

Qualidade microbiológica do degelo de peixe comercializados na Cidade de São Luís, Maranhão

Microbiological quality of fish thaw marketed in the City of São Luís, Maranhão

Calidad microbiológica del deshielo de pescado comercializado en la ciudad de São Luís, Maranhão

Recebido: 23/04/2022 | Revisado: 30/04/2022 | Aceito: 08/05/2022 | Publicado: 14/05/2022

Isadora do Nascimento Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1866-3043>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: iza_oliveira18@hotmail.com

Amanda Mara Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5068-4696>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: damarateles@hotmail.com

Cleidiane Gomes Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7055-8865>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: cleidiane7@live.com

Bianca Araújo Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8096-7278>
Instituto Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: biancaaraujo57@hotmail.com

Danilo Torres Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9551-7210>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: danilo_161196@hotmail.com

Nádia Barbosa da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5310-5311>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: nadya152009@hotmail.com

Adenilde Nascimento Mouchrek

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3270-1437>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: adenil@bol.com.br

Resumo

Esta pesquisa teve como objetivo analisar, mediante caracterização microbiológica, a qualidade do degelo de peixe de três mercados localizados na cidade de São Luis-MA. As amostras de degelo de peixe foram coletadas em três mercados localizados no centro da cidade de São Luis-MA e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, da Universidade Federal do Maranhão, Campus São Luis. Os parâmetros analisados foram: coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP), com testes de diferenciação dos termotolerantes e *Clostridium sulfite* redutores utilizando-se a técnica sobre camadas. Verificou-se que as amostras analisadas apresentaram uma variação de 1100 a 2400 NMP/100 mL na contagem de coliformes termotolerantes, enquanto que *Pseudomonas aeruginosa* apresentou uma variação de 29 a 2400 NMP/100 mL. Do total de amostras, 43,3% estavam contaminadas com *Escherichia coli* e 56,7% com *Clostridium sulfite* redutores. Conclui-se que os degelos do peixe analisados foram considerados fora dos padrões segundo a Portaria de N° 5/2017 do Ministério da Saúde por configurar risco à saúde da população.

Palavras-chave: Coliformes; Descongelar; Consumo; Contaminação.

Abstract

This research aimed to analyze, through microbiological characterization, the quality of the fish thaw from three markets located in the city of São Luis-MA. The fish thaw samples were collected in three markets located in the city center of São Luis-MA and sent to the Laboratory of Microbiology of Food and Water, at the Federal University of Maranhão, Campus São Luis. The parameters analyzed were: thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* using the Most Probable Number (NMP) technique, with differentiation tests of the thermotolerants and reducing *Clostridium sulfite* using the layered technique. It was found that the samples analyzed showed a variation from 1100 to 2400 NMP/100 mL in the count of thermotolerant coliforms, while *Pseudomonas aeruginosa* showed a variation from 29 to 2400 NMP/100 mL. Of the total samples, 43.3% were contaminated with *Escherichia coli* and 56.7% with reducing *Clostridium sulfite*. It is concluded that the thaws of the analyzed fish were

considered out of the standards according to the Ordinance No. 5/2017 of the Ministry of Health because it represents a risk to the health of the population.

Keywords: Coliforms; Unfreeze; Consumption; Contamination.

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo analizar, a través de la caracterización microbiológica, la calidad del pescado descongelado de tres mercados ubicados en la ciudad de São Luis-MA. Las muestras de deshielo de pescado se recolectaron en tres mercados ubicados en el centro de la ciudad de São Luis-MA y se enviaron al Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Agua de la Universidad Federal de Maranhão, Campus São Luis. Los parámetros analizados fueron: coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* mediante la técnica del Número Más Probable (NMP), con pruebas de diferenciación de los termotolerantes y sulfito de *Clostridium reductor* mediante la técnica estratificada. Se encontró que las muestras analizadas mostraron una variación de 1100 a 2400 NMP / 100 mL en el recuento de coliformes termotolerantes, mientras que *Pseudomonas aeruginosa* mostró una variación de 29 a 2400 NMP / 100 mL. Del total de muestras, el 43,3% estaba contaminado con *Escherichia coli* y el 56,7% con sulfito reductor de *Clostridium*. Se concluye que los deshielos de los pescados analizados fueron considerados fuera de los estándares según la Ordenanza No. 5/2017 del Ministerio de Salud por representar un riesgo para la salud de la población.

Palabras clave: Coliformes; Descongelar; Consumo; Contaminación.

1. Introdução

O pescado possui grande importância na alimentação humana, pois é considerado um produto altamente proteico e com características específicas. A sua qualidade deve ser tratada em virtude desse alimento ser perecível e proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento de microorganismos patogênicos desfavoráveis à saúde dos consumidores (Brasil, 2005).

Aproximadamente 17% do consumo de proteínas no mundo estão relacionados ao consumo de pescado, podendo chegar a 70% em países costeiros e insulares (Fao, 2014). De toda produção mundial de pescados em 2017, mais de 75% foi destinada para o consumo humano. O consumo de peixes frescos praticamente dobrou nos últimos noventa anos, sendo o produto pesqueiro de maior relevância no mercado, seguido de peixes congelados, enlatados e curados (Fao, 2017).

O congelamento do pescado é o método mais utilizado para conservação do pescado e a água usada durante o processo deve ser isenta de microorganismos. O gelo resultante desse processo deve apresentar boas características microbiológicas a fim de não contaminar o pescado, sendo de fundamental importância o armazenamento para que não ocorram contaminações (Shamsuddeen, et al., 2010).

A presença de microorganismos no pescado pode ser reduzida ou eliminada através de boas práticas higiênicas de manipulação, conservação adequada através do tratamento pelo frio possibilitando assim a obtenção de um produto de boa qualidade no final da sua cadeia produtiva. Os procedimentos errôneos de manipulação e armazenamento podem favorecer o desenvolvimento de microorganismos no alimento, no qual poderão ocasionar intoxicações ou infecções alimentares, geralmente caracterizadas por vômitos e diarreias, além de outros distúrbios abdominais (Gonçalves, 2011).

O degelo do peixe pode revelar a qualidade em que se encontra o pescado e se o meio usado para conservação desde o início até o final do processamento na indústria foi eficiente. O correto congelamento mantém o frescor do pescado, o qual deve permanecer sob temperaturas próximas de 0°C, e, a água utilizada deve estar de acordo com os padrões de potabilidade preconizados na Portaria de Consolidação nº 5 de 28/09/2017 do Ministério da Saúde.

O degelo pode ser um meio de cultivo, devido aos nutrientes e até sangue presente do pescado que favorece o desenvolvimento microbiano, atuando como um veículo de contaminação ao pescado, comprometendo sua qualidade, principalmente se for preparado com água contaminada por microorganismos que suportem temperaturas elevadas (Vieira & Saker-Sampaio, 2004).

Alguns microorganismos vêm sendo utilizados como indicadores na avaliação da qualidade microbiológica de água ao longo dos anos, e mais recentemente nos alimentos. Essas espécies podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação e sobre a presença de patógenos, causadores de doenças infecciosas tais como a cólera, disenterias e febres entéricas (Campos, et al., 2017).

Esses patógenos são encontrados no solo, no intestino humano e de outros animais. Sua presença em água indica contaminação fecal remota, podendo indicar também contaminação por solo do reservatório ou fonte contaminada por águas superficiais, além de falhas nas boas práticas de fabricação (Sanchez, 2015).

Diante do exposto, a pesquisa foi realizada com o objetivo de analisar a qualidade microbiológica quanto a presença de coliformes termotolerantes, presença de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e o *Clostridium sulfito redutor* do degelo de peixe de três mercados localizados na cidade de São Luís/MA.

2. Metodologia

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Programa Controle de Qualidade de Alimentos e Água do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Campus São Luís.

2.1 Coleta de amostras

Foram coletadas 30 amostras de degelo de peixe de três mercados na cidade de São Luís/MA com maior fluxo de consumidores. No período de dezembro de 2017 a junho de 2018, de cada estabelecimento foram adquiridas dez amostras cedidas pelos funcionários no ponto de venda dos peixes. Após a coleta, as amostras foram embaladas assepticamente, acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia de Água e Alimentos da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) para o início das análises.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as técnicas recomendadas pelo Compêndio de Métodos para o Exame Microbiológico de Alimentos (Apha, 2001).

2.2 Pesquisa e quantificação do número mais provável (NMP/g) de coliformes termotolerantes (45°C)

Os coliformes a 45°C foram determinados pela técnica de tubos múltiplos. Onde 25 mL de cada amostra foram diluídos em 225 mL de solução salina estéril a 0,85% de NaCl, a fim de obter a diluição 10^{-1} . As análises foram realizadas com essa diluição. Primeiramente no teste presuntivo com três series de tubo em triplicata, transferiu-se da amostra 10 ml para a primeira série de tubos contendo caldo Lactosado duplo de 1 e 0,1 para as séries de tubos com caldo lactosado simples com incubação a 37 °C por 24-48 horas e considerados positivos aqueles que apresentaram multiplicação bacteriana caracterizado por turvação do meio e produção de gás. Os tubos positivos no teste presuntivo foram repicados com o auxílio de uma alça de platina para tubos com caldo *Escherichia coli* (EC).

Logo depois, os tubos foram incubados no banho-maria a 45 °C por 24h. Após o período de incubação verificou-se os tubos com turvação do meio e produção de gás, sendo confirmada a presença de coliformes termotolerantes na amostra. O resultado foi analisado a partir do número de tubos de EC positivos em que os valores do Número Mais Provável (MPN/mL) foram determinados com o auxílio da tabela Hoskis (Apha, 2001).

2.3 Isolamento e identificação bioquímica de espécies da família *Enterobacteriaceae*

As análises realizadas para a identificação de *Enterobacteriaceae* foram realizadas a partir de tubos positivos do caldo EC, com sua inoculação semeada pela técnica de esgotamento para placas com Agar Azul de Eosina de Metileno (EMB) e Agar de Mac Conckey (MC) a 35 °C por 24 horas. As colônias foram isoladas em ágar TSA (Agar Tripton de Soja) e

incubadas a 35 °C por 24h, depois identificadas por testes bioquímicos convencionais (caldo malonato, teste de vermelho de metila e voges–proskauer, indol, motilidade, H₂S, carboidratos, ornitina e ureia).

2.4 Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*

Para a pesquisa da presença de *Pseudomonas aeruginosa* foi utilizado a técnica de tubos múltiplos. O ensaio foi realizado em duas etapas: ensaio presuntivo e confirmativo. O ensaio presuntivo foi realizado com tubo contendo o caldo *Pseudomonas* para crescimento de microrganismo com formação de fluorescência observada sobre a luz UV (360 ± 20nm), depois da inoculação a 35±2 °C por 24/72h. O ensaio confirmativo é baseado na análise positiva dos tubos de acetamida, que foram inoculados com 1 mL dos positivos de caldo *Pseudomonas*, e consiste na capacidade da bactéria produzir amônia e ácido acético a partir da acetamida com mudança de pH do meio e alteração da cor da laranja para rosa intenso.

2.5 Pesquisa de *Clostridium sulfito redutores*

A presença de *Clostridium sulfito redutores* foi verificada pela técnica sobre camadas, empregando-se uma camada de Ágar sulfato polimixinasulfadiazina (SPS) em placas contendo 1 mL de cada amostra, após homogeneização e solidificação da primeira camada, outra camada de Ágar SPS é adicionada e após a nova solidificação as placas são incubadas a 46 °C em jarras de anaerobiose por 48 horas. A coloração negra na placa evidencia presença de *Clostridium sulfito redutor*, foram realizados teste de coloração de Gram, para confirmar a presença de bastonetes Gram-positivos retos esporulados ou não. Logo após essa confirmação foram realizados testes bioquímicos para confirmação de *Clostridium*: teste de motilidade e de redução do nitrato, fermentação da lactose e liquefação da gelatina e fermentação da rafinose.

2.6 Avaliação do perfil antimicrobiano das bactérias isoladas do degelo de peixe frente a antibióticos convencionais

Foram testadas cepas isoladas do degelo de peixe. As cepas microbianas utilizadas foram repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35° C até atingirem a fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma suspensão microbiana com a turbidez comparável a solução padrão de McFarland 0,5 (1,5 x 10⁸ UFC/mL) de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (Clsi, 2015). As suspensões microbianas foram testadas frente a antimicrobianos comerciais com concentração definida: ampicilina (AMP, 10µg), gentamicina (GEN, 10µg), Cefalotina (CFL, 20µg) e tetraciclina (TET, 30µg). Foi adotado o método de difusão de disco (MDD), em que foram distribuídas em superfícies de placas com Agar Plate Count (PCA) suspensão microbiana e deixada em repouso a temperatura ambiente por 30 min. Logo após são aderidos discos com antibióticos no centro das placas com auxílio de pinça esterilizada (BAUER, 1966). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Esses ensaios foram feitos em triplicata (Clsi, 2015).

2.7 Análise estatística

A partir dos resultados das médias seguidas de ± desvio padrão à análise de variância (ANOVA) de um fator e quando esta análise apresentou variação significativa (p<0,05) foi utilizado o teste de comparação múltipla de Tukey. Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se o software GraphPad Prism (versão 7.0).

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise microbiológica do degelo do Peixe

Das 30 amostras de degelo de peixe analisadas, 100% (n = 30) apresentaram valores de coliformes a 45 °C acima de 1000 NMP/mL. Em se tratando de degelo de peixe podemos analisar os resultados segundo a legislação do uso do gelo

conforme a Portaria de Consolidação Nº 5 de 28/09/2017 do Ministério da Saúde. O gelo para consumo humano deve ser isento de coliformes em 100 mL da amostra.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adota algumas medidas de segurança quanto à presença de microrganismos em pescado exposto a venda e a exportação, através de sua Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001; e estabelece valores para a presença de *S. aureus* que preconiza um limite de 10^3 UFC/g para *e Salmonella sp.* ausência (Brasil, 2001). Soares, et al., (2012) afirmando que as bactérias no qual a legislação estabelece limites não alteram a aparência do pescado, mas a legislação é rigorosa quanto a sua presença, pois as mesmas são patogênicas ao homem.

De acordo com os resultados da tabela 1, as amostras de degelo tiveram variação do Número Mais Provável de coliformes (NMP/mL) a 45°C entre 1100 a 2400 nos mercados A (amostras de 1 a 10), B (amostras de 11 a 20) e no C (amostras de 21 a 30). Nesta faixa, todas as amostras estavam impróprias, segundo a Portaria de Consolidação nº 5 de 28/09/2017 do Ministério da Saúde.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas de amostras de degelo de peixe comercializadas no município de São Luis/MA.

Amostras	NMP/mL de Coliforme a 45°C	<i>Escherichia coli</i>	NMP/mL de <i>P. aeruginosa</i>	<i>Clostridium sulfito redutor</i>
1	2400	Ausência	2400	Presença
2	1100	Presença	2400	Presença
3	2400	Ausência	2400	Ausência
4	1100	Ausência	1100	Presença
5	2400	Presença	2400	Ausência
6	2400	Presença	2400	Presença
7	2400	Ausência	2400	Presença
8	2400	Presença	2400	Ausência
9	2400	Presença	2400	Presença
10	2400	Presença	2400	Ausência
11	2400	Presença	2400	Presença
12	2400	Presença	2400	Presença
13	2400	Presença	2400	Ausência
14	2400	Ausência	2400	Ausência
15	2400	Ausência	2400	Ausência
16	2400	Ausência	2400	Presença
17	2400	Ausência	2400	Ausência
18	2400	Ausência	2400	Ausência
19	2400	Ausência	1100	Presença
20	1100	Ausência	1100	Ausência
21	2400	Presença	2400	Presença
22	2400	Presença	2400	Presença
23	2400	Presença	2400	Ausência
24	2400	Presença	2400	Presença
25	2400	Ausência	2400	Presença
26	2400	Ausência	53	Ausência
27	2400	Ausência	29	Ausência
28	2400	Ausência	2400	Presença
29	2400	Ausência	2400	Presença
30	2400	Ausência	2400	Presença

Número mais provável (NMP/mL). Fonte: Autores (2020).

A contaminação verificada nas amostras de degelo indica que as condições higiênico-sanitárias são insatisfatórias, visto que os coliformes termotolerantes se multiplicam e se mantêm viáveis por longos intervalos de tempo, devido às altas concentrações de nutrientes e temperatura adversas.

Peixoto (2009), ao realizar análise microbiológica do gelo usado no mercado de peixes em Fortaleza – CE, verificou alta contaminação de coliformes termotolerantes $<3 \text{ a } 24 \times 10^3 \text{ NMP/100mL}$. Giampietro e Rezende-Lago (2009) relataram um NMP de coliformes termotolerantes alto em amostras de gelo utilizado na conservação de pescado fresco. Esses microrganismos podem diminuir a vida útil do pescado.

Das trinta amostras analisadas 43,3% estavam contaminadas com *Escherichia coli* como pode ser verificada na tabela 1, a presença de *E. coli* e outras bactérias nas amostras de degelo é preocupante, pois indica que a água utilizada durante o congelamento do peixe possivelmente teve contato direto ou indireto com contaminação fecal, evidenciando a má qualidade da matéria prima utilizada ou falhas durante o processo de congelamento.

O mesmo foi verificado por Falcão, et al., (2002) ao analisarem o gelo utilizado para refrigerar peixes em Araraquara, SP confirmando a presença de *Escherichia coli*, uma bactéria indicadora de contaminação fecal.

Pesquisa realizada por Gerokomou, et al., (2011) estudando a qualidade microbiológica do gelo utilizado em alimentos na Grécia, detectaram a presença de *Escherichia coli* e outras estirpes patogênicas, e logo ficou evidente que o gelo usado na preservação de peixes e frutos do mar estavam em más condições higiênico-sanitárias, podendo assim representar um risco à saúde pública.

Tais falhas podem estar ligadas à falta de higienização dos manipuladores, contaminação cruzada por utensílios e equipamentos ou inadequada limpeza e desinfecção de equipamentos e materiais utilizados na preparação da matéria-prima. A contaminação pode estar associada também ao pescado presente ou aos manipuladores que estão diretamente em contato com a matéria prima no ponto de venda.

A presença de *P. aeruginosa* em 100% das amostras analisadas demonstrou segundo Gram e Dalgaard (2002), que a temperatura é um fator extrínseco que contribui para a velocidade do desenvolvimento de bactérias em pescado e acaba favorecendo o desenvolvimento principalmente de *Pseudomonas spp.*, e por utilizarem aminoácidos causa odores desagradáveis.

Vieira (2011), relata que pescado com deterioração avançada possuem uma população bacteriana ativa e composta por vários gêneros e espécies, e que pescado em refrigeração são seletivos apresentando principalmente como *Pseudomonas spp.*, *Shewanella putrefaciens* e *Aeromonas spp.*, gêneros e espécies relacionadas com a decomposição do pescado. Logo a presença de *P. aeruginosa* nas amostras de degelo dos pescados demonstra que estes podem estar sofrendo o processo de deterioração.

Costa, (2006) e Novotny, et al., (2004), afirmam que as análises microbiológicas realizadas em peixe e frutos do mar demonstram que as doenças transmitidas por alimentos (DTA's) nesses grupos específicos são consideradas de alto risco, principalmente pois estão envolvidas bactérias como *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* tipo E, e *Vibrio parahaemolyticus*.

Foi verificado em 56,7% das amostras de degelo contaminado por *Clostridium sulfito redutor*. A presença de *Clostridium* no degelo de peixe é preocupante, pois vem sendo associado a vários surtos de intoxicação alimentar, essa bactéria pode ser encontrada em solo, água, alimentos, poeira, especiarias e até mesmo no trato intestinal do homem e de outros animais (Forsythe, 2002; Vieira, 2004).

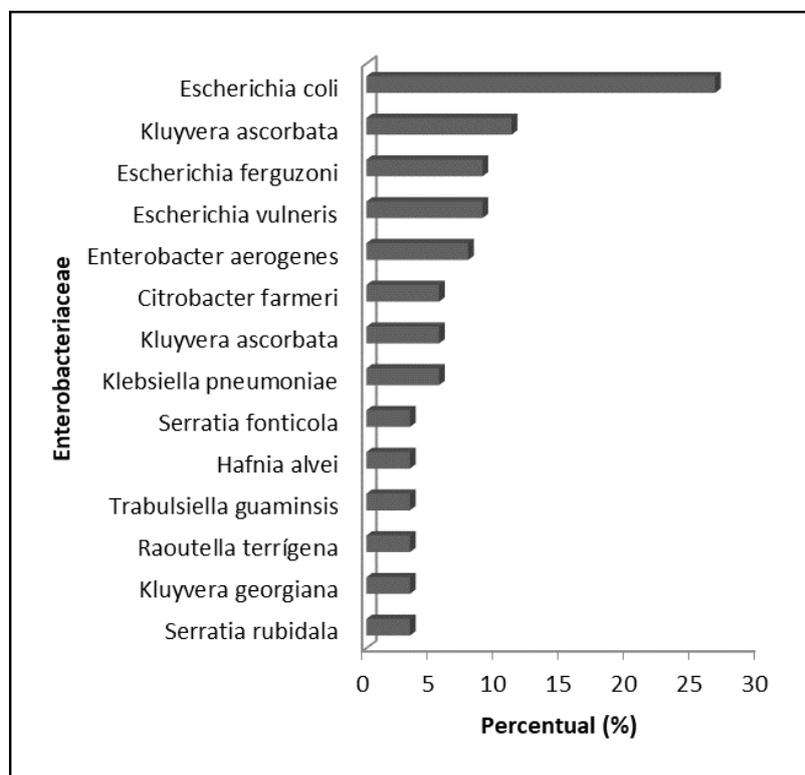
A Resolução Nº 12, de 2 de janeiro de 2001 consta limite de *Clostridium sulfito redutores*, somente para produtos cárneos crus e cozidos, refrigerados, congelados, embutidos, patês, sanduíches e pratos prontos para o consumo, em limites que variam de 3×10^2 a 3×10^3 UFC/g (Brasil, 2001).

Em pesquisa realizada por Nunes, et al., (2012) verificou-se a presença do gênero *Clostridium perfringens* em pescados salgado seco demonstrando que teve contato, em algum momento, com contaminação fecal e manipulação inadequada durante o processamento tecnológico e o armazenamento.

Mesmo a legislação vigente não abordando a presença de *Clostridium* sulfito redutores em pescados in natura a nossa pesquisa identificou a presença de *Clostridium* em algumas amostras estudadas, ficando evidente o perigo de intoxicação alimentar, pois espécies dessa bactéria são formadoras de esporo e podendo persistir nos alimentos mesmo após o cozimento, quando a maioria dos microrganismos entéricos já foi destruída.

Além das bactérias verificadas na Tabela 1 foram encontradas nas trinta amostras de degelo de peixe, espécies da família *Enterobacteriaceae* como pode ser verificado no Gráfico 1. Esses microrganismos deteriorantes multiplicam-se em proporções significativas na carne embalada a vácuo ou em atmosfera modificada quando estocada em temperaturas maiores que 10 °C (Jørgensen et al., 2017).

Gráfico 1. Percentual de *Enterobacteriaceae* em trinta amostras de degelo de peixe comercializadas no município de São Luis/MA.



Fonte: Autores (2020).

As cepas da família *Enterobacteriaceae* identificadas no degelo de peixe são bioindicadores de higiene, e por serem bactérias habitantes normais do trato intestinal do homem e dos animais, são, portanto, úteis na avaliação da segurança dos produtos alimentares. Pesquisas afirmam que a presença da família *Enterobacteriaceae* é um fator determinante para verificar a higiene do alimento (Franco, 2004; Yeboah-Manu, et al., 2015).

3.2 Atividade antimicrobiana das *Enterobacteriaceae* frente a antibióticos de uso comercial

Realizar pesquisas que determinam a resistência de bactérias presentes em alimentos é de fundamental importância e a tabela 2, mostra a atividade antimicrobiana de uma lista de *Enterobacteriaceae* isoladas de degelo de peixe frente antibióticos de uso comercial.

Tabela 2. Resultado da atividade antibacteriana de enterobactérias isoladas de degelo do peixe frente a antibióticos de uso comercial.

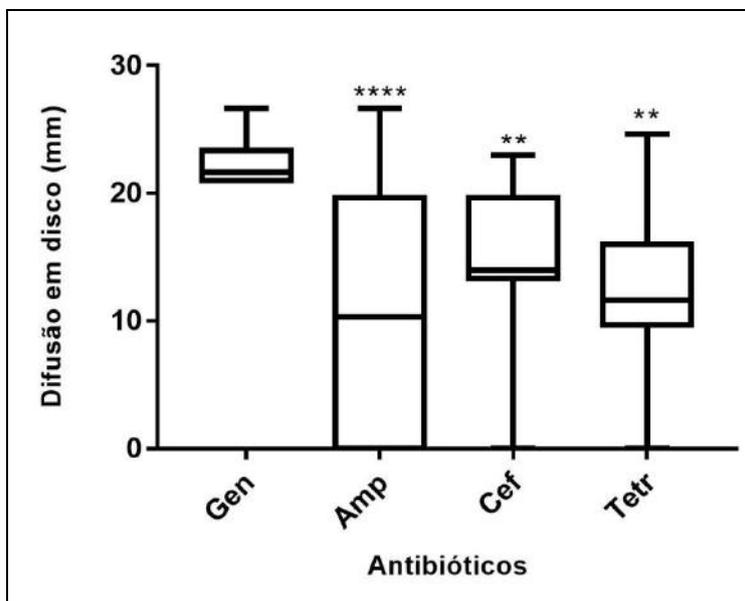
Bactéria (1,5 *10 ⁸ UFC. mL ⁻¹)	Diâmetro de inibição dos Antibióticos (mm)			
	Gentamicina	Ampicilina	Cefalotina	Tetraciclina
<i>Citrobacter farmeri</i>	21,33± 0,6667	12±0,5774	23±0,5774	21,67±0,8819
<i>Enterobacter aerogenes</i>	21,67± 0,3333	21±0,5774	13,67±0,3333	11,33±0,6667
<i>Enterobacter aerogenes</i>	21± 0,5774	19,67±0,3333	13,33±0,6667	11,67±0,3333
<i>Escherichia coli</i>	26,67± 1,202	8,333±0,3333	13,67±0,3333	24,67±0,3333
<i>Escherichia fergusonii</i>	23,33± 0,8819	10,33±0,3333	13,33±0,6667	12,67±0,3333
<i>Escherichia vulneris</i>	24,33± 0,8819	SI	19,67±0,3333	16±1
<i>Hafnia alvei</i>	21,67± 0,8819	9,667±0,3333	SI	11,67±0,8819
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21± 0,5774	26,67±0,3333	22,67±0,3333	9,667±0,3333
<i>Kluyvera ascorbata</i>	21,67± 0,5774	SI	SI	14±0,5774
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	21± 0,5774	SI	14,67±0,3333	9,667±0,3333
<i>Kluyvera georgiana</i>	21± 0,5774	10±0,5774	19,67±0,3333	11,67±0,3333
<i>Raoultella terrigena</i>	21±0,5774	21,33±0,6667	17,33±0,8819	24,67±0,3333
<i>Serratia fonticola</i>	23± 0,5774	SI	14±0,5774	SI
<i>Serratia rubidula</i>	24,67± 0,5774	10,33±0,3333	17,67±0,3333	12±0,5774
<i>Trabulsiella guamensis</i>	21,67± 0,5774	12,67±0,3333	SI	9,667±0,3333

SI: sem inibição. Fonte: Autores (2020).

Diversos microorganismos isolados de alimentos podem ser multirresistentes à infecção hospitalar o que nos proporciona grande preocupação. Pesquisas demonstram que automedicação inadequada proporciona aumento significativo da resistência.

Foi realizado o teste Tukey's de múltipla comparação e verificou-se que dos quatro antibióticos testados apenas a gentamicina foi diferente estatisticamente dos outros três antibióticos, conforme o gráfico 2, e a gentamicina demonstrou ser mais eficaz no combate a uma possível infecção bacteriana.

Gráfico 2. Determinação do antibiótico, mas eficaz frente as bactérias isoladas do degelo de peixe. Valores médios (n=3). O símbolo * é todos os antibióticos que diferem da gentamicina segundo o teste de variância (ANOVA) fator único, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey (****p<0,0001, **p<0,05).



Gen: gentamicina; Amp: Ampicilina; Cef: Cefalotina; Tetr: Tetraciclina. Fonte: Autores (2020).

Como pode ser verificado na Tabela 2 e no Gráfico 2, o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos de uso comercial vem crescendo. Isto demonstra que está havendo um uso descontrolado de antibióticos pela população, se automedicando ficando cada vez mais evidente a relação entre um maior consumo de antibióticos e níveis mais elevados de resistência microbiana, uma vez que bactérias que antes eram sensíveis aos antibióticos usualmente utilizados deixaram de responder a esses mesmos agentes. (WHO, 2005).

As bactérias Gram-negativas possuem um importante mecanismo de resistência aos antibióticos que é a produção de enzimas β -lactamases (Hawkey & Jones, 2009). As *Enterobacteriaceae*, devido à presença de enzimas β -lactamases desenvolveram resistência ao uso de ampicilina e cefalotina, assim como uso de carbapenemos no tratamento de infecções (Hawkey, 2008).

Diante dos resultados foi possível verificar nas amostras analisadas de degelo de peixe a presença de coliformes termotolerantes, *Pseudomonas aeruginosa* e o *Clostridium sulfito redutor*, assim como a presença de enterobactérias que apresentaram maior sensibilidade frente a gentamicina como pode ser comprovado nas análises deste estudo.

4. Considerações Finais

Os resultados obtidos para a avaliação microbiológica revelaram a falta de condições higiênico-sanitárias das amostras de degelo de peixe, sendo necessária uma intervenção no processo de congelamento até a distribuição e comercialização no ponto de venda. Além disso, os resultados satisfatórios obtidos para os antibióticos de uso comercial testados garantem a utilização da gentamicina, enfatizando seu poder de sensibilidade frente as Enterobactérias isoladas de degelo de peixe testadas.

Referências

APHA - American Public Health Association. (2001). Committee on microbiological methods for foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. (4th ed.) American Public Health Association. 676p.

- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. (2001). Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2005). Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004, Boletim Eletrônico Epidemiológico, 6(5), 1-7.
- Brasil. (2017) Ministério da Saúde. Portaria nº de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, 28 Dez
- Campos, D. A. G., Franco, J. M., Filho, B. A. A., Bergamasco, R. & Yamaguchi, N. U. (2017). Avaliação Da Qualidade Da Água Destinada Ao Consumo Humano Em Instituição De Ensino. RUVRD.15(1): 289-98.
- CLSI. (2015). M02-A12: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, *Approved Standard - Twelfth Edition*
- Costa, R.A. (2006). Pesquisa de Vibrio no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no estado do Ceará. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, 90 p., Fortaleza.
- Falcão, J. P., Dias, A. M. G., Correa, E. F., & Falcão, D. P. (2002). Microbiological quality of ice used to refrigerate foods. *Food Microbiology*, 19, 269-276.
- Food and Agriculture Organization. Utilization and trade. Disponível em http://www.fao.org/fishery/utilization_trade/en.
- Food and Agriculture Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Rome. 223 pp.
- FORSYTHE, S. J. (2002). Microbiologia da segurança alimentar. *Artmed*, p. 155-168.
- Gerokomou, A. V., Voidarou, B. C., Vatopoulos, C. A., Velonakis, C. E., Rozos, D. G., Alexopoulos, D. A., Plessas, D. S., Stavropoulou, E. E., Bezirtzoglou, D. E., Demertzis, A. P. G., & Akrida-Demertzi, K. (2011). Physical, chemical and microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Greece and its public health implications. *Anaerobe*, 17, 351 -353.
- Giampietro, A., & Rezende-Lago, N. C. M. (2009). Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco. *Arquivo do Instituto Biológico*, 76(3), 505-508.
- Gonçalves, A. A. (2011). Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. Atheneu.
- Gram, L. & Dalgaard, P. (2002) Fish Spoilage Bacteria Problems and Solution. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 262-266.
- Hawkey P. M, & Jones A. M. (2009). The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother*. 64 Suppl 1:i3–10
- Hawkey, P. M. (2008). The growing burden of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*. 62 Suppl 1:i1–9.
- Novotny, L., Dvorska, L., Lorencova, A., Beran, V., & Pavlik, I. (2004). Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Vet. Med. - Czech*, 49(9), 343-358.
- Nunes, E. do S. C. de L., Franco, R. M., Mársico, E. T., Nogueira, E.B., Neves, M. da S., & Silva, F. E. R. (2012). Presença de bactérias indicadoras de condições higiênico-sanitárias e de patógenos em Pirarucu (*Arapaima gigas* Shing, 1822) salgado seco comercializado em supermercados e feiras da cidade de Belém, Pará, *R. bras. Ci. Vet.*, 19(2), 98-103.
- Peixoto, J. R. O. (2009). Avaliação higiênico-sanitária do gelo empregado no pescado fresco na feira do mucuripe – Fortaleza – Ce. Monografia (Especialização em Vigilância Sanitária de Alimentos) –Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual do Ceará.
- Sanchez, P. S. (2015). Atualização em Análises Microbiológicas em ÁguasMinerais. Apostila. 62p.
- Shamsuddeen, U., Bukar, A., Usmanad, A. D., Kabir, M. H. & Abdulmalik, S. A. (2010). Bacteriological quality of water used for ice making in some parts of Kano metropolis, Nigeria. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1), 199 – 201.
- Vieira, R. H. S. F. (2011). Aspectos Sensoriais do Pescado. In: Gonçalves, A. A. (2011). Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. 1 ed. Editora Ateneu, p. 21-32.
- Vieira, R. H. S. F., & Saker-Sampaio, S. (2004). Emprego de gelo nos barcos. In: Vieira, R.H. S. F. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. Varela, 2004. cap. 02. p. 37-39.
- World Health Organization. Containing antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: WHO, 2005. (WHO Policy Perspectives on Medicines, 10).