

# PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* E *Vibrio parahaemolyticus* EM AMOSTRAS DE PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*) COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE SÃO LUÍS, MA.

Isadora Fontenelle Carneiro de Castro ✉  
 Fabiana Borralho Frazão  
 Isabel Azevedo Carvalho  
 Francisca Neide Costa

Universidade Estadual do Maranhão, Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia, Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água. São Luís, MA.

✉ isadorafontenellecastro@gmail.com

## RESUMO

O aumento no consumo de pescados devido a mudanças nas dietas alimentares fez com que a pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) se tornasse uma das espécies mais consumidas no Maranhão. Apesar dos benefícios nutricionais, esse consumo traz consigo riscos à saúde pública quando ocorre contaminação. O objetivo desta pesquisa foi verificar a presença de *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus* em amostras de pescada amarela (*C. acoupa*) vendidas nas feiras e supermercados de São Luís/ MA. Foram coletadas 30 amostras de filés de pescada amarela em feiras e supermercados e o processamento dessas amostras foi feito no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão. As análises microbiológicas foram realizadas segundo o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de

Alimentos. Constatou-se a ausência de *V. parahaemolyticus* e ausência de *L. monocytogenes* em 100% das amostras. Pode-se concluir, assim, que os resultados estão de acordo com a RDC nº 12 de 2001, da ANVISA, e que, apesar das amostras não apresentarem os patógenos investigados, faz-se necessária a criação de parâmetros para essas bactérias, como forma de prevenção dos riscos à saúde pública.

### Palavras-chave: Pescado.

Bactéria. Micro-organismo. Água salgada. Contaminação.

## ABSTRACT

The increase in the consumption of fish due to changes in the dietary demands caused the yellow hake (*Cynoscion acoupa*) to become one of the most consumed species in Maranhão. Despite the nutritional benefits, this consumption poses risks

to public health when contamination occurs. The objective of this work was to evaluate the presence of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* in samples of yellow hake (*C. acoupa*) sold at the fairs and supermarkets of São Luís (MA). Thirty samples of yellow hake were collected at fairs and supermarkets and the processing of these samples was done at the Food and Water Microbiology Laboratory of the Veterinary Medicine course of the State University of Maranhão. The microbiological analyses were carried out according to the Manual of Methods of Microbiological Analysis of Foods (SILVA, 2007), and led to the finding of absence of *V. parahaemolyticus* and absence of *L. monocytogenes* in 100% of the samples. It can be concluded, therefore, that the results are in agreement with the RDC nº 12, of 2001, of ANVISA, and that, although the samples do not present the pathogens, it is necessary

to create parameters for these bacteria, as a form of prevention of risks to public health.

**Keywords:** Fish. Bacteria. nism. Saltwater. Contamination.

## INTRODUÇÃO

O consumo de pescados tem aumentado nas últimas décadas a uma taxa anual de 3,2%; o consumo *per capita* chegou a 19,2kg por ano em 2012 (FAO, 2014a). Esse aumento é propiciado não só pelas mudanças de hábito alimentar, mas também pelo aumento demográfico e de renda, o que provocou aumento na produção e no comércio mundial para suprir a demanda da população (PIENIAK et al., 2010; FAO, 2014b; FAO, 2014a).

O Brasil ocupa o vigésimo terceiro lugar como produtor mundial de pescado, com 803,2 mil toneladas (BRASIL, 2011). O Nordeste, por sua vez, é considerado o maior fornecedor brasileiro de pescado, alcançando uma produção de 411 mil toneladas/ano (VIDAL; PINHO, 2010). A família Sciaenidae possui inúmeras espécies que são vendidas no Brasil, entre elas a pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), que é amplamente encontrada ao longo da costa brasileira (SZPILMAN, 2000).

O pescado possui excelentes características nutricionais e é bastante procurado pela população que quer uma alimentação balanceada, por isso torna-se uma das primeiras opções de alimentos, por sua excelente composição e valor nutritivo, sua fácil digestibilidade, com valores elevados de vitaminas A e D, cálcio, ômega-3 e fósforo, lipídeos com altos níveis de ácidos graxos insaturados, além da presença de elevados teores de proteínas com valor biológico elevado (LEDERER, 1991; HUNTER e ROBERTS, 2000; DOMINGO, 2007; NEIVA, 2010). De

acordo com Amagliani et al. (2012), o pescado pode ser contaminado por diferentes agentes patogênicos como bactérias, vírus, fungos, entre outros, que podem causar desde problemas leves de saúde até casos mais graves.

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria patogênica gram-positiva, distribuída por todo e qualquer ambiente, podendo ser isolada da água, do solo, da vegetação, sendo possível encontrá-la também na microbiota natural de alguns animais (SCHUCHAT et al., 1991). A contaminação acontece, não somente por meio da ingestão de alimentos crus ou mal cozidos, como pescados, mas também pela água, sendo esta bactéria, um importante patógeno causador de doenças para seres humanos e alguns animais (GONÇALVES, 2011).

Scallan et al. (2011) descrevem que a listeriose é causadora de cerca de 1600 casos, 1500 hospitalizações e 260 mortes por ano nos Estados Unidos da América (EUA). Segundo Fretz et al. (2010), existem inúmeros sinais clínicos para a listeriose, entre os quais podem ser incluídos septicemia, meningite, gastroenterite e aborto, com taxas de letalidade que podem alcançar 75%, quando de sua ocorrência em pacientes imunocomprometidos e mulheres grávidas.

*Vibrio parahaemolyticus* é uma bactéria patogênica, gram-negativa, que se distribui por regiões estuárias, costeiras e ambientes marinhos, mas não está relacionada com a contaminação fecal (YU et al, 2013). É um patógeno que pode ser frequentemente encontrado e isolado de uma ampla variedade de pescados, como, por exemplo, bacalhau, sardinha, cavala e também a pescada amarela (MAHMUD et al., 2007).

Esses patógenos podem deixar sua condição de grande ameaça para saúde pública, caso sejam intensificados os programas voltados para a melhoria da qualidade e segurança do pescado e de frutos do mar

comercializados para consumo humano, no que concerne tanto à legislação vigente quanto à fiscalização e controle desse processo. Além da cobrança por parte dos programas de inspeção, é necessário que boas práticas de fabricação (BPF) de alimentos sejam exigidas pela própria indústria de pescado (BUTT et al., 2004).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de *L. monocytogenes* e *V. parahaemolyticus* em filés de pescada amarela (*C. acoupa*) vendidos nas feiras e supermercados de São Luís (MA).

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de pescada amarela (*C. acoupa*) foram coletadas durante janeiro e fevereiro de 2017 em feiras e supermercados da cidade de São Luís, Maranhão. Ao todo, coletaram-se 30 amostras, quinze de supermercados e quinze de feiras, que foram divididas em dez amostras para cada coleta. Foram então, acondicionadas em caixas isotérmicas para transporte até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde as mesmas foram processadas. As análises microbiológicas foram realizadas segundo o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA, 2001).

Brevemente, para o processamento de amostras para a detecção de *L. monocytogenes*, foram pesados de maneira asséptica, 25g de cada uma das amostras e inoculadas em frasco estéril com 225mL de Caldo UVM (Universidade de Vermont). Depois de homogeneizadas, as mesmas foram colocadas incubadas em estufa a 28°C ± 1°C pelo período de 24 horas. Após a incubação, foi transferido 0,1mL da cultura de cada frasco para um tubo de ensaio com 10mL de caldo Fraser com suplemento (citrato de amônio e ferro III) e, incubou-se por

24 horas a  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Para etapa bioquímica, foram realizados os testes de motilidade, Camp-test *S. aureus*, catalase, oxidação, uréase, crescimento em TSI,  $\text{H}_2\text{S}$  em TSI, oxidação e fermentação da glicose, crescimento ágar bile esculina, teste de Voges-Proskauer e teste de Vermelho de Metila.

Para a detecção de *V. parahaemolyticus*, pesaram-se 25g de cada uma das amostras de maneira asséptica, que foram inoculadas em frasco estéril com 225ml de água peptonada salina 3%, equivalendo a diluição  $10^{-1}$ . Prepararam-se diluições decimais ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ) a partir desta e incubaram-se todos os tubos em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após o período de incubação, foi realizado o plaqueamento, a partir de cada tubo com crescimento, no qual coletou-se a massa de células da superfície e estriou-se em placa de Ágar Tiosulfato-Citrato-Bile-Sacarose (TCBS) e incubou-se a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Para etapa bioquímica, foram realizados os testes de motilidade 3% de NaCl, gram, oxidação e fermentação da glicose 3% de NaCl, glicose 3% de NaCl, triptona 3% de NaCl, Voges-Proskauer 3% de NaCl e Indol 3% de NaCl.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na pesquisa de *L. monocytogenes*, 100% das amostras de pescada amarela mostraram-se ausentes desse patógeno. Os resultados deste trabalho foram semelhantes aos da pesquisa de Santos (2016), que não encontraram *Listeria* sp. nas amostras avaliadas de tambaquis (*Colossoma macropomum*). Na RDC nº 12 de 2001, não são estabelecidos parâmetros para o gênero *Listeria* sp., todavia, há um parâmetro utilizado para *Salmonella* pelo Ministério da Saúde, que é o da ausência em 25g do produto de pescado, mas que também pode ser utilizado para outras bactérias, essa

definição advém do risco à saúde pública (BRASIL, 2001), o que mantém como satisfatório o resultado das amostras analisadas.

Estudo realizado por Gambarin et al. (2012) mostra resultados opostos, de 28 amostras de produtos de pescado prontos para consumo, nove apresentaram *L. monocytogenes* em método de diagnóstico convencional. Os resultados obtidos podem estar correlacionados ao acondicionamento inadequado dos alimentos, pois a temperatura tem papel indispensável para prevenir o crescimento dessa bactéria.

O gênero *Listeria* pode ser encontrado no meio ambiente - solo, vegetação e água - e dele ser isolado, além de fazer parte da microbiota natural de alguns animais (SCHUCHAT et al., 1991). Hage et al. (2014) explicam que espécies de *Listeria* têm sido isoladas de produtos alimentícios, nos quais se incluem produtos prontos para o consumo. De acordo com o Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVE, 2017), no Brasil, até hoje, não houve relatos de surtos de listeriose em humanos com associação à ingestão de alimentos. Entretanto, Cruz et al. (2008) relatam casos ocorridos no Brasil: três casos de meningite bacteriana associada a *L. monocytogenes* em 1989. Além destes, Lemes-Marques et al. (2007) descrevem 12 casos clínicos de listeriose ocorridos no Brasil entre 1995 a 2005. Estes poucos casos relatados se devem ao fato de que existe subnotificação e/ou subdiagnóstico. Assim, é de extrema importância para a saúde pública a criação de parâmetros para esses micro-organismos.

Na pesquisa para detecção de *V. parahaemolyticus*, também foi verificada a ausência de colônias sugestivas em todas as 30 amostras (100%) de pescada amarela. Embora tenha sido observada a ausência desse patógeno, foi possível observar, no meio TCBS (Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose), a presença de colônias sugestivas

para outras espécies do gênero *Vibrio*, já que esse ágar é específico para isolamento e identificação de espécies desse gênero.

Esse resultado está de acordo com a legislação vigente no Brasil, segundo a resolução da RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), que determina a tolerância para *V. parahaemolyticus* em produtos à base de pescados *in natura* de até  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001). Herrera et al. (2006) apresentam resultados semelhantes em seu trabalho: 100% das amostras de peixes marinhos frescos comercializados na Espanha não apresentaram este patógeno. Chen (2004) observou, em pesquisa feita com atum em São Paulo, que, dentre as 112 amostras avaliadas, apenas três apresentaram o patógeno, embora em baixa concentração, o que também está de acordo com os limites estabelecidos pela resolução vigente (BRASIL, 2001). Já Galvão (2016), em estudo realizado recentemente, obteve em 64 amostras, 9 confirmações para *V. parahaemolyticus* em ostras em São Luís/MA.

*V. parahaemolyticus* é uma bactéria que possui exigências para seu desenvolvimento; apesar de ser encontrada naturalmente em ambientes aquáticos, depende de temperatura, salinidade e matéria orgânica (LOPES et al, 2012). Presume-se então, que estes resultados negativos podem ser em decorrências da ausência de *V. parahaemolyticus* na água de onde foi retirada.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que a pescada amarela (*C. acoupa*) comercializada em feiras e supermercados da cidade de São Luís/MA apresenta resultados satisfatórios quanto aos parâmetros para detecção de *L. monocytogenes* e *V. parahaemolyticus*.



## REFERÊNCIAS

- AMAGLIANI, G; BRANDI, G; SCHIAVANO, G.F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v.45, n.2, p.780-788, 2012.
- BRASIL. **RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. DOU, Brasília, 1 jan. 2001. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 21 de maio de 2017.
- BUTT, AA; ALDRIDGE, KE; SANDERS, CV. Infections related to the ingestion of seafood Part I: Viral and bacterial infections. **The Lancet infectious diseases**, v.4, n.4, p.201-212, 2004.
- CHEN, J. **Pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* em atum (*Thunnus spp.*) comercializado na zona sul do município de São Paulo - SP**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- CRUZ, CD; MARTINEZ, MB; DESTRO, MT. *Listeria monocytogenes*: an infectious agent scarcely known in Brazil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.19, n.2, p.195-206, 2008.
- CVE - CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Doenças Transmitidas por Alimentos – Dados Estatísticos de 1998-2006**. Disponível em: <[http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/hidrica/ddtha\\_sh9805.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/hidrica/ddtha_sh9805.htm)>. Acesso em: 21 de maio de 2017.
- DOMINGO, JL. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: is all that glitters gold? **Environment International**, v.33, n.7, p.993-998, 2007.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (2014a). **Fishery and aquaculture statistics 2012**. Roma: FAO yearbook.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (2014b). **The state of world fisheries and aquaculture: opportunities and challenges**. Roma: FAO.
- FRETZ, R et al. Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese 'Quargel', Austria and Germany 2009. **Euro Surveillancce**, 15, 2010.
- GALVÃO, EB. **Análise Microbiológica de ostras (*Mollusca, Bivalvia*) obtidas de diferentes pontos de extração na Ilha de São Luis – MA**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2016.
- GAMBARIN, P et al. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat seafood and potential hazards for the consumers. **International journal of microbiology**, v.2012, 2012.
- GONÇALVES, AA. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Atheneu, 2011.
- HAGE, E et al. Identification of six *Listeria* species by real-time PCR assay. **Letters in applied microbiology**, v.58, n.6, p.535-540, 2014.
- HERRERA, FC et al. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. **Journal of applied microbiology**, v.100, n.3, p.527-536, 2006.
- HUNTER, BJ; ROBERTS, DCK. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. **Nutrition Research**, v.20, n.7, p.1047-1058, 2000.
- LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. São Paulo: Manole, v. 2, 1991.
- LEMES-MARQUES, EG; CRUZ, CD; DESTRO, MT. Pheno and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* clinical isolates from the southwestern region of the State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.2, p.287-292, 2007.
- LOPES, IS et al. Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada: características microbiológicas e qualidade do gelo utilizado na sua conservação. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.71, n.4, p.677-84, São Paulo, 2012.
- MAHMUD, ZH et al. Seaweeds as a reservoir for diverse *Vibrio parahaemolyticus* populations in Japan. **International journal of food microbiology**, v.118, n.1, p.92-96, 2007.
- NEIVA, CRP. **Cresce interesse pelos aspectos nutricionais do pescado**. Unidade Laboratorial de Referência em Tecnologia do Pescado, Instituto de Pesca, p. 7, Santos, 2010.
- PIENIAK, Z et al. Health-related attitudes as a basis for segmenting European fish consumers. **Food Policy**, v.35, n.5, p.448-455, 2010.
- SANTOS, EJR. **Avaliação microbiológica e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*Colossoma Macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – MA**. 61f. Dissertação – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís. 2016.
- SCALLAN, E et al. Foodborne Illness Acquired in the United States – Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases**. v.17, p.7-15, 2011.
- SCHUCHAT, A; SWAMINATHAN, B; BROOME, CV. Epidemiology of human listeriosis. **Clinical microbiology reviews**, v.4, n.2, p.169-183, 1991.
- SILVA, N; JUNQUEIRA, VCA; SILVEIRA, NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. In: **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Varela, 2001.
- SZPILMAN, M. **Peixes marinhos do Brasil: guia prático de identificação**. Rio de Janeiro: Mauad, 2000.
- VIDAL, MF; PINHO, HJ. **Informe Rural ETENE, Produção e Venda de Produtos da Aquicultura no Nordeste – Banco do Nordeste**. Ano 4 – Nº 11; 2010.
- YU, W et al. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster and clam culturing environments in Taiwan. **International Journal Food Microbiology**, v.160, p.185-192, 2013.