desses microrganismos representa típica falha higiênica de processamento (GRAM e DALGAARD, 2002). Estes resultados reforçam a afirmação de que os mariscos são importantes transmissores de enfermidades de origem bacteriana ao homem (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993; HUSS, REILLY e EMBAREK, 2000).

Existem duas vias importantes para a contaminação dos moluscos bivalves por esses microrganismos: a sobrevivência da microbiota autóctone ao processamento e a introdução de microrganismos exógenos durante as etapas de processamento, principalmente durante a separação manual das conchas e carne (VIEIRA, 2004).

O caráter sedentário e a forma de alimentação dos moluscos bivalves fazem com que os microrganismos presentes nos sedimentos estuarinos e na coluna de água sejam incorporados e concentrados nos órgãos filtradores ou no trato gastrintestinal desses animais (PEDRERO, 2001).

A degradação dos ambientes estuarinos pelo constante afluxo de águas residuais em áreas urbanas é um dos principais motivos da elevada concentração de patógenos nos sedimentos e nas águas costeiras (RIBEIRO, 2004). Os microrganismos patogênicos se ligam a pequenas partículas em suspensão que são fixadas nas brânquias dos moluscos bivalves durante o processo de filtração da água (GALVÃO et al., 2006). Pereira (2003) afirma que as enfermidades bacterianas são os problemas mais comuns causados pela ingestão de moluscos bivalves provenientes de águas poluídas.

Huss (1997) lista em seu trabalho bactérias endógenas desse tipo de alimento, como *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum*, que podem contaminar e crescer em produtos a base de pescado e causar enfermidades pelo consumo desses produtos.

Outra causa significativa de contaminação do vôngole é a higiene deficiente de alguns dos manipuladores e da superfície dos utensílios. Estes são determinantes na qualidade microbiológica do produto após o seu beneficiamento (BONACINA, 2006). Segundo Gonçalves (1998) uma das principais portas de entrada de microrganismos patogênicos em pescados são as mãos dos manipuladores, utensílios e equipamentos mal higienizados que são utilizados em seu processamento.

A temperatura de armazenamento e a presença ou não de ar dentro das embalagens influenciaram de forma diferenciada cada tipo de microrganismo, como pode ser constatado ao avaliar as curvas de crescimento expressas nas Tabelas de 4 a 11. Grande parte dos microrganismos analisados apresentaram melhor desenvolvimento na temperatura de refrigeração, sendo que o congelamento foi um fator limitante para o maior parte deles.

Como pode ser constatado através das equações de regressão linear expressas nas tabelas 4 e 5, as contagens dos microrganismos mesófilos apresentaram tendência de aumento progressivo durante o período de estocagem do vôngole refrigerado, nos dois tipos de embalagens, demonstrando que o armazenamento sob refrigeração ( $\pm 7^{\circ}\text{C}$ ) não é capaz de inibir o desenvolvimento desses microrganismos.

A maior inclinação da reta de regressão linear e o maior valor de  $R^2$  (fator de correlação) encontrado para as amostras embaladas a vácuo demonstrou que a

aplicação dessa tecnologia favoreceu mais o desenvolvimento dos microrganismos mesófilos em relação às amostras embaladas sem vácuo.

Isto é resultado da elevada contaminação do vôngole com microrganismos mesófilos anaeróbios facultativos, como aqueles pertencentes ao grupo coliforme, que se desenvolvem bem em ambientes isentos de oxigênio (KONEMAM et al., 2001). O vácuo, quando aplicado de forma correta, é capaz de inibir apenas o crescimento dos microrganismos aeróbios estritos (SILVA JUNIOR, 2001). Com a falta de competição, os microrganismos anaeróbios facultativos puderam se multiplicar, livremente, no alimento durante o período de armazenamento.

Entretanto, nas amostras congeladas, os microrganismos mesófilos apresentaram diminuição de suas contagens como pode ser observado nas equações de regressão linear expressas nas Tabelas 6 e 7. Jay (2005) afirma que os frutos do mar congelados apresentam contagens microbianas menores do que o pescado fresco, justificando a diferença entre os valores encontrados na pesquisa para o vôngole refrigerado e congelado.

As amostras congeladas em embalagem sem vácuo tiveram maior queda nas contagens desses microrganismos quando comparado com as amostras congeladas embaladas a vácuo. Provalvemente, a menor oscilação do pH nas amostras congeladas a vácuo favoreceu a manutenção das populações desses microrganismos, uma vez que as amostras congeladas em embalagem sem vácuo apresentaram maior amplitude de variação de pH. O acúmulo das excretas do metabolismo microbiano, como ácido lático e bases orgânicas, podem ocasionar na redução significativa das concentrações dos microrganismos e da vida útil do produto (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007).

Todavia, ao observar o  $R^2$  estabelecido pelas regressões lineares é possível concluir que há pequena correlação entre tempo de armazenamento e contagem de microrganismos mesófilos tanto para as amostras refrigeradas quanto congeladas.

Os microrganismos psicrófilos totais demonstraram uma tendência de ascensão ao longo do período de estocagem em ambos os tipos de embalagem e nas duas temperaturas de armazenamento como ficou evidenciado pelas equações de regressão linear expressas nas Tabelas 4, 5, 6 e 7. Ao comparar as equações e os  $R^2$  fica

comprovado que o desenvolvimento dos microrganismos psicrófilos sofre pouca influência pelo tipo de atmosfera no interior da embalagem, não havendo diferença estatística significativa entre as embalagens sem vácuo e a vácuo.

Os valores dos  $R^2$  das amostras refrigeradas (tabelas 4 e 5) demonstraram que há elevada correlação entre o tempo de armazenamento e as contagens de microrganismos psicrófilos, ou seja, quanto maior o tempo de armazenamento maior será a concentração de microrganismos psicrófilos no vôngole.

O mesmo não foi observado para as amostras congeladas (tabelas 6 e 7), pois os  $R^2$  apresentaram valores baixos, demonstrando que há pequena correlação entre o tempo de armazenamento e as contagens de microrganismos psicrófilos totais.

A diferença encontrada para as contagens de microrganismos psicrófilos das amostras refrigeradas (7°C) e congeladas (-18°C), provavelmente, se deve a presença dos microrganismos psicrotóxicos que são capazes de se desenvolverem na temperatura de refrigeração, mas não em temperaturas inferiores a 0°C (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Os microrganismos mesófilos e psicrófilos são cruciais para o processo de deterioração do pescado e frequentemente são relatos como endógenos das águas estuarinas, apesar de que nem todos apresentarem potencial patogênico (JAY, 2005).

Os bolores e leveduras foram encontrados em todas as análises microbiológicas realizadas no vôngole, para ambos os tipos de embalagens e nas duas temperaturas de conservação. Entretanto, suas contagens oscilaram pouco demonstrando que o vôngole resfriado não é um alimento ideal para o desenvolvimento fúngico.

As contagens dos bolores e leveduras foram influenciadas pelo tipo de embalagem e pela temperatura de armazenamento como pode ser observado ao comparar as curvas expressas nas Tabelas 4 a 11. O vácuo e o congelamento exerceram influência negativa sobre suas contagens, uma vez que apenas as amostras refrigeradas e embaladas sem vácuo apresentaram aumento das contagens desses microrganismos, como pode ser constatado através da equação de regressão linear na Tabela 4.

De acordo com os valores de  $R^2$  disponíveis nas Tabelas 6 e 7, há significativa correlação entre tempo de armazenamento e contagem de bolores e leveduras para as

amostras congeladas, sendo que suas contagens diminuíram ao longo do período de estocagem. Já nas amostras refrigeradas (tabelas 4 e 5), o tempo de armazenamento exerceu pequena influência sobre as contagens de bolores e leveduras como foi comprovado através dos baixos valores de  $R^2$ .

Segundo a equação de regressão linear, o vôngole congelado e embalado a vácuo (Tabela 7) reduziu suas contagens de bolores e leveduras, mais rápido do que o vôngole congelado em embalagem com ar (Tabela 6). A ação do vácuo foi um fator limitante para o crescimento dos bolores e leveduras, uma vez que os bolores, em sua totalidade, são aeróbios estritos (TRABULSI e ALTERTHUM, 2004). Apenas as leveduras e fungos dimórficos possuem a capacidade de crescer em ambientes com baixas concentrações de oxigênio (TORTORA, FUNKE e CASE, 2005).

O relato de contagens de bolores e leveduras em moluscos bivalves resfriados é muito escasso, apesar das leveduras apresentarem quantidades oscilantes nas águas estuarinas (VIEIRA, 2004). O principal problema do crescimento fúngico em pescado está relacionado com sua deterioração e esta é mais frequente em pescado salgado (FRANCO e LANDGRAF, 2005). No entanto, alguns fungos, ao se desenvolverem, produzem potentes micotoxinas que possuem propriedades mutagênicas, carcinogênicas ou toxicidade específica a um órgão (JAY, 2005).

A carne dos moluscos bivalves apresenta pH próximo à neutralidade e composição química favorável ao desenvolvimento bacteriano, o principal responsável por sua deterioração (FURLAN et al., 2007). No entanto, Bispo et al. (2004) ao realizarem contagem de bolores e leveduras em vôngole congelado oriundo da cidade de Salinas da Margarida encontraram valores médios de  $3,17 \text{ LogUFCg}^{-1}$ . Este valor está próximo do encontrado nesta pesquisa, comprovando que as contagens de bolores e leveduras nas águas litorâneas da região oscilam pouco ao longo dos anos.

As contagens de coliformes termotolerantes apresentaram tendência de redução em todas as amostras como pode ser observado nas equações de regressão linear, desaparecendo ao final do período de armazenamento nas amostras congeladas (Tabelas 6 e 7). A ausência de coliformes termotolerantes a partir do terceiro mês de armazenamento, com exceção do 5º mês no vôngole congelado embalado na presença

de ar, não significa que este microrganismo desapareceu do alimento durante o período de estocagem.

O frio, mesmo à temperatura de congelamento, não é um método eficaz para eliminar as células bacterianas do alimento, conseguindo apenas diminuir o metabolismo microbiano. Entretanto, alguns membros da Família Enterobacteriaceae e outras bactérias, ao sofrerem injúrias pelo frio, entram num estágio conhecido como viável não cultivável (VNC) onde não é possível cultivá-las em meios artificiais, mas estes ainda possuem a capacidade de se desenvolver num hospedeiro propício e causar doença (FLORESTA, 2006).

A RDC nº 12 (BRASIL, 2001) estabelece como limite máximo, contagens de  $5 \times 10$  NMP de coliformes termotolerantes por grama de molusco bivalve resfriado. Torna-se difícil comparar os resultados encontrados nesta pesquisa com os limites estabelecidos pela legislação, uma vez que os valores para as contagens nas placas de CCA estão expressos em  $\text{LogUFCg}^{-1}$ . Entretanto, no vôngole refrigerado, as contagens ultrapassaram  $3 \text{ LogUFCg}^{-1}$ , o que põem em dúvida a qualidade higiênica do vôngole processado.

As contagens de coliformes termotolerantes no vôngole embalado sem vácuo e a vácuo oscilaram pouco não diferindo, estatisticamente, nos dois tipos de embalagens.

Do total de coliformes termotolerantes, cerca de 71% foram confirmados como *E. coli* através das provas bioquímicas, sendo que esta bactéria foi isolada nos dois tipos de embalagens em proporções muito próximas, não diferindo estatisticamente. A presença de *E. coli* é relevante e condena o vôngole resfriado, uma vez que pode indicar contaminação fecal recente (KORNACKI e JOHNSON, 2001; VIEIRA et al., 2008).

Muitos estudos relataram ter encontrado coliformes em mariscos. Keeratipibul, Techaruwichit e Chaturongkasumrit (2009) estudaram os fatores ambientais e de processamento responsáveis pela contaminação de dois produtos a base de camarão com coliformes. As principais etapas na produção de sushi responsáveis pela contaminação com coliformes foram aquelas que envolveram a manipulação como corte (15,05%), enfileiramento (7,23%), dimensionamento (6,93%) e descasque



(6,27%), reforçando a afirmação de que as condições higiênicas de processamento influenciam, de forma significativa, a contaminação dos mariscos por *E. coli*.

Há diversos relatos da presença de coliformes termotolerantes e *E. coli* em moluscos bivalves. Deepanjali et al. (2005) ao estudarem ostras (*Crassostrea madrasensis*) *in natura* proveniente de dois estuários na Índia, encontraram contagens de coliformes termotolerantes variando entre  $2,3 \times 10^2$  e  $1,5 \times 10^5$  NMP/g.

Furlan (2004) encontrou contagens de coliformes termotolerantes variando de 3,1 a  $3,2 \times 10^2$  NMP/g em mexilhões cultivados na região de Ubatuba, São Paulo.

Vieira et al. (2008) encontraram contaminação por coliformes termotolerantes em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) do estuário do Rio Pacoti (Ceará) variando de  $<1,8$  a  $2,8 \times 10^3$  NMP/g.

Garcia (2005) encontrou valores médios de 72 NMP/g de coliformes termotolerantes em mexilhões cultivados no município de Anchieta, ES.

Pereira et al. (2006) encontraram *E. coli* em 9% das ostras (*Cassostrea gigas*) provenientes de três diferentes áreas de cultivos na região costeira de Florianópolis e em 35,5% das ostras obtidas de estabelecimentos comerciais de Florianópolis.

Algumas cepas de *E. coli* podem aumentar sua capacidade de virulência adquirindo genes de resistência a antimicrobianos. Vieira et al. (2008) encontraram, a partir de ostras, quatro cepas de *E. coli* resistentes aos antimicrobianos tetraciclina e imipenem. A transmissão de *E. coli* portadores de genes de resistência a antimicrobianos através da ingestão de moluscos bivalves é de interesse de saúde pública.

A análise estatística demonstrou, através das equações de regressão linear, que em ambos os tipos de embalagens e nas duas temperaturas de armazenamento, houve decréscimo das contagens de *Staphylococcus aureus* ao longo do período de armazenamento. Segundo os  $R^2$ , as amostras refrigeradas (tabelas 4 e 5) demonstraram correlação significativa, enquanto as amostras congeladas (tabelas 6 e 7) demonstraram pequena correlação entre tempo de armazenamento e contagem de *S. aureus*. Não houve diferença estatística entre as amostras embaladas com ar e a vácuo.

As contagens de estafilococos coagulase positiva no vôngole ultrapassaram o limite máximo aceito pela legislação vigente no Brasil ( $3 \text{ LogUFCg}^{-1}$ ), desde o momento zero da pesquisa (BRASIL, 2001). Este microrganismo, tão quanto os coliformes, é importante para avaliar a qualidade higiênico-sanitária do processamento dos mariscos (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992). A presença desta bactéria pode indicar contaminação através dos manipuladores ou limpeza e sanificação inadequadas das superfícies e utensílios utilizados durante o processamento (SILVA e GANDRA, 2001). Valores superiores a  $3 \text{ LogUFCg}^{-1}$  condenam o alimento.

Apesar do potencial patogênico do *S. aureus* não é incomum encontrar pescado contaminado com essa bactéria. Em análise microbiológica realizada em 45 amostras de pescado no Laboratório de Controle de Alimentos do Departamento de Vigilância e Controle Sanitário do Estado de São Paulo, 25% estavam contaminadas com *S. aureus* (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

O *S. aureus* é um fraco competidor sendo inibido pela presença de outros microrganismos no alimento, crescendo melhor em alimentos que foram aquecidos com consequente destruição de sua microbiota endógena e recontaminados com o *S. aureus* durante a etapa de manipulação (JAY, 2005). Estas condições favorecem o desenvolvimento desta bactéria, que ao atingir números superiores a  $6 \text{ LogUFC}\cdot\text{g}^{-1}$ , pode produzir toxinas como as enterotoxinas estafilocócicas ou termonuclease (PEREIRA et al., 2000).

A intoxicação causada pela ingestão de alimentos contaminados com enterotoxinas produzidas por *S. aureus* é uma das mais freqüentes doenças de origem alimentar (CUNHA NETO, SILVA e STAMFORD, 2002). As enterotoxinas estafilocócicas são produzidas num intervalo de pH entre 5,0 e 9,0 sendo ótimo em torno de 6,8, pH próximo do encontrado para os mariscos. A aerobiose também favorece a sua produção (CUNHA, OLIVEIRA e HIROOKA, 1996).

A implantação do cultivo de mariscos na região da Baía de Todos os Santos seria uma boa opção para corrigir as falhas higiênicas responsáveis pela introdução do *S. aureus* no vôngole. A maricultura costuma utilizar técnicas higiênicas adequadas para processar os mariscos e, geralmente, obtém um produto de melhor qualidade quando comparado com moluscos bivalves provenientes da pesca extrativista.

Bispo et al. (2004) encontraram contagem média de  $3,11 \text{ LogUFCg}^{-1}$  em vôngole congelado adquirido de marisqueiras da cidade de Salinas da Margarida. Esse valor, apesar de ser inferior ao encontrado no vôngole analisado nesta pesquisa, é superior ao limite máximo recomendado pela RDC nº 12, confirmando que o vôngole vendido na região, frequentemente, apresenta-se condenado.

Entretanto, as contagens de *S. aureus* encontrados por Galvão et al. (2006) em mexilhão coletados em três pontos de cultivo em Ubatuba, São Paulo, foram menores que  $2,1 \text{ LogUFCg}^{-1}$ , com exceção do mês de dezembro onde se encontrou uma contagem de  $2,23 \text{ LogUFCg}^{-1}$  nas amostras provenientes da Praia do Engenho. Essas contagens são menores do que o limite máximo recomendado pela RDC nº 12 e as contagens encontradas no vôngole resfriado em qualquer etapa desse estudo.

Pereira et al. (2006) coletaram ostras cultivadas em três pontos da costa de Florianópolis e encontraram estafilococos coagulase positiva em apenas uma amostra, na concentração de  $0,8 \text{ LogUFC/g}$ , bem abaixo do limite recomendado pela RDC nº 12 e das contagens encontradas nesta pesquisa.

Aveiro (2007) encontrou contagens de estafilococos coagulase positiva inferior a  $1 \text{ LogUFCg}^{-1}$  na carne *in natura* de vôngole colhidos de uma reserva marinha (REMAPI) em Florianópolis/SC, confirmando assim, que o produto final beneficiado pela maricultura, geralmente, apresenta pequena contaminação por este microrganismo.

Quanto aos clostrídios sulfito redutores, sua presença foi constante durante todo o período de estocagem para as duas temperaturas de estocagem como pode ser constatado nas tabelas 5 e 7.

Foi constatado, nas condições do experimento, que a embalagem a vácuo associada a baixas temperaturas não favoreceu o desenvolvimento dos clostrídios sulfito redutores, apesar dos esporos de certos clostrídios, como o *Clostridium botulinum* do tipo E, serem capazes de germinarem a temperaturas inferiores a  $3^{\circ}\text{C}$  (CERESER et al., 2008). O *C. botulinum* do tipo E é, frequentemente, encontrado no ambiente marinho e é o principal agente causador de botulismo transmitido pelo consumo de pescado contaminado (GELLI, JAKABI e SOUZA, 2002; GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

A temperatura influenciou negativamente as contagens de clostrídios sulfito redutores, tanto para as amostras refrigeradas quanto para as amostras congeladas. As equações das regressões lineares (tabelas 5 e 7) demonstraram que, ao longo do período de armazenamento, houve leve redução das contagens de clostrídios sulfito redutores. Os  $R^2$  de ambas as formas de armazenamento demonstram que há pequena correlação entre o tempo de armazenamento e as contagens de clostrídios sulfito redutores.

Cereser et al. (2008) afirmam que os esporos do *C. botulinum* tipo E estão, frequentemente, associados com frutos do mar refrigerados. Segundo Germano, Oliveira e Germano (1993) grande parte do pescado carrega, naturalmente, o clostrídio em suas vísceras em pequenas quantidades. Mas é durante o processamento e o armazenamento que pode haver condições propícias para a produção de toxina botulínica, sobretudo quando o pescado é processado em condições artesanais.

Sankar et al. (2008) discutem que o uso de embalagens com atmosfera modificada para conservação de pescado não deve favorecer o desenvolvimento de microrganismos patogênicos como clostrídios sulfito redutores, uma vez que o *C. botulinum* é um dos mais perigosos contaminantes em pescados preservados em embalagens com atmosfera anaeróbia. Segundo Brooks, Butel e Morse (2005) o pescado fresco ou defumado, embalado a vácuo é um dos principais alimentos incriminados de estarem contaminados com a toxina botulínica.

Entretanto, a presença de outros microrganismos em altas concentrações é limitante para o crescimento do *C. botulinum* uma vez que este é um fraco competidor contra a microbiota autóctone dos alimentos (GELLI, JAKABI e SOUZA, 2002). Todavia, a carne do vôngole quando contaminada com este patógeno, as etapas de processamento não são eficientes para eliminá-lo, uma vez que os esporos dos clostrídios podem tolerar a fervura (100°C) por horas, sendo destruídos somente à temperatura de autoclavação, 120°C por 30 minutos (CERESER et al., 2008).

Em análise microbiológica realizada em 45 amostras de pescado no Laboratório de Controle de Alimentos do Departamento de Vigilância e Controle Sanitário do Estado de São Paulo foram encontrados 13% contaminados com clostrídio sulfito redutor

confirmando que este patógeno é encontrado, com certa frequência, no pescado comercializado no país (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

Durante a pesquisa foi observado que algumas marisqueiras depositavam o vôngole cozido diretamente no piso de suas residências para efetuar a separação manual das conchas. Com o auxílio de swabs comerciais foram coletadas amostras do piso e das mãos das marisqueiras que realizavam a catação do vôngole e semeou-se na superfície de placas contendo ágar SPS solidificado e incubou-se nas mesmas condições das análises realizadas para o vôngole. Foi observado o crescimento de colônias negras típicas de clostrídios sulfito redutores nas placas provenientes, tanto do piso quanto, das mãos das marisqueiras, confirmando que esta prática pode ser a responsável por introduzir esta bactéria no vôngole cozido.

Não foi encontrada presença de *Salmonella* em nenhuma amostra de vôngole nos dois tipos de embalagem, nas duas temperaturas de armazenamento. Segundo Germano, Oliveira e Germano (1993) os seres marinhos não são naturalmente contaminados por espécies de *Salmonella*, uma vez que fatores como diluições, correntes marinhas, sedimentação, temperatura, luz, salinidade e competição com outros microrganismos são limitantes para a permanência dessas bactérias em águas marítimas.

Porém, a *Salmonella* pode contaminar o pescado durante o seu beneficiamento, principalmente em etapas em que há manipulação da carne do marisco (VIEIRA, 2004). A presença de portadores assintomáticos de *Salmonella* entre os manipuladores é um dos motivos da contaminação de alimentos por essa bactéria (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992). A saúde dos manipuladores deve ser monitorada em intervalos regulares para que não haja portadores assintomáticos lidando com o alimento e este deve passar por programas de treinamento em BPF (GONÇALVES, 1998).

Também é possível que a metodologia de escolha para o isolamento desta bactéria a partir do vôngole não tenha sido a ideal, tendo em vista que os diferentes sorotipos de *Salmonella* apresentam graus diferentes de susceptibilidade às substâncias presentes nos caldos de enriquecimento seletivo e às temperaturas de incubação desses caldos.

Silva, Junqueira e Silveira (1997) indicam que a temperatura de incubação de ambos os caldos de enriquecimento seletivo pode ser 37°C, ou, em casos de alimentos com elevada carga microbiana, 42°C. Pereira et al. (2006) utilizaram a temperatura de 35°C para caldo tetrionato e 42°C para incubação do caldo Rappaport-Vassiliadis para isolamento de *Salmonella* a partir de ostras, metodologia bastante semelhante à utilizada neste trabalho.

Mesmo com a ausência deste microrganismo, a presença de *E. coli* nas amostras de vôngole demonstra falha no processamento e contaminação fecal recente, indicando a possível veiculação de outros microrganismos entéricos através do marisco processado como, por exemplo, a *Salmonella*.

Pereira et al. (2006) também não encontraram presença de *Salmonella* em um total de 90 amostras de ostras cultivadas e comercializadas em Florianópolis. Pereira (2003) também não encontrou *Salmonella* em mexilhões *in natura* e submetidos a um pré-cozimento de no máximo 20 minutos a 100°C. Cordeiro (2005) relata que o processo de cocção para desconchamento é capaz de eliminar espécies de *Salmonella*.

No entanto, Furlan (2004) ao analisar a carne de mexilhões cultivados na região de Ubatuba, São Paulo, encontrou a presença de *Salmonella* em 6,7%.

Heinitz et al. (2000) analisaram, entre os anos de 1990 e 1998, a presença de espécies de *Salmonella* em pescados importados nos Estados Unidos. Foi encontrada uma incidência de 7,2%, sendo *Salmonella* Weltevreden o sorotipo mais prevalente.

Brands et al. (2005) analisaram ostras importadas comercializadas em mercados dos Estados Unidos e encontraram 7,4% contaminadas com *Salmonella*, sendo que o sorotipo que predominou foi *Salmonella* Newport (cerca de 77% dos isolados).

Arias e Buelga (2005) pesquisaram *Salmonella* spp 50 amostras de pescados frescos sendo que metade eram ostras, oriundos de diferentes lugares da cidade de Pamplona, Espanha, e encontraram uma prevalência de 12%.

Também não foi encontrado *Vibrio parahaemolyticus* em nenhuma das amostras refrigeradas analisadas, nas duas formas de embalagem em todos os momentos do estudo. Este resultado deve ser expresso como <3NMP de *V. parahaemolyticus* por grama de vôngole, pois este é o limite diagnóstico da técnica empregada (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997). Não foi realizada a determinação de *V.*



*parahaemolyticus* nas amostras congeladas, porque este microrganismo é extremamente sensível a temperaturas muito baixas não se desenvolvendo abaixo de 4°C (MUNTADA-GARRIDA et al., 1995).

O *V. parahaemolyticus* é uma bactéria mesófila isolada com frequência de mariscos em todo o mundo (GOOCH et al., 2001). Ele é o principal patógeno bacteriano incriminado como causa de doença de origem alimentar (HARA-KUDO et al., 2001). Segundo González-Escalona, Blackstone e DePaola (2006) a enfermidade causada por este patógeno é frequentemente relacionada com a ingestão de pescado proveniente de águas contaminadas com esse microrganismo. Ele faz parte da microbiota natural de águas litorâneas e já foi encontrado em estuários, sedimentos e frutos do mar na Ásia, América do Norte, América do Sul, Austrália, Nova Zelândia, África, Havaí e Europa (SERRA et al., 2004).

A ausência de *V. parahaemolyticus* no vôngole se deve, provavelmente, a cocção realizada pelas marisqueiras durante as etapas de processamento, uma vez que este microrganismo é sensível a temperaturas acima de 80°C (FRANCO e LANDGRAF, 2005). O aquecimento pode ser o principal fator de destruição desta bactéria, porque Guimarães (2002) ao analisar amostras de sedimento, água da praia e vôngole, *in natura*, provenientes do município de Salinas da Margarida encontrou contaminação por *V. parahaemolyticus* em 64,5% das amostras do marisco e uma incidência oscilante no sedimento e na água ao longo de todo o ano, demonstrando a presença constante deste microrganismo na área estudada.

É comum que o *V. parahaemolyticus* presente em águas contaminadas se associe ao plâncton e seja ingerido por moluscos bivalves, sendo acumulados nestes organismos (SOUZA, 2007). Apesar do *V. parahaemolyticus* ser endógeno da microbiota marinha, fatores ambientais como época do ano, salinidade, temperatura, turbidez e pH da água, entre outros, podem eliminar esse microrganismo de áreas específicas (ZIMMERMAN et al., 2007). Por isso, nem todos os mariscos, processados ou mesmo *in natura*, estão contaminados com esse microrganismo.

Bispo et al. (2004) não encontraram presença de *V. parahaemolyticus* em três amostras de 50g de vôngole congelado provenientes da cidade de Salinas da Margarida. Aveiro (2007) ao analisar amostras de vôngole oriundas da Reserva

Extratrista Marinha do Pirajubaé, Florianópolis, Santa Catarina, também não encontrou a presença de *V. parahaemolyticus*. Pereira et al. (2006) também não encontraram *V. parahaemolyticus* num total de 90 ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas e comercializadas na região costeira de Florianópolis, SC. Isto demonstra que os bivalves quando cultivados em áreas livres de contaminação ambiental e processados corretamente possuem pequeno risco de transmissão desse patógeno.

Entretanto, há vários relatos, tanto no Brasil quanto no exterior, da presença de *V. parahaemolyticus* em moluscos bivalves. Barros et al. (2007) encontraram 140 cepas de *Vibrio saccharose* negativa oriundas de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) refrigeradas, provenientes de duas barracas na Praia do Futuro em Fortaleza, Ceará, sendo *V. parahaemolyticus* a espécie mais predominante. Serra et al. (2004) encontraram contaminação por *V. parahaemolyticus* em 61,4% do vôngole *in natura* capturado no estuário do Rio Anil, São Luis, Maranhão.

Lee et al. (2008) analisaram a presença de cepas patogênicas de *V. parahaemolyticus* em ostras vendidas no comércio varejista da Coréia, utilizando o PCR multiplex para pesquisa dos genes *tdh* e *trh*, responsáveis pela produção das principais toxinas incriminadas na síndrome causada por este microrganismo. De um total de 72 cepas encontradas, nenhuma apresentou o gene *tdh* e apenas uma o gene *trh*.

Cabrera-García, Vázquez-Salinas e Quiñones-Ramírez (2004) ao analisarem 75 amostras de ostras *in natura* proveniente do Golfo do México encontraram nove cepas de *V. parahaemolyticus*.

Pereira, Viana e Rodrigues (2004) isolaram 45 sorotipos diferentes de *V. parahaemolyticus* de 40 ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e 10 mexilhões (*Perna perna*) refrigerados entre 2 e 10°C adquiridos de 15 restaurantes do Rio de Janeiro e em Ponta de Itaipú, Niterói, respectivamente.

Pereira et al. (2007) encontraram 11,6% de mexilhões cultivados na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, contaminados por *V. parahaemolyticus*. Os mexilhões *in natura* representaram 64,7% das cepas de *V. parahaemolyticus* encontradas, contra 35,3% daqueles mexilhões expostos ao vapor de água por aproximadamente três minutos, apenas para abertura das conchas e separação das partes comestíveis. Mesmo num curto período de tempo, à temperatura de pré-cozimento foi capaz de

reduzir a carga de *V. parahaemolyticus* nos mexilhões, comprovando a sensibilidade desse microrganismo frente o calor.

Pereira (2003) analisou mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozidos a 100°C por no máximo 20 minutos e encontrou uma incidência de *V. parahaemolyticus* de 5,85% e 3,19%, respectivamente, demonstrando, mais uma vez, a sensibilidade que este microrganismo apresenta diante do tratamento térmico.

Lhafi e Kühne (2007) ao analisarem, entre junho de 2004 e maio de 2005, um total de 90 amostras de mexilhões azuis (*Mytillus edulis*) *in natura*, cultivados na costa alemã, encontraram 74,4% contaminados com espécies de *Vibrio*, sendo que 39,5% foram identificados como *V. parahaemolyticus*.

Cuidados com a higiene das mãos das marisqueiras e correta sanificação das superfícies, equipamentos e utensílios contribuem, de forma significativa, para diminuir a transmissão desses patógenos pelo vôngole resfriado e reduzir os índices de contaminação pós-processamento. O armazenamento em condições adequadas de resfriamento também é fundamental para prolongar a vida útil da carne de vôngole.

#### 4. CONCLUSÃO

O vôngole processado não estava em conformidade com a RDC n° 12, porque apresentou contaminação por uma variedade de microrganismos com potencial patogênico como coliformes termotolerantes, *E. coli*, clostrídios sulfito redutores e *S. aureus*, muitas vezes em contagens superiores aos limites máximos toleráveis. Também foram encontrados contagens expressivas de microrganismos mesófilos, psicrófilos e bolores e leveduras demonstrando que este alimento sofreu falha durante seu processamento o que acarretou redução do tempo de vida útil.

Esta elevada contaminação microbiológica resultou na produção de uma variedade de ácidos e bases orgânicas que deterioraram as amostras refrigeradas em seis dias e as amostras congeladas em cinco meses.

Nas condições em que o experimento foi realizado, o vácuo não se revelou vantajoso, pois não ampliou o tempo de vida útil do vôngole processado. A presença de contagens iniciais elevadas de microrganismos anaeróbios facultativos como bactérias do grupo coliforme e *S. aureus* não é inibida pela atmosfera isenta de oxigênio.

O congelamento demonstrou ser a melhor forma de armazenamento, pois prolongou a vida útil do vôngole durante cinco meses. A refrigeração não foi suficiente para manter as qualidades sensoriais do vôngole por mais do que seis dias de armazenamento.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**. v. 36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.
- ANDRADE, C. S.; DRUZIAN, J. I.; LEITE, C. C.; CARVALHO FILHO, C. D.; MIRANDA, M. P. S.; MACÊDO, C. S.; GUIMARÃES, A. G. Determinação da microbiota histamina positiva em camarão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 67, n. 1, p. 45-49, 2008.
- ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciências Agrotécnicas**. v. 27, n. 3, p. 590, 596, 2003.
- ANDREWS, W. H.; FLOWERS, R. S.; SILLIKER, J.; BAILEY, S. *Salmonella*. In: VANDERZANT, C; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. APHA, 4 ed., Washington: U.S.A., 2001.
- ARASHISAR, .; HISAR, O.; KAYA, M.; YANIK, T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets. **International Journal of Food Microbiology**. v. 97, n. 2, p. 209-214, 2004.
- ARIAS, F. C. H.; BUELGA, J. A. S. Prevalencia de *Salmonella* spp. en pescado fresco expendido en Pamplona (Norte de Santander). **Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas**. v. 3, n. 2, p. 34-42, 2005.
- AVEIRO, M. V. **Análise nutricional, microbiológica e histológica do berbigão *Anomalocardia brasiliana* da Reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Remapi) Florianópolis/SC**. Dissertação (Mestrado), Florianópolis: UFSC, 2007, 77 f.
- BARREIRA, C. A. R.; ARAÚJO, M. L. R. Ciclo reprodutivo de *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na praia do Conto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 31, n. 1, p. 9-20, 2005.
- BARROS, L. M. O.; SOUZA, O. V.; LIMA, E. A.; MACRAE, A.; VIEIRA, G. H. F.; VIEIRA, R. H. S. F. Vibrios sacarose negativos isolados de ostras *Crassostrea rhizophorae* comercializadas em barracas de praia na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. **Boletim Técnico Científico Cepnor**. v. 7, n. 1, p. 9-16, 2007.
- BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; ANDRADE, G.; LEITE, C. C. Aproveitamento industrial de marisco na produção de lingüiça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 664-668, 2004.

BONACINA, M. S. **Desenvolvimento e caracterização de empanado a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*)**. Dissertação (Mestrado), Rio Grande: Fundação Universidade Rio Grande, 2006, 120 f.

BRANDS, D. A.; BILLINGTON, S. J.; LEVINE, J. F.; JOENS, L. A. Genotypes and antibiotic resistance of *Salmonella* Newport isolates from US market oysters. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 2, n. 1, p. 111-114, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília: DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4º Ed. Instituto Adolfo Lutz, 2005, 1018 p.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia médica. Jawetz, Melnick e Adelberg**. 21 ed. Tradução: Patrícia Lydie Voeux. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005. 609 p.

CABRERA-GARCÍA, M. E.; VÁZQUEZ-SALINAS, C.; QUIÑONES-RAMÍREZ, E. I. Serologic and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and fish products of the Gulf of Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 70, n. 11, p. 6401-6406, 2004.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: Princípios e aplicações**. 1º reimpressão, Porto Alegre: Editora Artmed, 2004, 255 p.

CERESER, N. D.; COSTA, F. M. R.; ROSSI JUNIOR, O. D.; SILVA, D. A. R.; SPEROTTO, V. R. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**. v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

COOK, D. W.; BURKHARDT III, W.; DEPAOLA, A.; MCCARTHY, S. A.; CALCI, K. R. Molluscan shellfish: oysters, mussels and clams. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

CORDEIRO, D. **Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção, congelamento e armazenamento**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2005, 82 f.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.



CUNHA, M. L. R. S.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; HIROOKA, E. Y. Generalidade sobre enterotoxinas estafilocócicas em alimentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**. v. 17, p. 9-22, 1996.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n. 3, p. 263-271, 2002.

DEEPANJALI, A.; KUMAR, H. S.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 71, n. 7, p. 3575-3580, 2005

ENTIS, P.; FUNG, D. Y. C.; GRIFFITHS, M. W.; MCLNTYRE, L.; RUSSELL, S.; SHARPE, A. N.; TORTORELLO, M. L. Rapid methods for detection, identification and enumeration. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**, Washington, U.S.A. 4 ed., 2001.

FLORESTA, F. A. **Condições para indução do estado viável não cultivável (VNC) em *Salmonella* e *E. coli***. Dissertação (mestrado). Viçosa: MG, 2006, 72 f.

FONTES, M. C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, n. 5, p. 1308-1315, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005, 182 p.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2004, 106 f.

FURLAN, E. F.; GALVÃO, J. A.; SALÁN, E. O.; YOKOYAMA, V. A.; OETTERER, M. Estabilidade físico-química e mercado do mexilhão (*Perna perna*) cultivado em Ubatuba - SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas: v. 27, n. 3, p. 516-523, 2007.

GALVÃO, J. A.; FURLAN, E. F.; SALÁN, E. O.; PORTO, E.; OETTERER, M. Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) da água e dos mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP. **Ciências Agrotécnicas**. v. 30, n. 6, p. 1124-1129, 2006.

GARCIA, A. N. **Contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta (Espírito Santo, Brasil)**. Monografia (Graduação), Vitória: UFES, 2005, 68 f.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Botulism: A laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 44, n. 6, p. 321-324, 2002.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 629 p.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar**. v. 7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções Alimentares: Uma Revisão. **Higiene Alimentar**. Niterói: V. 12, n. 53, p. 38-44, 1998.

GONZÁLEZ-ESCALONA, N.; BLACKSTONE, G. M.; DEPAOLA, A. Characterization of *Vibrio alginolyticus* strain, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the Thermostable Direct Hemolysin-Related Hemolysingene (*trh*) of *Vibrio parahaemolyticus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, n. 12, p. 7925-7929, 2006.

GOOCH, J. A.; DEPAOLA, A.; KAYSNER, C. A.; MARSHALL, D. L. Evaluation of two direct plating methods using nonradioactive probes for enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 67, n. 2, p. 721-724, 2001.

GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**. n. 33, p. 121-137, 1996.

GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria . problems and solutions. **Current opinious in biotechnology**. n. 13, p. 262-266, 2002.

GUIMARÃES, A. G. **Contaminação do molusco *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791), por *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus*, na região Norte da Baía de Todos os Santos**. Tese (Doutorado). Campinas: SP, 2002, 120 f.

HARA-KUDO, Y.; NISHINA, T.; NAKAGAWA, H.; KONUMA, H.; HASEGAWA, J.; KUMAGAI, S. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. **Applied and environmental microbiology**. v. 68, n. 12, p. 5819-5823, 2001.

HEINITZ, M. L.; RUBLE, R. D.; WAGNER, D. E.; TATINI, S. R. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **Journal of Food Protection**. v. 63, n. 5, p. 579-592, 2000.

HUSS. H. H. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. **Food Control**. v. 8, n. 2, p. 91-98, 1997.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**. v.11, n. 2, p. 149-156, 2000.

JACKSON, V.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A.; KENNEDY, J.; BOLTON, D. J. The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. **Food Control**. n. 18, p. 346-351, 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6° ed Tradução Eduardo Cesar Tondo. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

KAYSNER, C. A.; DEPAOLA JUNIOR, A. *Vibrio*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

KEERATIPIBUL, S; TECHARUWICHIT, P; CHATURONGKASUMRIT, Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. **Food Control**. v. 20, p. 289-293, 2009.

KONEMAM, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JUNIOR, W. C. **Diagnóstico Microbiológico É Texto e Atlas Colorido**. 5° ed, Denver, Colorado: Medsi Editora Médica e Científica Ltda, 2001. 1465 p.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed., Washington, U.S.A., 2001.

KURAL, A. G.; SHEARER, A. E. H.; KINGSLEY, D. H.; CHEN, H. Conditions for high pressure inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. **International Journal of Food Microbiology**. v. 127, n. 1/2, p. 1-5, 2008.

LANCETTE, G. A.; BENNET, R. W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

LEAL, D. A. G.; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: metodologias de detecção e normas de controle. **Revista Panamericana de Infectologia**. v. 10, n. 4, p. 48-57, 2008.

LEE, J-K.; JUNG, D-W.; EOM, S-Y.; OH, S-W.; KIM, Y.; KWAK, H-S.; KIM, Y-H. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. **Food Control**. v. 19, n. 10, p. 990-994, 2008.

LHAFI, S. K.; KÜHNE, M. Occurrence of *Vibrio* spp. In blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea (Short communication). **International Journal of Food Microbiology**. v. 116, n. 2, p. 297-300, 2007.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; SANTANA, L. S.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C.; OMENA, C. M. B.; SILVA NETA, M. L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e

valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 4, p. 529-237, 2004.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Dissertação (Mestrado), São Paulo: USP, 2003, 93 f.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, M. P. Pathogenic *E. coli*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. Washington, U.S.A. 4 ed., 2001.

MUNTADA-GARRIGA, J. M.; RODRIGUEZ-JEREZ, J. J.; LOPEZ-SABATER, E. I.; MORA-VENTURA, M. T. Effects of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oysters meat. **Letters in applied microbiology**. v. 20, n. 4, p. 225-227, 1995.

PANTAZI, D.; PAPAVERGOU, A.; POURNIS, N.; KONTOMIMINAS, M. G.; SAVVAIDIS, I. N. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. **Food Microbiology**. n. 25, p. 136-143, 2008.

PEDRERO, S. P. **Detección y caracterización de virus patógenos humanos en muestras ambientales y moluscos bivalvos**. Tese (Doutorado). Barcelona: UB, 2001, 300 f.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos na cidade de Natal/RN. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n. 2, p. 154-157, 2001.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 40, n. 1, p. 56-59, 2007.

PEREIRA, C. S. **A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a saúde pública. Contexto político-social e microbiológico**. Tese (Doutorado), Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003, 177 f.

PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) coletadas *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 591-595, 2004.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis. Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 37, p. 159-163, 2006.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERGDOLL, M. S. Estafilococos: até onde sua importância em alimentos. **Higiene Alimentar**. v. 14, n. 68/69, p. 32-40 2000.

PRENTICE, C.; SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1, p. 127-131, 2005.

RIBEIRO, F. A. **Análise do efeito de diferentes métodos de conservação na determinação da contaminação da carne do molusco bivalve *Tivela mactroides* por coliformes totais e fecais**. Monografia (graduação). São João da Boa Vista: SP, 2004, 54 f.

SANKAR, C. N. R. S.; LALITHA, K. V.; JOSE, L.; MANJU, S.; GOPAL, T. K. S. Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Eroplus suratensis* Bloch) stored at 0-2°C. **Food Microbiology**. v. 25, n. 3, p. 518-528, 2008.

SERRA, C. L. M.; CAVALCANTE, P. R.; COELHO, L. M. A.; NASCIMENTO, A. R.; COUTINHO, M. F. O. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em sarnambi (*Anomalocardia brasiliensis*) e sururu (*Mytella falcata*) capturados no estuário do Rio Anil, São Luis, Ma. **Higiene Alimentar**. v. 18, n. 116/117, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 5º ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536 p.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: Patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**. v. 18, n. 122, p. 32-40, 2001.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Alimentos**. 4º ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 475 p.

SOUZA, D. B. R. **Recuperação de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* inoculadas em camarão marinho, *Litopenaeus vannamei*, submetidas às temperaturas de resfriamento e congelamento**. Dissertação (Mestrado), Fortaleza: UFC, 2007, 64 f.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8º ed. Tradução: Roberta Marchiori Martins. Porto Alegre: Artmed, 2005, 894 p.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4º ed. Rio de Janeiro . São Paulo: Editora Atheneu, 2004. 718 p.

TURAN, H.; ÇELİK, G. S. Y.; YALÇIN, M.; KAYA, Y. The effects of hot smoking on the chemical composition and shelf life of Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis* L. 1819) under chilled storage. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 32, n. 6, p. 912-922, 2008.

UNGAR, M. L.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Riscos e Conseqüências da Manipulação de Alimentos para a Saúde Pública. **Higiene Alimentar**. v. 6, n. 21, p. 14-17, 1992.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: RJ. Guanabara Koogan, 2006, 239 p.

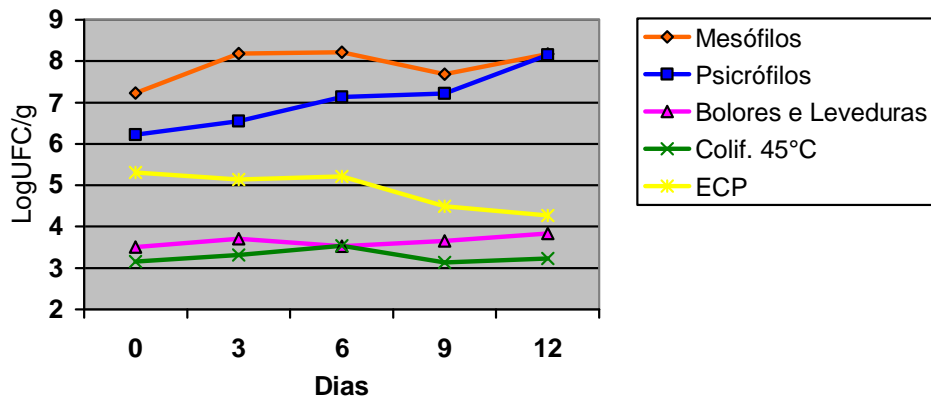
VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

VIEIRA, R. H. S. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R.; CARVALHO, F. C. T.; FONTELES FILHO, A. A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

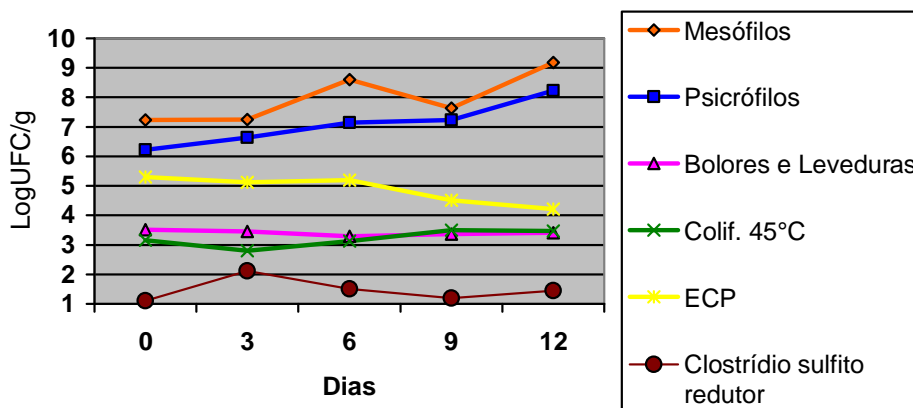
ZIMMERMAN, A. M.; DEPAOLA, A.; BOWERS, J. C.; KRANTZ, J. A.; NORDSTROM, J. L.; JOHNSON, C. N.; GRIMES, D. J. Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters. **Applied and environmental microbiology**. v. 73, n. 23, p. 7589-7596, 2007.



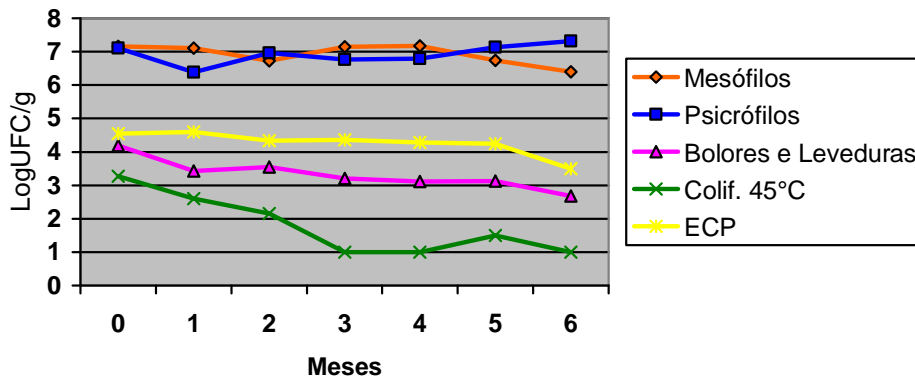
## 6. APÊNDICES



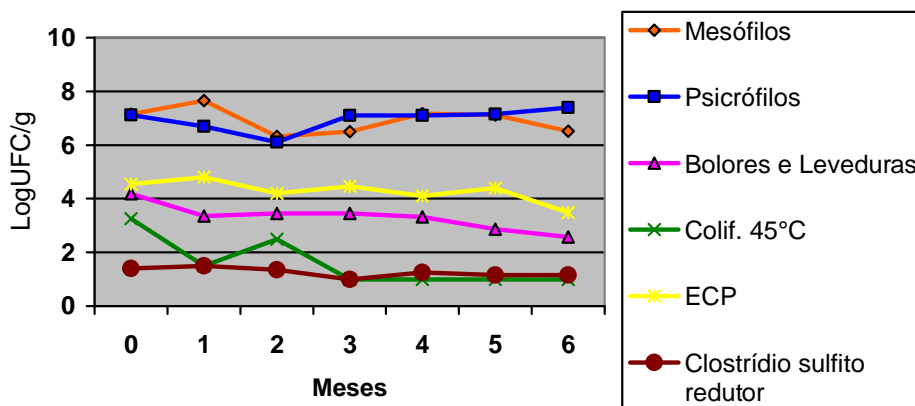
**Figura 3:** Curva de crescimento dos microrganismos no vôngole refrigerado (7°C) em embalagem sem vácuo. O eixo vertical indica as médias das contagens expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> e o eixo horizontal expressa o tempo em dias.



**Figura 4:** Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole refrigerado (7°C) em embalagem a vácuo. O eixo vertical indica as médias das contagens expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> e o eixo horizontal expressa o tempo em dias.



**Figura 5:** Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole congelado (-18°C) em embalagem sem vácuo. O eixo vertical indica as médias das contagens expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> e o eixo horizontal expressa o tempo em meses.



**Figura 6:** Curva de crescimento dos microrganismos em vôngole congelado (-18°C) em embalagem a vácuo. O eixo vertical indica as médias das contagens expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> e o eixo horizontal expressa o tempo em meses.



*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**CAPÍTULO IV:  
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE SIRI (FAMÍLIA  
PORTUNIDAE) PROCESSADOS, REFRIGERADOS E CONGELADOS EM  
DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS**

## AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE SIRI (FAMÍLIA PORTUNIDAE) PROCESSADOS, REFRIGERADOS E CONGELADOS EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS.

### RESUMO

Os siris pertencentes à Família Portunidae são uma importante fonte nutricional e de renda para as comunidades ribeirinhas da região do entorno da Baía de Todos os Santos. A carne dos crustáceos é mais susceptível a deterioração do que outros alimentos porque apresenta elevada concentração protéica e pH próximo da neutralidade. Para conservá-la, é necessário à aplicação correta do frio ao longo do seu período de estocagem. A associação entre resfriamento e embalagem a vácuo é capaz de estender ainda mais a vida útil do catado de siri, uma vez que diminui a ação oxidante do oxigênio e inibe a proliferação de microrganismos aeróbios estritos. O objetivo deste trabalho foi comparar as alterações microbiológicas e físico-químicas do catado de siri em embalagem com ar e a vácuo armazenados sob refrigeração (7°C) e congelamento (-18°C). O siri foi adquirido de marisqueiras do distrito de Pirajuía e do município de Salinas da Margarida ambos situados no entorno da Baía de Todos os Santos. O siri refrigerado foi analisado com zero, três, seis, nove e doze dias de armazenamento e o congelado (-18°C) foi analisado mensalmente durante seis meses. Foram realizadas contagens de coliformes termotolerantes com identificação de *Escherichia coli*, estafilococos coagulase positiva, clostrídios sulfito redutores, microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, microrganismos psicrófilos totais, bolores e leveduras, pesquisa de *Salmonella* spp e determinação de *Vibrio parahaemolyticus* apenas para o siri refrigerado segundo técnicas preconizadas pela *American Public Health Association* (APHA). As análises físico-químicas foram compostas por determinação do pH, H<sub>2</sub>S e amônia, estas duas últimas segundo as Reações de Éber de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz. Não foi encontrado presença de *Salmonella*, coliformes termotolerantes e *E. coli* em todas as amostras, nas duas formas de armazenamento e nos dois tipos de embalagens. Também não foi encontrado *V. parahaemolyticus* nas amostras refrigeradas em ambos os tipos de embalagens e clostrídios sulfito redutores nas amostras embaladas a vácuo em ambas as temperaturas de armazenamento. Entretanto, a presença de números significativos de estafilococos coagulase positiva (até 7 LogUFC.g<sup>-1</sup>), microrganismos mesófilos (até 8,8 LogUFC.g<sup>-1</sup>), psicrófilos (até 10,17 LogUFC.g<sup>-1</sup>) e bolores e leveduras (até 3,42 LogUFC.g<sup>-1</sup>) foi constante em todas as formas de armazenamento. Apesar do catado de siri ter apresentado isenção de grande parte dos microrganismos com potencial patogênico pesquisados, as contagens de estafilococos coagulase positiva nas amostras refrigeradas alcançaram valores suficientes para a produção de enterotoxinas estafilocócica, tornando o alimento potencialmente perigoso a saúde humana.

Palavras chaves: Siris, deterioração microbiológica e embalagem a vácuo.

## MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS OF CRAB (FAMILY PORTUNIDAE) PROCESSING, CHILLED AND FROZEN IN DIFFERENT TYPES OF PACKAGING.

### ABSTRACT

Family Portunidae crabs are an important source of income and nutrition for coastal communities in the region around the Baía de Todos os Santos. The meat of crustaceans is more susceptible to deterioration than other foods because it shows high protein concentration and pH near neutral. To keep it, you must correct the application of cold during the period of its storage. The association between vacuum cooling and packaging is able to further extend the life of the crab since decreases the oxidizing action of oxygen and inhibits the proliferation of aerobic microorganisms strict. The objective of this study was to compare the changes microbiological and physico-chemical properties of the crab in air and vacuum packaging with stored under refrigeration (7° C) and freezing (-18° C). The crab was purchased from the seafood Pirajuíá district of the city of Salinas and the Margaret both located around the Baía de Todos os Santos. The cold crab was analyzed with zero, three, six, nine and twelve days of storage and frozen (-18° C) was examined monthly for six months. We performed counts of thermotolerant coliforms with identification of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sulphite reducing clostridia, aerobic mesophilic microorganisms and facultative anaerobes, microorganisms psychrophilic total, molds and yeasts, search for *Salmonella* spp and *Vibrio parahaemolyticus* count only for the second refrigerated crab techniques recommended by the American Public Health Association (APHA). The physico-chemical analysis were made by determining the pH, H<sub>2</sub>S and ammonia according to the latter two reactions of Eber in accordance with the methodology proposed by the Institute Adolfo Lutz. We found no presence of *Salmonella*, thermotolerant coliforms and *E. coli* in two forms of storage and the two types of packaging. Was not found *V. parahaemolyticus* in samples chilled in both types of packaging and sulphite reducing clostridia in samples packaged under vacuum in both storage temperatures. However, the presence of significant numbers of *S. aureus* (up to 7 LogUFC·g<sup>-1</sup>), mesophilic microorganisms (up to 8,8 LogUFC· g<sup>-1</sup>), psychrophilic (up to 10,165 LogUFC·g<sup>-1</sup>) and yeasts and molds (up to 3,42 LogUFC·g<sup>-1</sup>) was constant in all forms of storage. Despite of the crab has presented free of most potential pathogenic microorganisms studied, the counts of *S. aureus* in refrigerated samples reach values sufficient for the production of staphylococcal enterotoxins, making potentially harmful food.

Keywords: Crabs, microbiological deterioration and vacuum packaging.

## 1. INTRODUÇÃO

Os siris são importantes crustáceos encontrados próximo aos ecossistemas estuarinos em praticamente todo o litoral brasileiro (WAKASA, 2003). No Brasil, estão registradas cerca de 21 espécies de siris da Família Portunidae, que são bastante explorados comercialmente (FERNANDES et al., 2006).

Estes animais são muito apreciados como alimento, em diversas regiões do mundo. Em alguns países asiáticos, compõe parte considerável da dieta diária de seus habitantes, sendo importante fonte de proteína animal (PRENTICE e SAINZ, 2005).

No Brasil, o consumo de mariscos é pequeno e concentrado nos centros urbanos costeiros de grande e médio porte, com raras exceções (FURLAN, 2004). Entretanto, à medida que a população brasileira melhora suas condições sócio-econômicas e culturais, busca também melhorar sua qualidade de vida através da ingestão de alimentos mais saudáveis. Recentemente, a divulgação das propriedades nutritivas do pescado e seus derivados, fizeram com que seu consumo aumentasse nas classes mais favorecidas (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇA-LOPES, 2001).

A culinária nordestina utiliza os crustáceos na formulação de muitos pratos típicos regionais e a pesca extrativa desses é uma importante atividade rentável para as famílias de pequenas comunidades ribeirinhas (TEIXEIRA e SÁ, 1998).

Em algumas regiões do país, os siris são capturados como fauna acompanhante durante a pesca camaroeira contribuindo para a biomassa desta atividade, apesar de ser considerado um produto secundário (SEVERINO-RODRIGUES, GUERRA e GRAÇA-LOPES, 2002). Em muitas cidades situadas no entorno da Baía de Todos os Santos, Bahia, o extrativismo de mariscos constitui importante fonte de renda, sendo o catado de siri, um dos principais produtos comercializados na região.

Em alguns distritos, como Pirajuía e Ourives, a pesca e a colheita de mariscos é uma tradição, tornando a região um dos principais pólos baianos de extração pesqueira (GUIMARÃES, 2002). Os siris são capturados, processados e comercializados pelas ~~marisqueiras~~ denominação atribuída às mulheres que se dedicam a essa atividade (BISPO et al., 2004).



No entanto, as marisqueiras da região, geralmente, não possuem conhecimentos básicos sobre segurança e higiene dos alimentos. Segundo Carvalho et al. (2006) o beneficiamento dos crustáceos se caracteriza como uma pesca artesanal, pois utiliza instrumentos simples e de baixo custo operacional. Isto pode implicar no processamento inadequado dos mariscos, com conseqüente veiculação de graves toxinfecções bacterianas ao homem (GERMANO, OLIVEIRA e GERMANO, 1993).

A presença de altas quantidades de certos aminoácidos e extratos nitrogenados em carnes de crustáceos faz com que esse alimento se torne altamente susceptível ao ataque da microbiota deteriorante (JAY, 2005).

A presença de bioindicadores como algumas bactérias do grupo coliforme, pode indicar contaminação fecal recente e possível presença de outros microrganismos com potencial patogênico de transmissão oro-fecal (GARCIA, 2005). Também foi confirmada, por diversos estudos, a existência de outros patógenos passíveis de transmissão pela ingestão de pescado. A descoberta de microrganismos emergentes transmitidos pela ingestão de pescado, como o *Vibrio parahaemolyticus*, reafirmou a necessidade de cuidados durante o processamento deste tipo de alimento (MAHON et al., 2006).

O adiamento dos sinais da deterioração e a ausência de patógenos são os dois principais pilares para a manutenção da qualidade dos alimentos. Por isso, a avaliação da qualidade geral do pescado e da sua vida de prateleira é baseada em alterações sensoriais, físico-químicas e microbiológicas (LEITÃO e RIOS, 2000).

A alteração da atmosfera no interior das embalagens associada à aplicação de baixas temperaturas pode estender à vida de prateleira e possui papel importante na manutenção do frescor em crustáceos (LÓPEZ-CABALLERO, GONÇALVES e NUNES, 2002).

Este trabalho teve como objetivo estudar, através de parâmetros microbiológicos e físico-químicos, a cinética de deterioração do catado de siri (Família Portunidae) processado em cidades situadas no entorno da Baía de Todos os Santos. Ao final do trabalho, foi possível determinar, nas condições do experimento, a vida útil do siri catado e a sua melhor forma de acondicionamento.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAL

Aproximadamente, 13 quilos de siri cozido e catado foram adquiridos em três subamostras. A primeira subamostra continha, em torno de 6 Kg e foi adquirida em junho de 2008. A segunda subamostra, contendo 4Kg, foi adquirida em julho de 2008 e foi congelada. A terceira subamostra continha 3Kg, foi adquirida em novembro de 2008 e foi refrigerada.

As subamostras de siri foram adquiridas de marisqueiras do município de Salinas da Margarida e do distrito de Pirajuía (pertencente ao município de Jaguaripe) ambos situados no entorno da Baía de Todos os Santos.

As subamostras de siri catado foram porcionadas em embalagens contendo 250 gramas cada. Para as análises microbiológicas e físico-químicas foram utilizadas um total de 48 porções, sendo 24 porções em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade sem vácuo e 24 porções em sacos plásticos tipo *crayovac* a vácuo. Também, foram utilizadas três porções em embalagem sem vácuo para a análise centesimal do produto. O vácuo foi realizado em seladora a vácuo da marca Selavac® em um estabelecimento comercial próximo do ponto de colheita do marisco no momento zero do estudo.

As porções foram armazenadas sob refrigeração para estudo da suas etapas de deterioração. Uma parte foi armazenada em refrigerador por doze dias à temperatura média de 7°C ( $\pm 2,6^\circ\text{C}$ ) e a outra parte foi congelada em freezer por seis meses à temperatura de  $-18^\circ\text{C}$ .

A Figura 1 demonstra, de forma esquemática, a distribuição e o destino do siri catado.

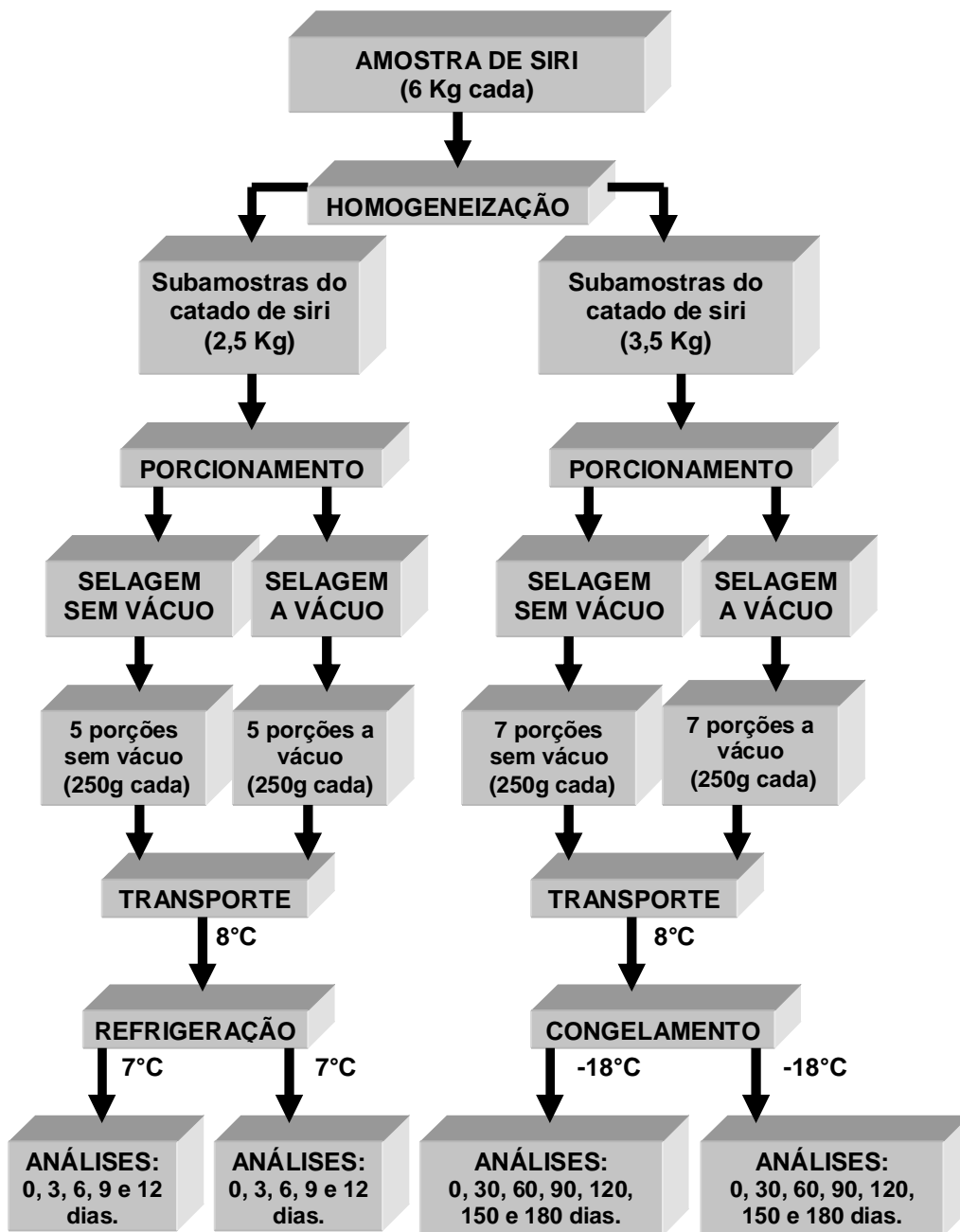


Figura 1: Distribuição e destino das porções de siri catado.

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. IDENTIFICAÇÃO ZOOLOGICA.

Todas as variedades de siris exploradas na região (machos e fêmeas) foram congeladas e transportadas, em caixas isotérmicas, até o Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, onde ocorreu a identificação zoológica.

### 2.2.2. ANÁLISE CENTESIMAL

A análise centesimal foi realizada no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia utilizando-se três porções com 250g de siri catado fresco em embalagem sem vácuo. Ela foi composta pelos testes de umidade, cinzas, lipídios, proteína e carboidratos.

A umidade foi obtida através da perda por dissecação . secagem direta em mufla a 105°C.

As cinzas foram quantificadas pela técnica de resíduo por incineração.

A análise de lipídios segundo a técnica de extração direta em Soxhlet.

A análise de proteína pelo método Kjeldahl clássico.

O valor da concentração de carboidratos foi obtido subtraindo-se a soma percentual dos parâmetros citados acima de 100 (fração NIFEXT).

O experimento foi realizado em triplicata para cada parâmetro. Todas as técnicas foram realizadas segundo metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

O cálculo para o valor calórico total foi realizado a partir da soma dos produtos dos coeficientes calóricos correspondentes aos valores encontrados. Os coeficientes são 4 Kcal/g para proteína, 9 Kcal/g para lipídios e 4 Kcal/g para a fração NIFEXT (LIRA et al., 2004).

### 2.2.3. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.

A análise físico-química foi composta por verificação do pH e determinação de  $H_2S$  e amônia através das Reações de Éber. As metodologias das três técnicas utilizadas estão descritas no Manual de métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

Os parâmetros escolhidos para análise foram selecionados com base na literatura científica (BRASIL, 2005; BRITTO et al., 2007; FONTES et al., 2007; HUSS, REILLY e EMBAREK, 2000; LEITÃO e RIOS, 2000; MUJICA, 2000; PANTAZI et al., 2008; PRENTICE e SAINZ, 2005).

Aproximadamente, 100 gramas da amostra foram trituradas em liquidificador até a obtenção de uma massa homogênea.

Para a aferição do pH foram pesados 10g de marisco triturado. Em seguida, a amostra foi diluída em 100 mL de água deionizada. A leitura foi realizada em um pHmêtro de bancada (medidor de pH/mV Quimis) calibrado com tampões conforme orientação do fabricante.

Para o teste de  $H_2S$ , segundo a Reação de Éber, foram pesados 10g da amostra e adicionados em um erlenmeyer de 250 mL. A boca do erlenmeyer foi vedada com um papel de filtro embebido com uma solução de acetato de chumbo a 5% preso por fita adesiva. O erlenmeyer foi levado ao banho-maria fervendo e colocado sobre um suporte sem que tocasse a superfície da água em ebulição (suspenso aproximadamente 3cm). Deixou-se o erlenmeyer sobre o suporte por 10 minutos e procedeu-se à leitura observando a presença de uma mancha escurecida em caso de teste positivo. A ausência da mancha escura é indicativa de teste negativo.

Para a determinação de amônia, segundo a Reação de Éber, foi adicionado pequena quantidade do Reagente de Éber (ácido clorídrico/éter/álcool etílico absoluto numa proporção de 1:1:3) em um becker pequeno. Com um arame, colheu-se pequenas alíquotas da amostra e introduziu-se no becker sem que esse tocasse em suas paredes ou na superfície do reagente. A formação de vapores esbranquiçados durante a aproximação da amostra com a superfície do reagente representava resultado positivo.

As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata nos dois mariscos analisados, em cada momento da vida de prateleira.

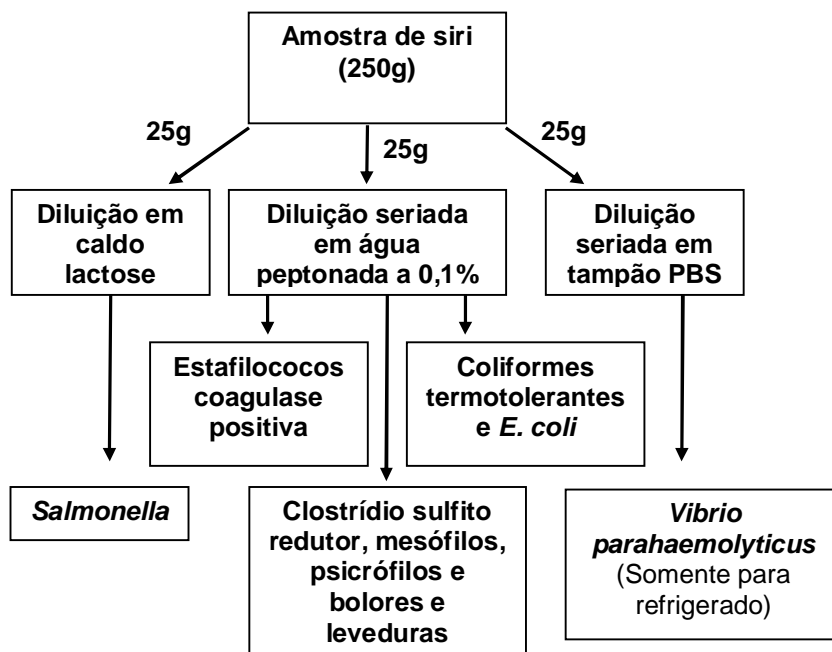
#### 2.2.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.

As porções de siri catado foram transportadas resfriadas à temperatura de 8 a 10°C no interior de caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. O tempo de transporte não ultrapassou seis horas. Ao chegar ao laboratório, procedeu-se à análise de uma amostra correspondendo ao tempo zero das amostras embaladas na presença de ar e a vácuo. As amostras restantes foram refrigeradas a 7°C ( $\pm 2,6^\circ\text{C}$ ) e congeladas a  $-18^\circ\text{C}$  para posterior realização das análises laboratoriais de vida útil do produto.

As amostras foram submetidas a exames microbiológicos em intervalos regulares utilizando metodologia proposta pela *American Public Health Association* (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 2001) e pelo Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). O experimento foi realizado sempre em duplicata.

Foram realizadas contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, microrganismos psicrófilos totais, bolores e leveduras, clostrídios sulfito redutores, *Staphylococcus aureus* e coliformes termotolerantes com identificação de *Escherichia coli*, além da determinação do número mais provável de *Vibrio parahaemolyticus* e pesquisa de *Salmonella* spp em 25 gramas da amostra. A Figura 2 detalha o fluxograma de análise microbiológica de uma amostra.





**Figura 2:** Análise microbiológica dos siris refrigerados e congelados.

Para realização da diluição seriada foi pesada, assepticamente, 25 gramas da amostra de cada marisco em sacos plásticos estéreis do tipo Bag light® e adicionado 225 mL de água peptonada a 0,1% (AP) a fim de realizar a primeira diluição ( $10^{-1}$ ). Utilizou-se homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minutos durante dois minutos. Em seguida, foi retirado 1mL da primeira diluição e adicionado em um tubo contendo 9mL de AP para obtenção da segunda diluição ( $10^{-2}$ ) e assim, sucessivamente, até a obtenção da última diluição, que variou de acordo com o momento da vida de prateleira (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). Imediatamente, foram pipetadas alíquotas das respectivas diluições, para realização das contagens microbiológicas.

Para contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos foi utilizado o *Plate Count Agar* (PCA) através de inoculação em profundidade e incubação a 37°C por 48 horas com as placas invertidas. O resultado da contagem foi expresso em  $\text{LogUFCg}^{-1}$  do produto (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Para a contagem de microrganismos psicrófilos totais foi realizada semeadura em superfície, em PCA e incubada por sete dias com as placas invertidas à temperatura de refrigeração (7°C). O resultado da contagem foi expresso em LogUFCg<sup>-1</sup> (COUSIN, JAY e VASAVADA, 2001).

A contagem de bolores e leveduras foi realizada no Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). O ágar DRBC foi inoculado através da semeadura em superfície e incubado por três a cinco dias à temperatura de 25°C sem que as placas estivessem invertidas. O resultado da contagem foi expresso em LogUFCg<sup>-1</sup> (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Para a contagem de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Escherichia coli* foi utilizado o meio cromogênico *Chromocult Coliform Agar*<sup>®</sup> (CCA) através da inoculação em superfície e incubado a 37°C por 24 horas com as placas invertidas. As colônias de tamanho médio e cor violeta foram consideradas como coliformes termotolerantes e suas contagens foram expressas em LogUFCg<sup>-1</sup> (ENTIS et al., 2001).

As colônias suspeitas de serem *E. coli*, foram confirmadas com os testes bioquímicos IMViC, H<sub>2</sub>S e motilidade e os resultados expressos como ausência ou presença de *E. coli* (MENG, FENG e DOYLE, 2001).

A contagem de clostrídios sulfito redutores foi realizada através do plaqueamento em profundidade em Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) coberto com uma sobrecamada do mesmo meio, incubado a 46°C por 48 horas sem que as placas estivessem invertidas, em jarra de anaerobiose. Para manutenção da atmosfera anaeróbia no interior da jarra foi utilizado o Anaerogen<sup>®</sup>. O resultado foi expresso em LogUFCg<sup>-1</sup> do produto (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

Para contagem de *Staphylococcus aureus* foi utilizado o Ágar Baird-Parker (BP) com plaqueamento em superfície, incubado por 48 horas a 37°C com as placas invertidas (LANCETTE e BENNETT, 2001). As colônias típicas com centro escuro e a presença dos halos de lecitinase e lipase foram submetidas à prova bioquímica de catalase e a soroaglutinação rápida com o kit comercial Staphclin<sup>®</sup>. O resultado foi expresso em LogUFCg<sup>-1</sup> (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007).

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada segundo metodologia proposta por Andrews et al (2001). Para realização do pré-enriquecimento, foram adicionados, em

condições assépticas, 25 gramas da amostra de marisco, em saco plástico estéril do tipo Bag light®. Prosseguiu-se com a adição de 225 mL de caldo lactosado simples (CLS) e agitação em homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minutos durante dois minutos. O CLS com a amostra foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C.

Após a incubação, alíquotas de 0,1 e 1 mL foram transferidas, assepticamente, para caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis R10 e caldo tetratonato verde brilhante, respectivamente. O caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis R10 foi incubado em banho-maria a 42°C, enquanto o caldo tetratonato verde brilhante foi incubado a 37°C em estufa bacteriológica, ambos por 24 horas.

Depois desta nova etapa de incubação, alçadas dos dois caldos foram transferidas para placas descartáveis divididas contendo ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) e ágar entérico de Hektoen (He) e incubadas invertidas a temperatura de 37°C por 24 horas.

Retiraram-se duas a três colônias típicas de cada meio para realização das provas bioquímicas de triagem. As colônias típicas foram inoculadas, simultaneamente, em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e ágar lisina ferro (LIA).

As cepas que apresentaram perfil bioquímico compatível com espécies de *Salmonella* nas provas bioquímicas de triagem foram identificadas através de provas bioquímicas confirmativas compostas por teste de citrato em ágar citrato de Simmons, produção de indol, H<sub>2</sub>S e motilidade em meio SIM, metabolismo da glicose pelos testes de vermelho de metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) em caldo VM-VP, fermentação do dulcitol em caldo vermelho de fenol suplementado com 0,5% de dulcitol, redução do malonato em caldo malonato modificado, produção de urease em ágar uréia de Christensen, crescimento em caldo tripton a 1% e por fim foi confirmado o diagnóstico através dos testes sorológicos polivalente somático e flagelar. Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* em 25 gramas da amostra, tendo em vista que a legislação vigente no país, a RDC n° 12, rejeita alimentos com a presença deste microrganismo em 25 gramas da amostra (BRASIL, 2001). A Figura 31 possui um esquema simplificado da metodologia.

A determinação de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada apenas nos mariscos refrigerados. Para quantificação de *V. parahaemolyticus* utilizou-se a técnica dos Tubos Múltiplos ou Número Mais Provável (NMP) baseada na metodologia proposta por Kaysner e DePaola Junior (2001).

Em condições assépticas, foram adicionados 25 gramas de marisco, em saco plástico estéril do tipo Bag light®. A amostra foi diluída em 225mL de tampão salina fosfato (PBS) para realizar a diluição seriada decimal. Ela foi misturada em homogeneizador do tipo Stomaker (Homogeneizador Digital Blender MC 1204) com velocidade de 390 golpes por minutos durante dois minutos.

Imediatamente após a homogeneização da primeira diluição, foi coletado 1mL e transferido para um tubo contendo 9mL de PBS estéril a fim de realizar a segunda diluição ( $10^{-2}$ ). Misturou-se em agitador de tubos do tipo vórtex e transferiu-se 1 mL para um outro tubo contendo 9mL de PBS estéril para realizar a terceira e última diluição ( $10^{-3}$ ).

Foi transferido 1 mL de cada uma das três diluições para uma série de três tubos contendo Água Peptonada Alcalina (APA), totalizando nove tubos por amostra. Cada tubo contendo 9mL de APA mais 1mL da respectiva diluição foi incubado em estufa bacteriológica a 37°C por 18 horas.

Os tubos que, após a incubação, apresentavam turbidez e crescimento de uma película na superfície do APA eram considerados suspeitos. Com o auxílio da alça de platina, pequenas alíquotas eram semeadas em Ágar Tioglicolato Citrato Bile Sacarose (TCBS) pela técnica de esgotamento por estrias e incubadas por mais 18 horas a 37°C para observação de colônias típicas (KAYSNER e DEPAOLA JUNIOR, 2001).

As colônias características, verde azuladas, foram submetidas aos testes bioquímicos de oxidase, halofilismo com crescimento em caldo triptona 1% com diversas concentrações de NaCl (0, 3, 6, 8 e 10%) incubadas a 30°C por 24h, teste de motilidade e produção de indol em meio SIM com 3% de NaCl incubado a 30°C por 24h e teste de oxidação e fermentação de glicose, celobiose, sacarose, maltose, trealose, lactose e manitol em meio Oxidação-Fermentação (OF) incubados a 37°C por 48h (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2007). As contagens seriam expressas em NMP/g

de catado de siri e as amostras confirmadas seriam inoculadas em Ágar Wagatsuma para observação do Fenômeno de Kanagawa (KONEMAM et al., 2001).

#### 2.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Com os dados paramétricos, foi realizada estatística descritiva com média de cada ponto da vida de prateleira segundo Callegari-Jacques (2004). Os dados da pesquisa foram submetidos a uma Regressão Linear e estabelecido o  $R^2$  pelo programa Microsoft Excel®.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. IDENTIFICAÇÃO ZOOLOGICA.

As espécies capturadas pelas marisqueiras pertencem à Família Portunidae e foram identificados pelo Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos como *Callinectes danae*, *Callinectes bocourti*, *Callinectes ornatus*, *Portunus spinimanus* e *Cronius ruber* (Anexo).

O *Hepatus pudibundus* da Família Callapidae, conhecido vulgarmente na região como dorminhoco, é comumente apanhado nas armadilhas como fauna acompanhante. Entretanto, o tamanho diminuto de sua carapaça e pinça faz com que o mesmo seja descartado sem aproveitamento. Severino-Rodrigues, Guerra e Graça-Lopes (2002) também observaram em seus estudos a presença constante do *Hepatus pudibundus* como carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*).

Os siris pertencem ao Filo Arthropoda, Subfilo Crustacea, Classe Malacostraca, Superordem Eucarida, Ordem Decapoda, Subordem Pleocyemata, Infraordem Brachyura (BRUSCA e BRUSCA, 2007).

Os crustáceos braquiúros conhecidos genericamente como siris formam parte considerável da fauna bentônica associada às águas estuarinas (SEVERINO-RODRIGUES, PITA e GRAÇA-LOPES, 2001).

Localmente, os siris recebem denominações populares como siri itaparicano, siri do mangue, siri cachangá, siri-bóia, siri branco, dorminhoco, entre outros. No entanto, uma mesma espécie de siri pode receber distintos nomes numa mesma região. Em alguns casos, macho e fêmea da mesma espécie podem receber denominações diferentes.

### 3.2. ANÁLISE CENTESIMAL.

Os valores encontrados de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos estão expressos na Tabela 1, em porcentagem e o valor calórico está expresso em Kcal/100g de produto. Valores de mesmas letras não diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1:** Valores da análise centesimal de siri e seus respectivos desvios padrões.

	<b>Valores (Média ± DP)</b>
<b>Umidade</b>	78,89 <sup>a</sup> ± 0,45
<b>Cinzas</b>	2,04 <sup>a</sup> ± 0,11
<b>Lipídios</b>	0,39 <sup>b</sup> ± 0,07
<b>Proteínas</b>	20,25 <sup>a</sup> ± 0,93
<b>Carboidratos</b>	Traços
<b>Valor calórico</b>	84,41 <sup>b</sup>

Com a análise centesimal foi possível estabelecer os principais nutrientes disponíveis no siri. Segundo Jay (2005) os siris e caranguejos apresentam concentrações médias de 80% para umidade, 0,6% para carboidratos, 16,1% para proteínas, 1,6% para lipídios e 1,7% para cinzas. Apesar dos resultados obtidos nesta pesquisa apresentarem valores próximos a essas médias é importante.



Ribeiro (2004) cita que a composição centesimal das partes comestíveis de crustáceos giram nas proporções de 70 a 85% de água, 20 a 25% de proteínas, 1 a 10% de gordura, 0,1 a 1% de carboidratos e 1 a 1,5% de minerais. No entanto, esses valores são altamente variáveis para cada espécie, mas sempre com pequenas concentrações de gordura e elevado teor protéico. Os valores encontrados de umidade e proteína estão dentro desses limites. Os valores lipídios (0,39%) e carboidratos (traços) em siri estão ligeiramente abaixo desses limites. O valor de cinzas (2,04%) está ligeiramente acima desse limite.

Pedrosa e Cozzolino (2001) realizaram análise centesimal em caranguejos cozidos os valores foram de 82,80% de umidade, 15,01% de proteínas, 0,28% de lipídios, 1,01% de cinzas, 0,9% para Fração NIFEXT e valor calórico de 66,16 Kcal/g. O valor de lipídios está semelhante, enquanto a umidade, encontrada neste trabalho foi menor ao relatado por Pedrosa e Cozzolino (2001). A proteína e o valor calórico encontrado neste trabalho foram superiores aos relatados. O único valor menor ao relatado foi para as cinzas em siri. Talvez, a maior proporção de umidade encontrada nos mariscos de Natal, seja o responsável pela redução dos valores dos outros componentes hidrossolúveis.

### 3.3. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.

A deterioração dos crustáceos é diretamente proporcional à quantidade de microrganismos que sobreviveram ao seu processamento. Quanto menor for a contaminação inicial, maior será o período em que este conserva suas características de qualidade mantendo-se próprio para o consumo e conseqüentemente maior será a vida de prateleira do produto. Quando as características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas ultrapassam os limites predeterminados, a vida de prateleira do produto chega ao fim (BONACINA, 2006).

O elevado potencial de oxirredução do oxigênio reduz a vida útil do produto, porque quando presente no interior das embalagens, em grandes quantidades, age sobre as gorduras do pescado causando sua rancificação (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007).

A embalagem a vácuo pode aumentar a vida de prateleira do pescado, agregar valor ao produto e reduzir as perdas físicas e econômicas (PRENTICE e SAINZ, 2005). Atualmente, foram realizados diversos estudos sobre a ação das embalagens a vácuo e com atmosfera modificada sobre a deterioração do pescado (ARASHISAR et al., 2004; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al., 2002; LEMPEK, PRENTICE e LOPES, 2001; LÓPEZ-CABALLERO, GONÇALVES e NUNES, 2002; PANTAZI et al., 2008; PRENTICE e SAINZ, 2005; SOCCOL et al., 2005; TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007).

Os parâmetros físico-químicos mais importantes para avaliação da vida útil de crustáceos armazenado sob refrigeração são as bases voláteis totais (BVT) e o indol (ROBSON, KELLY e LATCHFORD, 2007) Outros parâmetros que podem fornecer informações sobre a vida útil dos crustáceos são: o pH, amônia, trimetilamina, o ácido tiobarbitúrico, as aminas biogênicas e ácidos voláteis como o H<sub>2</sub>S (ANDRADE et al., 2008; GARCIA, 2005; LEITÃO e RIOS, 2000;).

Os crustáceos possuem pequena quantidade de carboidratos e sua deterioração ocorre, basicamente, pela utilização de proteínas e outras substâncias nitrogenadas não protéicas pelas bactérias deteriorantes. Durante o período de estocagem, ocorre alcalinização da carne de crustáceos, resultado da ação enzimática desses microrganismos (LALITHA e SURENDRAN, 2006).

A ação conjunta de bactérias e enzimas autolíticas resulta na produção de diversos compostos voláteis que atribuem características sensoriais desagradáveis ao pescado refrigerado (ALMEIDA et al., 2006). Após a morte dos siris, enzimas autolíticas como as catepsinas, agem sobre as proteínas transformando-as em compostos menores e muitos deles são voláteis (JAY, 2005). Essas substâncias tentem a se acumular no alimento ao longo do período de armazenamento até torná-lo pútrido e o resfriamento consegue apenas retardar esse fenômeno (GRAM e HUSS, 1996).

Segundo Robson, Kelly e Latchford (2007) o crescimento de bactérias é a mais importante causa de deterioração em pescado e sua atividade metabólica resulta na produção de aminas, sulfetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos que alteram as características sensoriais do produto armazenado.

As amostras refrigeradas demonstraram características sensoriais perceptíveis de deterioração como alteração da textura e odor desagradável, a partir do sexto dia de

armazenamento. Já as amostras congeladas se conservaram por quatro meses. Provavelmente, esses sinais de deterioração são resultado da liberação de substâncias voláteis como trimetilamina, amônia,  $H_2S$ , entre outros (LEITÃO e RIOS, 2000).

O catado de siri apresentou resultado positivo para os testes de amônia e  $H_2S$  nas duas formas de embalagem, tanto para as amostras refrigeradas quanto para as congeladas, desde o momento zero das análises. Esses dois parâmetros físico-químicos demonstraram não serem tão eficazes para a determinação da vida útil neste tipo de alimento, porque mesmo as amostras recém-coletadas apresentaram resultado positivo.

Análises físico-químicas associadas a análises microbiológicas e sensoriais são aplicadas para avaliar a vida útil do pescado armazenado. Os compostos mais frequentemente utilizados para estipular a vida de prateleira do pescado são a trimetilamina, a amônia e os ácidos voláteis (ALMEIDA et al., 2006).

Entretanto, as técnicas utilizadas neste trabalho para demonstrar a presença desses compostos apresentaram resultados positivos mesmo o siri estando fresco. Segundo Silva Junior (2001) a carne de crustáceos possui grande quantidade de substâncias nitrogenadas e aminoácidos livres que podem reagir nas Reações de Éber para amônia e  $H_2S$ , ocasionando em resultado falso positivo.

Estudos com o siri azul (*Callinectes sapidus*) sugerem que a excreção de amônia nos crustáceos é realizada através da difusão pelas brânquias (WEIHRAUCH et al., 2002). De Vries, Wolcott e Holliday (1994) encontraram em suas pesquisas, concentrações de 116,31mM de amônia na urina do caranguejo *Ocypode quadrata*, representando 90,9% das substâncias nitrogenadas presente neste fluido. A elevada quantidade de substâncias nitrogenadas presentes no catado de siri, provavelmente, deve ter interferido nas reações de Éber.

Provavelmente, outros parâmetros, como bases voláteis totais e indol, forneceriam maiores informações sobre a qualidade físico-química do catado de siri (LEITÃO e RIOS, 2000).

**Tabela 2:** Médias de pH das amostras de siris refrigerados.

Dias	Embalagem com ar	Embalagem a vácuo
0	7,9	7,9
3	8,3	8,2
6	8,43	8,25
9	8,65	8,24
12	8,25	8,16
R <sup>2</sup>	0,3654	0,3769
<b>Equação</b>	$y = 0,035x + 8,096$	$y = 0,0187x + 8,038$

Ao longo do período de armazenamento o catado de siri refrigerado demonstrou leve tendência a alcalinização em ambos os tipos de embalagens como pode ser observado pelas equações expressas na tabela 2. As amostras embaladas a vácuo apresentaram menor tendência de alcalinização, porém os pequenos valores de R<sup>2</sup> expressam que há pequena correlação entre tempo de armazenamento e pH do siri catado armazenado sob refrigeração. Ao se comparar os R<sup>2</sup> e as equações das regressões lineares dos dois tipos de embalagens é perceptível que não houve diferença estatística, mesmo o siri catado em embalagem a vácuo tendo apresentado menor tendência à alcalinização.

**Tabela 3:** Médias de pH das amostras de siris congelados.

Meses	Embalagem com ar	Embalagem a vácuo
0	8,07	8,07
1	8,02	8,05
2	8,09	8,22
3	8,02	8,22
4	8,08	8,24
5	8,15	8,25
6	8,22	8,29
R <sup>2</sup>	0,5629	0,8026
<b>Equação</b>	$y = 0,0252x + 8,0159$	$y = 0,0384x + 8,0755$

As equações de regressão linear do pH no catado de siri congelado demonstraram tendência à alcalinização ao longo do período de armazenamento em ambos os tipos de embalagem, pela possível metabolização das proteínas, aminoácidos e compostos nitrogenados não-proteicos com consequente produção de metabólitos alcalinos como a amônia.

Ao se comparar os  $R^2$  e as equações das regressões lineares das duas formas de embalagem para as amostras congeladas fica perceptível à diferença estatística entre os dois tipos de embalagem. O pH das amostras de siris congelados apresentou uma elevação em ambos os tipos de embalagens até o sexto mês de armazenamento. Entretanto, de acordo com os valores de  $R^2$  a maior correlação entre tempo de armazenamento sob congelamento e vácuo do que quando o siri foi armazenado apenas sob refrigeração.

O siri possui mecanismo de deterioração mais semelhante a dos peixes do que com outros mariscos como moluscos bivalves e isto pode ser confirmado observando-se a alcalinização que ocorreu nas duas formas de embalagem ao longo do período de armazenamento (PANTAZI et al., 2008). Isto se deve a suas escassas reservas de carboidratos como ficou constatado na análise centesimal.

Lempek, Prentice e Lopes (2001) ao estudarem a vida de prateleira de pescada-foguete resfriada ( $1^{\circ}\text{C}$ ) constataram que amostras embaladas a vácuo apresentaram pH acima do considerado aceitável (7,0) com mais de trinta dias, enquanto as amostras embaladas com ar apresentaram pH acima deste limite com menos de vinte dias de armazenamento, comprovando que o vácuo inibe a deterioração em pescado refrigerado e a consequente elevação de seu pH, assim como ocorreu com o catado de siri.

#### 3.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.

Os microrganismos são a principal causa de deterioração em pescado (GRAM e DALGAARD, 2002). No entanto, quanto maior for o número de espécies bacterianas

envolvidas nesse processo e a concentração desses microrganismos no alimento menor será o período de viabilidade desse pescado (HUSS, 1997).

Vieira (2004) afirma que os mariscos, à temperatura de refrigeração, levam em torno de 10 dias para se deteriorarem, portanto o tempo estimado neste estudo, de 12 dias, para o tempo máximo de vida útil do siri está dentro dessa faixa. Gates et al. (1996) afirmaram que a carne de siri (*Callinectes sapidus*) armazenada a 4°C tem vida útil de seis dias, o mesmo tempo de vida útil encontrado para a carne de siri neste experimento.

Soccol et al. (2005) afirmam que o pescado possui uma curta vida de prateleira mesmo o produto estando sobre constante refrigeração. Segundo Lempek, Prentice e Lopes (2001) o pescado marinho refrigerado e armazenado em embalagem com ar possui vida útil variando de dois a 14 dias, desde que embalado seguindo-se técnicas higiênicas adequadas.

O uso de embalagens a vácuo e com atmosfera modificada é uma alternativa na tentativa de ampliar a vida de prateleira do pescado resfriado (ARASHISAR et al., 2004). O acondicionamento em embalagens a vácuo consiste na exposição dos alimentos a ausência de ar (PRENTICE e SAINZ, 2005). A proporção de oxigênio na atmosfera gasosa das embalagens a vácuo deve ser inferior a 5% e, provavelmente, é alterada ao longo de sua estocagem (SOCCOL, 2002).

A presença de oxigênio no interior das embalagens limita a vida útil do pescado, porque este gás favorece o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes aeróbios estritos como espécies de *Pseudomonas* (PANTAZI et al., 2008). No entanto, a ausência total de oxigênio pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios estritos como bactérias do gênero *Clostridium* (SOCCOL et al., 2005).

Não foram encontrados presença de *Salmonella*, clostrídios sulfito redutores, coliformes termotolerantes e *E. coli* no catado de siri em todos os momentos de estocagem e nas diferentes condições de embalagens. Também não foi encontrada presença de *Vibrio parahaemolyticus* nas amostras refrigeradas em ambos os tipos de embalagens.

Isto ocorre porque as poucas marisqueiras que catam o siri são mais cuidadosas durante o manuseio desse tipo de mariscos. A captura do siri é mais onerosa do que a



colheita de outros mariscos, porque necessita de pelo menos uma embarcação, além das armadilhas e iscas. Por isso, são poucas as pessoas que capturam o siri, quando comparado ao elevado número de marisqueiras da região da Baía de Todos os Santos que catam apenas outros tipos de mariscos como, por exemplo, o vôngole.

As marisqueiras também sabem que o catado de siri é mais sensível à deterioração do que os outros mariscos e para conservar suas qualidades sensoriais é necessário maior cuidado durante o seu processamento. Segundo Andrade et al. (2008) o processo de deterioração dos crustáceos é acelerado quando há más condições higiênicas durante a sua captura ou em seu beneficiamento. As marisqueiras que vendem o catado de siri aprederam isso pela experiência empírica. Elas realizam a limpeza dos utensílios e a antissepsia das mãos, porque o catado de siri, além de ser mais sensível a deterioração apresentando, rapidamente, alterações sensoriais, também possui maior procura pelos mercados consumidores e maior valor comercial.

Segundo Germano, Oliveira e Germano (1993) os seres marinhos não são naturalmente contaminados por espécies de *Salmonella*, uma vez que fatores como diluições, correntes marinhas, sedimentação, temperatura, luz, salinidade e competição com outros microrganismos são limitantes para a permanência dessas bactérias em águas marítimas. Fatores, como a temperatura de cocção aplicada durante o processamento, também devem ser levados em consideração para justificar a ausência desse patógeno no catado de siri.

Porém, a *Salmonella* pode contaminar o pescado durante o seu beneficiamento, principalmente em etapas em que há manipulação da carne dos mariscos (VIEIRA, 2004). A presença de portadores assintomáticos de *Salmonella* entre aqueles que manipulam os alimentos é um dos maiores motivos da contaminação por essa bactéria (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992). Deve-se avaliar, periodicamente, a saúde dos manipuladores para intervir, precocemente, naqueles que apresentarem a condição de portador assintomático, principal responsável pela contaminação dos alimentos com *Salmonella* (GONÇALVES, 1998).

Heinitz et al. (2000) analisaram, entre os anos de 1990 e 1998, a presença de espécies de *Salmonella* em pescados importados nos Estados Unidos. Foi encontrada uma incidência de 7,2%, sendo *Salmonella* Weltevreden o sorotipo mais prevalente,

demonstrando que o pescado pode veicular esse patógeno quando houver falha higiênico-sanitária.

Ponce et al. (2008) também encontraram presença de *Salmonella* em pescado importados comercializados nos Estados Unidos entre os anos de 2000-2005. Ao total foram 64 sorotipos diferentes de *Salmonella enterica* diagnosticados através da sorotipagem molecular. Dentre os isolados prevaleceu a *Salmonella* Weltevreden (17,6%), seguida da *Salmonella* Newport (7,6%), *Salmonella* Saintpaul (6,2%), *Salmonella* Senftenberg (4,8%), *Salmonella* Lexington (4,3%), *Salmonella* Virchow (3,3%), *Salmonella* Bareity (3,3%), *Salmonella* Enteritidis (2,9%), *Salmonella* Paratyphi-B Bioser Java (2,4%), *Salmonella* Brunei (2,4%) e *Salmonella* Java (2,4%).

Arias e Buelga (2005) também encontraram espécies de *Salmonella* em pescado fresco comercializado em Pamplona na Espanha.

Da mesma forma que a *Salmonella*, o *V. parahaemolyticus* pode ocorrer em crustáceos em todo o mundo (GOOCH et al., 2001). Hara-kudo et al. (2001) afirmam que ele é o principal patógeno bacteriano transmitido pela ingestão de pescado. Segundo González-Escalona, Blackstone e DePaola (2006) a enfermidade causada por este patógeno é frequentemente relacionada com a ingestão de pescado proveniente de águas contaminadas com esse microrganismo. Ele faz parte da microbiota natural de águas litorâneas e já foi encontrado em estuários, sedimentos e frutos do mar na Ásia, América do Norte, Austrália, Nova Zelândia, África, Havaí e Europa (SERRA et al., 2004).

Apesar do *V. parahaemolyticus* ser endógeno da microbiota marinha, fatores ambientais como época do ano, salinidade, temperatura, turbidez e pH da água, entre outros, podem eliminar esse microrganismo de áreas específicas (ZIMMERMAN et al., 2007). Por isso, pescados crus ou processados podem estar isentos deste microrganismo, desde que coletados de áreas com baixas concentrações dessa bactéria.

Guimarães (2002) ao realizar estudo da água do mar e sedimentos da praia de Salinas da Margarida encontrou presença de *V. parahaemolyticus* variando de <3 a 4,3 NMP/100mL e <3 a 93 NMP/g, respectivamente, demonstrando que há presença deste patógeno no local estudado. Entretanto, a ausência de *V. parahaemolyticus* no catado

de siri, provavelmente, se deve a cocção realizada pelas marisqueiras durante o seu processamento, uma vez que este microrganismo é sensível a temperaturas acima de 80°C (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

Pesquisas modernas estão definindo os padrões sorológicos e moleculares de *V. parahaemolyticus* isolados de diversos tipos de pescados encontrados no Golfo do México (CABRERA-GARCÍA, VÁZQUEZ-SALINAS e QUIÑONES-RAMÍREZ, 2004). Garcia (2005) estudou a contaminação microbiológica de estuários onde são cultivados moluscos bivalves e onde coexistem espécies de siris no Espírito Santo. Parâmetros epidemiológicos como os obtidos nesses estudos são fundamentais para aumentar a compreensão de como esses microrganismos se distribuem na natureza e quais são os principais fômites.

Sagoo, Little e Greenwood (2007) encontraram *V. parahaemolyticus* em 0,4% das 682 amostras de crustáceos e moluscos bivalves analisados na Inglaterra com contagens variando de 2 a 6 LogUFCg<sup>-1</sup>, ratificando que esta bactéria possui distribuição global e pode ser detectada contaminando o pescado de regiões diferentes.

Outros pesquisadores relataram a presença de outros microrganismos patogênicos em pescados. Cereser et al. (2008) avaliaram o risco de diversos alimentos, inclusive o pescado, em transmitir o botulismo alimentar. Outros estudos comprovam essa teoria (GELLI, JAKABI e SOUZA, 2002). Keeratipibul, Techaruwichit e Chaturongkasumrit (2009) encontraram presença de coliformes em dois tipos de camarões processados e congelados.

Nas tabelas 4 e 5, estão as contagens das análises microbiológicas do catado de siri refrigerado em embalagem sem vácuo e a vácuo, respectivamente. As tabelas 6 e 7 possuem as contagens das análises microbiológicas do catado de siri congelado em embalagem sem vácuo e a vácuo, respectivamente.

**Tabela 4:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri refrigerado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Dias	Mesófilos	Psicrófilos	<i>S. aureus</i>	Bolores e leveduras
0	7,151	7,373	5,2	3,2
3	7,652	8,11	4,37	3,32
6	7,905	8,8	5,47	3,2
9	8,182	9,28	6,21	3,3
12	8,88	10,165	7,0	3,42
R <sup>2</sup>	0,965	0,9936	0,7404	0,5127
Equação	$y = 0,1329x + 7,1567$	$y = 0,2251x + 7,3948$	$y = 0,1817x + 4,555$	$y = 0,0141x + 3,202$

**Tabela 5:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri refrigerado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Dias	Mesófilos	Psicrófilos	<i>S. aureus</i>	Bolores e leveduras
0	7,151	7,373	5,2	3,2
3	7,639	7,77	4,4	3,2
6	7,885	8,405	5,32	3,19
9	7,875	9,18	6,32	3,18
12	8,275	10,145	6,9	3,13
R <sup>2</sup>	0,9083	0,9764	0,7197	0,7769
Equação	$y = 0,0828x + 7,2681$	$y = 0,2318x + 7,1838$	$y = 0,1757x + 4,5504$	$y = -0,0053x + 3,2105$

**Tabela 6:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri congelado em embalagem sem vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Meses	Mesófilos	Psicrófilos	<i>S. aureus</i>	Bolores e leveduras
0	4,76	4,11	3,6	3,2
1	6,36	7,12	4,39	3,18
2	6,18	6,43	4,22	3,11
3	5,8	5,64	3,52	2,75
4	6,41	6,25	3,2	2,8
5	6,44	6,52	2,81	2,51
6	6,10	7,10	2,28	2,39
R <sup>2</sup>	0,3264	0,3178	0,7068	0,9306
Equação	$y = 0,1576x + 5,5266$	$y = 0,271x + 5,3528$	$y = -0,2907x + 4,3$	$y = -0,145x + 3,2821$

**Tabela 7:** Médias dos resultados das análises microbiológicas em siri congelado em embalagem a vácuo expressas em LogUFCg<sup>-1</sup>.

Meses	Mesófilos	Psicrófilos	<i>S. aureus</i>	Bolores e leveduras
0	4,76	4,11	3,6	3,2
1	6,35	7,10	4,43	3,14
2	5,8	7,12	3,47	2,3
3	6,35	6,8	4,13	2,68
4	6,37	6,53	3,16	2,68
5	6,4	7,11	2,59	2,55
6	5,81	7,12	2,10	2,38
R <sup>2</sup>	0,2417	0,3503	0,6374	0,5229
Equação	$y = 0,136x + 5,5661$	$y = 0,3015x + 5,6496$	$y = -0,3026x + 4,2609$	$y = -0,1163x + 3,0495$

Os microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos e os microrganismos psicrófilos se multiplicaram, consideravelmente, ao longo do período de estocagem mesmo o produto estando sobre refrigeração constante e o aumento foi percebido através dos resultados das análises microbiológicas. Entretanto, o vácuo exerceu influência negativa nas contagens de bolores e leveduras como pode ser observado nas figuras 4 e 6.

A presença de oxigênio no interior das embalagens favoreceu o crescimento de microrganismos aeróbios estritos o que não ocorreu nas embalagens a vácuo. Os microrganismos mesófilos se desenvolveram melhor na temperatura de refrigeração, enquanto os microrganismos psicrófilos tiveram crescimento constante, tanto para as amostras refrigeradas quanto para as congeladas como pode ser constatado ao avaliar as curvas de crescimento expressas nas figuras 3 a 6.

Como pode ser constatado ao observar as equações das regressões lineares expressas nas quatro tabelas e ao observar as curvas de crescimento nas figuras acima, os microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos apresentaram tendência de aumento progressivo de suas contagens durante o período de armazenamento do siri tanto refrigerado ( $\pm 7^{\circ}\text{C}$ ) quanto congelado ( $-18^{\circ}\text{C}$ ), nos dois tipos de embalagens (com ar e vácuo).

Ao avaliar os  $R^2$  estabelecidos pelas regressões lineares é possível concluir que há elevada correlação entre o tempo de armazenamento sob refrigeração e as contagens dos microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos, sendo que ao longo do período de estocagem estes microrganismos tendem a se desenvolver na carne de siri resfriada.

O crescimento desse grupo foi maior nas amostras em embalagens sem vácuo do que naquelas a vácuo, pois a presença do oxigênio favoreceu o crescimento tanto dos microrganismos aeróbios estritos quanto dos anaeróbios facultativos, enquanto o vácuo permitiu o crescimento apenas dos microrganismos aeróbios facultativos (FORSYTHE, 2005).

No experimento realizado por Lempek, Prentice e Lopes (2001) foram comparados o crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos em embalagem com ar e a vácuo em pescada-foguete. Os autores



observaram que o vácuo manteve a contagem abaixo de  $2 \text{ LogUFCg}^{-1}$  em 40 dias de armazenamento a  $1^\circ\text{C}$ , enquanto as amostras mantidas em embalagem com ar apresentaram contagem superior a esse valor antes de completar 20 dias de armazenamento à mesma temperatura. A ação do vácuo inibiu, parcialmente, o desenvolvimento dos microrganismos mesófilos semelhante ao que foi observado neste experimento.

Os microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios facultativos isolados em Ágar Níven a partir de camarões de captura armazenados a temperaturas que variavam de  $2^\circ$  a  $24,5^\circ\text{C}$  oscilaram de  $4,23 \text{ LogUFCg}^{-1}$  a  $7,81 \text{ LogUFCg}^{-1}$  (ANDRADE et al., 2008). Estes valores são semelhantes aos encontrados nesta pesquisa para o siri refrigerado, demonstrando que o processo de deterioração entre os diferentes tipos de crustáceos ocorre de forma parecida.

Ogawa et al. (2008) avaliaram a qualidade microbiológica da carne de caranguejo uçá (*Ucides cordatus*) cozida e congelada, proveniente de estabelecimentos comerciais da cidade de Fortaleza, Ce, e encontraram valores de até  $8,28 \text{ LogUFCg}^{-1}$  de bactérias mesófilas utilizando o aparelho de automatação microbiológica *Automatic Vitek Lab Report*. Os autores relatam que o processamento do caranguejo uçá, geralmente, é realizado de forma artesanal, muito parecido com a forma de processamento do siri. Essa contagem está muito próxima dos valores encontrados para a carne de siri refrigerada. Em contrapartida, este mesmo autor propôs um novo método de abate e processamento dos crustáceos, obedecendo aos cuidados indicados pelas Boas Práticas de Fabricação (BPF) e acrescentando uma etapa de pasteurização da carne catada. A contagem de bactérias mesófilas caiu para  $4,15 \text{ LogUFCg}^{-1}$  após a aplicação da metodologia sugerida, demonstrando que os princípios das BPF são eficazes para a obtenção de um produto de melhor qualidade microbiológica.

Também foram encontradas elevadas concentrações de microrganismos psicrófilos nas amostras refrigeradas chegando a ultrapassar  $10 \text{ LogUFCg}^{-1}$  nas amostras embaladas com ar. Estes são frequentemente relatos como endógenos das águas estuarinas (JAY, 2005). Os microrganismos psicrófilos totais demonstraram aumentaram progressivamente suas contagens ao longo do período de estocagem em

ambos os tipos de embalagem e nas duas temperaturas de armazenamento como ficou evidenciado pelas curvas de crescimento nas Figuras 3 a 6 e pelas equações de regressão linear expressas nas Tabelas 4 a 7.

Os  $R^2$  das regressões lineares denotam que há elevada correlação entre o tempo de armazenamento do catado de siri refrigerado ( $7^\circ\text{C}$ ) e a contagem de microrganismos psicrófilos. Entretanto, segundo os  $R^2$  das regressões lineares, há pequena correlação entre o tempo de armazenamento do siri congelado ( $-18^\circ\text{C}$ ) e a contagem de microrganismos psicrófilos, apesar de haver nítido aumento de suas contagens em ambas as temperaturas de armazenamento.

Segundo o ICMSF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*) o pescado fresco apresenta contagens de microrganismos psicrotróficos com valores acima de  $3 \text{ LogUFCg}^{-1}$  até  $7 \text{ LogUFCg}^{-1}$ , sendo necessário associar as contagens desses microrganismos a outros parâmetros para avaliar o seu grau de deterioração (GRAM e HUSS, 1996). Forsythe (2005) afirma que em cinco dias de armazenamento, esses microrganismos podem alcançar concentrações superiores a  $8 \text{ LogUFCg}^{-1}$ , mesmo se o alimento for refrigerado.

De acordo com Leitão e Rios (2000) contagens de microrganismos psicrotróficos acima de  $7 \text{ LogUFCg}^{-1}$  evidenciam os sinais de deterioração como alteração de cor, odor e textura, no entanto o siri refrigerado apresentou contagens de microrganismos psicrófilos superiores a esse valor desde o momento zero da análise microbiológica, sem apresentar sinais sensoriais de deterioração. Estes mesmo autores encontraram contagens de microrganismos psicrotróficos acima de  $7 \text{ LogUFCg}^{-1}$  em camarão pitú (*Macrobrachium rosenbergii*) refrigeradas a  $5^\circ\text{C}$  por 10 dias, evidenciando a deterioração desse crustáceo após esse período.

Arashisar et al. (2004) estudaram o efeito do vácuo sobre filés de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) armazenados durante 14 dias a  $4^\circ\text{C}$  e encontraram  $6 \text{ LogUFCg}^{-1}$  de microrganismos psicrotróficos ao final do estudo da vida de prateleira, demonstrando dessa forma que os peixes, apesar de apresentarem um processo de deterioração semelhante, geralmente apresentam uma menor contaminação do que os crustáceos.

Os estafilococos coagulase positiva (ECP) foram isolados de todas as amostras de siri tanto refrigerado quanto congelado, nos dois tipos de embalagem (sem vácuo e

a vácuo). As contagens de ECP tanto para o siri refrigerado quanto para o siri congelado nos dois tipos de embalagem foram superiores a  $3 \text{ LogUFCg}^{-1}$  limite máximo estabelecido pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001). Desta forma o siri se apresentou impróprio para o consumo.

No siri refrigerado as contagens de *S. aureus* ultrapassaram o valor de  $6 \text{ LogUFCg}^{-1}$  com nove dias de armazenamento a  $7^{\circ}\text{C}$ . Quando as contagens de *S. aureus* ultrapassam esse valor é provável que haja produção de enterotoxinas (WAKASA, 2003).

As equações de regressão linear dos *S. aureus* em siri refrigerado revelaram que tanto em embalagem com ar quanto a vácuo essa bactéria pode aumentar seu número mesmo a temperatura de  $7^{\circ}\text{C}$ . Segundo Cunha Neto, Silva e Stamford (2002) o *S. aureus* pode crescer em temperaturas de  $7^{\circ}\text{C}$  o que justifica o aumento de suas contagens ao longo da vida de prateleira do siri.

A menor variedade de microrganismos no siri fez com que o *S. aureus* se desenvolvesse melhor do que no vôngole uma vez que o *S. aureus* não consegue se desenvolver quando há presença de outros microrganismos em grandes quantidades.

As principais toxinas envolvidas nos surtos de intoxicação estafilocócica são produzidas quando esta bactéria atinge contagens superiores a  $6 \text{ LogUFCg}^{-1}$  de alimento (PEREIRA et al., 2000). Como pode ser observado nas tabelas 4 e 5, as contagens de *S. aureus* atingiram esse patamar com nove dias de armazenamento, em ambos os tipos de embalagem.

A presença de *S. aureus* no catado de siri representa típica falha higiênica de processamento. Cuidados com a higiene dos equipamentos e utensílios contribuem, de forma significativa, para diminuir a transmissão desses patógenos para os alimentos (ANDRADE, SILVA e BRABES, 2003). O processamento manual para separar a carne das carapaças, patas e pinças dos crustáceos é um processo que pode introduzir o *S. aureus* no produto processado (OGAWA et al., 2008).

Os bolores e leveduras foram os microrganismos que mais sofreram a ação do vácuo. De acordo com as equações de regressão linear as amostras refrigeradas ( $7^{\circ}\text{C}$ ) em embalagem sem vácuo (tabela 4) apresentaram desenvolvimento, enquanto as amostras refrigeradas a vácuo (tabela 5) tiveram nítida diminuição de suas contagens.



**PDF**  
Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Entretanto, suas contagens oscilaram pouco demonstrando que o siri catado não é um alimento ideal para o crescimento fúngico.

Apenas nas amostras congeladas e embaladas com ar o elevado valor de  $R^2$  demonstrou que nesta forma de conservação há elevada correlação entre tempo de armazenamento e contagem de bolores e leveduras, sendo que suas contagens diminuíram ao longo do período de estocagem. Nas outras formas de conservação, de acordo com o valor de  $R^2$ , há pequena correlação.

Apesar da RDC nº 12 (BRASIL, 2001), legislação vigente no país, não estabelecer padrões de referência para bolores e leveduras sua quantificação é importante para estudos da vida de prateleira em pescado (VIEIRA, 2004).

#### 4. CONCLUSÃO

O congelamento demonstrou ser a melhor forma de armazenamento do catado de siri, porque foram necessários cinco meses para se deteriorar, enquanto as amostras sob refrigeração levaram seis dias para apresentarem sinais de deterioração, demonstrando, assim que a refrigeração a cerca de 7°C não é suficiente para manter as qualidades sensoriais do siri catado por muito tempo.

A utilização das embalagens a vácuo, nas condições em que o experimento foi realizado, não se revelou vantajoso para o siri uma vez que não inibiu o crescimento dos contaminantes ao longo do armazenamento. A presença de contagens iniciais elevadas de microrganismos anaeróbios facultativos como o estafilococos coagulase positiva não foi inibida pelo vácuo.

O catado de siri apresentou uma não conformidade com as exigências da RDC nº 12, legislação vigente no país que prevê para este tipo de alimento limites máximos toleráveis de estafilococos coagulase positiva de 3 LogUFCg<sup>-1</sup>. Esse padrão não foi alcançado, uma vez que houve presença de estafilococos coagulase positiva, em valores superiores a esse limite o que implica que o catado de siri não estava próprio para o consumo.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**. v. 36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.
- ANDRADE, C. S.; DRUZIAN, J. I.; LEITE, C. C.; CARVALHO FILHO, C. D.; MIRANDA, M. P. S.; MACÊDO, C. S.; GUIMARÃES, A. G. Determinação da microbiota histamina positiva em camarão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 67, n. 1, p. 45-49, 2008.
- ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciências Agrotécnicas**. v. 27, n. 3, p. 590, 596, 2003.
- ANDREWS, W. H.; FLOWERS, R. S.; SILLIKER, J.; BAILEY, S. *Salmonella*. In: VANDERZANT, C; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. APHA, 4 ed., Washington: U.S.A., 2001.
- ARASHISAR, .; HISAR, O.; KAYA, M.; YANIK, T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets. **International Journal of Food Microbiology**. v. 97, n. 2, p. 209-214, 2004
- ARIAS, F. C. H.; BUELGA, J. A. S. Prevalencia de *Salmonella* spp en pescado fresco expendido en Pamplona (Norte de Santander). **Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas**. v. 3, n. 2, p. 34-42, 2005.
- BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; ANDRADE, G.; LEITE, C. C. Aproveitamento industrial de marisco na produção de lingüiça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 664-668, 2004.
- BONACINA, M. S. **Desenvolvimento e caracterização de empanado a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*)**. Dissertação (Mestrado), Rio Grande: Fundação Universidade Rio Grande, 2006, 120 f.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília: DF, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4º Ed. Instituto Adolfo Lutz, 2005, 1018 p.



BRITTO, E. N.; LESSI, E.; CARDOSO, A. L.; FALCÃO, P. T.; SANTOS, J. G. Deterioração bacteriológica do jaraqui *Semaprochilodus* spp. capturado no estado do Amazonas e conservado em gelo. **Acta amazônica**. v. 37, n. 3, p. 457-464, 2007.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia médica. Jawetz, Melnick e Adelberg**. 21 ed. Tradução: Patrícia Lydie Voeux. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005. 609 p.

CABRERA-GARCÍA, M. E.; VÁZQUEZ-SALINAS, C.; QUIÑONES-RAMÍREZ, E. I. Serologic and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from seawater and fish products of the Gulf of Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 70, n. 11, p. 6401-6406, 2004.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: Princípios e aplicações**. 1<sup>o</sup> reimpressão, Porto Alegre: Editora Artmed, 2004, 255 p.

CARVALHO, M. C.; AGUIAR, M. C. P.; SANTOS, M. C. F.; MAGALHÃES, J. A. D. Pesca artesanal do camarão-rosa, *Farfantepenaeus subtilis* (Pérez-Farfante, 1967) (Crustacea, Penaeidae), na Baía de Iguape, Bahia, Brasil. **Boletim técnico-científico do CEPENE**. v. 14, n. 2, p. 73-80, 2006.

CERESER, N. D.; COSTA, F. M. R.; ROSSI JUNIOR, O. D.; SILVA, D. A. R.; SPEROTTO, V. R. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**. v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

CUNHA, M. L. R. S.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; HIROOKA, E. Y. Generalidade sobre enterotoxinas estafilocócicas em alimentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas**. v. 17, p. 9-22, 1996.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n. 3, p. 263-271, 2002.

DE VRIES, M. C.; WOLCOTT, D. L.; HOLLIDAY, C. W. High ammonia and low pH in the urine of the ghost crab, *Ocypode quadrata*. **The Biological Bulletin**. v. 186, n. 3, p. 342-348, 1994.

ENTIS, P.; FUNG, D. Y. C.; GRIFFITHS, M. W.; MCLNTYRE, L.; RUSSELL, S.; SHARPE, A. N.; TORTORELLO, M. L. Rapid methods for detection, identification and enumeration. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**, Washington, U.S.A. 4 ed., 2001.

FERNANDES, J. M.; ROSA, D. M.; ARAÚJO, C. C. V.; RIPOLI, L. V.; SANTOS, H. S. Biologia e distribuição temporal de *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Crustacea, Portunidae) em uma praia arenosa da Ilha do Frade, Vitória-ES. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**. n. 20, p. 59-71, 2006.

FONTES, M. C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, n. 5, p. 1308-1315, 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Reimpressão. Tradução: Maria Carelina Minardi Guimarães. Porto Alegre: Artmed, 2005, 424 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005, 182 p.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2004, 106 f.

GARCIA, A. N. **Contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves de Anchieta (Espírito Santo, Brasil)**. Dissertação (Mestrado), Vitória: UFES, 2005, 68 f.

GATES, K. W.; HUANG, Y-W.; PARKER, A. H.; GREEN, D. P. Quality characteristics of fresh blue crab meat held at 0 and 4°C in tamper-evident containers. **Journal of Food Protection**. v. 59, n. 3, p. 299-305, 1996.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Botulism: A laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 44, n. 6, p. 321-324, 2002.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar**. v. 7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções Alimentares: Uma Revisão. **Higiene Alimentar**. Niterói: V. 12, n. 53, p. 38-44, 1998.

GONZÁLEZ-ESCALONA, N.; BLACKSTONE, G. M.; DEPAOLA, A. Characterization of *Vibrio alginolyticus* strain, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the Thermostable Direct Hemolysin-Related Hemolysingene (*trh*) of *Vibrio parahaemolyticus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, n. 12, p. 7925-7929, 2006.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M-N.; SANZ, J-J.; SANTOS, J-Á.; OTERO, A.; GARCÍA-LÓPEZ, M-L. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked

freshwater fish at the retail level. **International Journal of Food Microbiology**. v. 77, n. 1-2, p. 161-168, 2002.

GOOCH, J. A.; DEPAOLA, A.; KAYSNER, C. A.; MARSHALL, D. L. Evaluation of two direct plating methods using nonradioactive probes for enumeration of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 67, n. 2, p. 721-724, 2001.

GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**. n. 33, p. 121-137, 1996.

GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria . problems and solutions. **Current opinious in biotechnology**. n. 13, p. 262-266, 2002.

GUIMARÃES, A. G. **Contaminação do molusco *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791), por *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus*, na região Norte da Baía de Todos os Santos**. Tese (Doutorado). Campinas: SP, 2002, 120 f.

HARA-KUDO, Y.; NISHINA, T.; NAKAGAWA, H.; KONUMA, H.; HASEGAWA, J.; KUMAGAI, S. Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. **Applied and environmental microbiology**. v. 68, n. 12, p. 5819-5823, 2001.

HEINITZ, M. L.; RUBLE, R. D.; WAGNER, D. E.; TATINI, S. R. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **Journal of Food Protection**. v. 63, n. 5, p. 579-592, 2000.

HUSS, H. H. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. **Food Control**. v. 8, n. 2, p. 91-98, 1997.

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**. v.11, n. 2, p. 149-156, 2000.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6° ed Tradução Eduardo Cesar Tondo. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

KAYSNER, C. A.; DEPAOLA JUNIOR, A. *Vibrio*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

KEERATIPIBUL, S; TECHARUWICHIT, P; CHATURONGKASUMRIT, Y. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. **Food Control**. v. 20, p. 289-293, 2009.

LALITHA, K.; SURENDRAN, P. K. Microbiological changes in farm reared freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) in ice. **Food Control**. v. 17, n. 10, p. 802-807, 2006.

LANCETTE, G. A.; BENNET, R. W. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

LEITÃO M. F. F.; RIOS D. P. A. Microbiological and chemical changes in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under refrigeration. **Brazilian Journal Microbiology**. v. 31, n. 3, p. 178-183, 2000.

Formatados: Marcadores e numeração

LEMPEK, T. S.; PRENTICE, C.; LOPES, M. L. Efeito do vácuo na qualidade da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*). **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 7, n. 1, p. 64-67, 2001.

LIRA, G. M.; MANCINI FILHO, J.; SANTANA, L. S.; TORRES, R. P.; OLIVEIRA, A. C.; OMENA, C. M. B.; SILVA NETA, M. L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 4, p. 529-237, 2004.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Dissertação (Mestrado), São Paulo: USP, 2003, 93 f.

LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GONÇALVES, A.; NUNES, M. L. Effect of CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> containing modified atmospheres on packed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **European Food Research and Technology**. v. 214, n. 3, p. 192-197, 2002.

MAHON, D.; COWAN, C.; HENCHION, M.; FANNING, M. Food-handling practices of irish beef consumers. **Journal of Food Safety**. v. 26, n. 1, p. 72-81, 2006.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, M. P. Pathogenic *E. coli*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. Washington, U.S.A. 4 ed., 2001.

MUJICA, P. Y. C. **Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade**. Tese (Doutorado). Campinas: SP. 2000, 103 f.

OGAWA, M.; SILVA, A. I. M.; OGAWA, N. B. P.; MAIA, E. L.; NUNES, M. L. Adequações tecnológicas no processamento da carne de caranguejo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 28, n. 1, p. 78-82, 2008.

PANTAZI, D.; PAPAVERGOU, A.; POURNIS, N.; KONTOMIMINAS, M. G.; SAVVAIDIS, I. N. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. **Food Microbiology**. n. 25, p. 136-143, 2008.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos na cidade de Natal/RN. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n. 2, p. 154-157, 2001.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERGDOLL, M. S. Estafilococos: até onde sua importância em alimentos. **Higiene Alimentar**. v. 14, n. 68/69, p. 32-40 2000.

PONCE, E.; KHAN, A.; CHENG, C.-M.; SUMMAGE-WEST, C.; CERNIGLIA, C. E. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden from imported seafood. **Food Microbiology**. v. 25, n. 1, p. 29-35, 2008.

PRENTICE, C.; SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1, p. 127-131, 2005.

ROBSON, A. A.; KELLY, M. S.; LATCHFORD, J. W. Effect of temperature on the spoilage rate of whole, unprocessed crabs: *Carcinus maenas*, *Necora puber* and *Cancer pagurus* (Short communication). **Food Microbiology**. v. 24, n. 4, p. 419-424, 2007.

SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; GREENWOOD, M. Microbiological study of cooked crustaceans and molluscan shellfish from UK production and retail establishments. **International Journal of Environmental Health Research**. v. 17, n. 3, p. 219-230, 2007.

SANKAR, C. N. R. S.; LALITHA, K. V.; JOSE, L.; MANJU, S.; GOPAL, T. K. S. Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*Eroplus suratensis* Bloch) stored at 0-2°C. **Food Microbiology**. v. 25, n. 3, p. 518-528, 2008.

SERRA, C. L. M.; CAVALCANTE, P. R.; COELHO, L. M. A.; NASCIMENTO, A. R.; COUTINHO, M. F. O. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em sarnambi (*Anomalocardia brasiliensis*) e sururu (*Mytella falcata*) capturados no estuário do Rio Anil, São Luís, Ma. **Higiene Alimentar**. v. 18, n. 116/117, 2004.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D. S. F.; GRAÇA-LOPES, R. Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do Perequê, estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 28, n. 1, p. 33-48, 2002.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J. B.; GRAÇA-LOPES, R. Pesca artesanal de siris (Crustacea, Decapoda, Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 27, n. 1, p. 7-19, 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, São Paulo: Livraria Varela, 1997. 296 p.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Alimentos**. 4º ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 475 p.

SOCCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. Dissertação (Mestrado), Piracicaba: USP, 2002, 141 f.

SOCCOL, M. C. H.; OETTERER, M.; GALLO, C. R.; SPOTO, M. H. F.; BIATO, D. O. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. **Brazilian Journal of Food Microbiology**. v. 8, n. 1, p. 7-15, 2005

SOUZA, D. B. R. **Recuperação de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* inoculadas em camarão marinho, *Litopenaeus vannamei*, submetidas às temperaturas de resfriamento e congelamento**. Dissertação (Mestrado), Fortaleza: UFC, 2007, 64 f.

TEIXEIRA, R. L.; SÁ, H. S. Abundância de macrocrustáceos decápodos nas áreas rasas do Complexo Lagunar Mundaú/Manguaba, Al. **Revista Brasileira de Biologia**. v. 58, n. 3, p. 393-404, 1998.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

TEOPHILO, G.; VIEIRA, R. F.; RODRIGUES, D. P.; MENEZES, F. R. *Escherichia coli* isolated from seafood: toxicity and plasmid profiles. **International Microbiology**. v. 5, n. 1, p. 11-14, 2002.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4º ed. Rio de Janeiro . São Paulo: Editora Atheneu, 2004. 718 p.

UNGAR, M. L.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Riscos e Conseqüências da Manipulação de Alimentos para a Saúde Pública. **Higiene Alimentar**. v. 6, n. 21, p. 14-17, 1992.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods: APHA**. 4 ed. Washington, 2001.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: RJ. Guanabara Koogan, 2006, 239 p.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.





Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

WAKASA, Y. S. **Contaminação mercurial em siris e caranguejos da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro.** Dissertação (Mestrado), Niterói: UFF, 2003, 97 f.

WEIHRAUCH, D.; ZIEGLER, A.; SIEBERS, D.; TOWLE, D. W. Active ammonia excretion across the gills of the green shore crab *Carcinus maenas*: participation, of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, V-type H<sup>+</sup>-ATPase and functional microtubules. **The Journal of Experimental Biology.** v. 205, n. 18, p. 2765-2775, 2002.

ZIMMERMAN, A. M.; DEPAOLA, A.; BOWERS, J. C.; KRANTZ, J. A.; NORDSTROM, J. L.; JOHNSON, C. N.; GRIMES, D. J. Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters. **Applied and environmental microbiology.** v. 73, n. 23, p. 7589-7596, 2007.



## 6. ANEXO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**LAMEB - LABORATÓRIO DE MALACOLOGIA E ECOLOGIA DE BENTOS**  
**Laudo de Análise N° 86/2008**

**Solicitante:**

**Análise solicitada:** Identificação taxonômica do **Filo Artropoda (Subfilo Crustacea)**

---

Família Portunidae  
*Callinectes danae*  
*Callinectes bocourti*  
*Callinectes ornatus*  
*Portunus spinimanus*  
*Cronius ruber*

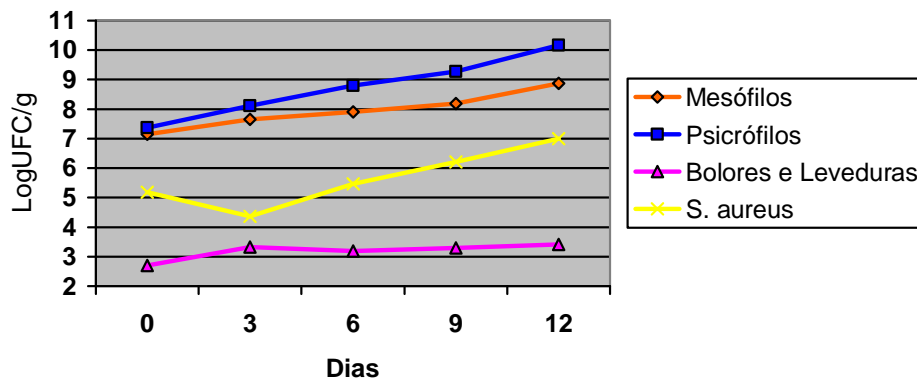
Família Callapidae  
*Hepatus pudibundus*

Visto:

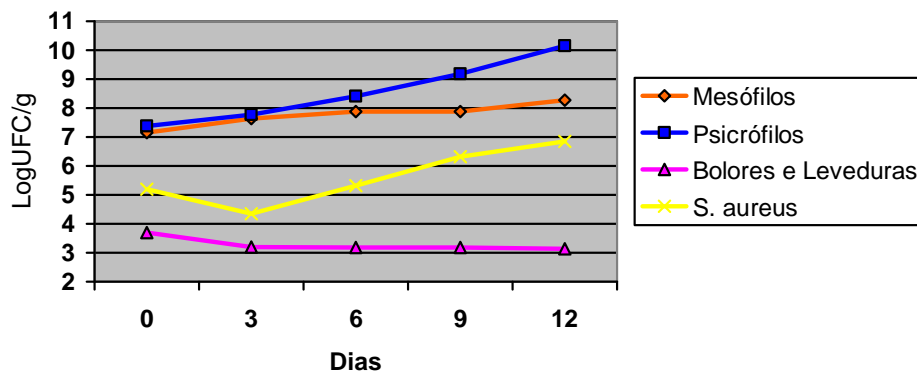
Salvador, 03 de outubro de 2008

---

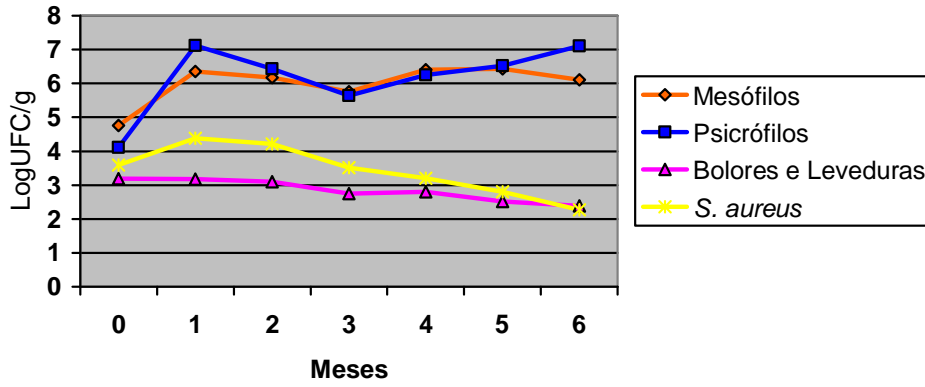
Bióloga: Ana Clara Silva de Jesus  
CRB. 46.446/5-D



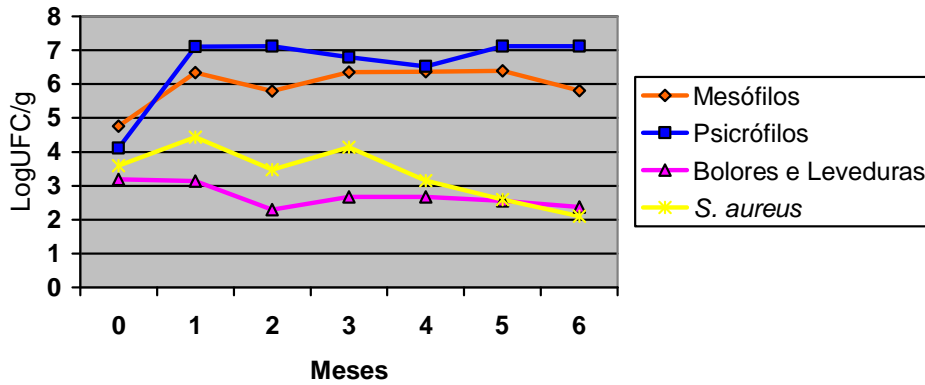
**Figura 3:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri refrigerado em embalagem com ar.



**Figura 4:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri refrigerado em embalagem a vácuo.



**Figura 5:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri congelado em embalagem com ar.



**Figura 6:** Curva de crescimento dos microrganismos durante o período de armazenamento do catado de siri congelado em embalagem a vácuo.

## CONCLUSÃO FINAL

A relação do binômio tempo e temperatura durante o processamento dos mariscos foi satisfatória, uma vez que a maior parte do marisco é processado ainda vivo e que a cocção alcança a temperatura mínima para a destruição das formas vegetativas dos microrganismos patogênicos e toxinas termolábeis que por ventura possam ser veiculadas por esse tipo de alimento.

O problema está na forma que os mariscos são manipulados, uma vez que as análises microbiológicas das amostras da superfície das mãos das marisqueiras e dos utensílios revelaram a presença de microrganismos com potencial patogênico como estafilococos coagulase positiva e *E. coli*.

A análise físico-química revelou que a elevada contaminação microbiana pode aumentar a produção de metabólitos alcalinos influenciando, diretamente, o tempo de vida útil do produto. O metabolismo dos microrganismos deteriorantes, como mesófilos, psicrófilos e bolores e leveduras pode influenciar a oscilação do pH e a quantidade de amônia e H<sub>2</sub>S nos mariscos armazenados. A presença de microrganismos deteriorantes e com potencial patogênico e de altas taxas de ácidos e bases orgânicas resulta num produto de qualidade insatisfatória e com um curto período de vida útil.

Os níveis de contaminação dos mariscos foi alarmante com destaque para o vôngole que apresentou contaminação por uma maior variedade de microrganismos com potencial patogênico do que o siri. As contagens elevadas de estafilococos coagulase positiva para ambos os mariscos revelou que mesmo o armazenamento sob resfriamento não é capaz de conter o crescimento microbiano e a possível produção de enterotoxinas.

O período de viabilidade dos produtos estudados foi mais influenciado pela temperatura de armazenamento do que pelo tipo de embalagem, sendo que amostras sem vácuo e a vácuo sofreram processo de deterioração semelhante.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os catados de mariscos são muito susceptíveis a deterioração microbiana e para melhorar a qualidade do produto final, as marisqueiras devem obedecer às indicações das BPF processar os mariscos no interior de suas residências, sanitizar corretamente seus utensílios e monitorar a temperatura de cocção. Durante as etapas de processamento dos mariscos, é necessário. Algumas práticas que podem reduzir a contaminação são: usar, corretamente, os equipamentos de proteção individual (avental limpo, luvas descartáveis, máscara e gorro); sanitizar, previamente, os equipamentos e utensílios; evitar hábitos anti-higiênicos; combater às pragas; entre outros. A adoção de pode reduzir a recontaminação do marisco após a cocção.

A exposição do marisco cozido a temperatura ambiente por longos períodos também é desaconselhável. O armazenamento dos mariscos sob resfriamento não é capaz de eliminar a maior parte dos microrganismos que podem ser inseridos durante a catação, por isso, se faz necessário rigoroso controle desta etapa para adiar a deterioração dos mariscos. Entretanto, a temperatura de congelamento se revelou mais eficiente do que a refrigeração na conservação de baixas concentrações de microrganismos contaminantes devendo ser utilizada, preferencialmente, como técnica de conservação dos mariscos processados.