

BACTÉRIAS FECAIS EM OSTRAS, *Crassostrea rhizophorae*

Fecal bacteria from oysters, *Crassostrea rhizophorae*

Ana Isabel Mota Silva¹, Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira²,
Francisca Gleire Rodrigues de Menezes³, Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima⁴,
Susy Margella Melo do Nascimento⁵, Fátima Cristiane Teles de Carvalho⁶

RESUMO

As ostras são organismos filtradores, capazes de acumular concentrações elevadas de microrganismos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica desses moluscos bivalves originários de um criadouro natural no estuário do Rio Cocó, Sabiaguaba, Fortaleza, Ceará. Para isso, foi feita a estimativa do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Fecais (CF) e a pesquisa de Salmonella. Os valores encontrados para CF no músculo (com líquido intervalvar) variaram de <1,8 a 920 por grama. A presença de Salmonella foi confirmada em 21 (70%) das 30 amostras analisadas.

Palavras-chaves: ostras, coliformes fecais, Salmonella

ABSTRACT

Oysters are filter-feeding organisms which can accumulate high concentrations of microorganisms. This study is aimed to evaluate the microbiological quality of oysters from a natural growing site located at the Cocó river, Fortaleza, Ceará State, Brazil. An estimate of Most Probable Numbers (MPN) of Fecal Coliforms (FC) was performed, and the presence of Salmonella was tested. The values of MPN of Fecal Coliforms ranged between <1.8 and 920 per gram. Salmonella was found to occur in 21 of 30 tested samples (70%).

Key words: oysters, fecal coliforms, Salmonella.

¹ Mestre em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza. E-mail: isabmota@yahoo.com.br

² Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Av. da Abolição, 3207, Fortaleza, CEP 60165-081, Brasil.

³ Mestranda em Ciências Marinhas Tropicais, Instituto de Ciências do Mar.

⁴ Bolsista do Programa Especial de Treinamento – PET.

⁵ Mestre em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará.

⁶ Bióloga, bolsista do Instituto de Ciências do Mar.

INTRODUÇÃO

A microbiota da carne das ostras está diretamente relacionada ao ambiente do qual ela se origina (Zamarioli *et al.*, 1997). Portanto, esses moluscos oferecem um grande risco no seu consumo por serem filtradores e bioacumuladores de microrganismos, razão por que são muito usados como bioindicadores.

Os riscos associados ao consumo de moluscos, em muitos países, determinaram o desenvolvimento de um conjunto de normas próprias no processo de comercialização, baseadas em análises microbiológicas da água de cultivo e/ou da sua carne. A maioria dos padrões normativos quantifica coliformes, pois este grupo é indicador da contaminação fecal (Machado *et al.*, 2001).

Além dos Coliformes Fecais (CF) outro indicador de contaminação fecal são as salmonelas que, segundo a legislação de alimentos, devem estar ausentes em 25 gramas de qualquer alimento para o consumo humano (BRASIL, 2001).

Os objetivos da presente pesquisa foram avaliar o Número Mais Provável (NMP) de CF, investigar a presença de *Salmonella* das amostras de ostras, *Crassostrea rhizophorae*, de um criadouro natural no estuário do rio Cocó, Fortaleza – Ceará e determinar os fatores físico-químicos (temperatura, pH e salinidade) de suas águas.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas no estuário do rio Cocó, região de Sabiaguaba no município de Fortaleza-CE, sendo as amostras constituídas do músculo total da ostra, compreendendo o músculo inserido no interior das conchas e o líquido intervalvar, conjuntamente.

A temperatura e a salinidade da água do local de coleta das ostras foram medidas com auxílio de um termômetro (Incoterm) e refratômetro (Atago S/MILL), respectivamente. A água era transportada ao Laboratório em garrafa de cor âmbar de 500 mL e acondicionada em caixa isotérmica, cujo pH foi medido através de um medidor Micronal B-347.

Foram realizadas 30 coletas, no período de março a outubro de 2002, sendo cada uma correspondente a uma amostra, composta de 10 ostras, perfazendo a análise de um total de 300 indivíduos. As coletas foram sempre realizadas em marés baixas.

As amostras eram transportadas em caixas isotérmicas até o Laboratório de Microbiologia, do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará logo após a captura, para então se proceder às análises microbiológicas.

As ostras, depois de passarem pelo processo de limpeza com lavagem em água corrente, eram abertas

asepticamente, pesadas 50 g de carne e homogeneizadas com 450 mL de salina a 0,85% estéril, sendo esta correspondente à diluição 10^{-1} . As demais diluições (10^{-2} a 10^{-6}) também foram feitas com o mesmo diluente.

O NMP de CF foi determinado através da técnica de fermentação em tubos múltiplos, segundo Feng *et al.* (2002). O cálculo do NMP foi feito através da consulta à tabela de Garthright (2001).

A investigação da presença de *Salmonella* nas amostras foi realizada de acordo com Silva *et al.* (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores para CF encontrados nas amostras variaram de <1,8 a 920/g (Tabela I). De um total de 30 amostras de ostras, nove (30%) apresentaram valores

Tabela I - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Fecal e pesquisa de *Salmonella* no músculo (com líquido intervalvar) das ostras, *Crassostrea rhizophorae*, coletadas no estuário do rio Cocó, associado aos parâmetros físico-químicos (temperatura, pH e salinidade).

Coleta	Coliformes Fecais		<i>Salmonella</i>	T(°C)	pH	Salinidade(‰)
	absoluto	log				
1	<1,8	0,26	Presença	32	6,7	0
2	32	1,51	Presença	29	7,4	1
3	220	2,34	Presença	30	7,5	2
4	220	2,34	Presença	29	6,8	18
5	120	2,08	Presença	30	8,0	35
6	<1,8	0,26	Presença	28	7,5	34
7	94	1,97	Presença	28	6,4	1
8	20	1,3	Ausência	28	6,5	2
9	49	1,69	Ausência	29	6,4	2
10	47	1,67	Presença	30	6,5	2,5
11	110	2,04	Presença	28	6,7	2,5
12	540	2,73	Presença	29	7,0	7
13	79	1,9	Presença	30	7,4	8
14	23	1,36	Ausência	32	8,0	9
15	17	1,23	Presença	28	7,1	22
16	33	1,52	Presença	28	6,9	32
17	9,2	0,96	Ausência	30	7,6	17
18	<1,8	0,26	Presença	29	7,8	15
19	350	2,54	Ausência	28	7,3	20
20	<1,8	0,26	Ausência	29	7,6	28
21	220	2,34	presença	30	7,2	27
22	<1,8	0,26	Presença	27	7,7	25
23	110	2,04	Ausência	29	7,6	31
24	23	1,36	Presença	31	7,9	20
25	3,7	0,57	Presença	32	7,0	24
26	94	1,97	Presença	28	7,3	12
27	920	2,96	Presença	27	7,5	36
28	<1,8	0,26	Ausência	30	7,5	33
29	1,8	0,26	Ausência	31	7,5	25
30	4	0,6	Presença	30	7,9	20

de CF acima de 10^2 /g. No entanto, os padrões estabelecidos pela Resolução 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) não regulam bivalves *in natura* que serão consumidos crus. Porque ostras são moluscos que normalmente são ingeridos sem nenhum cozimento, valemo-nos do artigo 22, alínea d, da mesma Resolução (limites bacteriológicos para pratos que serão consumidos prontos) no qual os índices máximos aceitáveis para coliformes são de 10^2 /g. Nesse caso, as nove amostras estariam fora dos padrões.

Sanchez *et al.* (1991) encontraram em ostras coletadas no litoral do Estado de São Paulo níveis de CF que variaram de 7,0 a $3,0 \times 10^5$. Maiores portanto, que os encontrados na presente pesquisa.

Machado *et al.* (2001) sugerem que a determinação de CF em tecidos moles e líquido intervalvar, para avaliar a qualidade dos moluscos, produzidos com fins comerciais, apresenta maiores possibilidades como padrão de normatização no cultivo do que a análise da água das áreas produtivas.

Cerutti & Barbosa (1991) afirmam que além da adaptação da bactéria ao ambiente marinho, fatores como a resistência bacteriana à degradação enzimática e utilização do conteúdo digestivo como fonte de nutrientes são provavelmente decisivos na seleção das bactérias pelos bivalves.

A ocorrência de *Salmonella* foi verificada em 56,6% das amostras, fato muito preocupante uma vez que a Legislação impõe ausência total dessa bactéria para qualquer amostra aleatória de 25 g (BRASIL, 2001). Desta forma, os moluscos bivalves do rio Cocó analisados encontram-se impróprios para o consumo humano, representando um perigo potencial para a segurança alimentar.

Peresi *et al.* (1998), descrevendo surtos de salmonelose ocorridos de julho de 1993 a junho de 1997 na região Noroeste de São Paulo, encontraram cepas de *Salmonella* Enteritidis tipo fagótipo 4 (PT4) em 80,5% de amostras de fezes e em todas as amostras de alimentos envolvidos. A excreção fecal prolongada de *Salmonella* é bem conhecida como uma conseqüência da infecção intestinal por *S. Typhimurium* (Murase *et al.*, 2000).

Nos Estados Unidos da América, salmonelas não tifóides têm sido associadas a peixes e crustáceos, enquanto *Salmonella* Paratyphi e *Salmonella* Enteritidis estão relacionados com camarões e moluscos bivalves. *Salmonella* Typhi tem sido o principal agente associado com doenças veiculadas por moluscos (Feldhusen, 2000).

Frazier & Westhoff (1993) destacam que as toxinfecções por *Salmonella*, assumem um caráter especial, pois sua presença não é denunciada pela alteração do aspecto, sabor ou outras características visíveis nos alimentos.

Segundo Duffy *et al.* (1999), embora a maioria dos surtos envolvendo essa bactéria tenha como veículo mais freqüente aves e ovos, um grande número de ali-

mentos, inclusive carne bovina, peixe, sorvete e chocolate, também têm sido implicados.

A temperatura da água do estuário do rio Cocó durante o presente estudo variou de 27 a 32°C, caracterizando águas tropicais. Dados semelhantes foram encontrados por Joventino & Lima-Verde (1988) para o estuário do rio Cocó, cuja variação de temperatura foi de 28 a 32°C, sendo os valores mais elevados observados nos últimos meses do ano. Os valores de pH encontrados nas águas do rio Cocó variaram de 6,4 a 8,0 (Tabela II).

Oliveira (1993), estudando a composição físico-química da água do estuário do rio Ceará, obteve valores de pH variando de 7,3 a 9,3 sendo os maiores valores correspondentes ao período de estiagem e início das chuvas.

A salinidade da água de cultivo variou de 0 a 36‰ (Tabela II), cujo valor mínimo foi registrado num dia chuvoso. O ponto de coleta onde fica o criadouro natural de ostras é notadamente influenciado pela oscilação das marés.

Tabela II – Valor de parâmetros físico-químicos da água do estuário do Rio Cocó, Fortaleza, Estado do Ceará.

Valores	Temperatura(°C)	pH	Salinidade (‰)
Mínimo	27	6,4	0
Máximo	32	8,0	36

Em 1991, o Conselho formado por países integrantes da Comunidade Econômica Européia (CE) criou uma planilha de classificação das zonas de produção de moluscos, baseada em análises do produto. No Chile e Brasil a legislação se baseia em padrões resultantes de análises da água (CHILE, 1988; BRASIL, 1981;1988,1991).

Seria importante, portanto, que o Brasil adotasse medidas semelhantes às recomendadas pela CE, com análises de bactérias de origem fecal no músculo e no líquido intervalvar, como parâmetro primário na normatização sanitária da atividade de produção da ostra *Crassostrea rhizophorea*. As ostras são muito apreciadas em todo o país, mas seu sistema de comercialização é feito sem qualquer fiscalização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brasil. Ministério da Agricultura. DIPOA. DIPES. Inf. 376/81. Processo MA-11/00214/81, 1981.
- Brasil. Ministério da Agricultura. DIPES. Inf. 097/88. Processo MA-24/0011881/88, 1988.

- Brasil. Ministério da Agricultura. *DIPES. Papeleta interna 036/91 de 28.11.91*, 1991.
- 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, 10 jan. 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em: 10 jun., 2002.
- Cerutti, R. L. & Barbosa, T. C. P. Flora bacteriana heterotrófica em ostras (*Crassostrea rhizophorea*) e águas da Baía Norte, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Rev. Microb.*, São Paulo, v. 22, p. 330-334, 1991.
- Chile. *Programa de Sanitização de Moluscos Bivalves* Ministério da Economia, Fomento e Reconstrução do Chile. Serviço Nacional de Pesca e Controle de Qualidade, Diretriz de 15.06.88, 1988.
- Duffy, G.; Cloak, O. M.; O'Sullivan, M. G.; Guillet, A.; Sheridan, J. J.; Blair, I. S. & McDowell, D. A. The incidence and antibiotic resistance profile of *Salmonella* spp. on Irish retail meat products. *Food Microb.*, v.16, p. 623-631, 1999.
- Feldhusen, F. *The role of seaffod in bacterial foodborne diseases*. *Microbes and Infection*, Paris, v.2, p.1651-1660, 2000.
- Feng, P.; Weagant, S. D. & Grant, M. A. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Sept. 2002. In: *Food and drug administration - FDA/CFSAN. Bacteriological Analytical Manual on line*. Jan. 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>. Acesso em: 14 jan. 2003.
- Frazier, W. C. & Westhoff, D. C. *Microbiología de los Alimentos*. Editorial Acribia, 4.ed, 681 p., Zaragoza, 1993.
- Garthright, W. E. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. In: *Food and Drug Administration - FDA. In: Bacteriological Analytical Manual on line. FDA/CFSAN*, 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>. Acesso em: 10 junho 2002.
- Joventino, F.P.; Lima-Verde, N. G. Ocorrência e distribuição de macroalgas no estuário do rio Cocó, Fortaleza, Brasil. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.27, p.83-89, 1988.
- Machado, I. C.; Paula, A. M. R.; Buzzo, A.; Jakabi, M.; Ristori, C. & Sakuma, H. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*). 2. Análise da ostra (tecidos moles e líquido intervalvar). *Rev. Hig. Alim.*, São Paulo, v. 15, n. 83, p. 44-48, 2001.
- Murase, T.; Yamada, M.; Muto, T.; Matsushima, A. & Yamai, S. Fecal excretion of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium following a food-borne outbreak. *J. Clin. Microb.*, Washington, v. 38, n. 9, p. 3495-3497, 2000.
- Oliveira, A. M. E. *Composição e distribuição ecológica da ictiofauna no estuário do Rio Pacotí/ Ceará/ Brasil*. Tese de Titular, Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, 149 p., Fortaleza, 1993.
- Peresi, J. T. M.; Almeida, I. A. Z. C.; Lima, S. I.; Marques, D. F., Rodrigues, E. C. A., Fernandes, S. A.; Gelli, D. S. & Irino, K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. *Rev. Saúde Pública*, v. 32, p. 477-483, 1998.
- Sanchez, P. S.; Stoppe, N. C.; Zanolli, M. I.; Martinez, S. C. G. L.; Ostini, S.; Segamarchi, A. L. & Almeida, G. L. Caracterização da qualidade microbiológica de águas marinhas e moluscos bivalves do litoral norte do estado de São Paulo, p. 430-445, in *Anais 16º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Goiânia, v. 1*, 1991.
- Silva, N.; Junqueira, V. C. A. & Silveira, N. F. A. Detecção de *Salmonella*, p. 41-52, in *Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos - Cap 5*. Varela, São Paulo, 1997.
- Zamarioli, L. A.; Pereira, O. M.; Faustino, J. S.; Henriques, M. B.; Vasques, R. O.; Andrade, T. C. & Santos, M. A. *Estudo microbiológico do tecido mole de bivalves Crassostrea brasiliana, Perna perna e Mytella falcata recém coletados nos bancos naturais do litoral da baixada santista*. Relatório Apresentado ao Grupo de Vigilância Sanitária DIR XIX, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, 1997.