ARTIGO CIENTÍFICO

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

AVALIAÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS* SP EM PESCADO DEFUMADO: CONTAGEM E ANÁLISE BIOQUÍMICA

EVALUATION OF STAPHYLOCOCCUS SP IN SMOKED FISH: COUNTING AND BIOCHEMICAL ANALYSIS

Cecylia Luiza Nonato Sotero Gomes[1]; Flávia Aline Andrade Calixto[2]; Daniela Mello Vianna Ferrer[2]; Robertta Gitahy Freire[3]; Thamara Dias Fernandes[2]

RESUMO

O pescado defumado geralmente é consumido com pouco ou nenhum calor adicional, e está incluso na categoria de alto risco sob o ponto de vista bacteriológico. Entre os microrganismos que podem ser encontrados em pescado pode- se citar o Staphylo, que é um dos ,ais resistentes a condições adversas. Logo, o objetivo deste experimento, foi realizar contagem de *Staphylococcus* sp em pescado defumado, assim como, realizar análises bioquímicas e avaliar o potencial patogênico através do teste da coagulase. Foram adquiridas ao todo nove amostras de pescado defumado, sendo três de cada peixe: truta, salmão e sashimi de Haddock, obtida individualmente de origens distintas em comércio varejista. O método de análise utilizado para contagem de *Staphylococcus* sp em alimentos foi plaqueamento por superfície em meio seletivo. Após o período de incubação, foi realizada a contagem e identificação das colônias, e as análises bioquímicas básicas: catalase, coloração de Gram e coagulase no laboratório de microbiologia, situado no *campus* Quinta do Paraíso. Após esta etapa, as colônias foram isoladas em meio BHI e placas descartáveis em meio Baird Parker, e seguiram para análise complementar de MALDI-TOF em laboratório da Universidade Federal Fluminense, onde foram identificadas as espécies coagulase negativa: *S. simiae, Staphylococcus pasteuri, S. saprophyticus, S. warneri,* e *S. urealyticus.* Conclui-se que as contagens de *Staphylococcus* sp. apresentaram crescimento irregular entra as diferentes amostras, sendo Haddock, o de maior contaminação, porém, nenhuma das amostras se apresentou fora do padrão da legislação brasileira por não ser coagulase positiva. Contudo, há relatos na literatura de patogenicidade em algumas espécies encontradas.

Palavras-chave: Defumação. Contaminação de Alimentos. Microbiota pescado.

ABSTRACT

Smoked fish is generally consumed with little or no additional heat, and is included in the high-risk category from a bacteriological point of view. Among the microorganisms most resistant to adverse conditions is *Staphylococcus* sp, which can be found in fish. Therefore, the objective of this experiment was to count *Staphylococcus* sp in smoked fish, as well as perform biochemical analyzes and evaluate the pathogenic potential through the coagulase test. A total of nine samples of smoked fish were acquired, three of each fish: trout, salmon and Haddock sashimi, obtained individually from different origins in retail trade. The analysis method used to count *Staphylococcus* sp in food was surface plating on selective medium. After the incubation period, colonies were counted and identified, as well as basic biochemical analyses: catalase, Gram staining and coagulase in the microbiology laboratory, located on the Quinta do Paraíso campus. After this step, the colonies were isolated in BHI medium and disposable plates in Baird Parker medium, and went on for complementary MALDI-TOF analysis in the laboratory at the Universidade Federal Fluminense, where the coagulase-negative species were identified: *S. simiae, S. pasteuri, S. saprophyticus, S. warneri*, and *S. urealyticus*. In conclusion, the counts of *Staphylococcus* sp. showed irregular growth between the different samples, with Haddock being the one with the greatest contamination, however, none of the samples were found to be outside the standard of Brazilian legislation as they were not coagulase positive. However, there are reports in the literature of pathogenicity in some species found.

Keywords: Smoked. Food contamination. Fish microbiota.

1 Discente em Medicina Veterinária do UNIFESO – luizanonato87@gmail.com

2 Docente do curso de veterinária do UNIFESO - flavialinecalixto@unifeso.edu.br; danielaferrer@unifeso.edu.br; thamarafernandes@unifeso.edu.br

3 Mestranda do FIOCRUZ - roberttafreire@hotmail.com

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

INTRODUÇÃO

Em relação ao consumo de pescado, infecções bacterianas são tidas como as doenças transmitidas por alimentos (DTA) mais habituais, sendo o *Staphylococcus* sp um dos mais frequentes gêneros relacionados à estas intoxicações. Os quadros das doenças transmitidas por pescado têm potencial autolimitante, podendo se resolver em algumas horas (1).

Atualmente a preocupação com uma alimentação mais saudável é maior do que era antigamente, o que é benéfico e saudável para o consumidor. Afinal, os benefícios nutricionais do pescado só podem ser aproveitados quando os fatores segurança e qualidade forem garantidos (2). A ingestão regular de pescado traz benefícios à saúde humana, visto que se trata de um alimento que se destaca nutricionalmente quanto à quantidade de suas proteínas, à presença de vitaminas e minerais e, principalmente por ser fonte de ácidos graxos essenciais ômega -3 eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA), lipídeos (3). Dentre os possíveis benefícios da ingestão de uma ou duas porções de peixe por semana, que contêm cerca de 2 g de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, estão: redução do risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC), de depressão, do Mal de Alzheimer e de morte por doença cardíaca (4).

Porém, quando submetidos a práticas inadequadas de captura, abate, armazenamento, processamento e distribuição, esses peixes podem ser considerados alimentos que veiculam microrganismos patogênicos. O controle higiênico-sanitário na cadeia produtiva de pescado e derivados é indispensável, pois apenas dessa forma é possível obter um alimento seguro e de qualidade para os consumidores (5). Para ampliar a validade dos alimentos é necessário combater os agentes físicos, químicos e biológicos de alteração, sendo os primeiros mais descomplicados de serem combatidos. No entanto, quanto aos agentes biológicos, em particular os microrganismos, o combate torna-se mais criterioso, exigindo técnicas de conservação voltadas para destruir ou inibir o crescimento dos mesmos. Assim, as estratégias para que tais agentes não interfiram na integridade dos alimentos, são: impedir que esses agentes cheguem ao produto; destruí-los, caso entrem em contato, ou impedir sua multiplicação (6). Como tecnologia de conservação tradicional destaca-se a defumação, que propicia um produto apreciado pela aparência, coloração característica e textura, além de agregar qualidades sensoriais ao pescado (7). A perda de água e a ação dos constituintes da fumaça também conferem ao pescado uma barreira física e química contra a penetração e atividade dos microrganismos. Essa capa de proteção se deve à desidratação que acontece na superfície do produto, à coagulação proteica que ocorre e à camada de resinas formadas pela condensação da fumaça. A defumação é um método de conservação de alimentos histórico, no qual o aprisionamento da fumaça na peça causa desidratação e redução do pH, evitando assim, o desenvolvimento de microrganismos e a consequente deterioração do alimento. Desse modo, a fumaça utilizada durante a defumação, deve se equilibrada com alguns compostos como a lignina, responsável pelo sabor e aroma característicos do produto defumado. O efeito preservativo da defumação é atribuído à ação dos seguintes fatores em conjunto: a secagem da superfície; salga e a deposição de substâncias fenólicas antioxidantes e ação bacteriostática (8). Assim, temos dois tipos de defumação de acordo com a temperatura empregada: a defumação a quente, e a defumação a frio, além da fumaça líquida, que torna o processo mais simples (9). O salmão defumado é uma das iguarias mais apreciadas, fazendo parte de cardápios de diversos países da Europa e da Ásia. Por ser um peixe com grande quantidade de gordura, é perfeito para defumar, pois a gordura ajuda a fixar as características da fumaça, incorporando sabores e aromas (10). As etapas de processamento e armazenamento do salmão defumado a frio, e a abertura do produto, podem favorecer a deposição e o crescimento de bactérias comensais durante o armazenamento e influenciam a qualidade e a segurança do salmão (11). Em relação à truta, trata-se de um salmonídeo originário da América do Norte, junto ao Oceano Pacífico cuja distribuição natural se estende do sul do Alasca até o norte do México e por apresentar excelentes características, tanto para a aquicultura quanto para a pesca esportiva, encontra-se amplamente distribuída em todas as águas frias do

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

mundo, exceto no continente Antártico (12). A produção e comercialização de produtos derivados, como o patê de truta também pode ser encontrada (13). O haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) é um peixe onívoro que se alimenta principalmente de organismos vivos de fundo, relativamente pequenos, incluindo crustáceos, moluscos, equinodermos, vermes e peixes. É um pescado utilizado para fazer uma série de produtos de peixe branco defumados a frio ou a quente (14). Considerando que o pescado defumado geralmente é consumido com pouco ou nenhum calor adicional, este produto está incluso na categoria de alto risco sob o ponto de vista bacteriológico, e embora *Staphylococcus* não sejam microrganismos do ambiente marinho, podem ser encontrados em pescado e frutos do mar através de contaminação cruzada entre utensílios e alimentos crus e cozidos, ou pelo abuso de tempo nas temperaturas a que estes alimentos são submetidos (15). Bactérias do gênero *Staphylococcus* são patógenas para o homem e outros mamíferos. Tradicionalmente divididas por sua capacidade de coagular plasma sanguíneo, sendo *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) ou negativa (SCN). Das SCP a espécie mais famosa e patogênica é *S. aureus*. Os SCN são conhecidos por abranger mais de 30 diferentes espécies, e são comensais de pele, embora algumas espécies possam causar infecções. Supõe-se que SCP sejam geralmente patogênicos, mesmo quando em alguns casos podem causar colonização assintomática em indivíduos saudáveis, e coagulase negativa são saprófitos ou causam infecções oportunistas (16) sendo comumente considerados como menos patogênicos, entretanto, diferenças interespécies tornam algumas espécies mais virulentas que outras e devem ser levadas em consideração (17). Dentre as doenças que podem ser transmitidas por espécies de pescado utilizadas na alimentação humana, as infecções bacterianas são consideradas as principais doenças transmitidas por alimentos associadas ao consumo de pescado, incluindo os gêneros: *Staphylococcus* (18). Os estafilococos podem causar doenças tanto pela ingestão de toxinas quanto por multiplicação em tecidos causando inflamação. Podem causar abcessos e também se disseminar por corrente sanguínea, além da produção de enzimas e toxinas como a enterotoxina, toxina da síndrome do choque tóxico e a esfoliatina. As enzimas incluem coagulase, fibrinolisina, hialuronidase, proteases, nucleases e lipases. A coagulase age no plasma, encarcerando o local infectado, retardando assim, a migração de neutrófilos para o interior da infecção. A estafiloquinase é uma fibrolisina que pode lisar trombos. (19). Os resultados de alguns estudos realizados sugerem que *Staphylococcus* coagulase-negativo podem ser causadores de intoxicação alimentar em potencial (20). O gênero *Staphylococcus* inclui uma ampla gama de espécies que são bem conhecidas por sua criação de hábitos saprófitos muito importantes na prática clínica. A grande atenção que tem sido dada a essas bactérias patogênicas se deve ao aumento de estudos clínicos que se concentraram em seus papéis em diferentes tipos de infecções em série, que progressivamente elevaram os custos financeiros para países e sociedades (21). As bactérias do gênero *Staphylococcus* se apresentam, caracteristicamente, como cocos Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*. Por se dividirem em planos diferentes quando vistos ao microscópio, aparecem na forma de cachos de uva e são anaeróbias facultativas, com maior crescimento sob condições aeróbias, quando então produzem catalase. São ainda bactérias mesófilas, com temperatura de crescimento na faixa de 7ºC a 47,8ºC, sendo as enterotoxinas produzidas entre 10ºC e 46ºC, com ótimo entre 40ºC e 45ºC. As bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para as mesmas. As cepas de *Staphylococcus* podem produzir enterotoxina e várias outras toxinas como estafiloquinase e toxina do choque tóxico, porém apenas as enterotoxinas possuem interesse com relação a alimentos. Estas são termorresistentes, o que as torna especialmente importantes para a indústria de alimentos, já que a maioria dos alimentos passa por alguma forma de tratamento térmico durante o seu processamento. Apesar de não serem facilmente destruídas pelo calor, as quantidades presentes em surtos de intoxicação são geralmente desnaturadas durante o processamento. Em relação à quantidade mínima necessária para causar sintomatologia em seres humanos, deve-se considerar a proporção de enterotoxina por quilo corpóreo, mas também a as características individuais (22). *Staphylococcus warneri* apresenta potencial patogênico altamente variável, passando de espécies avirulentas a grandes patógenos nosocomiais. Parte da micro-

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

biota natural de camundongos e humanos têm a capacidade de se internalizar em células humanas, invadindo várias células humanas e, mais especificamente, células epiteliais intestinais, usando mecanismos dependentes de actina. Em contraste com os patógenos *Bona fide*, *S. warneri* não se replica ativamente dentro das células intestinais ou resiste à morte por macrófagos (23). *Staphylococcus simiae* é uma bactéria coagulase negativa, Gram positiva, não móvel e não formadora de esporos, catalase positiva (24) intimamente relacionada a *S. aureus*. Análises genômicas e enriquecimento genético, relacionados a elementos móveis em *S. aureus* em relação a *S. simiae*, sugerem que a patogênese no grupo *S. aureus* se desenvolveu por ganho gênico através de transferência horizontal, após a separação de *S. aureus* e *S. simiae* de seu ancestral comum (25). Assim como o *S. warneri*, *S. pasteuri*, também é conhecido por causar problemas de saúde nos sistemas respiratório, cutâneo, digestivo, em humanos, sua presença em alimentos já foi relatada em leite de cabra, salsichas, água potável, pele e guelras de peixes, e alimentos fermentados e mexilhões. (26). Bactérias do gênero *Staphylococcus urealyticus,* fazem parte do grupo coagulase negativa, e são conhecidos por causar infecções em indivíduos imunocomprometidos. Estas bactérias estão frequentemente ligadas a infecções comunitárias, e algumas cepas desenvolveram resistência a vários antibióticos. Além disso, eles podem transferir genes de resistência a antibióticos para outras bactérias nosocomiais patogênicas (27). *S. saprophyticus*, são bactérias coagulase negativas, produtoras de enterotoxinas, capazes de causar infeções associadas aos cuidados de saúde, bem como intoxicações alimentares. Principalmente conhecido como causador de infecções do trato urinário em mulheres, *S. saprophyticus* encontra-se frequentemente envolvido na formação de biofilmes que podem contribuem para a persistência e recorrência de infecções, e pode causar infecções em pacientes com sistema imunológico comprometido ou submetidos a infecções invasivas (28). As boas práticas na manipulação de pescado são consideradas técnicas de higiene que devem ser seguidas pelos manipuladores durante todo o percurso, desde a captura até a chegada ao consumidor, buscando evitar a contaminação e assim a incidência de DTAs. Tendo em vista que todos aqueles que trabalham com alimentos são considerados “manipuladores de alimentos”, a complexa cadeia produtiva do pescado envolve múltiplas etapas, e exige práticas como, por exemplo, higiene pessoal e do ambiente, instalação adequada e limpeza dos utensílios, para a prevenção da ocorrência de DTAs e garantia da qualidade dos alimentos (29).

OBJETIVO

Sendo assim, o objetivo deste experimento foi realizar contagem de *Staphylococcus* sp em pescado defumado e avaliar o potencial patogênico através do teste da coagulase.

METODOLOGIA

Foram adquiridas nove amostras de pescado defumado, sendo três de truta, três de salmão e três de sashimi de Haddock, de origens distintas em comércio varejista, que receberam códigos específicos cada, com a letra do pescado e numeração de 1 a 3: filé de truta defumada T1, T2 e T3; salmão defumado em fatias S1, S2 e S3; e sashimi de Haddock H1, H2 e H3.

As análises bacteriológicas foram realizadas no laboratório de microbiologia, situado no *campus* Quinta do Paraíso, entre maio de 2023 e dezembro de 2023 seguindo as normas de higiene e biossegurança. O método de análise utilizado para contagem de *Staphylococcus* em alimentos foi plaqueamento por superfície APHA 39.63:2015 (30). De cada amostra foram retirados 25g de carne, de forma heterogênea e aleatória, pesados em balança de precisão, da marca Shimadzu, modelo BL3200H. As alíquotas de 25g de cada amostra foram devidamente maceradas, individualmente, e misturadas com 225mL de Água Peptonada (AP), resultando na diluição

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

10^{-1} na proporção de 9 partes de diluente para 1 parte de amostra, foi retirado 1mL desta diluição e passado para um tubo de ensaio com 9mL de AP obtendo assim a diluição 10^{-2} na proporção de 100 partes de meio para 1 parte de amostra , e assim sucessivamente até a diluição final de 10^{-6} para que a contagem fosse possível em caso de elevada contaminação. Após as diluições, iniciou-se o plaqueamento em Ágar Baird Parker (BP), meio específico para crescimento de *Staphylococcus*, em duplicata para cada diluição, resultando o total de 12 placas para cada amostra, devidamente identificadas (Figura 1). O procedimento utilizado nesta etapa foi o plaqueamento em superfície, no qual 0,1mL de cada diluição foi inoculado em cada placa, esta alíquota então foi espalhada por toda a superfície sólida do meio com o auxílio de uma alça de vidro em L estéril, e após a diluição ter sido totalmente absorvida pelo meio, secando por completo, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica na posição invertida, à 37°C por 48 horas para crescimento das colônias (Figura 2). Após a incubação, as placas foram submetidas a contagem das unidades formadoras de colônias que cresceram, com o auxílio do contador de colônias digital da marca Biocell. Foram consideradas colônias com características típicas, aquelas que são circulares, pretas, lisas, convexas com bordas perfeitas, massas de células esbranquiçadas nas bordas rodeadas por uma zona opaca e frequentemente por um halo transparente que se estende para além da zona opaca, caracterizada como área de lise; ou atípicas (Figura 3), no caso de colônias menos escuras, cinzentas, com aparência rugosa e seca, sem um ou ambos os halos típicos (30). Foram realizadas análises bioquímicas básicas complementares possíveis no laboratório de microbiologia, situado no *campus* Quinta do Paraíso: coloração de Gram, a catalase e a coagulase. Para a coloração de Gram, foram utilizados corante violeta genciana, lugol, corante fucsina, e álcool acetona após a realização do esfregaço da cultura. Ao término do processo de coloração, durante a análise da lâmina ao microscópio óptico, as bactérias Gram positivas se apresentaram coradas de violeta, enquanto as bactérias negativas se apresentam avermelhadas. No decorrer da microscopia, as lâminas foram averiguadas para a identificação de cocos Gram positivo, em formato de cachos de uva, compatíveis com *Staphylococcus* (Figura 4). O teste da catalase objetiva verificar a capacidade da bactéria em produzir a enzima catalase, a qual é responsável pela decomposição de peróxido de hidrogênio, o qual se trata de um metabólito formado durante a utilização aeróbica de carboidratos, sendo o gênero *Staphylococcus* usualmente catalase positiva (30). Nesta análise, foi utilizada uma alçada de uma das colônias isoladas das placas das amostras, colocadas em lâmina de vidro juntamente com peróxido de hidrogênio. Quando há a presença de bolhas, o resultado foi catalase positiva (Figura 5). Para o teste da coagulase, as colônias isoladas, típicas ou atípicas, foram transferidas para tubos de ensaio contendo caldo BHI (Caldo de Infusão Cérebro Coração), e incubados em estufa a 37°C por 24 horas. Após esse período, foram adicionados 0,2mL de cada emulsão em tubos de ensaio estéreis e adicionados 0,5mL de Coagulase Plasma EDTA (plasma de coelho com EDTA). Após a homogeneização sem agitação dos tubos para não interferir na coagulação, os tubos, devidamente identificados de acordo com a amostra, foram incubados em banho maria, a 37°C por 6 horas consecutivas, com intervalos de 2 horas entre as leituras para observação de formação de coágulos (Figura 6). Este teste detecta o fator aglutinante presente nas células de *Staphylococcus* que se liga ao fibrinogênio ou fibrina presentes no plasma. A produção de coagulase é considerada uma indicação de patogenicidade entre as espécies de *Staphylococcus* (30). Algumas colônias, que apresentaram características típicas de colônias de *Staphylococcus* sp., foram isoladas, inoculadas em BHI e / ou placas descartáveis em meio específico (BP com plaqueamento em estrias) e enviadas para UFF (Universidade Federal Fluminense) para identificação por técnica de MALDI-TOF MS (Espectrometria de Massa por Dessorção/Ionização Assistida por Matriz), técnica que têm se revelado um suporte válido no fluxo de trabalho na microbiologia laboratorial, para a identificação de bactérias e fungos, demonstrando alta confiabilidade e eficácia (31). Se trata de um método analítico, eficaz, de baixo custo de reagentes e consumíveis, de identificação microbiana rápida e sensível e caracterização baseada na avaliação rápida e precisa da massa da amostra ionizada de moléculas por pulsos curtos de laser após sua co-cristalização com um ácido orgânico de baixo peso molecular comumente referido como matriz (32, 33).

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

Figura 1 – Placas com as diluições 10^{-1} a 10^{-6} da amostra T1, em duplicata, em meio específico para *Staphylococcus*

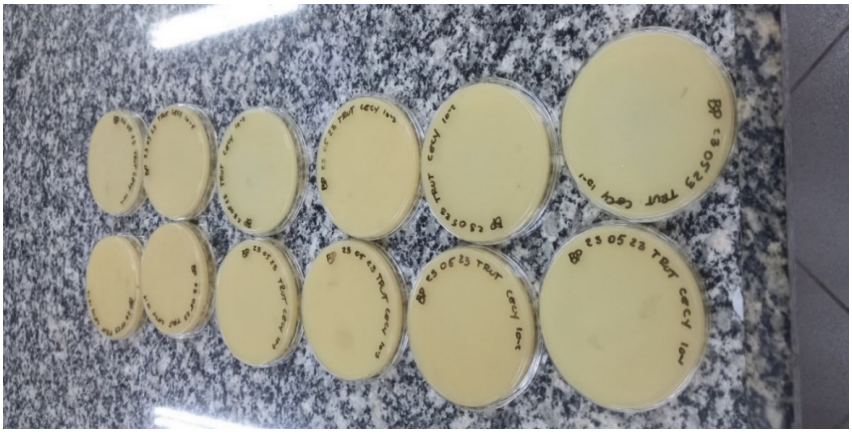


Figura 2 – Placas de Baird Parker inoculadas com as diluições 10^{-1} a 10^{-6} das amostras invertidas, em duplicata, em incubação na estufa bacteriológica a 37ºC

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

Figura 3 – Placa com colônias típicas (seta A) e atípicas (seta B) da amostra S3

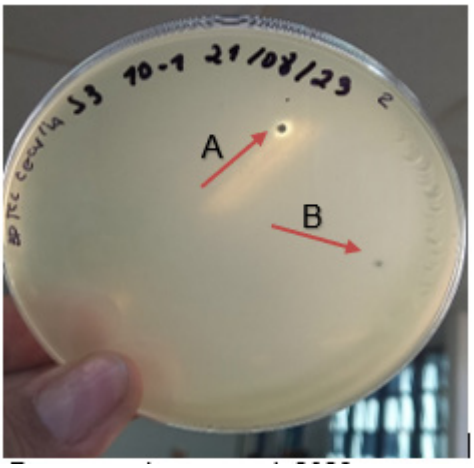


Figura 4 – Coloração de Gram de esfregaço de cultura da amostra S2

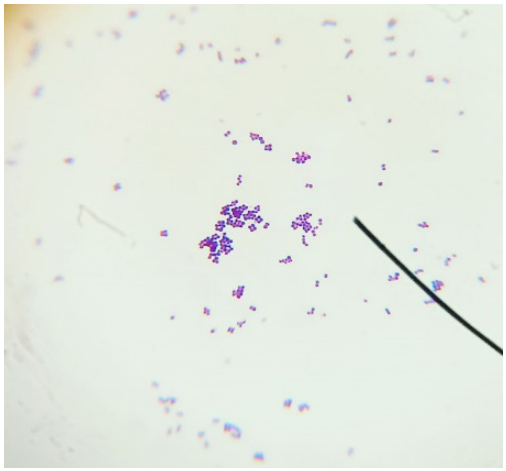


Figura 5 – Teste de catalase em colônia da amostra T1 com resultado positivo

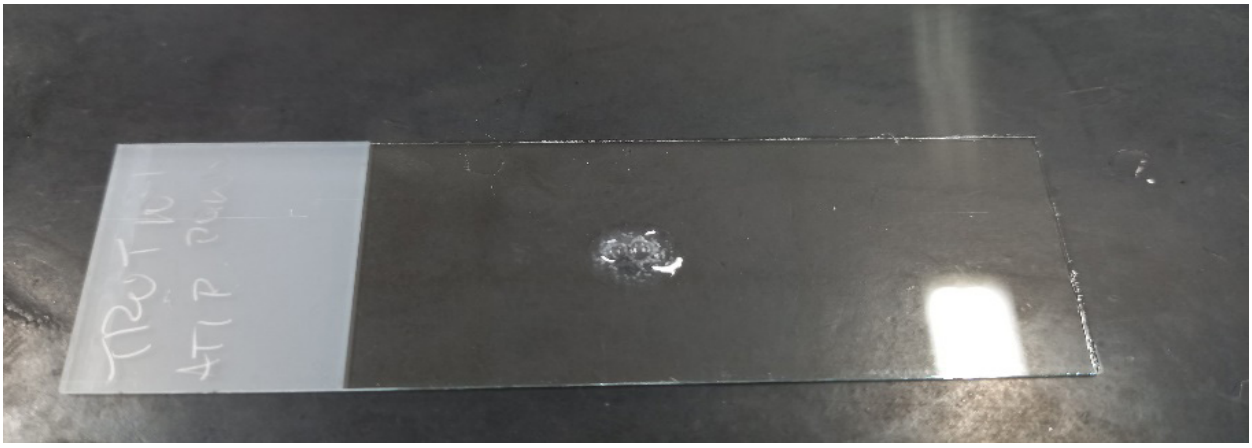
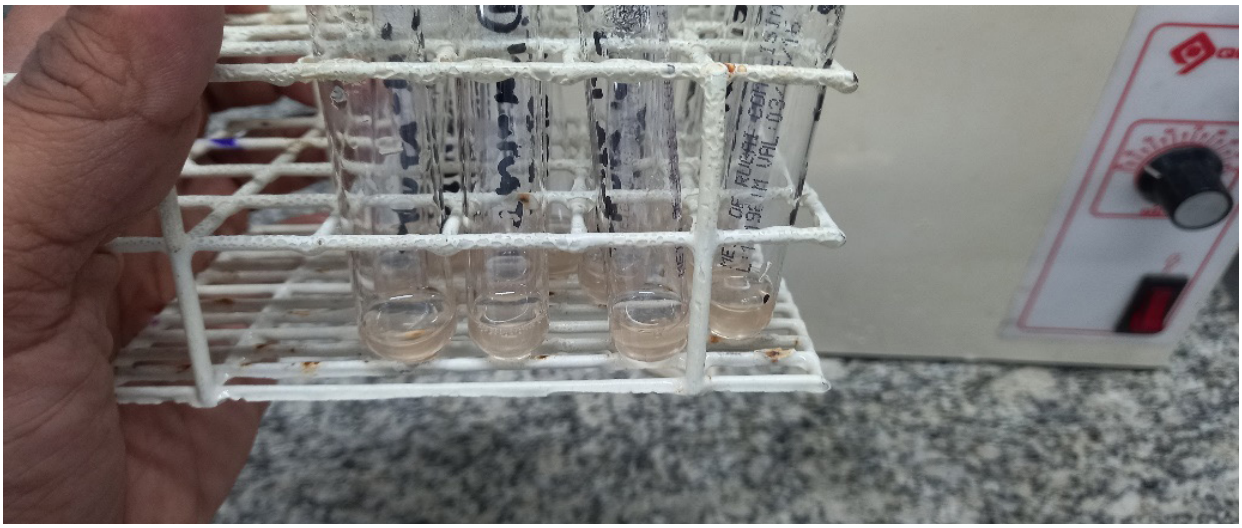


Figura 6 – Acompanhamento do teste de coagulase durante incubação



REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da contagem de *Staphylococcus* e a bioquímica básica: catalase, características morfotintoriais e coagulase podem ser vistos na tabela 1. Não foram encontradas colônias coagulase positiva dentre as amostras analisadas, e o crescimento das colônias mostrou-se irregular variando de 5x10UFC/g (truta T3 e salmão S1) a 4,05x10^6 (haddock H3) em relação às amostras defumadas. As amostras de truta, tal qual as de salmão, tratam-se de amostras congeladas, processadas e distribuídas diretamente do produtor, enquanto as amostras de haddock são provenientes de mercado de manipulação em comércio varejista, demonstrando maior crescimento microbiano. De acordo com Martín et al. (34), as cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, podem causar doenças graves ou mesmo letais, enquanto os *Staphylococcus* coagulase negativa são oportunistas e apresentam menor virulência. A Instrução Normativa nº161 de julho de 2022 (ANVISA) estabelece os padrões microbiológicos para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado defumado entre 10^2 a 10^4 UFC/g. Apesar de não haver resultados de coagulase positiva dentre as amostras deste experimento, a alta contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa em H1, H2, H3 e S2, é um indicativo de más condições de higiene durante a manipulação do produto. Ao reunir os processos de cocção, salga e a atuação da fumaça, a defumação atua de forma a conservar o alimento, agindo de forma bacteriostática e antioxidante, ao diminuir a atividade da água e realizar a deposição de compostos químicos obtidos através da fumaça. Logo, quando o produto passa a ser manipulado de forma errônea, onde as boas práticas de higiene não são respeitadas, por exemplo, a recontaminação do produto pode tornar a ocorrer. As amostras de salmão e truta deste experimento, foram adquiridas em rede de comércio varejista, congeladas, em embalagens individuais, e transportadas em caixa térmica para que a condição da conservação de temperatura não fosse alterada, e com isso houvesse alteração no padrão de crescimento microbiológico. No entanto, as amostras de haddock foram adquiridas a fresco, e mantidas em refrigeração. Os resultados da identificação das espécies de *Staphylococcus* presentes nas amostras através da técnica de MALDI –TOF MS se encontram na figura 7. As espécies *S. pasteuri* e *S. saprophyticus* estavam presentes tanto nas amostras de salmão quanto nas amostras de haddock. A espécie *S. urealyticus* estava presente apenas em amostras de salmão, e as espécie *S. simi*ae e *S. warneri* estavam presentes apenas nas amostras de salmão. Apesar de apresentar reação de coagulase negativa, *S. simiae* é geneticamente considerada como uma cepa irmã do *S. aureus*, uma cepa coagulase positiva, conhecida por sua patogenicidade. A presença de *S.warneri* e *S. pasteuri* também já foi relatada em mexilhões recheados, em um estudo realizado por Yilmaz e Berik (26), com predominância de isolados de *S.warneri* a 77,33% e *S. pasteuri a* 26,3% do total de 246 amostras. Dentre as cepas identificadas, alguns autores indicam que possuem potencial patogênico as espécies: *S. pasteuri* e *S. warneri,* afeta os sistemas respiratório, cutâneo e digestivo como Louail et al. (23) e Yilmaz; Berik, (26*); S. saprophyticus* capaz de causar infeções associadas aos cuidados de saúde, intoxicações alimentares, e infecções urinárias, de acordo com Gricajeva et al. (28); *S. urealyticus* causa infecções comunitárias, e não só apresenta resistência a vários antibióticos, como é capaz de transferir esta resistência a outras bactérias nosocomiais segundo Wokorach et al. (27).

Tabela 1: Resultados médios de contagem de *Staphylococcus* sp e bioquímica básica

Amostras	Contagem de *Staphylococcus* sp.	Catalase	Morfotintorial	Coagulase
T1	1,50x10^3 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
T2	4,00x10^2 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
T3	5,00x10 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

H1	1,18x10^4 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
H2	2,45x10^5 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
H3	4,05x10^6 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
S1	5,00x10 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
S2	1,29x10^4 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva	-
S3	2,00x10^2 UFC/g	+	cocos Gram+, dispostos em formato de cacho de uva; bacilos Gram + e Gram -	-

Legenda: + para resultados positivos; - para resultados negativos

Figura 7-Espécies de S*taphylococcus* identificadas por MALDI –TOF MS

Amostras	Espécies identificadas
Salmão	*Staphylococcus pasteuri, S. saprophyticus, S. urealyticus*
Haddock	*Staphylococcus pasteuri, S. saprophyticus, S. simiae, S. warneri,*

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

As contagens de *Staphylococcus* sp. apresentaram crescimento irregular entre as diferentes amostras, sendo o sashimi de Haddock, o produto mais manipulado, o de maior contaminação. Resultado esperado tendo em vista que o principal reservatório desse tipo de microrganismo é o homem. Porém, nenhuma das amostras se apresentaram fora do padrão da legislação brasileira por não ter sido identificada como coagulase positiva. Contudo, na identificação das espécies, algumas apresentam relato na literatura de patogenicidade, sendo importante ressaltar a necessidade de cuidado com as boas práticas de manipulação para esse tipo de alimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Prefeitura de Maricá, ao Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO) e à Universidade Federal Fluminense (UFF), entidades que foram essenciais para a realização deste experimento.

REFERÊNCIAS

1. Santos CAML. Doenças transmitidas por pescado no Brasil. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 2010; 32(4): 234-241

2. Rebelatto IS, Lintzmaia DJH, Rinttter DO, Lanzarin M, Faria RAPG, Chitarra, GS. Composição química e valor nutricional do pescado. In: Engenharia de pesca: aspectos teóricos e práticos. [Acesso em 17 jun. 2024]. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/composicao-quimica-e-valor-nutricional-do-pescado>

3. Sartori AGO; Amancio RD. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. Segurança Alimentar e Nutricional, 2012; 19(2): 83-93.

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

4. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. A produção mundial de pesca e aquicultura atinge novo recorde histórico. 2024. [Acesso 12 jun. 2024]. Disponível em: <https://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1696371/>.

5. Nie X, Zhang H, Gheng L, Zhu W, Li S, Chen X. Mechanisms underlying the deterioration of fish quality after harvest and methods of preservation. Food Control. 2021; 135.

6. Ordóñez JA, Rodriguez MIC, Álvarez LF, Sanz MLG, Minguillón GDGF, Perales LH, *et al*. Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**.** 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

7. Galvão JA, Oetterer M. Qualidade e processamento de pescado. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

8. Gonçalves, AA**.** Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 2011. 608p.

9. Alves CAN, Araújo LRPC, Nunes MHN, Araújo Filho AAL, Lemos TARO. Defumação na gastronomia: da conservação à técnica saborizante. 2019.[Acesso 29 abr. 2024] Disponível em: <https://doity.com.br/media/doity/submissoes/artigo-b223822b71de860902d6ec5c5f65bed7a83ef178-arquivo.pdf.>.

10. Xavier ACR, Arimatéia CC, Leite Neta AMTS, Pagani AAC, Nunes ML. Avaliação do shelf-life do salmão defumado submetido à estocagem refrigerada. In: Anais do 3º Congresso Internacional de Atividade Física, Nutrição e Saúde, 2017; 1 (1):1-13.

11. Jarvis KG, Hsu CK, Pettengill JB, Karathia H, Hasan NA, Grim CJ. Microbiome populational dymnamics of cold smoked sockeye salmon during refrigerated storage and after culture enrichment. Journal of Food Protection, 2022; 85 (2): 238-253.

12. Hershberger WK. Genetic variability in rainbow trout populations. Aquaculture, 1992; 100: 51-71.

13. Silva CCC, Souza ALM, Pombo CR, Mesquita EFM. Qualidade microbiológica de filés de truta arco-íris no RJ, Brasil. Proceedings do VII SIMCOPE. Inst. Pesca, 2017, São Paulo.

14. FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations Species Cathalogue. Gadiform Fishes of the world, Roma, 1990; 10 (125).

15. Vieira RHSF, Rodrigues DP, Barreto NSE, Sousa OV, Tôrres RCO, Ribeiro RV, Saker-Sampaio S, Nascimento SMM. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado.1ª ed. SãoPaulo: Livraria Varela, 2003. 380p.

16. Martin MG, Corbera JA, Bonnet AS, Junco MJT. Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than Staphylococcus aureus. Veterinary Quarterly. 2020; 40 (1): 118-131.

17. Michels R, Last K, Becker SL, Papan C. Update on Coagulase-Negative Staphylococci—What the Clinician Should Know. Microorganisms, 2021, 9 (4): 830.

18. Aragão BB, Trajano SC. Principais bactérias patogênicas veiculadas por pescado e derivados. In: Cordeiro CAM, Silva EM, Silva BA. Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas. 1ª ed. Editora Científica Digital, 2021: 208-225.

19. Levinson W, Jawetz E. Microbiologia médica e imunologia. 7ªed. Porto Alegre: Artmed, 2005: 632.

20. Carmo LS, Dias RS, Linardi VR, Sena MJ, Santos DA, Faria ME, *et al*. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of Staphylococcus present in Minas cheese and raw milk in Brazil. Food Microbiology, 2002, 19: 9-14.

21. Mohammed SS, Shubar SNA, Naser SAA, Al Fahham AA. Pathogenic Species of Staphylococcus: A Review Article. International Journal of Health & Medical Research. 2024, 3 (6): 306-310.

22. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. 1ªed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008: 182.

23. Louail R, Florin F, Bernard S, Michaud JP, Brenton J, Achamrah N, *et al*. Invasion of intestinal cells by Staphylococcus warneri, a member of the human gut microbiota. 2023, 15 (4).

REVISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO
v. 5, n. 1, (2025) | ISSN 2764-3263

24. Pantucek R, Sedlacek I, Petras P, Koukalova D, Svec P, Stetina V, et al. *Staphylococcus simiae* sp. nov. isolated from South American squirrel monkeys. International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005; 55: 1953-1958.

25. Suzuki H, Lefebure T, Bitar PP, Stanhope MJ. Comparative genomic analysis of the genus Staphylococcus including Staphylococcus aureus and its newly described sister species Staphylococcus simiae. BMC Genomics, 2012, 13 (38). [acesso 01 out 2024] Disponível em < http://www.biomedcentral.com/1471-2164/13/38>.

26. Yilmaz DK, Berik N. Phenotypic and Genotypic Antibiotic Resistance of *Staphylococcus warneri* and *Staphylococcus pasteuri* Isolated from Stuffed Mussels. Aquatic Science and Engineering, 2024, 39 (3): 172-178.

27. WokorachH, G.; Erima B, Njajuka F, Kiyengo J, Kibuuka H, Musinguzi AK, et al. Draft genome sequence of *Staphylococcus urealyticus* strain MUWRP0921, isolated from the urine of an adult female Ugandan. Microbiology Resources Announcements, 2024; 13 (1): 17-23.

28. Gricajeva A, Buchovec I, Kalediene L, Badokas K, Vitta P. Evaluation of visible light and natural photosensitizers against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* planktonic cells and biofilm. Helion, 2024, *10*(7).

29. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Guia para determinação de prazo de validade de alimentos, 2024; 1 (16).

30. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki, MH, Gomes RAR, Okazaki MM, et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água, 2021; 6ª ed, São Paulo: Blucher: 577.

31. CALDERARO, A.; CHEZZI, C. MALDI-TOFMS: A Reliable Tool in the Real Life of the Clinical Microbiology Laboratory. Microorganisms, v.12. n.322, 2024.

32. Singhal N, Kumarm M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: An emerging technologyfor microbial identification and diagnosis. Frontiers in Microbiology. 2015;6:791.

33. Karadag D, Ergon MC. Investigation of different methods in rapid microbial identification directly from positive blood culture bottles by MALDI-TOF MS. Microbiology Spectrum. 2024;12(8).

34. Martín MG, Corbera JA, Bonnet AS, Junco MJT. Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than Staphylococcus aureus. Veterinary Quarterly. 2020; 40(1):118-131.