

MINISTÉRIO DAS PESCAS
INSTITUTO NACIONAL DE INSPECÇÃO DO PESCADO
LABORATÓRIO DE INSPECÇÃO DO PESCADO DO MAPUTO

EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS NO CRESCIMENTO DO *VIBRIO CHOLERAE*, MICROORGANISMOS VIÁVEIS TOTAIS E BACTÉRIAS PRODUTORAS DE SULFITO DE HIDROGÉNIO H₂S

Elaborado por: Celina A. Malichocho

Inhambane, Dezembro de 2009

1. INTRODUÇÃO

A frescura é um dos aspectos mais importantes da qualidade do pescado porque os consumidores têm uma forte tendência para seleccionar pescado muito fresco.

Alguns micróbios são parte da flora natural do marisco, mas podem afectar negativamente a qualidade dos produtos se encontrarem boas condições de crescimento.

É importante controlar e prevenir o crescimento microbiano durante o manuseamento, processamento e conservação.

2. OBJECTIVOS

- Estudar o crescimento de *V. cholerae* em peixe vermelho moído e conservado a diferentes temperaturas durante o período de conservação.
- Observar o crescimento de microrganismos viáveis totais e bactérias produtoras de H₂S em peixe vermelho moído em diferentes temperaturas durante o período de conservação.

3. REVISÃO LITERÁRIA

3.1. *Vibrio cholerae* – cólera

Crescimento: temperaturas entre 10°C a 43 °C, pode crescer em ambientes com falta de NaCl e tolera até 3% de NaCl.

Eliminação: cozedura apropriada é suficiente para eliminar a maioria dos vibrios.

Transmissão: água contaminada, vegetais mal lavados, consumo de matéria-prima crua e contaminada.

Sintomas: leve a grave doença gastrointestinal, diarreia aquosa, vômitos, desidratação.

Prevenção: água limpa, boas práticas de fabrico, conservação a temperaturas <5°C e educação dos consumidores.

3.2. Situação da cólera em Moçambique

A primeira epidemia de cólera em Moçambique foi em 1859.

Moçambique em 2005 reportou um total de 2.226 casos com 24 mortos.

Em Moçambique *V. cholerae* é um problema de saúde pública.

3.3. Microorganismos viáveis totais (total viable count-TVC)

Os peixes capturados em águas muito frias, águas limpas transportam menor número de microrganismos que os peixes capturados em águas quentes que têm um número ligeiramente superior de contagens de colónias.

Muitas espécies bacterianas podem ser encontradas na superfície do peixe.

3.4. Bactérias produtoras de sulfeto de hidrogénio (H₂S).

Os organismos específicos de deterioração (Specific Spoilage Organisms- SSO) são os produtores dos metabolitos responsáveis pelo mau odor e maus sabores associados com a deterioração.

S. putrefaciens, *P. phosphoreum*, *Aeromonas spp.* e *Pseudomonas spp.* e *Vibrionaceae* produzem H₂S contendo enxofre a partir do aminoácido L-cisteína formando colónias negras em Iron agar.

4. METODOLOGIA

1 kg de peixe vermelho moído foi contaminado com 1 ml da cultura pura de *V. cholerae*.

Experiência –I: amostra conservada a -1.5, 0, 2, 4, 8 e 17°C.

Experiência –II: amostra conservada a 0, 8, 17, 22, 25 e 30°C.

Método do NMKL foi utilizado para investigação das bactérias.

Para *V. cholerae* foi feita a comparação para determinar a sensibilidade de inoculação directa em thiosulphate citrate bile salts sucrose agar (TCBS) e enriquecimento em água peptonada alcalina (APA) antes da sementeira em agar TCBS.

5. RESULTADOS

As amostras foram conservadas em diferentes temperaturas e analisadas para investigação de TVC, bactérias produtoras de H₂S e *V. cholerae*. As figuras seguintes mostram a contagem bacteriana de cada grupo em diferentes temperaturas de armazenamento e a comparação do crescimento de *V. cholerae* com dois procedimentos diferentes.

A **Error! Reference source not found.** abaixo mostra a carga bacteriana inicial (TVC) no 1º dia de conservação e com uma tendência crescente durante a conservação. TVC foi significativamente menor à baixa temperatura de conservação em comparação à elevada temperatura de conservação. A 0°C e 2°C, o número de bactérias começou a diminuir após 14º e 10º dias de conservação.

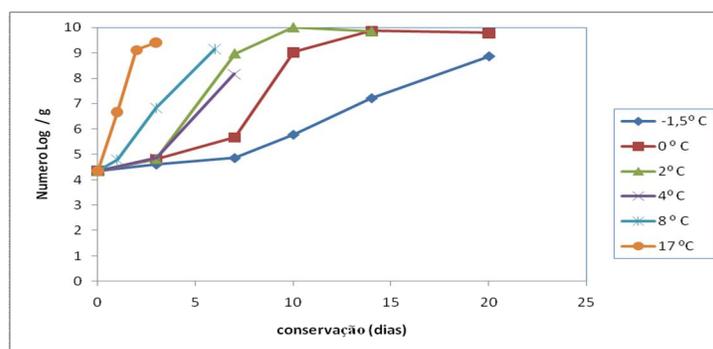


Figura 1: O crescimento de microrganismos viáveis totais no peixe vermelho moído em diferentes temperaturas de conservação, experiência - I

Os resultados mostram baixas proporções de bactérias produtoras de H₂S no primeiro dia. Após 3 dias, o número de bactérias produtoras de H₂S foi muito maior nas amostras conservadas a altas temperaturas (8 °C e 17 °C), em comparação com a de baixas temperaturas de conservação (-1,5 °C e 0 °C) (**Error! Reference source not found.**).

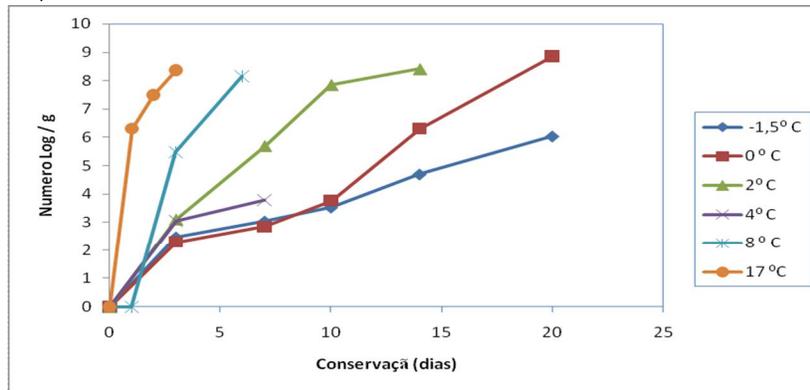


Figura 2: Crescimento de bactérias produtoras de H₂S em peixe vermelho moído em diferentes temperaturas de conservação, experiência - I.

Error! Reference source not found. e **Error! Reference source not found.** mostram que a 0°C e 8°C *V. cholerae* não cresceu. Com ambos os métodos, o número de colónias aumentou até o dia 4, após o qual começaram a diminuir, excepto a 30 °C, após enriquecimento (**Error! Reference source not found.**), e que começaram a diminuir após 2° dia. Sem o enriquecimento, o crescimento foi mais lento em todas as temperaturas e a 17°C o *V. cholerae* foi primeiramente detectado no 2° dia. Em alta temperatura *V. cholerae* cresceu mais rapidamente do que a baixa temperatura.

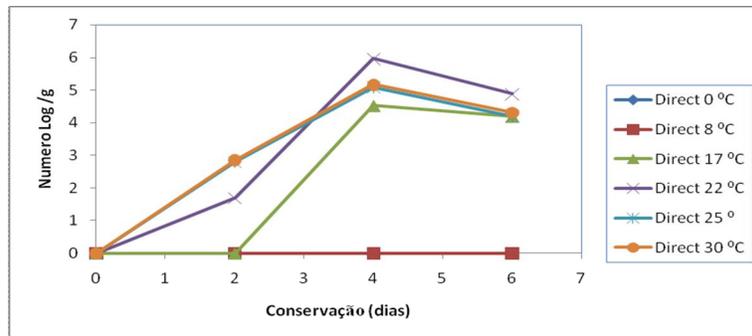


Figura 3: Crescimento de *V. cholerae* em peixe vermelho moído em diferentes temperaturas de conservação, experiência-II

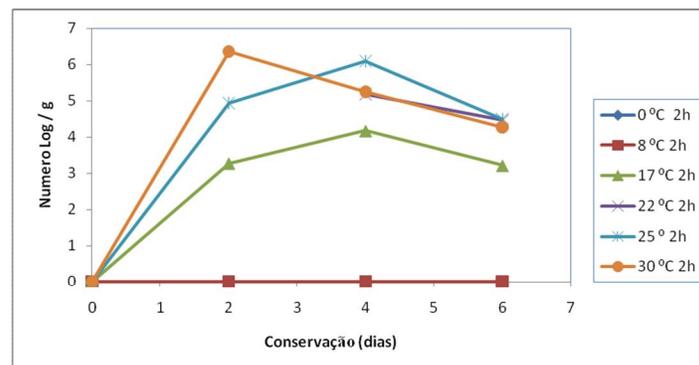


Figura 4: Crescimento de *V. cholerae* em peixe vermelho moído em diferentes temperaturas de conservação após 2 horas de enriquecimento, experiência - II

Na comparação dos resultados de enriquecimento em APA e inoculação directa em agar TCBS, foi observado que o número de bactérias em enriquecimento em APA foi maior do que o número de bactérias em inoculação directa de agar TCBS a 25 °C e 30 °C (**Error! Reference source not found.**).

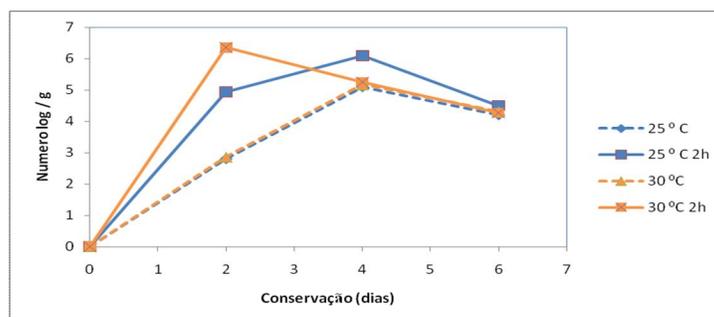


Figura 5: Comparação entre os crescimentos de *V. cholerae* em peixe vermelho moído conservado em diferentes temperaturas utilizando dois procedimentos diferentes. Linhas tracejadas mostram crescimento do *V. cholerae* com inoculação directa, linhas sólidas mostram crescimento após 2 horas de enriquecimento em APA.

6. CONCLUSÃO

Maior número de ufc de *V. cholerae* foi detectado quando utilizado o procedimento enriquecimento em APA.

A ultra-refrigeração tem o potencial de prolongar a vida de prateleira do peixe vermelho moído durante a conservação. De acordo com a actividade microbiana, a conservação em ultra-refrigeração melhorou vida de prateleira do peixe vermelho moído por cerca de 6-10 dias, em comparação com peixe vermelho moído conservado em refrigeração a 0°C.

Estes resultados sugerem que o *V. cholerae* entrou no estado viável mas não cultivável durante a conservação a baixas temperaturas de 0°C e 8°C.

A temperatura tem sido identificada como a variável mais importante que regula o crescimento do *V. cholerae*, organismos viáveis totais e bactérias produtoras de H₂S.

RECOMENDAÇÕES

Para manter a frescura dos produtos da pesca, estes devem ser conservados a baixa temperatura para atrasar ou impedir o crescimento de bactérias.

Para obter resultados mais fiáveis na contagem do *V. cholerae* é recomendado o uso da água peptonada alcalina como enriquecimento a 42 °C por 2 horas antes da sementeira em ágar TCBS.

Para o peixe e produtos, que foram armazenados a baixas temperaturas, grande cuidado deve ser tomado, para não expor estes produtos a altas temperaturas (cerca de 40°C), nem mesmo por um curto período de tempo (2 horas), pois isto pode dar início a um rápido crescimento de *V. cholerae*, que provavelmente poderá estar dormente.