

Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada

V. A. Nascimento, A. S. P. Mittaraquis, B. M. Travália, R. C. A. Santos, M. L. Nunes,
L. C. L. de Aquino

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão, Aracaju-Se
vivianne_van@hotmail.com, lcl@ufs.br

(Recebido em 06 de outubro de 2010; aceito em 11 de abril de 2011)

Esta pesquisa visou analisar a influência da pré-cozção e da estocagem congelada na qualidade microbiológica de ostras e sururu comercializados no mercado central da cidade de Aracaju-SE. As amostras adquiridas desconchadas (pré-cozidas) apresentaram contagens iniciais de bactérias aeróbias mesófilas de 10^6 UFC/g, número mais provável de coliformes termotolerantes maior que $1,6 \times 10^3$ /g e presença de *Escherichia coli* e *Salmonella sp.* Estes resultados foram mantidos durante o período de estocagem congelada (08, 16, 24 e 32 dias). As amostras estavam fora dos padrões estabelecidos pela Legislação Brasileira (máximo de coliformes termotolerantes de 5×10 NMP/g, ausência de *Salmonella sp.*). No entanto, ao realizar o desconchamento dos moluscos, dentro das boas práticas de higiene, através de imersão em água ou por aquecimento à vapor à temperatura de 95°C nos tempos de 05, 10 e 15 min, não foi detectada a presença destes microrganismos. Diante disto, verificou-se que o tratamento térmico empregado pelos comerciantes, para facilitar o desconchamento, pode não ser satisfatório ou esteja havendo contaminação cruzada durante a comercialização dos produtos.

Palavras-chave: *Crassostrea brasiliensis*, *Mytella falcata*, microbiologia, controle de qualidade.

The aim of this study was to analyze the influence of pre-cooking and freezing storage on microbiological quality of oysters and mussels marketed in the downtown Aracaju-SE. The samples acquired shucked (pre-cooking) had initial counts of mesophilic aerobic bacteria of 10^6 CFU/g, most probable number of coliform organisms larger than 1.6×10^3 /g and presence of *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* These results were maintained during frozen storage (08, 16, 24 and 32 days). The samples were outside the parameters established by Brazilian Legislation (maximum of 5×10 MPN/g for fecal coliform and absence of *Salmonella sp.*). However, when used good hygiene practices for the opening of shell through immersion in water or by heating steam at a temperature of 95°C for times of 05, 10 and 15 min, was not detected the presence of these microorganisms. Given this, it was found that the heat treatment employed by merchants to facilitate the opening of shell may not be satisfactory or there is cross contamination during the marketing of products.

Keywords: *Crassostrea brasiliensis*, *Mytella falcata*, microbiology, quality control.

1. INTRODUÇÃO

Moluscos bivalves são organismos filtradores que possuem a capacidade de absorver toxinas, poluentes químicos e biológicos, inclusive metais pesados e microrganismos presentes na água. Muitos surtos associados ao consumo de moluscos bivalves têm sido reportados no mundo todo, especialmente relacionados com a ingestão de alimentos crus, como as ostras [1,2,3].

O ambiente marinho é reconhecido como uma importante fonte de recursos naturais, o que favorece particularmente o cultivo de moluscos cujas exigências são plenamente satisfeitas. O incremento da cultura de ostra tem favorecido seu hábito de consumo *in natura*, principalmente, nas regiões litorâneas brasileiras. Contudo, esses animais se alimentam de partículas e plâncton durante o processo de filtração da água e podem reter em seus organismos diferentes patógenos, em especial quando oriundos de ambientes poluídos ou contaminados. No nordeste brasileiro é uma das principais espécies de bivalves consumidos na sua forma *innatura*. A microbiota presente na carne desses organismos está diretamente relacionada ao ambiente do qual eles se

originam sendo o seu consumo, freqüentemente, relacionado a doenças infecciosas de origem alimentar [1,4,10].

O consumo de moluscos bivalves marinhos, crus ou levemente cozidos, é uma prática crescente em todas as regiões litorâneas do Brasil, devido às riquezas dos recursos naturais do ecossistema aquático. Desta forma são vistos como alimento de alto risco, estando largamente associados a casos de intoxicação e infecção alimentar, provavelmente como consequência do aumento da poluição ambiental [4,5].

Tendo em vista que os moluscos são habitualmente consumidos por grande parte da população sergipana, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea brasiliensis*) e sururu (*Mytella falcata*) nas seguintes situações: a) desconchados adquiridos comercialmente; b) desconchados adquiridos comercialmente e submetidos à estocagem congelada; c) *in natura* (em conchas) submetidos à pré-cozimento para o desconchamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de ostras e sururu desconchados (através de pré-cozimento) foram adquiridas de 4 comerciantes do mercado central da cidade de Aracaju-SE e transportados para o Laboratório em recipientes estéreis, nas mesmas condições de temperatura em que estavam sendo comercializados (temperatura em torno de 25 °C). Todas as amostras foram inicialmente submetidas às análises microbiológicas no tempo zero. Em seguida, os moluscos desconchados (25g) foram armazenados em sacos estéreis, lacrados e congelados à -18°C pelos períodos 08, 16, 24 e 32 dias.

Os moluscos *in natura*, em conchas, foram lavados em água corrente com o auxílio de uma escova estéril e submetidos aos tratamentos térmicos “a vapor” e por “imersão em água” à temperatura de 95°C durante 05, 10 e 15 minutos (contados a partir da abertura de todas as conchas).

As análises microbiológicas realizadas foram as seguintes (segundo metodologia recomendada pela American Public Health Association (APHA) conforme Silva et al.[6]):

a) Contagem de bactérias totais aeróbias mesófilas e bactérias totais psicrófilas pela técnica de semeadura em profundidade e de superfície, respectivamente, utilizando o meio ágar padrão para contagem;

b) Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes utilizando o caldo lactose para o teste presuntivo e os caldos verde brilhante e EC para o teste confirmativo de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente;

c) A partir dos tubos positivos obtidos no caldo EC, as amostras foram semeadas em placas contendo o meio seletivo ágar eosina azul de metileno (EMB) para a detecção de presença ou ausência de *Escherichia coli*;

d) Detecção de *Salmonella sp.* (presença ou ausência) utilizando água peptonada tamponada para pré-enriquecimento das amostras, caldo rappaport vassilidis e caldo tetracionato como meios de enriquecimento, ágar xilose lisina desoxilato (XLD) e ágar verde brilhante para plaqueamento diferencial e ágar triplice ferro (TSI) para confirmação das colônias suspeitas do microrganismo.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata e com meios de cultura da marca OXOID, EUA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de sururu e ostras adquiridas desconchadas apresentaram contagens iniciais (no tempo zero) de bactérias totais aeróbias mesófilas e bactérias totais psicrófilas da ordem de 10^6 UFC/g. A contagem de microrganismos viáveis em crustáceos e moluscos *in natura* está relacionada ao animal inteiro, ou à carne separada da concha, sendo os valores encontrados situando-se entre 10^3 e 10^7 UFC/g. Os moluscos, por serem organismos filtradores de água,

apresentam contagens bacterianas que refletem o estado microbiológico das águas de cultivo, cujas contagens aumentam nos meses de verão [7]. Porém, a decomposição do pescado depende não somente do número e espécie das bactérias contaminantes como da capacidade das mesmas de causar a deterioração [1].

A utilização do congelamento como método de preservação de alimentos tem por finalidade retardar a ação de agentes deteriorantes e diminuir as reações químicas. Entretanto, a qualidade da matéria-prima é de fundamental importância para a obtenção de produto com alta qualidade [7]. Neste trabalho, não houve diminuição da carga microbiana, dos produtos adquiridos desconchados durante o período de estocagem congelada (08, 16, 24 e 32 dias). A contagem de bactérias mesófilas e psicotróficas foi mantida em 10^6 UFC/g. Apesar de alguns microrganismos mesófilos e psicotróficos serem eliminados durante o congelamento, este processo não é considerado como método de inativação microbiana [7]. Considerando que estes moluscos (ostras e sururu) foram submetidos a um tratamento térmico prévio para o desconchamento, deveriam apresentar níveis baixos de contaminação microbiana, o que não ocorreu, provavelmente em decorrência de contaminação cruzada por manipulação e/ou comercialização. Cordeiro et al. [8], obtiveram apenas uma leve redução na contagem de psicotróficos de 10^3 para 10^2 UFC/g em amostras de mexilhões semi-desconchados submetidos à cocção em ebulição por 10 min seguido de congelamento à -20 °C.

Diante dos resultados apresentados, supõe-se que as más condições de preparo, manutenção e comercialização, à temperatura ambiente, dos produtos podem ter sido fatores decisivos para a elevada contaminação presente nas amostras adquiridas e posteriormente congeladas.

Em relação à contaminação por coliformes totais e termotolerantes a maioria das amostras de sururu e ostras adquiridas desconchadas apresentou NMP $> 1,6 \times 10^3$ /g, não se verificando redução da carga microbiana durante o período de estocagem congelada (Tabela 1). Além disto, verificou-se a presença de colônias típicas de *Escherichia colie* de *Salmonella sp.* em todas as amostras analisadas. Para moluscos bivalves submetidos à cocção e comercializados resfriados ou não, a Resolução RDC n. 12 de 02 Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) admite limites máximos de coliformes termotolerantes de 5×10 /g e ausência de *Salmonella sp.* em 25g de amostra [9]. Portanto, todas as amostras analisadas estavam fora dos padrões de qualidade microbiológica. Segundo a literatura, bactérias do grupo coliformes podem crescer em temperaturas de -2 °C e em alimentos podem crescer lentamente a 5 °C, embora tenha sido demonstrado o crescimento também em temperaturas de 3 °C a 6 °C. A presença de coliformes de origem fecal em alimentos indica más condições higiênico-sanitárias, as quais podem ser atribuídas a vários fatores, tais como, qualidade sanitária da água de onde os moluscos são retirados, condições higiênicas de manipulação e conservação do produto [7].

Como os moluscos desconchados adquiridos comercialmente foram submetidos a pré-cocção para abertura das conchas (segundo conversas com os comerciantes) e apresentaram altos níveis de contaminação, adquiriu-se os moluscos em conchas e realizou-se o processo de pré-cocção, dentro das boas práticas de higiene (conforme descrito na metodologia) com o intuito de avaliar a influência na qualidade microbiológica dos produtos. As amostras de sururu e ostras (com conchas) submetidas a pré-cocção à vapor ou imersão em água (95 °C durante 05, 10 e 15 min após a abertura das conchas), apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas menores do que 10 UFC/g (ausência de colônias visíveis nas placas). Em relação à contaminação por coliformes totais e termotolerantes os valores foram menores do que 3,0 NMP/g (ausência de coliformes nos tubos múltiplos) e verificou-se ausência de *Salmonella sp.* em todos os tempos de pré-cozimento estudados. Este resultado comprovou que o tratamento térmico quando realizado em condições de higiene e de forma eficiente diminui a carga microbiana inicial presente no produto. Embora, ambos os métodos tenham demonstrado eficiência para a redução da carga microbiana inicial dos moluscos, o mais adequado, para o desconchamento, foi o tratamento por imersão em água, visto que a abertura das conchas foi mais rápida (2 min para sururu e 10 min para ostras) do que quando empregado o método de aquecimento à vapor que demandou 20 min para o sururu e 60 min para as ostras.

Tabela 1: Número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e termotolerantes em amostras de sururu e ostras desconchadas e congeladas.

Amostras	Períodos de Congelamento (Dias)									
	0		08		16		24		32	
	CT	CTT	CT	CTT	CT	CTT	CT	CTT	CT	CTT
Sururu										
1	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³
2	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²
3	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³
4	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³
Ostras										
1	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³
2	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²	>1,6 x 10 ³	2,4 x 10 ²
3	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³
4	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³	>1,6 x 10 ³

CT – coliformes totais; CTT = coliformes termotolerantes

4. CONCLUSÃO

O sururu e ostras, comercializados sem conchas (pré-cozidos) no mercado central da cidade de Aracaju, apresentaram contagens iniciais de bactérias aeróbias mesófilas (da ordem de 10⁶ UFC/g) comumente encontradas em moluscos bivalves por serem filtradores das águas de cultivo. O número de coliformes termotolerantes (maior que 10³ NMP/g) e a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella sp.* indicaram que os produtos estavam fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA. Os níveis de contaminação por estes microrganismos não foram reduzidos durante a estocagem congelada. Por outro lado, quando realizado o tratamento térmico à vapor ou por imersão em água para o desconchamento dos moluscos, dentro das boas práticas de higiene, não foi verificada a presença destes microrganismos. É possível que o tratamento térmico empregado pelos comerciantes, apenas para facilitar o desconchamento, não seja satisfatório ou esteja havendo contaminação cruzada durante a comercialização dos produtos.

1. VIEIRA, R.H.S.F. *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado*. São Paulo, Varela, 2004. 47p.
2. LEAL, D.A.G. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle, Campinas, SP, Brasil. *Revista Panamericana de Infectologia*. 10:48-57 (2008).
3. CORTES, M.B.V.; WASSERMAN, J.C; AVELAR, J.C.L. Gestão da Qualidade de Moluscos Bivalves de Cultivos da Baía Da Ilha Grande (Paraty, Angra Dos Reis e Mangaratiba). *Anais do V Congresso Nacional de Excelência em Gestão*, Niterói, RJ. 1-12 (2009).

4. PEREIRA, C.S.; POSSAS, C.A.; VIANA, C.M.; RODRIGUES, D.P. *Vibrio* spp. isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27: 387-390 (2007).
5. PEREIRA, M.A.; NUNES, M.N.; NUERNBERG, L.; DENYS 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*, 37: 159-163 (2006).
6. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*, ed.3, 2007. 87p.
7. JAY, J. M. *Microbiologia de Alimentos*, ed.6, 2005. 583-590p.
8. CORDEIRO, D; LOPES, T.G.G.; OETTERER, M.; PORTO, E.; GALVÃO, J.A. Qualidade do Mexilhão *Perna perna* Submetido ao Processo Combinado de Cocção, Congelamento e Armazenamento. *Boletim do Ceppa*. 25:165-179 (2007).
9. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, Resolução n.12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: http://www.anvisa.gov.gov.br/legis/resol/12_01rde.htm.
10. VIEIRA, R.H.S.F; ATAYDE, M.A.; CARVALHO, E.M.R.; CARVALHO, F.C.T.; FILHO, A.A.F. Contaminação fecal da ostra *Crassostrearhizophorae* 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*. 45:180-189 (2008).