

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**QUALIDADE HIGIÊNICA E SANITÁRIA DE
TILÁPIAS PROVENIENTES DE CULTIVO,
COMERCIALIZADAS NO VAREJO.**

Pedro Gatti Junior
Biólogo

JABOTICABAL – SP

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**QUALIDADE HIGIÊNICA E SANITÁRIA DE
TILÁPIAS PROVENIENTES DE CULTIVO,
COMERCIALIZADAS NO VAREJO.**

Pedro Gatti Junior
Biólogo

Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

JABOTICABAL – SP

2011

G263q Gatti Junior, Pedro
Qualidade Higiênica e Sanitária de Tilápias Provenientes de Cultivo, Comercializadas no Varejo/ Pedro Gatti Junior. -- Jaboticabal, 2011
xiii, 47 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) – Centro de Aquicultura da Unesp, 2011
Orientador: Luiz Augusto do Amaral
Banca examinadora: Naiá Carla Marchi de Rezende Lago, Oswaldo Durival Rossi Junior
Bibliografia

1. peixes. 2. *Staphylococcus* coagulase positivo. 3. Coliformes 4. filé I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura da Unesp.

CDU 639.31

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

**“O inimigo mais perigoso que você
poderá encontrar será sempre você mesmo.”**

Friedrich Wilhelm Nietzsche

A Deus, por tudo que me foi concedido.

A minha mãe Rosa Maria Alves Pereira Gatti, as minhas irmãs Juliana Gatti e Poliana Gatti, as minhas avós Hollanda Gobato Pereira e Leader Ferreto Gatti.

AGRADEÇO

A minha mãe Rosa Maria, pelo amor, carinho, dedicação
e apoio que me trouxeram até aqui.

OFEREÇO

Ao meu pai, Pedro Gatti Neto que mesmo não caminhando junto, sempre esteve
segurando minha mão.

DEDICO

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por tudo que me foi concedido.

A minha família, por sempre me apoiarem e incentivarem.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, pela oportunidade de desenvolver meu trabalho junto a ele, pela paciência, colaboração e compreensão.

Aos membros da banca pelas valiosas sugestões.

A todos os funcionários e docentes do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV/Unesp, especialmente aos técnicos Lillana Biondi Naka e Waldemar Dibelli Junior, por toda ajuda que me foi dada.

Aos meus amigos(as) Argos, Juliana, Talita e João pela amizade, dedicação e ajuda imprescindível na realização deste trabalho.

A República AgroAlcool, pela amizade, companheirismo e ajuda nos momentos difíceis.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1. Colheita e transporte das amostras de peixe.....	15
3.2. Análises microbiológicas.....	16
3.2.1. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes na água e no peixe.....	16
3.2.2. Contagem de <i>Staphylococcus</i> sp.....	17
3.2.3. Pesquisa da presença de bactérias do gênero <i>Salmonella</i>	18
3.3. Análise estatística.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1. Coliformes totais.....	20
4.2. Coliformes termotolerantes.....	25
4.3. <i>Staphylococcus</i> sp.....	27
4.4. <i>Salmonella</i> spp.....	29
5. CONCLUSÕES.....	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variação dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. nas diferentes partes do peixe nos diferentes estabelecimentos analisados na região nordeste do Estado de São Paulo no período de Nov. 2009 a Jun. 2010.....	21
Tabela 2. Variação dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. nos filés nos dez estabelecimentos analisados na região nordeste do Estado de São Paulo no período de Nov. 2009 a Jun. 2010.....	22
Tabela 3. Média logarítmica dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. nas diferentes partes do peixe nos estabelecimentos analisados na região nordeste do Estado de São Paulo no período de Nov. 2009 a Jun. 2010.....	31
Tabela 4. Média logarítmica dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. nos filés nos dez estabelecimentos analisados na região nordeste do Estado de São Paulo no período de Nov. 2009 a Jun. 2010.....	31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Número e a porcentagem de tilápias in natura com a presença de coliformes totais e termotolerantes na água de enxaguadura da pele, no trato gastrintestinal ou no músculo peixe nos estabelecimentos analisados na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010..... 22

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os riscos para a saúde pública apresentado por tilápias, produzidas em cativeiro, comercializadas em supermercados na região nordeste de São Paulo. Para tal, análises microbiológicas foram realizadas, em 40 amostras de tilápias *in natura* e em 50 filés de tilápias. No peixe *in natura* foi analisado a água de enxaguadura da pele e o trato gastrointestinal. Os números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes foram determinados assim como a contagem *Staphylococcus* coagulase positivo e a presença de *Salmonella* spp. de acordo com a American Public Health Association (APHA). Os resultados obtidos foram analisados utilizando valores logarítmicos e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 5% de probabilidade. A pele foi o tecido com maior nível de contaminação em relação ao trato gastrointestinal e músculo de tilápia *in natura*. O número de amostras com presença de coliformes totais e termotolerantes na água de enxaguadura da pele foi, respectivamente, 72,5% e 60%, no trato gastrointestinal 25% e 12,5% e no músculo 17,5% e 5%. A carga bacteriana foi significativamente maior no filé em relação ao músculo. Em duas amostras de filé foram verificados *Staphylococcus* coagulase positivo, uma acima dos parâmetros microbiológicos estabelecidos pela Resolução RDC nº 12/2001 da ANVISA. *Salmonella* spp. não foi detectada em nenhuma amostra analisada. As amostras de peixes estavam em boas condições para consumo, com exceção de duas amostras de filé. Os filés apresentaram maior contaminação que o músculo da tilápia *in natura*. Indicadores de poluição fecal demonstraram que a pele foi o órgão com maior contaminação.

Palavras-chave: peixes, *Staphylococcus* coagulase positivo, coliformes, filé.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the risks to public health of consumption of tilapia fish grown in captivity and commercialised in supermarkets in the Northwest region of São Paulo state. In order to accomplish with the objective the researcher undertook analysis in 40 samples of fresh tilapias and in 50 fillets of the fish. In the fresh fish it was also analysed the washing water of the skin and of the gastrointestinal tract. It were determined, in accordance to the American Public Health Association (APHA), the number of total and thermotolerant fecal coliforms as well as the number of coagulase-positive *Staphylococcus* and presence of the bacteria *Salmonella spp*. The results were analyzed using logarithmic values and means compared by Tukey test with 5% of probability. The skin was the tissue with higher levels of contamination comparing with the gastrointestinal tract and muscle of the fresh tilapia. The percentage of samples with total and thermotolerant fecal coliforms in the skin washing water was 72.5% and 60% respectively; 25% and 12.5% in the gastrointestinal tract and 17.5% and 5% in the muscles. Bacterial presence was significantly higher in fillets comparing to muscles. Moreover, it was noticed presence of coagulase-positive *Staphylococcus* in two samples of fillet; one of them showed levels above of the microbiological parameters established by the RDC resolution no. 12/2001 ANVISA. Additionally, it was not identified presence of *Salmonella spp* in any of the samples analyzed. Generally, the studied samples were in good condition for human consumption, except for two samples of fillets. Fillets presented higher levels of contamination comparing with muscles of the fresh tilapia. Fecal pollution indicators have proved that the skin was the organ with higher levels of contamination.

Keywords: fish, coagulase positive *Staphylococcus*, coliforms, fillet.

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura tem como objetivo o cultivo racional de peixes, o que compreende particularmente o controle de seu crescimento e sua reprodução. Os peixes desempenham na economia de muitos países um importante papel, como consequência de sua abundância e de sua excelente composição nutritiva. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o consumo de pescado no Brasil gira em torno de 5,56 kg/ano per capita (FAO, 2010). O Brasil produz aproximadamente 1,25 milhões de toneladas de pescado, sendo 38% cultivados. A tilápia é o pescado que lidera a produção aquícola brasileira, com mais de 132 mil toneladas produzidas por ano (MPA, 2010).

Nas últimas duas décadas, a preocupação tem se voltado para a crescente degradação ambiental de florestas, rios e mares. Nestes, são despejados uma série de compostos orgânicos e inorgânicos, que colocam em risco a saúde de quem consome alimentos retirados desse ecossistema. Dentre esses alimentos estão os peixes, que podem alojar em seus órgãos, como a pele, trato gastrintestinal e brânquias, vários microrganismos. Aliados a esse fator está o stress da captura e transporte, a exposição a microrganismos indesejáveis durante os processos relacionados à cadeia produtiva e a rápida deterioração que o peixe sofre após sua retirada da água.

Normalmente, os músculos de peixe fresco são estéreis, no entanto, é passível de sofrer contaminação cruzada pela superfície da pele e o trato gastrintestinal. Geralmente, esses tecidos contém alta carga de bactérias (LISTON, 1980).

A utilização de indicadores como coliformes totais e termotolerantes fornece informações seguras sobre condições higiênicas e eventual presença de patógenos. Assim como a pesquisa de organismos patogênicos como a *Salmonella* spp. tem grande importância para a saúde pública, sendo essencial sua detecção para determinação da qualidade do produto (LIMA & REIS, 2002). As salmonelas são consideradas as principais causas de doença entérica de origem bacteriana no ser humano, sendo responsáveis por grandes surtos. Outro microrganismo importante como indicador e patógeno em potencial é *Staphylococcus* sp. Sua presença é comum em peles e mucosas humanas, porém se multiplica com facilidade em alimentos ricos em nutrientes. Sua origem está na matéria-prima ou no manipulador de alimentos. Muitas espécies são patogênicas para o ser humano e animais, uma vez que produzem toxinas extracelulares.

O monitoramento destes microrganismos é importante para evitar que o alimento se torne um veículo de contaminação de agentes patogênicos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), por ano 30% da população de países industrializados são acometidas por doenças transmitidas por alimentos (WHO, 2010).

O aparecimento das infecções e intoxicações alimentares associadas aos serviços de alimentação está ligado às condições higiênicas e sanitárias e ao baixo índice de conhecimento de boas práticas de manipulação. A maioria das doenças transmitidas por alimentos são esporádicas e muitas vezes não notificadas. No entanto, surtos de doenças transmitidas por alimentos podem assumir proporções gigantescas (WHO, 2010).

Portanto, um manejo inadequado em qualquer etapa da cadeia de produção pode comprometer a qualidade do produto final, agregando microorganismos que podem representar riscos a saúde do consumidor.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A aquicultura é considerada um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce no mundo e que poderá contribuir para suprir a demanda mundial de pescado (SOUZA, 2002). A piscicultura vem se mostrando, em todo o mundo, uma alternativa atraente e economicamente sustentável na produção de alimentos. É uma importante fonte de nutrientes de alto valor biológico e baixos níveis calóricos. No entanto é necessário controle e garantia da qualidade destes produtos para suprir as exigências crescentes no mercado consumidor (GERMANO & GERMANO, 2003).

A oferta de peixe fresco é cada vez maior, e, com objetivo de estimular o consumo, hoje existem novas formas de apresentação desse alimento perecível, que antes era oferecido frequentemente apenas enlatado ou em conserva (GERMANO & GERMANO, 2003).

O consumo de peixe cru vem aumentando gradativamente, sendo cada vez maior a oferta deste alimento para consumo *in natura* sob a forma de sushi e sashimi, fazendo crescer a preocupação com a qualidade higiênica e sanitária deste alimento, uma vez que os peixes crus ou malcozidos podem veicular agentes de toxinfecções alimentares (SATO et al., 2005).

Assim, segundo a OMS, doença de origem alimentar pode ser definida como aquela, de natureza infecciosa ou tóxica, é causada por agentes que entram no organismo através da ingestão de alimentos (WHO, 2010).

Os microrganismos podem causar doenças através de intoxicação, na ingestão de uma toxina previamente formada pelo microrganismo no alimento, ou de

uma infecção, provocada pela ingestão de células microbianas em concentração suficiente para se tornarem prejudiciais à saúde (VIEIRA et al., 2004).

As Doenças Transmitidas por Alimento (DTAs), de modo geral, são identificadas por sintomas gastrintestinais, sobretudo diarreia, vômitos e dores abdominais. As bactérias são os microrganismos de maior importância, para algumas a presença tem valores limitados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

Boas condições higiênicas e sanitárias durante toda a cadeia produtiva são necessárias para garantir a qualidade do pescado (PACHECO et al., 2004). Os principais meios de contaminação que ocorrem em peixes após a retirada da água são provenientes das contaminações cruzadas durante a descarga do produto.

Por outro lado, a microbiota dos peixes recém-capturados reflete o ambiente terrestre próximo aos ambientes hídricos e as condições microbiológicas do local de captura (MURATORI et al., 2004). Após a captura, a microbiota inicial pode sofrer alterações em decorrência do transporte, manipulação, contato com o gelo, superfícies, equipamentos, ambiente de estocagem e modo de comercialização (HUSS, 1997; CARDOSO et al, 2003).

A falta de boas práticas por parte de pescadores e empresários na cadeia produtiva do pescado, é fator determinante para o aumento da contaminação, que contribui com baixa qualidade do produto brasileiro, que chega ao consumidor com uma carga microbiana elevada (ALMEIDA et al., 2002).

A captura e transporte de peixes atuam como agentes estressantes ao ficarem expostos a baixos valores de oxigênio dissolvido na água, alta concentração de amônia, variações bruscas de temperatura e pH. Tais fatores propiciam um aumento da susceptibilidade às enfermidades parasitárias e infecciosas. Algumas

doenças de peixes podem ser transmitidas ao ser humano, constituindo-se em problema de saúde pública (SCHALCH, 2002).

Os agentes patogênicos transmitidos pelos peixes para o ser humano, frequentemente, não causam prejuízos na produção e criação animal. Entretanto, a utilização indiscriminada de produtos para o controle e prevenção de doenças, pode ter consequências diretas e indiretas no ambiente e para a saúde pública. É importante a preocupação para que o peixe não sirva de veículo de perigos de natureza química, tais como metais pesados e resíduos industriais, ou de natureza biológica, com destaque para agentes patogênicos (LIUSON, 2003).

A microbiota do peixe vivo está diretamente relacionada à microbiota da água onde ele vive, podendo sofrer variações influenciada pelas propriedades químicas, físicas e biológicas da água (MOLLERKE et al., 2002).

Devido ao contato dos peixes com a água, a microbiota presente em sua superfície corporal, brânquias e no trato gastrintestinal, está relacionada qualitativa e quantitativamente com aspectos microbiológicos do ambiente. Assim, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos e fezes, podem albergar microrganismos patogênicos e indicadores de poluição fecal (PAL & DASGUPTA, 1992; AL-HARBI, 2003; EL-SHAFI et al., 2004; GUZMÁN, et al., 2004).

Para o controle e prevenção destas doenças, o uso de indicadores de contaminação ambiental e fecal, através da enumeração de coliformes totais e termotolerantes e a pesquisa de patogênicos como *Salmonella* spp, têm importância para a saúde pública, sendo essencial sua detecção para determinação da qualidade do produto (LIMA & REIS, 2002).

Os contaminantes presentes no pescado podem ser classificados como microrganismos deteriorantes, microrganismos indicadores de higiene ou de

processamento, microrganismos indicadores de manipulação inadequada, microrganismos indicadores de contaminação fecal, microrganismos potencialmente capazes de provocar doenças transmitidas pelo consumo de pescado e microrganismos capazes de liberar toxinas capazes de causar intoxicações ao consumidor (PIMENTEL & PANETTA, 2003).

Entre os gêneros que fazem parte da microbiota natural do pescado podem ser citados *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Micrococcus*. Os mais importantes deteriorantes são os gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, principais responsáveis pelas alterações organolépticas do pescado devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis redutoras e outros compostos (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

Os resultados dos exames laboratoriais efetuados no pescado devem estar de acordo com os parâmetros de qualidade exigidos na legislação, os quais podem ser físico-químicos, microbiológicos, microscópicos e toxicológicos.

Os parâmetros microbiológicos adotados pela resolução RDC n° 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) para o pescado *in natura* compreendem a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo e a pesquisa de *Salmonella* em 25 g de amostra.

2.1 Bactérias do grupo coliformes

O grupo dos coliformes totais inclui bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35 °C. Contém cerca de 20 gêneros, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos quanto de outros animais homeotérmicos. Sua presença não

indica necessariamente poluição de origem fecal, já que este grupo de microrganismos é encontrado naturalmente no ambiente como no solo, insetos e vegetais (SILVA et al., 1997).

Quanto ao grupo dos coliformes totais, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA), não indica limites em pescado, mas, é importante analisar a presença deste grupo de microrganismos em alimentos, por estarem relacionados à sua qualidade higiênica (BRASIL, 2001). Segundo Agnese et al. (2001), valores de coliformes totais acima de 50 a 100 NMP por grama de carne de pescado, é motivo suficiente para realizar um controle mais rígido relacionado a higiene de elaboração e comercialização deste produto nos estabelecimentos comerciais.

Os coliformes termotolerantes são capazes de fermentar a lactose com produção de gás e aldeídos ácidos, em 24 h a $44,5 \pm 0,5$ °C. Este grupo atua como indicador de poluição fecal, devido à sua ocorrência restrita às fezes do ser humano e dos animais homeotérmicos. Sua presença evidencia o risco da presença de organismos patogênicos de origem fecal. Três gêneros fazem parte deste grupo: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (SILVA et al., 1997).

A incidência de infecções por esse grupo é mais frequente nas regiões tropicais, onde predominam aglomerações populacionais, condições sanitárias precárias e a contaminação dos suprimentos aquíferos por material de origem fecal (KONEMAN et al., 2001).

São importantes causas de infecções e intoxicações alimentares os contaminantes de origem exógenas onde estão contidos os microrganismos como *Escherichia coli*. Portanto, a grande preocupação é impedir que estes microrganismos sejam adicionados à matéria-prima e se multipliquem (GERMANO & GERMANO, 2003).

A maioria das linhagens de *Escherichia coli* são comensais, porém, algumas podem causar uma grande variedade de doenças, incluindo diarreia, disenteria, síndrome hemolítica-urêmica, infecções de bexiga e rim, septicemia, pneumonia e meningite (KAPER et al., 2004). Essa versatilidade tem sido associada ao fato de diferentes linhagens de *Escherichia coli* terem adquirido diferentes genes de virulência (GILLIGAN, 1999).

Por não fazer parte da microbiota do pescado, a presença dos coliformes termotolerantes, está sempre associada à contaminação fecal da água do local de captura ou manuseio inadequado do pescado fresco pelo manipulador (FRAZIER & WESTHOFF, 1988).

Pal & Dasgupta (1992) e Gúzman et al. (2004) verificaram que a concentração de *Escherichia coli* nos diferentes órgãos do peixe está relacionada com a concentração dessa bactéria na água. Assim como Antonioli (1993), ao realizar trabalho sobre a qualidade da carne de carpa comum (*Cyprinus carpio*) alimentadas com dejetos e Easa et al. (1996), ao estudarem tilápias do Nilo tratadas com efluentes domésticos, observaram que a água influencia na condição microbiológica dos peixes. No entanto, Pilarski et al. (2004), ao analisar amostras de músculo de carpa comum (*Cyprinus carpio*) e água de viveiros fertilizados com dejetos de suíno, não verificaram relação entre a qualidade microbiológica da água e o músculo do peixe.

Nascimento et al. (2001) também relacionou o grau de contaminação do rio Bacanga em São Luís (MA) com a qualidade microbiológica dos peixes e sururus capturados no local. Os autores acreditam que os altos valores de coliformes totais e termotolerantes encontrados no estudo indicam uma fonte poluidora constante no

local e o perigo de tais alimentos provocarem infecções ou intoxicações ao consumidor.

Sendo assim, o pescado oriundo tanto de sistemas de criação intensiva ou extensiva passa a ser importante veículo de grande número de microrganismos possivelmente patogênicos para o ser humano, dado ao crescimento de ações poluidoras e contaminadoras do ambiente, por lançamentos de esgotos, nos vários sistemas aquáticos disponíveis (PÁDUA, 2003).

2.2 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, composta por duas espécies: *Salmonella entérica*, com seis subespécies e *Salmonella bongori*, sendo no total, mais de 2324 sorotipos (YAN et al., 2003). As salmonelas são Gram-negativas, anaeróbia facultativas e multiplicam-se em temperaturas entre 7 °C e 49 °C, sendo 37 °C o valor ideal para sua multiplicação e, como não formam esporos, podem ser destruídas a 60 °C por 15 a 20 minutos. A faixa de pH para sua multiplicação está entre 3,7 a 9,0, sendo o valor ótimo próximo de 7,0 (FRANCO & LANDGRAF 2003).

Salmonella é considerada a principal causa de doença entérica de origem bacteriana no ser humano, tendo produzido grandes surtos. As principais vias de transmissão são as de origem alimentar (D'AOUST, 1995).

O principal habitat das salmonelas é o trato intestinal de aves, répteis, animais homeotérmicos e seres humanos. Geralmente, os alimentos são contaminados direta ou indiretamente pelas fezes dos animais no momento do abate, fezes de pessoas portadoras da bactéria, fômites, utensílios utilizados na preparação de alimentos, equipamentos e/ou pelo contato com águas poluídas (CARVALHO, 2006).

Em 1888, na Alemanha, Gurtner descreveu o primeiro surto de salmonelose, quando adoeceram 59 pessoas após terem ingerido carne crua (EVANGELISTA, 2002). A infecção por *Salmonella* spp. se dá pela transmissão fecal-oral que ocorre por meio de água e alimentos contaminados, e a grande incidência é encontrada em populações com grande densidade populacional, vivendo em precárias condições higiênicas sanitárias e socioeconômicas (CONNOR & SCHWARTZ, 2005).

No Brasil, são vários os relatos de surtos alimentares por salmonelas, entre eles o ocorrido em Araraquara, SP, por *Salmonella bredeney*, afetando 561 funcionários de uma empresa com 42 hospitalizações (7,5%) (LANDGRAF et al., 1985). No surto de salmonelose ocorrido no Paraná, em 1981, dos 181 afetados, 40 foram hospitalizados (22,1%) (MOTA et al., 1983). Em Pontalinda, Noroeste do Estado de São Paulo, um surto de salmonelose de origem alimentar em escola afetou 211 pessoas, sendo na sua maioria crianças de 6-10 anos (KAKU et al., 1995). O sorotipo predominante causador de infecções alimentares mudou nas últimas décadas de *S. Agona*, *S. Hadar* e *S. Typhimurium* para *S. Enteritidis*, sendo a *S. Enteritidis* a causa predominante de salmoneloses em diversos países (SILVA & DUARTE, 2002).

Salmonella tem sido frequentemente associada ao trato intestinal de animais homeotérmicos, mas também isolada em animais pecilotérmicos, no qual são capazes de sobreviver e multiplicar no intestino, muco e tecidos. Portanto, tornam os peixes em um potencial veículo de transmissão de doenças humanas (AMPOFO & CLERK, 2003).

Em pesqueiros, estes microrganismos tem sido isolados em peixes, no sedimento e na água de cultivo (LINDER, 2002; LIUSON, 2003; ELER et al., 2006; MORITA et al., 2006).

De modo geral, a presença de *Salmonella* no ambiente e nos animais desperta o interesse para a sua pesquisa e o seu monitoramento, uma vez que a contaminação por fezes de hospedeiros infectados ou outras fontes do meio ambiente pode colocar em risco a saúde pública.

2.3 *Staphylococcus*

Staphylococcus são bactérias pertencentes à família *Micrococcaceae*, possuem células esféricas (0,5 – 1,5 μm), Gram-positivas, que podem ser encontradas isoladas, aos pares e em grupamentos irregulares. São imóveis, não esporulados, anaeróbios facultativas, quimiorganotróficos com metabolismo fermentativo e respiratório. A temperatura ótima de multiplicação é de 30 – 37°C.

Staphylococcus estão associados à pele e membranas mucosas de animais vertebrados homeotérmicos, podendo ser, eventualmente, isolados de produtos alimentares, poeira e água. Muitas espécies são patogênicas para o ser humano e animais, pois são produtoras de coagulase. Dentre elas pode-se citar: *Staphylococcus intermedius*, *S. hicus*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. delphini*. Entretanto, *S. aureus* é a espécie coagulase positivo de maior importância (HOLT et al., 1994).

Staphylococcus aureus é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de intoxicação de origem alimentar. Seu habitat é amplo tornando a sua presença largamente distribuída na natureza. Sob condições apropriadas podem ser causa de infecções oportunistas. (CASTRO & IARIA, 1984),

A intoxicação alimentar provocada por este microrganismo é devido à ingestão de enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento e representando um risco para saúde pública. A

enterotoxina estafilocócica é termoestável e está presente no alimento mesmo após o cozimento, possibilitando desta forma, a instalação de um quadro de intoxicação de origem alimentar. É o agente responsável por, aproximadamente, 45% das toxinfecções no mundo (CUNHA NETO et al., 2002).

Alguns autores relacionam testes bioquímicos como a produção de coagulase, termonuclease, hemólise e fermentação de manitol com a capacidade das cepas de *Staphylococcus* sp. e *S. aureus* em produzirem enterotoxinas. Estes são testes indiretos, úteis para detecção de cepas potencialmente enterotoxigênicas, embora autores tenham verificado que características fisiológicas podem ou não diferenciar cepas enterotoxigênicas das não enterotoxigênicas (CUNHA NETO et al., 2002). A intoxicação alimentar estafilocócica é caracterizada por náuseas, vômito, dores abdominais e diarreia, e por um curto período de incubação, de 1 a 6 horas após a ingestão do alimento responsável (PASSOS & KUAYE, 1996).

Em alimentos crus, especialmente os produtos de origem animal, a presença de *S. aureus* é comum e pode não estar relacionada com contaminação humana. Contaminação estafilocócica de couro animal, penas e pele são comuns e podem ou não ser o resultado de lesões (LANCETTE & TATINI, 1992).

Em estudos realizados na África, *Staphylococcus* sp. foram isolados de água de aquário e encontrados em águas de viveiros de aquicultura, sendo os membros desse gênero relacionados como patógenos de organismos aquáticos (NEMETZ & SHOTTS, 1992).

Em 3 de 10 amostras de peixe fresco, grande quantidade de *S. aureus* foram detectados com números acima do permitido pela legislação brasileira (VIEIRA et al., 2001). No sul do Brasil, *S. aureus* foi isolado em 20% das amostras de peixe fresco e no filé do peixe (AYULO et al., 1994). Segundo Martin et al. (1978), a presença de

S. aureus é considerada evidência de manuseio inadequado, equipamento contaminado ou de contaminação por fontes humanas ou animais.

Pouco se sabe sobre a multiplicação de estafilococos coagulase negativo em alimentos. Essas bactérias, por produzirem baixíssima quantidade de enterotoxina, raramente foram implicadas em intoxicações alimentares, pois não se multiplicam rapidamente nesse meio. No entanto, estafilococos coagulase negativos podem contaminar o alimento, uma vez que os seres humanos são portadores desses microrganismos e alguns destes podem estar relacionados a determinadas infecções humanas (PEREIRA & PEREIRA, 2005; CUNHA et al., 2006).

Algumas das espécies coagulase negativos relatadas como produtoras de enterotoxinas são: *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus* e *S. saprophyticus* (PEREIRA & PEREIRA, 2005; CUNHA et al., 2006; LANCELLOTTI, 2006). Estas espécies são associadas a uma série de outras infecções em seres humanos e animais. *Staphylococcus* coagulase negativo pode produzir quantidades menores de enterotoxinas quando comparados com *S. aureus*, mas não devem ser excluídos quando presentes em alimentos envolvidos em surtos de intoxicações alimentares (PEREIRA & PEREIRA, 2005; SANTANA et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica das tilápias, provenientes de cultivo, comercializadas inteiras e em filés frescos na região nordeste do Estado de São Paulo, comparando-as através das determinações dos números de coliformes totais, termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positivo e presença de *Salmonella*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Colheita e transporte das amostras de peixe

As amostras foram colhidas em seis cidades (Ribeirão Preto, São Carlos, Araraquara, São José do Rio Preto, Catanduva, Barretos), situadas na região nordeste do Estado de São Paulo, em dez supermercados que comercializavam pescado fresco, estocados no gelo. Ao final foram analisadas 40 amostras de tilápia *in natura* e 50 amostras de filés de tilápia.

Em cada estabelecimento foram colhidos, cinco peixes comercializados *in natura* e cinco na forma de filés (n=10). As amostras foram transportadas em caixa isotérmicas com gelo reciclável para o Laboratório de Análises de Alimentos e Água do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV/UNESP.

A tilápia *in natura* não foi encontrada em dois dos dez estabelecimentos analisados, portanto foi colhido um total de 40 amostras em oito supermercados diferentes.

As tesouras e pinças utilizadas na abertura das embalagens foram previamente esterilizadas em autoclave. Para os peixes comercializados *in natura* foram realizadas análises da pele, trato gastrintestinal e músculos.

A obtenção das amostras e as análises microbiológicas foram realizadas segundo a American Public Health Association (APHA, 1998; APHA, 2001).

Para a determinação da contaminação da pele foram adicionados 200 mL de água peptonada 0,1% esterilizada em saco plástico estéril contendo o peixe. Em seguida o peixe foi massageado durante um minuto para transferir os

microrganismos da pele para a água peptonada. Desta maneira foi obtida uma amostra da água de enxaguadura utilizada para as análises microbiológicas.

As amostras de tecido muscular foram obtidas com a dissecação dos peixes com o auxílio de instrumentos esterilizados (bisturi e pinça). Foram utilizado 25 g de músculo de cada peixe, pesados em sacos plásticos estéreis, procedendo então a diluição da mesma com a adição de 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1% e homogeneizado por um minuto, em stomacher, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A partir dessa solução realizou-se as diluições e análises.

O mesmo procedimento foi utilizado para a obtenção das amostras de filés.

Para o trato gastrintestinal foi retirado 15 g, inclusive seu conteúdo, com auxílios de bisturi e pinças, e adicionados 135 ml de água peptonada 0,1% para obtenção da diluição 10^{-1} .

3.2 Análises microbiológicas

3.2.1 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes.

Para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos). Para a avaliação dos coliformes totais, 1 mL das diluições das amostras (água de enxaguadura da pele, musculatura, trato gastrintestinal e filés) foram inoculadas em caldo lauril sulfato triptose e a incubação foi realizada a 35 °C durante 24 - 48 horas. Após a incubação verificou-se a presença de gás nos tubos de Durham, indicando a prova presuntiva positiva. Alíquotas dos tubos positivos foram transferidas para tubos contendo caldo lactose bile 2% verde brilhante que foram incubados a 35 °C por 24 - 48 horas. A presença de gás nos tubos de Durham indicou a prova

confirmatória positiva para coliformes totais. A partir do número de tubos com gás e com o auxílio de uma tabela de NMP, obteve-se o número mais provável de coliformes totais por grama ou mL da amostra.

Para coliformes termotolerantes, alíquotas dos tubos de caldo lauril sulfato triptose com produção de gás, foram transferidas para tubos com caldo EC e tubos de Durham e a incubação foi realizada em banho-maria a 44,5 °C por 24 horas. A presença de gás nos tubos de Durham indicou a prova confirmatória positiva para coliformes termotolerantes. Através da tabela de NMP e baseado no número de tubos de caldo EC com produção de gás obteve-se o NMP de coliformes fecais por grama ou mL da amostra.

As diluições para todas as amostras de peixe foram de 10^{-1} a 10^{-3} .

3.2.2. Contagem de *Staphylococcus* sp.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo foi realizada transferindo 0,1 mL das diluições 10^{-1} e 10^{-2} das amostras da água de enxaguadura da pele, do músculo, trato gastrintestinal e filés para placas de Petri, contendo Ágar Baird Parker seguido de incubação em estufa a 36 °C por 48 h. Aliquotas de três a seis colônias características do gênero *Staphylococcus*, ou seja, negras brilhantes foram corados pelo método de Gram.

As colônias que apresentaram microrganismos em forma de cocos, agrupados em cachos e Gram-positivas, foram submetidas aos testes da catalase e OF/Glicose (MaC FADIN, 1976). Foram considerados coagulase positivos os *Staphylococcus* que coagularam o plasma de coelho em incubação a 37 °C por até 24 horas. O número de colônias confirmadas, multiplicado por 10 e pelo fator de

diluição forneceu o número de *Staphylococcus* coagulase positivos por grama/ou mL da amostra.

3.2.3. Pesquisa da presença de bactérias do gênero *Salmonella*

a) Pré-enriquecimento

As amostras de 25 g do músculo, do trato gastrintestinal e filés e 25 mL da água de exaguadura dos peixes, foram acondicionadas em frascos contendo 225 mL água peptonada a 0,1% tamponada. Após homogeneização o conjunto foi incubado em estufa a 37 °C por 24 horas.

b) Enriquecimento seletivo

Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL, da cultura do pré-enriquecimento foram inoculadas, respectivamente, em 10 mL de caldo selenito cistina e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, respectivamente e adicionados de 1 mL de uma solução de novobiocina a 4%, originando uma concentração de 40 mg do princípio ativo por mililitro de meio. A incubação foi realizada a 37 °C por 24 horas.

c) Plaqueamento seletivo

Com auxílio de alça de níquel-cromo cada cultura em caldo de enriquecimento foi semeada, pela técnica de esgotamento, em ágar verde brilhante e ágar MacConkey, seguido de incubação a 37 °C por 24 horas.

d) Identificação Presuntiva

Das culturas obtidas no plaqueamento seletivo foram tomadas, com auxílio de uma agulha de níquel-cromo, de cada uma das placas semeadas, três a cinco colônias com características sugestivas do gênero *Salmonella* e inoculadas em tubos contendo ágar TSI (“Triple Sugar Iron”) com incubação realizada a 37 °C por 24 horas. As colônias que se presumiram serem de *Salmonella* foram semeadas em

tubos contendo ágar TSA inclinado, incubados a 37 °C por 24 horas para comprovação sorológica.

e) Confirmação sorológica do gênero *Salmonella*

Da cultura em ágar TSA foi transferida uma alçada para lâminas de vidro contendo gotas de solução salina estéril. Após homogeneização foi adicionada uma gota de soro anti-salmonela polivalente somático-O, a lâmina foi movimentada e foi feita a leitura. Caso ocorresse aglutinação da mistura a prova seria considerada positiva. O mesmo procedimento foi realizado para o soro polivalente flagelar-H. Seria considerada como de *Salmonella* sp. a cultura que apresentasse positividade em ambas as provas, que sempre foram acompanhadas de provas com padrão positivo e negativo.

3.3 Análise estatística

O delineamento experimental foi realizado em dez blocos casualizados (supermercado ou peixarias) com cinco repetições de cada tratamento (peixe *in natura* e filé embalado) em cada bloco. Os resultados obtidos foram analisados utilizando valores em logaritmo e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (SAS..., 1991).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação dos números mais prováveis de coliformes totais, termotolerantes e da população de *Staphylococcus* sp. nas diferentes partes das tilápias *in natura* colhidas nos diferentes estabelecimentos está apresentada na Tabela 1.

A variação dos números mais prováveis de coliformes totais, termotolerantes e da população de *Staphylococcus* sp. nos filés colhidos nos diferentes estabelecimentos está apresentada na Tabela 2.

A Figura 1 apresenta o número e a porcentagem de tilápias *in natura* com a presença de coliformes totais e termotolerantes na água de enxaguadura da pele, no trato gastrintestinal e no músculo colhidas nos diferentes estabelecimentos.

4.1 Coliformes totais

O NMP de coliformes totais na água de enxaguadura da pele variou de $<3,0$ a >1100 NMP.mL⁻¹; no trato gastrintestinal de $<3,0$ a 210 NMP.g⁻¹; e no músculo $<3,0$ a 93 NMP.g⁻¹ (Tabela 1). O NMP de coliformes totais em 25 g de filé variou de $<3,0$ a >1100 NMP.g⁻¹ (Tabela 2).

As porcentagens de amostras contaminadas com coliformes totais estão representadas na Figura 1. Nota-se que a pele foi o órgão que apresentou um maior número de amostras contaminadas, quando comparada com o trato gastrintestinal e ao músculo. A pele está em contato direto com todo o processo da cadeia produtiva e susceptível a contaminação por microrganismos indesejáveis.

Tabela 1. Variação dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e população de *Staphylococcus* sp. nas diferentes partes das tilápias *in natura* analisadas colhidas nos diferentes estabelecimentos na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010.

Estabelecimento	Amostra	CT (NMP.mL ⁻¹ ou g ⁻¹)	CTer (NMP.mL ⁻¹ ou g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC.mL ⁻¹ ou g ⁻¹)
1	pele	<3,0 - 43	<3,0 - 43	<1,0 x 10 ²
	t.gastrintestinal	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ²
	músculo	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ²
2	pele	<3,0 - 460	<3,0 - 460	1,5 x 10 ³ - 1,2 x 10 ⁶
	t.gastrintestinal	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ²
	músculo	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ²
3	pele	<3,0 - 23	<3,0 - 23	2,6 x 10 ³ - 1,9 x 10 ⁵
	t.gastrintestinal	<3,0 - 3	<3,0	1,0 x 10 ² - 3,7 x 10 ³
	músculo	<3,0 - 9,1	<3,0 - 7,3	<1,0 x 10 ² - 2,1 x 10 ³
4	pele	<3,0 - 210	<3,0 - 210	1,3 x 10 ³ - 2,0 x 10 ³
	t.gastrintestinal	<3,0 - 19	<3,0 - 19	1,5 x 10 ³ - 1,5 x 10 ⁵
	músculo	<3,0 - 93	<3,0 - 43	<1,0 x 10 ² - 1,5 x 10 ⁴
6	pele	<3,0 - >1100	<3,0 - 15	1,0 x 10 ³ - 2,3 x 10 ⁴
	t.gastrintestinal	<3,0 - 43	<3,0	<1,0 x 10 ² - 3,0 x 10 ²
	músculo	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ² - 2,0 x 10 ³
7	pele	43 - >1100	15 - >1100	8,0 x 10 ² - 1,4 x 10 ⁴
	t.gastrintestinal	<3,0 - 210	<3,0 - 210	<1,0 x 10 ² - 1,3 x 10 ³
	músculo	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ² - 6,0 x 10 ³
8	pele	43 - >1100	<3,0 - >1100	2,8 x 10 ³ - 5,7 x 10 ⁴
	t.gastrintestinal	<3,0 - 23	<3,0	<1,0 x 10 ² - 6,5 x 10 ⁴
	músculo	<3,0 - 7,3	<3,0	<1,0 x 10 ² - 4,2 x 10 ³
10	pele	<3,0 - 23	<3,0	1,9 x 10 ³ - 4,6 x 10 ³
	t.gastrintestinal	<3,0 - 3,6	<3,0 - 3,6	<1,0 x 10 ²
	músculo	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ²

Tabela 2. Variação dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e população de *Staphylococcus* sp. nos filés analisados colhidas nos diferentes estabelecimentos na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010.

Estabelecimentos	CT (NMP.g ⁻¹)	CTer (NMP.g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC.g ⁻¹)
1	<3,0 - >1100	<3,0 - 460	<1,0 x 10 ²
2	<3,0 - 3,6	<3,0	<1,0 x 10 ² - 2,0 x 10 ³
3	3,6 - 23	<3,0 - 9,1	2,0 x 10 ² - 6,0 x 10 ³
4	<3,0 - 21	<3,0	<1,0 x 10 ² - 9,4 x 10 ³
5	3,6 - 43	<3,0	1,0 x 10 ² - 6,9 x 10 ³
6	6,1 - 460	<3,0 - 29	<1,0 x 10 ² - 1,0 x 10 ³
7	<3,0 - 7,3	<3,0 - 3,6	5,0 x 10 ² - 2,3 x 10 ³
8	11 - >1100	<3,0	<1,0 x 10 ²
9	<3,0 - 11	<3,0 - 6,2	<1,0 x 10 ² - 2,2 x 10 ³
10	<3,0	<3,0	<1,0 x 10 ² - 1,0 x 10 ²

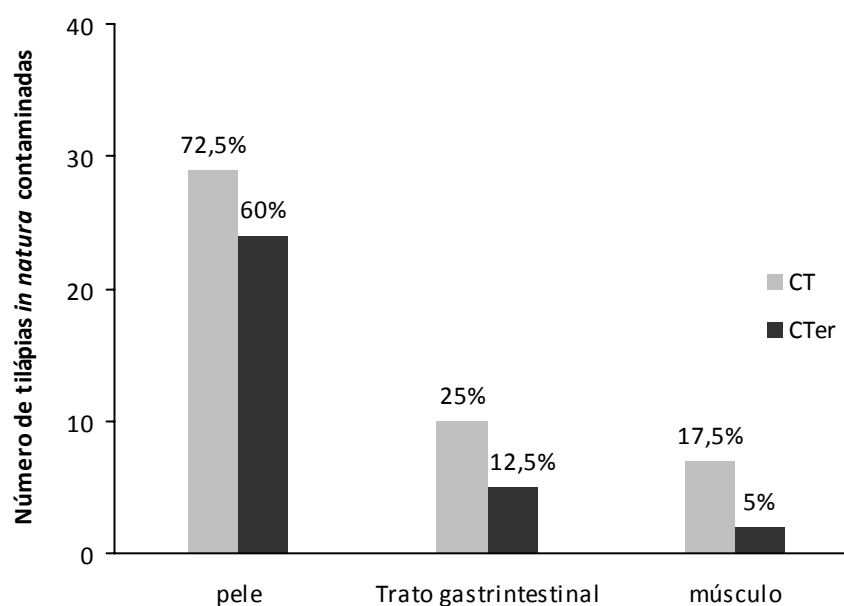


Figura 1. Número e a porcentagem de tilápias *in natura* com a presença de coliformes totais e termotolerantes na água de enxaguadura da pele, no trato gastrointestinal e no músculo, colhidos nos diferentes estabelecimentos na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010.

Em São Paulo, SP, tilápias (*Oreochromis* spp.) inteiras oriundas de pesqueiros também apresentaram uma maior contaminação por coliformes totais na água de enxaguadura da pele. Os valores obtidos variaram de $<0,3$ até $4,6 \times 10^7$ NMP.mL⁻¹, sendo que 69,4% das amostras concentravam os valores entre 10^2 a 10^5 NMP. mL⁻¹ (LIUSON, 2003).

Em peixes recém-capturados, Lorenzon et al. (2010) verificaram maior número de coliformes totais no trato gastrintestinal, que variou de $2,6 \times 10^3$ até $> 1,1 \times 10^4$ NMP.g⁻¹; enquanto que na pele variou de $1,5 \times 10^3$ até $> 1,1 \times 10^4$ NMP.100mL⁻¹; e no músculo variou de $2,0 \times 10$ a $> 1,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹.

Em experimento da qualidade microbiológica de carpas criadas em viveiros que recebiam efluente tratado de esgoto em Jedwabne, Polônia, o autores também verificaram uma carga bacteriana média de coliformes totais maior no trato gastrintestinal, 10^6 UFC.g⁻¹; no músculo $4,5 \times 10$ UFC.g⁻¹; e na pele de $9,1 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ (NIEWOLAK & TUCHOLSK, 2000).

As variações da quantidade de coliformes totais presentes nas amostras de peixe *in natura* e no filé, também são corroboradas na literatura por Farias (2006), que ao avaliar as condições higiênicas e sanitárias do pescado beneficiado. O autor encontrou valores de $<1,0 \times 10^1$ até $4,5 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ para peixes inteiros, eviscerados e filés. Andrade et al. (2002) pesquisando coliformes totais em filés de peixe peruá (*Balistes capriscus*) observaram variação de $0,3 \times 10^3$ até $3,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e para o peixe inteiro de $0,5 \times 10^4$ até $1,5 \times 10^6$ UFC.g⁻¹. Martins et al. (2002) verificaram uma variação de 40 até $2,3 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ de coliformes totais em filés de carpas (*Cyprinus carpio*) e tilápias (*Oreochromis niloticus*).

A população de coliformes totais para o pescado não possui valores estabelecidos pela Legislação Brasileira. No entanto os coliformes totais são

indicadores de qualidade higiênica, indicando o grau de contaminação microbiana a que está exposto o alimento. Elevadas populações desses microrganismos apontam para necessidade de se rever os procedimentos operacionais para identificar quais são as causas de contaminação do produto (VIEIRA et al., 2000). Apesar de não indicarem diretamente a presença de patógenos entéricos são importantes indicadores sobre o potencial de deterioração do produto e de sua vida de prateleira (AGNESE et al., 2001).

Neste estudo foram verificados diferentes níveis de contaminações na água de enxaguadura da pele por local de colheita. Enquanto que nos supermercados 1, 3, 4 e 10 o NMP de coliformes totais na água de enxaguadura da pele manteve-se baixo, nos supermercados 2, 6, 7, e 8 observou-se amostras com maiores contaminações. Nos supermercados 6, 7 e 8 verificou-se amostras com o NMP de coliformes totais $>1100 \text{ NMP.mL}^{-1}$.

Para as amostras de filé nos supermercados 1, 6 e 8, foram encontrados os maiores valores para coliformes totais. Estes valores indicam que em algum momento da cadeia de produção (água de cultivo, despesca, transporte, temperatura de armazenamento, qualidade do gelo) ocorreu exposição a contaminação bacteriana.

Outros estudos corroboram as variações de contaminação por coliformes totais em peixes oriundos de supermercados e feiras, como destacam Álvares et al. (2008), em análise das características higiênicas, sanitárias e microbiológicas do pescado comercializado em São Paulo, SP. Os autores encontraram variação do NMP de CT em supermercados e feiras-livres de 23 até $>1100 \text{ NMP.g}^{-1}$, e no CEAGESP 3,6 até $>1100 \text{ NMP.g}^{-1}$. Almeida et al. (2002) em estudo das características microbiológicas de pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*)

verificaram a variação de $<3,0$ até $1,1 \times 10^4$ NMP.g⁻¹ de coliformes totais em peixes oriundos de supermercados. Santos et al. (2002), verificaram a presença de $2,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹ de coliformes totais por cm² em facas higienizada e $4,1 \times 10^3$ em facas não higienizadas.

Diante de exposto é importante manter-se atento a higiene ao longo da cadeia produtiva do pescado, já que, em diferentes estabelecimentos observou-se variação na contaminação das amostras. Presume-se que em algum momento ocorreu manejo inadequado do alimento comprometendo a qualidade do produto final e colocando em risco a saúde da população consumidora.

4.2 Coliformes termotolerantes

A porcentagem de amostras contaminadas com coliformes termotolerantes estão representadas na Figura 1. Como o observado para coliformes totais, a água de enxaguadura da pele apresentou maior freqüência de contaminação em relação aos outros órgãos. Tal fato também é relacionado com o grau de exposição que a pele está com o ambiente inerente à cadeia produtiva, tornado-se passível de contaminações cruzadas.

Para coliformes termotolerantes, o NMP na água de enxaguadura da pele variou de $<3,0$ até >1100 NMP.mL⁻¹, no trato gastrintestinal de $<3,0$ até 210 NMP.g⁻¹ e no músculo $<3,0$ até 43 NMP.g⁻¹ (Tabela 1). O NMP de coliformes termotolerantes em filé variou de $<3,0$ até 460 NMP.g⁻¹ (Tabela 2).

Em Florianópolis, SC, avaliou-se a qualidade microbiológica da pescadinha (*Cynoscion striatus*) inteira e em filés e os resultados variaram de <3 até $2,4 \times 10^5$ NMP.g⁻¹, para pescado inteiro fresco, de <3 até $2,3 \times 10^3$ NMP.g⁻¹ para pescado congelado e de $4,0 \times 10^2$ até $2,0 \times 10^5$ NMP.g⁻¹ para filés (DAMS et al., 1996). Na

Índia, Vishwanath et al. (1997) verificaram variação para coliformes termotolerantes, de 0 até $3,6 \times 10$ para pescado fresco e $2,3 \times 10$ até $1,2 \times 10^2$ NMP.g⁻¹ para pescado defumado.

Em peixes cultivados em pesque-pagues na região nordeste do Estado de São Paulo, o trato gastrintestinal foi o órgão onde ocorreu maior contaminação, o NMP de coliformes termotolerantes variou de $< 3,0$ até $9,5 \times 10^2$ NMP.100mL⁻¹ para água de enxaguadura da pele de < 3 até 6 NMP.g⁻¹ no músculo; e de $1,2 \times 10^3$ até $5,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹ no trato gastrintestinal (LORENZON et al., 2010).

Outros autores verificaram diferentes resultados, Almeida et al. (2002), não obtiveram confirmação para coliformes termotolerantes em pintados (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializados em supermercados. Vieira et al. (2000), verificaram um aumento de $3,0$ até $4,3 \times 10^3$ NMP.g⁻¹ coliformes termotolerantes ao longo da cadeia produtiva do pescado onde observou precárias condições higiênicas e sanitárias na manipulação. Agnese et al. (2001), verificaram variação de $<3,0$ a 21 NMP.g⁻¹ coliformes termotolerantes em peixes frescos comercializados em Seropédica, RJ. Lira et al. (2001), em estudo da qualidade de peixes comercializados em Maceió, AL, verificaram uma variação de $<3,0$ a 43,0 NMP.g⁻¹. Mollerke et al. (2002), realizaram colimetrias do pescado artesanal do lago Guaíba, RS, e verificaram valores entre $<3,0$ até >1100 NMP.g⁻¹.

A pesquisa com coliformes termotolerantes em alimentos fornece informações sobre as condições sanitárias do produto e é a melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na Resolução N° 12 de 02 de janeiro de 2001, não contempla limites para coliformes a 45 °C em pescado *in natura* refrigerados ou congelados, não consumidos crus. No entanto para pescado

consumido cru a legislação estabelece valores 10^2 NMP.g⁻¹ (BRASIL, 2001). Portanto, segundo a legislação, das 40 amostras do músculo das tilápias *in natura*, nenhuma estava imprópria para o consumo cru. Das 50 amostras de filé, apenas uma estava imprópria para o consumo cru.

4.3 *Staphylococcus*

A população de *Staphylococcus* sp. na água de enxaguadura da pele apresentou números que variam de $<1,0 \times 10^2$ até $1,2 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹; no trato gastrintestinal de $<1,0 \times 10^2$ até $1,5 \times 10^5$ UFC.g⁻¹; e no músculo de $<1,0 \times 10^2$ até 6×10^3 UFC.g⁻¹ (Tabela 1). No filé a população de *Staphylococcus* sp. variou de $<1,0 \times 10^2$ até $9,4 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ (Tabela 2).

Não foi verificado a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo nas amostras de peixe *in natura* analisadas.

Em duas amostras de filé foram verificados *Staphylococcus* coagulase positivo, com populações de $1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ e $2,3 \times 10^3$ UFC.g⁻¹.

A ANVISA, na Resolução Nº 12 de 02 de janeiro de 2001, contempla o limite de 10^3 UFC.g⁻¹ de *Staphylococcus* coagulase positivo (BRASIL, 2001). Portanto uma amostra de filé estava imprópria para consumo.

Barreto & Vieira (2003), em investigação sobre portadores de *Staphylococcus aureus* em indústria de pesca verificou que 36 (60%) apresentavam colonização por essa bactéria. Em Zâmbia (África), tanques de pisciculturas apresentaram contagens de *Staphylococcus* spp. na ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹ (NTENGWE & EDEMA, 2008). Galvão et al. (2006) não detectaram *S. aureus* nas áreas de cultivo de mexilhões em Ubatuba, SP.

Geralmente *Staphylococcus* coagulase positivos são encontrados no corpo humano (trato respiratório, mucosas nasais e pele) e transferidos ao alimento por pessoas com precários hábitos de higiene durante o manuseio.

Algumas linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativos possuem genes responsáveis pela produção de enterotoxinas (CUNHA et al. 2006). Nesse mesmo experimento os alimentos analisados apresentaram uma variação de $3,0 \times 10^2$ (carne de porco) a $1,4 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ (queijo branco) de *Staphylococcus* coagulase negativo.

Em *sushi* de salmão comercializados na cidade de Sobral (CE) não foi detectado *Staphylococcus* coagulase positivo, sendo que a contagem de *Staphylococcus* spp. variou de $<10^2$ até $3,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ (COSTA et al., 2007).

Na literatura é grande o número de estudos em que não é detectado *Staphylococcus* coagulase positivo em pescado. Mouchrek Filho et al. (2003) em avaliação da qualidade microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*) comercializado em feiras livres, não verificou presença de *Staphylococcus* coagulase positivo. Assim como Mendes et al. (2002), analisando camarão defumado (*Litopenaeus vannamei*) e Lorenzon et al. (2010), em análises microbiológicas de peixes e água em pesque-pagues.

Em Taiwan, *S. epidermidis* foi responsável pela morte de várias tilápias (*Oreochromis* spp.) entre 1992 e 1996. Este foi o primeiro relato sobre o isolamento de estafilococos patogênico em tilápias (HUANG et al., 1999). Isto se torna um fator de risco tanto para o peixe como para o ser humano, uma vez que, o *S. epidermidis* é responsável por 50 a 80% das infecções causadas por estafilococos coagulase negativo (LANCELLOTTI, 2006).

A presença de *Staphylococcus* sp., principalmente os produtores de coagulase, é preocupante, pois, indica falta de higiene no manuseio associada a uma temperatura de armazenagem não eficaz, propiciando um ambiente favorável para a proliferação do patógeno, podendo gerar sérios riscos a saúde pública.

4.4 Salmonella

Não foi detectada *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Esse resultado é corroborado por Mendes (2002), em análise microbiológica de camarão (*Litopenaeus vannamei*) defumado, na qual não verificou presença de *Salmonella* spp. Assim como Martins et al. (2002), analisando pescado comercializado em pesque-pagues.

Vários sorotipos de *Salmonella* são potencialmente patogênicos para o ser humano, podendo causar desde leves sintomas, como também levar o indivíduo até a morte (EKPERIGIN & NAGAJARA, 1998). A cocção do alimento elimina o risco deste patógeno, porém a maior preocupação é quando este é consumido cru, como nos casos de *sushi* e *sashimi* (MARTINS, 2006).

O parâmetro preconizado pela RDC nº 12 (BRASIL 2001) é ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de pescado *in natura*. Sabe-se que, em alguns casos, são necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* (1-10 células para alguns sorotipos) para causar sintomas clínicos no ser humano (LINDER, 2002; MARTINS, 2006).

Vieira et al. (2000) verificaram que *Salmonella* spp. esteve presente ao longo da cadeia de produção de filés de tilápias. Foi isolada desde o peixe capturado no açude até no filé congelado coletado no posto de venda. Este fato indica uma possível maior resistência da *Salmonella* spp. às condições adversas encontradas

ao longo da cadeia de produção. Lorenzon et al. (2010) verificou a presença de *Salmonella* spp. em duas amostras do trato gastrintestinal (4,44%) e considerou o fato como preocupante pois essa bactéria pode contaminar a carne durante sua manipulação.

No Egito, Youssef et al. (1992) verificaram em tilápias a presença de *Salmonella* em 3,9% das amostras de trato gastrintestinal. Em Botucatu (SP), Linder (2002), analisou o conteúdo intestinal de peixes provenientes de pesqueiros e obteve presença desses patógenos em 5,66% das amostras. Liuson (2003), também relatou a presença de *Salmonella* em peixes oriundos de pesqueiros e encontrou 7,8% das amostras positivas.

Álvares et al. (2008) verificou em 36,4% das amostras de pescado comercializado na grande São Paulo, a presença de *Salmonella* spp. Assim como Almeida et al. (2002) que verificaram em cinco amostras (16,7%) a presença de *Salmonella* spp, todas oriundas de pescado comercializado em supermercados.

No presente estudo todos os supermercados comercializavam o pescado em acordo com os parâmetros previstos pela legislação, que é ausência de *Salmonella* em 25 g das amostras.

Na Tabela 3 é apresentada a média logarítmica dos NMP de coliformes totais, termotolerantes e contagem de *Staphylococcus* sp. nas diferentes partes de tilápias *in natura* analisadas.

A Tabela 4 apresenta a média logarítmica dos NMP de coliformes totais, termotolerantes e contagem de *Staphylococcus* sp. nos músculos e filés de tilápias analisadas.

Tabela 3. Média logarítmica (log) dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e população de *Staphylococcus* sp. em diferentes partes de tilápias comercializadas na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010.

Amostras	Nº	CT (log ₁₀)	CTer (log ₁₀)	<i>Staphylococcus</i> sp. (log ₁₀)
Pele	40	3,1619 ^a	2,4195 ^a	7,7848 ^a
Músculo	40	1,0012 ^b	0,6832 ^b	3,0579 ^b
Trato gastrintestinal	40	0,7664 ^b	0,5378 ^b	2,6094 ^b

* Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente, a nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 4. Média logarítmica dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e população de *Staphylococcus* sp. em músculos e filés de tilápias comercializadas na região nordeste do Estado de São Paulo de Nov. 2009 a Jun. 2010.

Amostras	Nº	CT (log ₁₀)	CTer (log ₁₀)	<i>Staphylococcus</i> sp. (log ₁₀)
Filé	50	1,7404 ^a	0,6931 ^a	4,5620 ^a
Músculo	40	0,6642 ^b	0,4520 ^b	2,6094 ^b

* Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente, a nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

A média logarítmica de coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* sp. foi significativamente maior na água de enxaguadura da pele do peixe, enquanto que no trato gastrintestinal e o músculo não ocorreu diferenças significativas entre si ($p < 0,05$) (Tabela 3).

A média logarítmica do NMP de coliformes totais, termotolerantes e da população de *Staphylococcus* sp. foi significativamente maior no filé que no músculo dos peixes *in natura* ($p < 0,05$) (Tabela 4).

A manipulação do peixe aumenta significativamente a contaminação bacteriana no alimento. No peixe *in natura* a carga bacteriana foi maior na pele em relação ao trato gastrintestinal e ao músculo. Assim como a porcentagem de amostras contaminadas (Figura 1). Como a pele é o órgão mais exposto, tende a ocorrer uma maior contaminação pelos microrganismos presentes na cadeia de produção. O mesmo acontece com o filé, que, em contato com o filetador e equipamentos mal higienizados fica exposto a contaminações cruzadas.

Ao contrario deste estudo vários autores verificaram que o trato gastrintestinal foi o órgão que apresentou maior contaminação por bactérias do grupo coliformes logo após sua retirada da água, sendo que a pele foi significativamente menor (HEJKAL et al. 1983; FATAL et al. 1993; EL-SHAFAI et al. 2004; LORENZON et al., 2010).

Em baixas concentrações, os microrganismos estão presentes na superfície do peixe, nas guelras e vísceras em geral, isso pode representar uma fonte de contaminação cruzada durante o processamento do peixe (PILLAY, 1992). Em número reduzido, patógenos não são susceptíveis a penetrar no músculo do peixe (MARA & CAIRNCROSS, 1989; PILLAY, 1992).

A invasão dos músculos de peixe por patógenos bacterianos é provável de ocorrer quando os peixes são criados em tanques com coliformes termotolerantes e salmonelas com concentrações maiores que 10^4 e 10^5 por 100 mL, respectivamente, segundo Mara e Cairncross, (1989), esses são os limites das barreiras de defesa natural do peixe.

A qualidade de água dos viveiros pode influenciar na qualidade microbiológica do peixe e de seus produtos (WARD, 1989). Esses alimentos têm sido associados a doenças humanas e são veículo de transmissão de microrganismos patogênicos e intoxicações (BROWN & DORN, 1977). Lorenzon et al. (2010), observaram que a concentração de coliformes termotolerantes na água foi similar ao encontrado no trato gastrointestinal do peixe. Guzmán et al. (2004) sugerem que a maioria das bactérias entéricas presentes na água geralmente é recuperada no trato gastrointestinal dos peixes.

Resultados similares foram obtidos por Al-Harbi (2003), que ao estudar tilápias híbridas (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) encontrou que coliformes termotolerantes na água e no trato gastrointestinal do peixe, estavam correlacionados, variando de $2,87 \times 10^2$ até $\geq 1,6 \times 10^3$ NMP.100mL⁻¹ e $2,37 \times 10^2$ até $\geq 1,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹ respectivamente.

Portanto, o baixo número de bactérias do grupo coliformes no trato gastrointestinal das tilápias *in natura* pode ser devido a uma boa qualidade na água de cultivo desses peixes.

Estudos relatam que a carga bacteriana no peixe não eviscerado é menor que em peixes eviscerados. Papadopoulos et al. (2003) estudando o efeito da evisceração em Sea Bass, verificou que a carga de *Pseudomonas* spp., bactérias produtoras de H₂S, *B. thermosphacta* e membros da família Enterobacteriaceae foi

menor em peixes não eviscerados que eviscerados. Chytiri et al. (2003), também concluíram que a população bacteriana de peixe eviscerado foi maior que as obtidas no peixe não eviscerado.

O aparecimento das infecções e intoxicações alimentares associadas aos serviços de alimentação está intimamente ligado às condições higiênicas e sanitárias e ao baixo índice de conhecimento de boas práticas de manipulação. De acordo com a OMS, cerca de 70% das ocorrências relatadas de quadros de intoxicações alimentares em países industrializados, foram consequentes da existência de uma higiene deficiente no processamento do alimento. Santos et al. (2002) isolaram cepas de *Escherichia coli* de equipamento higienizado e não higienizado em uma indústria de pescado em Fortaleza, Ceará.

Em estudo da similaridade entre cepas de microrganismos indicadores isolados de alimentos, superfícies de contato e manipuladores, Galetti et al. (2008) verificaram a presença de heterotróficos, aeróbios ou facultativos, mesófilos e psicrotróficos com nível médio de contaminação que variou de zero a $>10^3$ UFC/amostra, incluindo bactérias Gram-negativas, do grupo coliformes totais, termotolerantes, além de *Pseudomonas* spp. e fungos, indicando contaminação cruzada.

A OMS relata que 60% das doenças transmitidas por alimentos são provocadas por agentes biológicos, ressaltando que o manipulador de alimentos é o principal veículo de transmissão (WHO ,2010; OLIVEIRA et al., 2003). Forsytle (2002) identificou que 12% das ocorrências de surtos alimentares são via manipulador.

O manipulador portador de microrganismos de importância em saúde pública torna-se um risco tornando-se portadores crônicos, veiculando esses microrganismos por longos períodos (WHO, 2010).

Dados obtidos através de investigação epidemiológica sugerem que um surto de *Staphylococcus aureus* ocorrido em um colégio afetando dez crianças foi causado por lesões estafilocócicas nas mãos de um manipulador que preparou as refeições (PERESI et al. 2004).

Em Taiwan *Staphylococcus aureus* foi responsável por 36% dos surtos alimentares entre 1986 e 1995 (WEI & CHIOU, 2002). Segundo Peresi et al. (2004), esse microrganismo foi o responsável pelo maior número de surtos de 1990 a 2003.

Diante do exposto nesse trabalho, é evidente que a presença de enterobactérias nos diferentes órgãos dos peixes representa um risco potencial à saúde do consumidor. É importante que os supermercados e peixarias mantenham-se atentos às boas práticas de higiene ao longo da cadeia produtiva do pescado, pois como observado no estudo, em diferentes estabelecimentos verificou-se variação na contaminação das amostras. Presume-se que em algum momento ocorreu manejo inadequado do alimento comprometendo a qualidade do produto final e colocando em risco a saúde da população consumidora.

A conscientização do consumidor sobre os possíveis riscos do consumo de alimento cru e contaminações cruzadas é essencial, pois são fatores importantes na infecção e/ou intoxicação alimentar.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que:

Segundo a legislação brasileira as amostras de pescado estavam em boas condições para consumo, com exceção de duas amostras de filé.

O músculo da tilápia *in natura* apresentou uma carga bacteriana menor em comparação com o filé.

A pele foi o órgão que apresentou maior contaminação por indicadores de poluição fecal

A pele e o trato gastrintestinal dos peixes podem ser fontes de contaminação cruzada para alimentos e equipamentos se os mesmos não forem manipulados de forma adequada.

6. REFERÊNCIAS

AGNESE, A. P.; OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P.P.O.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. A. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica - RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 67-70, set. 2001.

AL-HARBI, A. H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 7, p. 517-524, 2003.

ALMEIDA, E. S.; SIGARINI, C. O.; RIBEIRO, J. N.; DELMONDES, E. C.; STELATTO, E; ARAUJO JR., A. Características microbiológicas de "Pintado" (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre, no município de Cuiabá - MT. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 84-88, ago. 2002.

ÁLVARES, P. P.; MARTINS, L.; BORGHOFF, T.; SILVA, W. A.; ABREU, T. Q.; GONÇALVES, F. B. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 161, p. 88-93, 2008.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20 ed., Washington, DC: Apha, 1998.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001. 676 p.

AMPOFO, J. A.; CLERK, G. C. Diversity of bacteria in sewage treatment plant used as fish culture pond in southern Ghana. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 667-675, 2003.

ANDRADE, F. S. V.; CARNEIRO, M. J. M.; CORDEIRO, C. A. M. Avaliação sensorial e microbiológica do perua (*Balistes capricus*) capturado na região norte fluminense e comercializado no mercado de Campos dos Goytacazes - RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p.70-74, ago. 2002.

ANTONIOLLI, M. A. **Perfil microbiológico da carpa comum (*Cyprinus carpio*) in natura e da água dos viveiros procedentes de cultivo integrado com suínos**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1993. 32 p. Relatório de estágio supervisionado para habilitação em tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 1993.

AYULO, A. M.; MACHADO, R. A.; SCUSSEL, V. M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 24, p. 171–178, 1994.

BARRETO, N. S. E.; VIEIRA, R. H. S. F. Investigação sobre possíveis portadores de *Staphylococcus aureus* em duas indústrias de pesca. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 49-57, jan/fev. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em 15 de abr. 2009.

BROWN, L. D.; DORN, C. R. Fish, Shellfish, and Human Health. **Journal of Food Protection**, v. 40, n. 10, p. 712-717, 1977.

CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, p. 81-87, 2003.

CARVALHO, V. M. Colibacilose e salmonelose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Orgs.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, p. 742-750, 2006.

CASTRO, M. M. de M. V.; IARIA, S.T. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico no vestíbulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas de hospitais do município de João Pessoa, PB. **Revista de Saúde Pública**, v. 18, p. 235-245, 1984.

CHYTIRI, S.; CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. **Food Microbiology**, v. 21, p. 157–165, 2003.

CONNOR B. A., SCHWARTZ E. Typhoid and paratyphoid fever in travellers. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 10, p. 623-628, 2005.

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; PEIXOTO, J. R. O.; BRITO M. V. Bactérias de interesse sanitário em sushi comercializado em Sobral, Ceará. **Boletim Técnico-Científico do CEPENE**, v. 15, n. 1, p. 15-19, 2007.

CUNHA, M.R.L.S.; PERESI, P.; CALSOLARI, R.A.O.; ARAÚJO Jr., J.P. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 70-74, 2006.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, Dez. 2002.

D'AOUST, J. Y. Methods for the detection of foodborne *Salmonella* spp: a review. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 26, p. 195-208, 1995. Suplemento 2.

DAMS, R. I.; BEIRAO, L. H.; TEIXEIRA, E. Avaliação da qualidade microbiológica da pescadinha (*Cynoscion striatus*) inteira e em files nos principais pontos críticos de controle de uma indústria de pescado congelado. **Bol. Centro Pesqui. Process. Aliment.**, v. 14, n. 2, p.151-162 , jul./dez., 1996.

EASA, M. E. S.; SHEREIF, M. M.; SHAABAN, A. I. et al. Public health implications of waste water reuse for fish production. **Water Science Technology**, v.22, n. 11, p. 145-152, 1996.

EKPERIGIN, H. E.; NAGAJARA, K. V. Salmonella. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**. Philadelphia: W.B. Saunders, v. 14, n. 1, p. 17-29, 1998.

EL-SHAFI, S. A.; GIJZEN, H. J.; NASR, F. A; EL-GOHARY, F. A. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environmental Research**, v. 95, p. 231-238, 2004.

ELER, M. N.; ESPÍNDOLA, E. L.; ESPÍNDOLA, E. A.; BRIGANTE, J.; NOGUEIRA, M. M.; MENEZES, A.; MILANIN, T. J. Avaliação da qualidade da água e sedimento dos pesque-pague: Análises físicas, químicas biológicas e bioensaios de toxicidade. In: ELER, M. N.; ESPÍNDOLA, E. A. **Avaliação dos impactos de pesque-pague**: Uma análise da atividade na bacia hidrográfica do rio Mogi-Guaçu. São Carlos: Rima, 2006. p. 101-144.

EVANGELISTA J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

FARIAS, A. M. **Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias do Pescado Beneficiado em Indústrias Paraenses e Aspectos Relativos á Exposição para o Consumo em Belém –PA**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Belém: Universidade Federal do Pará, 2006.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAO. **Fisheries and Aquaculture Department**. Fishery and Aquaculture Country Profiles. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_BR/en>. Acesso em: 28 out. 2010.

FATAL, B.; DOTAN, A.; PARPARI, L.; TCHORSH, Y.; CABELLI, V.J. Microbiological purification of fish grown in fecally contaminated commercial fishpond. **Water Sci. Technol**, v. 27, p. 303–311, 1993.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food Microbiology**. 2. ed. New York: McGraw - Hill, 1988. 681 p.

GALETTI, F. S.; AZEVEDO, A. P.; AZEVEDO, R. V. P. Estudo da similaridade entre cepas de microrganismos indicadores higiênico-sanitários isolados de alimentos, superfícies de contato e manipuladores – fenotipagem. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 164, p. 67-74, set. 2008.

GALVÃO, J. A.; FURLAN, E. F.; SALÁN, E. O.; PORTO, E.; OETTERER, M. Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) da água e dos mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1124-1129, 2006.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2003. p. 204-208.

GILLIGAN, P. H. *Escherichia coli*: EAEC, EHEC, EIEC, ETEC. **Clin. Lab. Med.**, v. 19, p. 505-521, 1999.

GUZMÁN, M. C.; BISTONI, M. A.; TAMAGNINI, L. M.; GONZÁLEZ, R. D. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. **Water Research**, v. 38, p. 2368–2374, 2004.

HEJKAL, T. W., GERBA, C. P., HENDERSON, S., FREEZE, M., Bacteriological, virological and chemical evaluation of wastewater– aquaculture system. **Water Res.**, v. 17, p. 1749–1755, 1983.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.

HUANG, S. L.; CHEN, W. C.; SHEI, M. C.; LIAO, I. C.; CHEN, S. N. Studies on Epizootiology and Pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*Oreochromis spp.*) cultured in Taiwan. **Zoological Studies**, v. 38, n. 2, p. 178-188, 1999.

HUSS, HH. Control of indigenous pathogenic bacteria in sea food. **Food Control**, v. 8, p. 91-98, 1997.

KAKU, M.; PERESI, J.T.M.; TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; BATISTA, A.B.; CASTANHEIRA, I.A.Z.; GARCIA, G.M.P.; IRINO, K.; GELLI, D.S. Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**, 29:127-131, 1995.

KAPER, J. B.; NATARO, J. D.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews**. v. 2, p. 123-139, 2004.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WIN, J. R. W. C. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. Brasil: Editora MEDSI, 2001.

LANCELLOTTI, M. **Estudo epidemiológico de *Staphylococcus spp* em ambientes, água e portadores sadios e determinação da sensibilidade a antimicrobianos**. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista, 2006.

LANCETTE, G. A.; TATINI, S. R. ***Staphylococcus aureus***. Em: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: APHA, p. 533-547, 1992.

LANDGRAFF, M.; GONÇALVES, J. A.; FALCÃO, D. P. Surto de toxi-infecção alimentar por *Salmonella bredeney*. **Revista Saúde Pública**, v. 19, p. 92-93, 1985.

LIMA, M. G.; REIS, R. B. Incidência de *Salmonella* spp. Comparação entre metodologias de detecção em amostras de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) de rio e cultivado comercializadas no município de Cuiabá - MT. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 43-49, out. 2002.

LINDER, C. E. ***Salmonella* spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, SP: Universidade Estadual Paulista, 2002.

LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D.; ATHAYDE, A. H.; PINTO, K. P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió - Al. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-74, maio 2001.

LISTON J. Microbiology in fishery science. **Advances in Fish Science and Technology**. Londres, p. 138-157, 1980.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, 2003.

LORENZON, C.S.; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A.P.; PINTO, F.R.; SCHOLTEN, C.; HONDA, S.N.; AMARAL, L.A. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4 p. 617-624, 2010.

Mac FADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1976. 312p.

MARA, D.; CAIRNCROSS, S. **Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture and Aquaculture: Measures for Public Health Protection**. World Health Organization, Geneva, 1989. 187 p.

MARTIN, R. E.; GRAY, R. J. H.; PIERSON, M. O. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. **Food Technology**, v. 32, p. 188-198, 1978.

MARTINS, C. V. B.; VAZ, S. K.; MINOZZO, M. G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo (PR). **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 98, p. 51-56, 2002.

MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (*sushi e sashimi*) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo.** Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo, 2006.

MENDES, E. S.; MENDES, P. P.; COELHO, M. I. S.; SOUZA, J. C. R.; CRUZ, M. C. S.; ASSIS, A. S.; ALVES, A. B. Aspectos microbiológicos do camarão *Litopenaeus vannamei* defumado e sua vida de prateleira. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 75-80, ago. 2002.

MPA. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Aquicultura. **Informações e Estatísticas. Estatística da pesca e aquicultura.** Estatística da Aquicultura e Pesca no Brasil 2008/2009. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20Consolidado%20dos%20dados%20estatisticos%20final%20curvas%20-%20completo.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2010.

MOLLERKE, R. O.; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C. Colimetrias como indicadores de qualidade de pescado artesanal do lago Guaíba, em Porto Alegre, RS. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 102-106, ago. 2002.

MORITA, M.; MATTÉ, G. R.; DROPA, M.; MARQUES-AZEVEDO, V.; MATTÉ, M. H. Utilização de indicadores bacterianos e a pesquisa de *Salmonella* spp na avaliação da qualidade sanitária de águas de pesqueiros. In: ESTEVES, K. E; SANT'ANNA, C. L. **Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo.** São Carlos: Rima, 2006, p. 91-104.

MOTA, C. C. S.; VIEIRA, H. R. A.; PUZYNA, I. P.; KALACHE, J.; KONOLSAISEN, J. F.; CAMARGO, N. J. Toxi-infecção alimentar por *Salmonella enteritidis*. Relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/julho de 1981. **Revista Higiene Alimentar**, v. 2, p. 123-31, 1983.

MOUCHREK FILHO, V. E.; NASCIMENTO, A. R.; MOUCHREK FILHO, J. E.; SANTOS, A. A.; MARINHO, S. C.; MARTINS, A. G. L. A.; GARCIAS JR., A.V.; CHAAR, J. S. Avaliação da qualidade microbiológica e bromatológica do Pirarucu (*Arapaima gigas*) salgado-seco, comercializado nas feiras livres da cidade de Manaus - AM. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 111, p. 66-72, 2003.

MURATORI, M. C. S.; COSTA, A. P. R.; VIANA C. M.; RODRIGUES P. C.; JUNIOR R. L. P. Qualidade sanitária de pescado "in natura". **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116/117, p. 50-54, 2004.

NASCIMENTO, A. R.; MOUCHREK FILHO, J. E.; CARVALHO, P. A. B.; COSTA, A. C.; CAVALCANTE, P. R. S.; VIEIRA, R. H. S. F. Colimetria das águas do Rio Bacanga (São Luís, Maranhão), de peixes e sururus capturados em suas águas. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 59-66, maio 2001.

NEMETZ, T. G.; SHOTTS, E. B. Zoonotic diseases. In: STOSKOPF, M. K. (Ed.) **Fish Medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 214-220, 1992.

NIEWOLAK, S.; TUCHOLSKI, S. Sanitary and bacteriological evaluation of common carp, tench and crucian carp reared in a pond supplied with biologically treated sewage. **Arch. Pol. Fish**, v. 8, n. 1, p. 35-48, 2000.

NTENGWE, F. W.; EDEMA, M. O. Physico-chemical and microbiological characteristics of water for fish production using small ponds. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 33, p. 701-707, 2008.

OLIVEIRA A. M.; GONÇALVES M. O.; SHINOHARA N. K. S. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n. 114/115, p. 9-12, nov./dez. 2003.

PACHECO, T. A.; LEITE, R. G. M.; ALMEIDA, A. C.; SILVA, N. M. O.; FIORINI, J. E. Análise de coliformes e bactérias mesófilas em pescado de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116/117, p. 68-72, 2004.

PÁDUA, H. B.; **Informações sobre os Coliformes totais/ fecais e alguns outros organismos indicadores, em sistemas aquáticos**. 20p. 2003. Disponível em: <www.pescar.com.br/helcias>. Acesso em 09 set. 2010.

PAL, D.; DASGUPTA, C. Microbial pollution in water and its effect on fish. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 4, p. 32-39, 1992.

PAPADOPOULOS V.; CHOULIARA I.; BADEKA A.; SAVVAIDIS I. N.; KONTOMINAS M. G. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. **Food Microbiology**, v. 20, p. 411-420, 2003.

PASSOS, M. H. C. R.; KUAYE, A. Y. Relato de surtos de intoxicação alimentar provocada por consumo de bolo contaminado por *Staphylococcus aureus* importância da higiene dos manipuladores e condições de conservação do alimento na prevenção da doença. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 56, n. 1, p. 71-76, 1996.

PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 32-34, 2005.

PERESI J. T. M.; ALMEIDA I. A. Z. C.; TEIXEIRA I. S. C.; LIMA S. I.; CARNICEL F. A.; HOFFMANN F. L. Surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*, ocorridos no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto-SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 232-237, 2004.

PILARSKI, F.; TOMAZELLI JÚNIOR, O.; CASACA, J.M.; GARCIA, F.R.M.; TOMAZELLI, I.B.; SANTOS, I. R. Consórcio suíno-peixe: aspectos ambientais equalidade do pescado. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 33, n. 2, 2004.

PILLAY, T. V. R., Water and wastewater use. In: Pillay, T.V.R. (Ed.). **Aquaculture and the Environment**, Inglaterra: Cambridge University Press, p. 49–55, 1992.

PIMENTEL, L. P. S.; PANETTA, J. C. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo. Parte 1, resultados microbiológicos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 106, p. 56-63, mar. 2003.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; MORAES, L. B.; TAMANINI, R.; SILVA, W. P. Estafilococos: morfologia das colônias, produção de coagulase e enterotoxina a, em amostras isoladas de leite cru refrigerado. **Semina**, v. 27, n. 4, p. 639-646, 2006.

SANTOS, M. G.; VIEIRA, R. H. S. F.; IARIA, S. T.; SOUSA, O. V. Coliformes isolados de utensílios e equipamentos, na linha de processamento de camarão, de uma indústria de pescado de Fortaleza, Ceará. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 67-75, out. 2002.

SAS INSTITUTE SAS/STAT. **Procedures guide for personal computers**. Version 5 ed. SAS Inst., Cary, NC. 1991.

SATO, N. H.; USUI K.; KOBAYASHI T.; IMADA C.; WATANABE E. Quality assurance of raw fish based on HACCP concept. **Food Control**, v.16, p. 301-307, 2005.

SCHALCH, S. H. C. 2002 **Apreciação da fauna ictioparasitária em pesqueiro tipo pesque-pague do Município de Guariba – SP durante o período de abril de 1997 a março de 1999**. Dissertação (Mestrado em aquicultura) - Centro de Aquicultura da UNESP. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, Sp: Universidade Estadual Paulista, 2002.

SILVA, E. M.; DUARTE A. *Salmonella Enteritidis* em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 2, p. 85-100, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. p. 7-20.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de file e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p.1076-1084, jun. 2002.

VIEIRA, K.V.M; MAIA, D.C.C.; JANEIRO, D.I.; VIEIRA, R.H.S.F.; CEBALLOS, B.S.O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em filé congelados. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; BARRETO, N. S. E.; SOUZA, O. V.; TORRES R. C. O.; RIBEIRO, R. V. et al. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado; teoria e prática**. São Paulo: Varela; 2004.

VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; GOCALVES, F.A.; MENEZES, F.G.R.; ARAGAO, J.S.; SOUSA, O.V. Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, p. 145–148, 2001.

VISHWANATH, W., LILABATI, H.; BIJEN, M. Biochemical, nutritional and microbiological quality of fresh and smoked mud eel fish *Monopterus albus*: A comparative study. **Food Chem.**, 61: 153-156 1998.

WARD, D. R. Microbiology of Aquaculture Products. **Food Technology** , v. 43, n. 11, p. 82-85, 1989.

WEI H. L.; CHIOU C. S. Molecular subtyping os *Staphylococcus aureus* from an outbreak associated with a food handler. **Epidemiol. infect.**, Cambridge, v. 128, n. 1, p. 15-20, fev. 2002.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION: **Food safety and foodborne illness**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en> . Acesso em 09 de out. 2010.

YAN, J. J.; KO, W.C.; CHIU, C. H.; TSAI, S. H.; WU, H. M.; JIN, Y. T.; WU, J .J. Emergence of ceftriaxoneresistant Salmonella isolates and rapid spread of plasmidencoded CMY-2-like cephalosporinase, **Emerg. Infect. Dis.** Taiwan, v. 9, p. 323-328, 2003.

YOUSSEF, H.; EL-TIMAWI, A. K. AHMED. Role of pathogens of freshwater fish in transmission of humans diseases. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 9, p. 739-740, 1992.