

# BACTERIMETRIA E COLIMETRIA DE FILÉS DE PESCADO CONGELADOS COLETADOS NO RIO DE JANEIRO<sup>1</sup>

GLÊNIO CAVALCANTI DE BARROS<sup>2</sup> e PASCHOAL GUIMARÃES ROBS<sup>3</sup>

**SINOPSE.** - O exame microbiológico de 10 marcas diferentes de filés de pescado congelados, comercializados na área do Grande Rio, revelou as seguintes variações médias nas contagens de bactérias: a) aeróbios mesófilos (30°C):  $1,6 \times 10^4$  a  $2,3 \times 10^7$  cels/g; b) aeróbios psicrófilos ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ):  $5,7 \times 10^4$  a  $2,4 \times 10^7$  cels/g; c) aeróbios psicrófilos ( $\pm 15^\circ\text{C}$ ):  $3,5 \times 10^4$  a  $3,8 \times 10^7$  cels/g; d) anaeróbios mesófilos (30°C):  $9,0 \times 10^4$  a  $1,7 \times 10^7$  cels/g; e) coliformes (N.M.P.): 0 a 230 coliformes por grama.

Concluiu-se que a qualidade sanitária dos filés de pescado congelados, apesar de praticamente isentos de contaminação fecal, deixa a desejar quanto ao número de bactérias por grama de amostra e à presença de coliformes.

**Palavras-chaves adicionais para índice:** Aeróbios mesófilos, aeróbios psicrófilos, anaeróbios mesófilos, coliformes, *Escherichia coli*.

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de microrganismos em alimentos depende de uma série de fatores que inclui, entre outros, atividade aquosa, nutrientes disponíveis, condições de pH e temperatura.

Os alimentos *in natura* apresentam flora própria e típica, e as condições higiênico-sanitárias da manipulação desses alimentos em fábrica respondem pela qualidade e quantidade da flora de contaminação.

Segundo Nickerson e Goldblith (1964), a contaminação microbiana mais importante em filés de pescado ocorre durante a filetagem e nas fases subsequentes em fábrica, podendo ocorrer diferenças nas contagens totais de aeróbios facultativos em amostras coletadas em períodos diferentes de um mesmo dia.

Castell (1967) verificou que os filés de pescado elaborados em algumas das melhores fábricas do Canadá saem das mesmas apresentando contagens médias da ordem de  $10^6$  cels/g, o que evidencia a importância das condições higiênico-sanitárias na manipulação dos filés na indústria.

Kalligeris (1964), analisando 31 amostras de filés de pescado congelados de origem francesa e importados, comercializados na França, verificou contagens entre  $10^6$  e  $10^8$  cels/g para aeróbios totais, sendo 9,6% das amostras examinadas com menos de  $10^6$  cels/g, 54,8% entre  $10^6$  e  $10^7$  cels/g, 29,0% entre  $10^7$  e  $5 \times 10^7$  cels/g e apenas 6,0% entre  $5 \times 10^7$  e  $10^8$  cels/g (contagens realizadas em gelose triptona a 32°C). A presença de coliformes foi constatada em 48,4% das amostras examinadas, sendo 80 coliformes por grama a maior contagem verificada. A *Escherichia coli* foi observada em apenas 9,67% das amostras e não foi observada a presença de *Clostridium* sulfito-redutores.

Custot (1968), em uma série de análises de filés de pescado congelados, obteve os seguintes resultados:

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 30 de dezembro de 1974.

<sup>2</sup> Professor Assistente do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26.

<sup>3</sup> Auxiliar de Ensino do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ.

a) mesófilos: 2,3% das amostras com menos de  $10^6$  cels/g, 26,0% entre  $10^6$  e  $5 \times 10^7$  cels/g, 13,0% entre  $5 \times 10^7$  e  $10^8$  cels/g, 45,0% entre  $10^8$  e  $10^9$  cels/g e apenas 12,0% com mais de  $10^9$  e menos de  $22 \times 10^9$  cels/g;

b) psicrófilos ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ): 2,3% das amostras com menos de  $10^6$  cels/g; 26,0% entre  $10^6$  e  $5 \times 10^7$  cels/g; 12,0% entre  $5 \times 10^7$  e  $10^8$  cels/g; 40,0% entre  $10^8$  e  $10^9$  cels/g e 19,0% com mais de  $10^9$  e menos de  $22 \times 10^9$  cels/g.

c) coliformes e *Escherichia coli*: 13,0% das amostras continham coliformes e em apenas 2,3% das mesmas foi possível evidenciar a presença de *E. coli*;

d) *Clostridium* sulfito-redutores: estavam presentes em 16,0% das amostras examinadas.

Nickerson *et al.* (1962), examinando 78 amostras de pescado congelado em pedaços produzido em 24 cidades dos Estados Unidos da América, obtiveram contagens entre  $10^2$  e  $10^6$  cels/g e o máximo de 35 coliformes por grama; apenas 12 das 28 marcas analisadas apresentaram coliformes.

No Brasil, a indústria de filetagem localiza-se principalmente na região sul (São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) produzindo para o mercado interno e para exportação.

Considerando a possibilidade de que a filetagem em linhas manuais pode sofrer contaminações a diversos níveis, realizou-se o presente trabalho para estimar a qualidade microbiológica dos filés de pescado congelados comercializados no Rio de Janeiro e adjacências, importante centro de consumo do referido produto.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de filés de pescado congelados, acondicionadas em pacotes de 500 g, foram coletadas ao acaso em diferentes supermercados, localizados nos principais centros comerciais da área cognominada Grande Rio, e rapidamente transportadas para o laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro onde foram mantidas em congelador a  $-18^\circ\text{C}$  até o momento dos exames.

Foram examinadas 34 amostras de 10 marcas diferentes. As amostras A<sub>1</sub> a A<sub>5</sub>, de fabricação inglesa, serviram de padrão como produto importado. As amostras B<sub>1</sub> a B<sub>5</sub>, de fabricação nacional, aparentemente se apresentavam em melhores condições de comercialização.

ção. As demais, todas de fabricação nacional, foram designadas pelas letras C, D, E, F, G, H, I e J, examinando-se três amostras de cada marca.

Por ocasião dos exames, procedeu-se ao descongelamento das amostras por duas horas em temperatura ambiente e assepticamente foram coletadas ao acaso, de diversos pontos de cada filé que compunha o bloco, pedaços com espessura aproximada de 5 mm e de 1 a 2 cm<sup>2</sup> de área, totalizando 20 g. Com esse material preparou-se uma suspensão a 10<sup>-1</sup>, utilizando-se como diluente salina peptonada com pH 7,2. As demais diluições foram preparadas partindo da suspensão inicial até 10<sup>-5</sup>, seguindo-se as recomendações de Mossel e Quevedo (1967) utilizando nessa etapa um desintegrador Waring-Blendor, modelo 1120.

Com as citadas diluições foram realizados os seguintes exames bacteriológicos:

a) contagem total de aeróbios mesófilos: empregou-se o meio para método padrão<sup>4</sup> com a seguinte composição: 5,0 g de tripton Difco, 2,5 g de extrato de levedura Difco, 1,0 g de dextrose Difco, 15,0 g de ágar e 1 litro de água destilada; o pH foi ajustado a 7,0 e a esterilização efetuada a 121°C durante 15 minutos; em seguida foram semeadas porções de 1 ml das citadas diluições em placas de Petri, seguindo-se as recomendações de Mossel e Quevedo (1967); a incubação foi realizada a 30°C durante 72 horas;

b) contagem de psicrófilos aeróbios: foi utilizado o meio para método padrão; as placas (em duplicata) foram incubadas a 4-6°C durante 12 dias e, após a leitura, reincubadas por mais 6 dias a 14-16°C, repetindo-se a leitura, segundo procedimento utilizado por Serrano (1970);

c) contagem de anaeróbios mesófilos: foi realizada em meio para método padrão; as placas (em duplicata) foram incubadas a 30°C durante 72 horas, realizando-se posteriormente as leituras; as condições de anaerobiose foram obtidas utilizando-se o "Gaspak anaerobic system" da Baltimore Laboratory Inc. (B.B.L.); a técnica seguida foi recomendada por Serrano (1970), com as modificações citadas;

d) contagem de *Clostridium* sulfito-redutores: foi empregado o meio ágar sulfito de ferro<sup>5</sup>, utilizado por Serrano (1970), com a seguinte composição: 10,0 g de tripton Difco, 0,5 g de sulfito de sódio, 0,5 g de citrato de ferro, 12,0 g de ágar e 1 litro de água destilada; o pH foi ajustado a 7,1 e o meio distribuído em tubos de 150 x 15 mm; a esterilização foi realizada a 121°C durante 15 minutos; antes do uso do meio, procedeu-se à exaustão em banho-maria durante 20 minutos; uma vez resfriados a 50°C, semearam-se (em duplicata) porções de 1 ml das diluições de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup> e procedeu-se à homogeneização; a incubação foi realizada a 44°C durante 24 horas;

e) colimetria: partindo da suspensão inicial (10<sup>-1</sup>), procedeu-se à técnica adaptada do "número mais provável" (N.M.P.) descrita pela APHA (1965), empregando-se no teste presuntivo o meio caldo lactosado<sup>6</sup> e no confirmativo o meio de lactose caldo bile verde brilhante a 2%<sup>7</sup> da B.B.L.; com os tubos positivos do teste confirmativo, procedeu-se ao isolamento no meio ágar levine (E.M.B.) da B.B.L.; após a purificação das colônias isoladas foram realizados os testes de produção de indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e utilização do citrato; a produção de gás em caldo lactosado com ácido bórico a 43,5°C para detecção de *Escherichia coli* de origem fecal também foi verificada; em todos os casos, para enumeração das colônias, foi utilizado um contador marca Quebec, da Spencer Lens Co., utilizando apenas placas que apresentavam de 30 a 300 colônias.

## RESULTADOS

Os exames revelaram, como se pode observar no Quadro I, índices elevados dos diferentes microrganismos, sendo as seguintes as variações médias encontradas:

- para aeróbios mesófilos (30°C): 1,6 x 10<sup>4</sup> a 2,3 x 10<sup>7</sup> cels/g;
- para psicrófilos aeróbios (± 5°C): 5,7 x 10<sup>4</sup> a 2,4 x 10<sup>7</sup> cels/g;
- aeróbios psicrófilos (± 15°C): 3,5 x 10<sup>5</sup> a 3,8 x 10<sup>7</sup> cels/g;
- anaeróbios mesófilos (30°C): 9,0 x 10<sup>4</sup> a 1,7 x 10<sup>7</sup> cels/g;
- coliformes (N.M.P.): 0 a 230 coliformes por grama.

<sup>4</sup> "Plate count agar".

<sup>5</sup> "Iron sulfite agar".

<sup>6</sup> "Lactose broth".

<sup>7</sup> "Brilliant green bile broth 2%".

Os microrganismos sulfito-redutores foram detectados em apenas uma amostra. Os coliformes se apresentaram na maioria das amostras examinadas (85,66%), sendo que em 32,4% dos filés as contagens foram superiores a 10 coliformes por grama, como se pode observar no Quadro 2.

Quanto à evidência de *Escherichia coli* I, entre as 114 culturas obtidas, apenas cinco, pertencentes a uma amostra da marca G, apresentaram características do microrganismo citado. As demais eram de *E. coli* II, *E. freudii* I, *E. freudii* II e *Aerobacter* I e II de acordo com a APHA (1965).

## DISCUSSÃO

Grande variação nas contagens de microrganismos (Quadro 1) ocorreu tanto entre marcas como entre amostras de uma mesma marca, não permitindo análise estatística. Tal fato era esperado porque as amostras examinadas foram coletadas ao acaso e as condições higiênico-sanitárias, bem como as de comercialização, variaram de amostra para amostra.

Os resultados apresentados nos Quadros 1, 2 e 3 ensejam algumas observações.

As amostras A, de procedência inglesa, apresentaram, em média, para aeróbios mesófilos, quantidades bem menores que as de origem nacional.

As amostras F e H (nacionais) destacaram-se das demais pelas altas contagens de aeróbios mesófilos. Comparando-se os resultados obtidos por Kalligeris (1964) para esses microrganismos, verifica-se que os filés congelados de pescado analisados se apresentaram, de modo geral, inferiores aos comercializados na França, pois estes mostraram índices máximos de 10<sup>6</sup> enquanto 70,58% das amostras nacionais apresentaram contagens entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> cels/g.

Custot (1968) encontrou distribuição percentual mais semelhante à do presente trabalho, com 57,0% das amostras apresentando contagens entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>7</sup>.

Quanto aos aeróbios psicrófilos (a 5°C e a 15°C), as amostras D, F e H apresentaram contagens médias sempre superiores a 8 x 10<sup>4</sup>. De modo geral, as amostras nacionais apresentaram-se com contagens discretamente superiores às encontradas por Custot (1968), possivelmente devido às condições higiênico-sanitárias por ocasião da filetagem e do empacotamento, ou devido à estocagem longa e em condições tecnicamente inadequadas, segundo Shaw e Shewan (1968).

Quanto aos anaeróbios mesófilos, as médias obtidas foram mais elevadas nas amostras F e H.

Os *Clostridium* sulfito-redutores não ocorreram nas amostras analisadas, com exceção apenas de uma amostra II.

O grupo coliformes esteve presente em todas as marcas e em 85,26% das amostras analisadas apresentou-se com percentual elevado em comparação aos obtidos por Kalligeris (1964) e Custot (1968), que foram de 48,0 e 13,0% respectivamente. Sendo os coliformes indicadores de qualidade sanitária, parece haver necessidade de melhores condições higiênico-sanitárias na preparação dos filés nacionais. As amostras que apresentaram menores contagens de microrganismos deste grupo foram A, B e D, enquanto as amostras G, H e J apresentaram contaminações elevadas, bem superiores às encontradas por Nickerson *et al.* (1962) e Kalligeris (1964), em alguns casos ultrapassando a 200 coliformes por grama.

A ausência de *Escherichia coli* em 97,06% das amostras analisadas indica que os filés estavam em sua grande maioria isentos de contaminação fecal.

QUADRO 1. Contagens dos microrganismos por grama, nos filés de pescado congelados coletados no Grande Rio

Amostra	Aeróbios			Anaeróbios mesófilos (30°C) x 10 <sup>3</sup>	Sulfito-redutores (44°C)	Coliformes (N.M.P.)
	Mesófilos (30°C) x 10 <sup>3</sup>	Psicrófilos (± 5°C) x 10 <sup>3</sup>	Psicrófilos (± 15°C) x 10 <sup>3</sup>			
A1	5,00	0,81	5,40	3,60	— <sup>a</sup>	4,90
A2	3,00	6,35	7,20	0,10	—	—
A3	4,10	88,50	88,50	0,09	—	—
A4	27,50	46.000,00	48.000,00	39,00	—	0,45
A5	44,50	74.000,00	75.000,00	410,00	—	—
Médias	16,98	24.019,00	24.620,00	90,56	—	1,07
B1	81,00	44,00	76,50	5,05	—	1,40
B2	69,00	62,50	84,00	8,60	—	1,30
B3	840,00	875,00	925,00	199,50	—	0,78
B4	5.200,00	6.300,00	6.450,00	2.500,00	—	0,20
B5	95,00	76,00	81,00	16,85	—	1,40
Médias	1.249,00	1.471,82	1.523,30	545,80	—	1,01
C1	380,00	420,00	800,00	129,00	—	4,90
C2	425,00	385,00	950,00	209,00	—	0,78
C3	112,00	100,00	325,00	42,00	—	0,20
Médias	305,66	308,33	691,66	126,66	—	1,96
D1	72,00	33,00	83,00	7,30	—	0,78
D2	15.250,00	21.300,00	26.000,00	300,00	—	1,70
D3	5.060,00	4.600,00	4.900,00	2.950,00	—	—
Médias	6.794,00	8.644,33	10.327,66	1.085,70	—	0,82
E1	109,00	33,00	146,00	62,00	—	7,90
E2	1.150,00	37,50	725,00	880,00	—	—
E3	290,00	103,00	183,50	50,50	—	24,00
Médias	516,33	57,83	353,16	330,66	—	10,63
F1	39,60	5,10	16,00	23,10	—	0,78
F2	5.500,00	3.450,00	54.000,00	700,00	—	3,30
F3	42.000,00	54.000,00	61.000,00	52.500,00	—	54,00
Médias	15.846,50	19.151,70	38.338,66	17.741,00	—	19,36
G1	420,00	595,00	610,00	165,00	—	240,00 <sup>b</sup>
G2	333,00	159,00	420,00	295,00	—	3,10
G3	135,60	39,50	101,00	47,00	—	54,00
Médias	329,53	261,16	377,00	169,00	—	99,03
H1	8.830,00	1.640,00	29.500,00	16,50	—	240,00
H2	1.226,00	750,00	1.015,00	795,00	15,00	170,00
H3	59.500,00	28.500,00	41.000,00	24.750,00	—	280,00
Médias	23.185,30	10.281,60	23.838,30	8.520,35	5,00	230,00
I1	2.180,00	1.290,00	1.500,00	455,00	—	1,20
I2	3.900,00	1.760,00	2.290,00	820,00	—	13,00
I3	2.250,00	595,00	975,00	207,50	—	13,00
Médias	2.776,60	1.215,00	1.588,30	494,16	—	9,06
J1	663,00	840,00	1.100,00	127,00	—	2,20
J2	615,00	96,00	470,00	64,50	—	240,00
J3	890,00	81,00	192,50	104,00	—	35,00
Médias	723,66	339,00	587,50	98,50	—	92,40

<sup>a</sup> — Ausência de microrganismos.

<sup>b</sup> Amostra contendo microrganismos com reação: Indol (+); V.M. (+); V.P. (—) e produção de gás a 43,5°C (+), ou seja, presença de *E. coli*.

QUADRO 2. Distribuição percentual das contagens de microrganismos em filés de pescado congelados coletados no Grande Rio

Número de cels/g	Aeróbios			Anaeróbios mesófilos (30°C)	Sulfito redutores (44°C)	Coliformes (N.M.P.)
	Mesófilos (30°C)	Psicrófilos (± 5°C)	Psicrófilos (± 15°C)			
0	—	—	—	—	97,06%	14,74%
<10	—	—	—	—	—	52,92%
10 a 100	—	—	—	5,88%	2,94%	17,64%
100 a 300	—	—	—	—	—	14,70%
300 a 10 <sup>3</sup>	—	2,94%	—	—	—	—
10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup>	8,82%	5,88%	5,90%	11,76%	—	—
10 <sup>4</sup> a 10 <sup>5</sup>	20,58%	32,34%	17,64%	26,46%	—	—
10 <sup>5</sup> a 10 <sup>6</sup>	35,28%	26,46%	38,22%	44,10%	—	—
10 <sup>6</sup> a 10 <sup>7</sup>	26,46%	17,64%	17,64%	5,88%	—	—
10 <sup>7</sup> a 10 <sup>8</sup>	8,82%	14,70%	20,58%	5,88%	—	—

QUADRO 3. Comparação dos resultados obtidos com os de diversos autores, em percentagem

Referências	Microrganismos	<10 <sup>3</sup> cels/g	10 <sup>3</sup> — 10 <sup>4</sup> cels/g	10 <sup>4</sup> — 10 <sup>5</sup> cels/g	10 <sup>5</sup> — 10 <sup>6</sup> cels/g	10 <sup>6</sup> — 10 <sup>7</sup> cels/g	10 <sup>7</sup> — 10 <sup>8</sup> cels/g
Custot (1968)	Mesófilos	2,3%	26,0%	15,0%	45,0%	12,0%	—
	Psicrófilos	2,3%	26,0%	12,0%	40,0%	19,0%	—
Kalligeris (1964) 31 amostras	—	9,6%	54,8%	35,0%	—	—	—
Nickerson <i>et al.</i> (1962) 78 amostras	—	(10 <sup>2</sup> — 10 <sup>6</sup> )	—	—	—	—	—
No presente trabalho 34 amostras	Mesófilos	—	8,8%	20,6%	35,8%	26,5%	8,8%
	Psicrófilos (± 5%)	2,9%	5,9%	32,3%	26,5%	17,6%	14,7%

### CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

1) a qualidade microbiológica dos filés congelados de pescado analisados, apesar da pequena contaminação fecal, deixa a desejar no que diz respeito ao número de bactérias por grama de amostra e à presença de coliformes;

2) maiores cuidados quanto à seleção da matéria-prima e às condições higiênico-sanitárias de manipulação em fábrica devem ser tomados para que um melhor índice de qualidade seja atingido, principalmente no momento atual, quando se pretende ingressar no mercado internacional.

### REFERÊNCIAS

- American Public Health Association 1965. Standard methods for the examination of water and waste water. 12th ed. American Public Health Association Inc., New York. 769 p.
- Campello, F. 1970. Bacteriologie des produits de la mer congelés. *Revue Générale du Froid*, Paris, 11:1445-1459.
- Castell, C.H. 1967. Atlantic Fisheries Experimental Station (trad. de C.A.M. Santos). Bull. 2, Fish Research Board of Canadá, West Block, Ottawa, Canadá. 7 p.
- Custot, S.F. 1968. Bulletin D'information Laboratoire Coopératif, 63:4-24. (Citado por Campello 1970)
- Kalligeris, J. 1964. Contribution à l'étude bactériologique des filets de poisson congelé. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Veterinaire D'Alfort, Paris. 69 p.
- Mossel, D.A.A. & Quevedo, F. 1967. Control microbiológico de los alimentos. Cleiba, Lima, Peru. 96 p.
- Nickerson, J.T.R., Silverman, G.J., Solberg, M., Ducan, D.W. & Joselow, M.M. 1962. Microbial analysis of commercial frozen fish sticks. *J. Milk and Food Tech.* 25:45-47.
- Nickerson, J.T.R. & Goldblith, S.A. 1964. A study of the microbiological quality of haddock filets and shucked, soft-shelled clams processed and marketed in the greater Boston area. *J. Milk and Food Tech.* 27:7-12.
- Serrano, D.S. 1970. Prolonging the commercial life of fresh white (lean) fish: microbiological aspects in. Preservation of fish by irradiation. International Atomic Energy Agency, Vienna, p. 27-48.
- Shaw, B.G. & Shewan, J.M. 1968. Psychrophilic spoilage bacteria of fish. *J. appl. Bacteriol.* 31:89-96.

ABSTRACT.- Barros, G.C.de; Robbs, P.G. [*Total bacteriological and coliforms counts in frozen fish fillets in Rio de Janeiro, Brazil*]. Bacterimetria e colimetria de filés de pescado congelados coletados no Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária* (1975) 10, 69-73 [Pt, en] UFRRJ, Km 47, Rio de Janeiro, RJ, ZC-26, Brazil.

The microbiological quality of frozen fish fillets was studied through the total bacteriological counts in the Greater Rio de Janeiro. Ten different brands of fish fillets were analyzed, in a total of 34 samples. The average results were: a) mesophilic aerobic (30°C):  $1.6 \times 10^4$  to  $2.3 \times 10^7$  cells/g; b) psychrophilic aerobic ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ):  $5.7 \times 10^4$  to  $2.4 \times 10^7$  cells/g; c) psychrophilic aerobic ( $\pm 15^\circ\text{C}$ ):  $3.5 \times 10^6$  to  $3.8 \times 10^7$  cells/g; d) mesophilic anaerobic (30°C):  $9.0 \times 10^4$  to  $1.7 \times 10^7$  cells/g; e) coliforms (M.P.N.): 0 to 230 coliforms/g.

It was concluded that the sanitary quality of the frozen fish fillets analyzed, is not meeting the standard requirements, in relation to the count per gram of bacteria and to the presence of coliforms.

*Additional index words:* Mesophilic aerobic, psychrophilic aerobic, and mesophilic anaerobic counts, *Escherichia coli*.