



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**



**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, QUÍMICAS E SENSORIAIS DO  
PEIXE SERRA (*Scomberomorus brasiliensis*) DESEMBARCADO NO  
MUNICÍPIO DE RAPOSA, MA, E MICROBIOLOGIA DO GELO UTILIZADO  
NA SUA CONSERVAÇÃO**

Este trabalho faz parte de um projeto de pesquisa sobre a captura, beneficiamento e a cadeia produtiva da frota de emalhe da Região Norte do Brasil.

**ELKA MACHADO FERREIRA**

**São Luís - Maranhão**

**2012**

**ELKA MACHADO FERREIRA**

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, QUÍMICAS E SENSORIAIS DO  
PEIXE SERRA (*Scomberomorus brasiliensis*) DESEMBARCADO NO  
MUNICÍPIO DE RAPOSA, MA, E MICROBIOLOGIA DO GELO UTILIZADO  
NA SUA CONSERVAÇÃO**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dsc. Francisca Neide Costa  
Departamento de Patologia

Dissertação apresentada à coordenação  
do Mestrado em Ciência Animal da  
Universidade Estadual do Maranhão, como  
requisito parcial para obtenção do grau de  
mestre em Ciência Animal.

**São Luís - Maranhão**

**2012**

Ferreira, Elka Machado.

Características microbiológicas, químicas e sensoriais do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) desembarcado no município de Raposa, MA e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação/ Elka Machado Ferreira –São Luís, 2012.

96f

Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2012.

Orientador. Profa.Dr<sup>a</sup>. Francisca Neide Costa.

1.Pescado. 2.Conservação. 3.Qualidade / Título

CDU: 639.3.068

Esta dissertação foi submetida à Coordenação do Curso de Mestrado em Ciência Animal como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em Ciência Animal, outorgado pela Universidade Estadual do Maranhão e encontra-se à disposição dos interessados na biblioteca da referida Universidade. A transcrição de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas da ética científica.

---

Elka Machado Ferreira

**DISSERTAÇÃO APROVADA EM:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Prof. Ph.D. Thales Passos de Andrade  
Examinador

---

Prof<sup>a</sup>. Dsc. Lúcia Maria Coelho Alves  
Examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dsc. Francisca Neide Costa  
Orientadora

*A Deus, causa primária de todas as coisas.*

*A Jesus, divino mestre.*

*A Maria, mãe da humanidade.*

*Aos meus pais Maria da Vitória e Manoel*

*Dedico.*

## *AGRADECIMENTOS*

*A Deus pelo dom da vida e pela força e coragem me dada, durante a execução deste projeto.*

*A Universidade Estadual do Maranhão pela estrutura física cedida durante a execução desta pesquisa.*

*A CAPES pela concessão da bolsa durante os dois anos de mestrado.*

*A Universidade Federal do Maranhão pela doação de alguns meios utilizados neste projeto.*

*A professora Neide pela oportunidade, pelo aceite para minha orientação, pelas contribuições neste trabalho e pela paciência.*

*A professora Lúcia pela amizade e ajuda nos momentos difíceis desta pesquisa.*

*Aos meus pais Manoel e Maria da Vitória pelo investimento em minha educação, pelo amor e incentivo.*

*Aos meus irmãos Andréa, Anderson e Luana pela amizade e todo carinho.*

*Ao Juan José Dominguez pelo carinho, cumplicidade, amizade e palavras de incentivo.*

*A minha amiga Ilderlane Lopes pelo companheirismo, dedicação, tolerância e disposição para as atividades de coleta e em laboratório.*

*A “mamãe” Ruthe pelo carinho, cuidado e palavras de incentivo.*

*A Débora de Matos, Weline, Gabriel e Nara Andréa pela importante colaboração nas atividades laboratoriais e pela amizade.*

*Aos estagiários Ana Maria, Osmar, Márcio, Marcelo, Israel, Thaísa, Iara, Maria, Isabela e Polyana que foram peças fundamentais na execução deste projeto.*

*As amigas Lucélia, Lidiane e Rejeana pela amizade, apoio e sugestões para a elaboração deste trabalho.*

*Aos motoristas do mestrado, seu Ricardo e seu Marione, pela paciência e disponibilidade.*

*A Dona Socorro por todo carinho, atenção e amizade.*

*A Célia pela amizade e auxílio durante as atividades laboratoriais.*

*Aos professores do mestrado.*

*“A perseverança é uma qualidade dos fortes de espírito e traz aos mesmos a vitória em tudo que fizerem”.*

*Sheakespeare*



FERREIRA, E.M.; COSTA, F.N. **Características microbiológicas, sensorias e químicas do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) desembarcado em Raposa-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação.** [Microbiological, chemical and sensory sawfish (*Scomberomorus brasiliensis*) landed in Raposa-MA, and microbiology of the ice used in their conservation.] 2012. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

## RESUMO

O pescado é um alimento altamente perecível e exige cuidados ao longo de sua cadeia produtiva, a fim de aumentar o seu tempo de prateleira e reduzir o risco de veiculação de microrganismos patogênicos ao consumidor. Diante disso foram realizadas análises microbiológicas, sensoriais e químicas do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) desembarcado em portos do município da Raposa-MA, assim como do gelo utilizado na sua conservação. Para isto, 12 lotes de peixe serra foram submetidos às análises microbiológicas para determinação do Número Mais Provável de Coliformes (NMP) a 35 e a 45°C, quantificação de bactérias mesófilas, pesquisa de *Staphylococcus* spp. coagulase positivo, *Samonella* spp. e *Aeromonas* spp. Além da determinação de Bases Voláteis Totais (BVT), Trimetilamina (TMA) e análise sensorial. Foi determinado o NMP de Coliformes a 35 e a 45°C e quantificação de bactérias psicotróficas em oito amostras de gelo. As análises microbiológicas do peixe serra detectaram, para coliformes a 35°C, intervalos de 3 a 95 NMP/g em 46,67% das amostras e >1.100NMP/g em 1,66%. Para coliformes a 45°C verificou-se contaminação em 13,33% das amostras sendo, 1,67% positiva para *E. coli*. 66,67% das amostras apresentaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas variando de  $3,3 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^5$  UFC/g. Não foi isolado *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., porém 15% foram positivas para *A. hydrophila*. Na avaliação sensorial 83,33% dos lotes foram classificados como de primeira qualidade e 16,67% como de segunda qualidade. As análises químicas, revelaram valores de BVT entre 17,35mg/100g a 25,89mg/100g e teores de TMA entre 0,66mg/100g a 2,45mg/100g. Para o gelo 75% das amostras apresentaram coliformes a 35 e a 45°C, 25% *E. coli* e 75% apresentaram contagens de psicotróficos entre  $3,2 \times 10^2$  a  $4,5 \times 10^4$  UFC/g. Diante destes resultados conclui-se que as amostras de peixe serra avaliadas apresentaram baixas contagens microbiológicas, bom estado de frescor, porém, sugerem risco de veicular infecção por *A. hydrophila*. As amostras de gelo analisadas mostraram-se impróprias para conservação do pescado.

**Palavras chave:** pescado, conservação, qualidade.

FERREIRA, E.M.; COSTA, F.N. **Microbiological, chemical and sensory sawfish (*Scomberomorus brasiliensis*) landed in Raposa-MA, and microbiology of the ice used in their conservation.** [Características microbiológicas, sensorias e químicas do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) desembarcado em Raposa-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação.] 2012. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

## ABSTRACT

The fish is a highly perishable food and require care throughout their supply chain in order to increase the shelf life of this product and reduce the risk of transmission of pathogens to the consumer. To confirm these informations, microbiological, sensory and chemical aspects of sawfish (*S. brasiliensis*) landed in ports of the city of Raposa-MA were analyzed, as well as the ice used in their conservation. For this, it was used 12 lots of sawfish for microbiological analysis to determine the Most Probable Number of Coliforms (NMP) at 35°C and 45°C, quantification of mesophilic bacteria, research coagulase positive *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp. and *Aeromonas* spp., determination of Total Volatile Bases (TVB), Trimethylamine (TMA) and sensory analysis. Eight ice samples was used for determination of NMP, coliforms at 45 and 35°C and quantification of psychrotrophic bacteria. Microbiological analysis of sawfish presented 46,67% of the samples with intervals 3-95 NMP/g coliforms at 35°C, and >1.100NMP/g at 1,66% of the samples. There was contamination by coliforms at 45°C of 13.33% of samples, 1.67% positive for *E. coli*. and 66,67% of the samples had counts of mesophilic aerobic bacteria ranging from  $3,3 \times 10^2$  to  $1,2 \times 10^5$  CFU/g. Coagulase positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp., was not isolated but 15% were positive for *A. hydrophilic*. In the sensory evaluation, 83,33% of the lots were classified as top quality and 16,67% as second quality. The chemical analysis revealed values between BVT 17,35 mg/100g to 25,89 mg/100g and TMA contents between 0,66 mg/100g to 2,45 mg/100g. To the ice, 75% of the samples presented coliforms at 45°C and 35°C, 25% were positive for *E coli* and 75% had psychrotrophic counts between  $3,2 \times 10^2$  to  $4,5 \times 10^4$  CFU/g. According to these results it is concluded that the sawfish showed low microbiological counts, good freshness and chemical parameters, however there is a risk of causing infection by *A. hydrophilic*. The ice samples proved unsuitable for conservation of fish.

**Keywords:** fish, quality, conservation

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
3.1 Importância do pescado na alimentação humana.....	20
3.2 Produção e consumo do pescado.....	22
3.3 Peixe serra ( <i>S. brasiliensis</i> ) no Maranhão.....	23
3.4 Distribuição e características biológicas do <i>S. brasiliensis</i> .....	25
3.5 Qualidade do pescado.....	26
3.6 Alterações químicas no pescado.....	30
3.7 Microrganismos patogênicos carregados pelo pescado.....	32
3.7.1 Grupo Coliformes.....	33
3.7.2 <i>Salmonella</i> spp.....	35
3.7.3 <i>Staphylococcus</i> spp.....	38
3.7.4 <i>Aeromonas</i> spp.....	41
3.8 Qualidade do Gelo.....	43
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
4.1 Área de Estudo.....	46
4.2 Avaliação das condições de higiene, transporte e armazenamento das amostras.....	47
4.3 Obtenção das amostras.....	47
4.4 Preparo das amostras.....	48
4.4.1 Peixe serra.....	48
4.4.2 Gelo.....	48
4.5 Análises microbiológicas do gelo.....	48
4.5.1 Determinação de Coliformes a 35°C e a 45°C.....	48
4.5.2 Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....	49
4.5.3 Contagem de Psicrotróficos.....	49
4.6 Análises microbiológicas do peixe serra.....	50
4.6.1 Determinação de Coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de	

<i>Escherichia coli</i> .....	50
4.6.2 Contagem de Bactérias Aeróbias Heterotróficas Mesófilas.....	51
4.6.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> spp.....	51
4.6.4 Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo.....	51
4.6.5 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	52
4.6.5.1 Pré-enriquecimento e Enriquecimento.....	52
4.6.5.2 Plaqueamento Seletivo.....	52
4.6.5.3 Provas Bioquímicas.....	53
4.6.5.4 Reação Sorológica.....	53
4.6.6 Pesquisa de <i>Aeromonas</i> sp.....	53
4.6.6.1 Enriquecimento e Plaqueamento Seletivo.....	53
4.6.6.2 Isolamento das colônias e identificação de <i>Aeromonas</i> spp...	54
4.6.6.3 Identificação das espécies.....	55
4.7 Avaliação sensorial do peixe serra.....	56
4.7 Avaliação química do peixe serra.....	56
4.7.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA).....	56
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>59</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>74</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>95</b>

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Carta de localização do município da Raposa, MA.....	46
2. Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas para classificação dos isolados do gênero <i>Aeromonas</i> sp.....	55
3. Amostra de peixe serra (A); Filetagem do peixe serra (B); Filé de peixe serra (C); Realização de cortes menores em filé de peixe serra (D).....	58
4. Condições higiênicas insatisfatórias do convés (A); Pesagem de peixe serra sobre base da balança (B); Uso de água de má qualidade na lavagem de peixes (C); Pesagem de peixes em caixas de plástico tipo monobloco (D).....	63
5. Percentual de amostras de peixe serra contaminadas por <i>Aeromonas</i> spp. provenientes do desembarque em Raposa, MA, 2012.....	68
6. Brânquia com aspecto de primeira qualidade (A); Brânquia com alteração de cor e aspecto do muco (B); Brânquia com alteração de serrilhamento (C); Lesões de pele (D); Globo ocular com aspecto de primeira qualidade (E); Afundamento de globo ocular (F).....	71

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Número Mais Provável de Coliformes a 35°C e a 45°C, pesquisa de <i>Escherichia coli</i> e contagem de psicotróficos em amostras de gelo, Raposa, MA, 2012.....	59
2. Número e percentual de amostras de peixe serra contaminadas por Coliformes a 35°C e a 45°C (NMP/g), Raposa, MA, 2012.....	62
3. Número e percentual de amostras de peixe serra contaminadas por bactérias aeróbias heterotróficas mesófilas, Raposa, 2012.....	65
4. Valores médios dos parâmetros sensoriais do peixe serra, desembarcado no município de Raposa, MA, 2012.....	70
5. Valores médios de (BVT) e Trimetilamina (TMA) por lote de peixe serra desembarcado no município de Raposa, MA, 2012.....	72

## LISTA DE A BREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADP	Adenosina Difosfato
NA	Ágar Nutriente
ATP	Adenosina Trifosfato
Aw	Atividade de Água
BHI	Caldo Cérebro Coração
BP	Ágar Baird-Parker
BPP	Boas Práticas de Produção
BVT	Bases Voláteis Totais
C	Citrato
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
CP	Creatina-fosfato
DHA	Ácido Docosaheptaenóico (DHA)
DMA	Dimetilamina
DTA's	Doenças de Transmissão Alimentar
EC	Caldo EC ( <i>Escherichia coli</i> )
BEM	Ágar Eosina Azul de Metileno
EPA	Ácidos Eicosapentaenóico
ETEC	<i>E. coli</i> Enterotoxigênica
FA	Formaldeído
FAO	Food and Agriculture Organization
H <sub>2</sub> S	Ácido Sulfídrico
I	Indol
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods

LIA	Ágar Lisina
LPS	Lipopolissacarídeo
LST	Lauril Sulfato Triptose
MA	Estado do Maranhão
MG	Estado de Minas Gerais
NaCl	Cloreto de Sódio
NMP	Número Mais Provável
NNP	Nitrogenadas Não Proteicas
OTMA	Óxido de Trimetilamina
PCA	Ágar Padrão para Contagem
PI	Estado do Piauí
RVS	Caldo Rappaport-Vassilidis Soja
SC	Selenito Cistina
SE	Enterotoxinas Estafilocócicas
SSP-serra	Sistema de Produção Pesqueira – serra
TMA	Trimetilamina
TSA	Ágar Trypticase Soja
TSB	Caldo Trypticase Soja
TSI	Tríplice Açúcar Ferro
VB	Caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose
VM	Vermelho de Metila
VP	Voges-Proskauer
WHO	World Health Organization
UFC	Unidades Formadoras de Colônias



## 1. INTRODUÇÃO

No Maranhão o município da Raposa é considerado um dos maiores produtores de pescado, tendo como principal espécie capturada o peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*), que possui boa aceitação no comércio local. O mesmo é capturado durante todo ano ao longo do território maranhense, levando em torno de 15 dias para ser desembarcado nos dois portos do município. Em alto mar os peixes são armazenados em urnas isotérmicas e manipulados na maioria das vezes sem os cuidados de higiene. A pesca do peixe serra no município da Raposa possui grande importância social e econômica, uma vez que envolve várias famílias de pescadores, que utilizam esta atividade como principal fonte renda.

Os pescados são considerados alimentos ricos em nutrientes, com alto teor de proteínas, lipídios de excelente qualidade e baixo teor de colesterol, sendo seu consumo extremamente importante na dieta alimentar (VILA NOVA et al., 2005). São classificados como alimentos funcionais capazes de reduzir os riscos de doenças coronarianas e existem em grande abundância na natureza, tais constatações têm influenciado cada vez mais o consumo desses produtos em países em desenvolvimento (RAMOS FILHO et al., 2008).

No entanto, existe uma preocupação atual com a qualidade dos alimentos e quanto ao conhecimento das condições higiênico-sanitárias durante sua produção, já que é crescente o número de casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's), assim como o número de pessoas imunodeficientes ou imunocomprometidas, que são as mais susceptíveis a estas doenças (SOUSA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

Os peixes são considerados alimentos altamente perecíveis, portanto se forem estocados, processados, embalados e/ou distribuídos inadequadamente, podem deteriorar-se rapidamente, tornando-se inseguros para o consumo humano devido ao crescimento microbiano, além de ter seu tempo de prateleira reduzido e suas características sensoriais alteradas.

Para assegurar que um alimento seja preparado de modo a garantir a segurança do consumidor, medidas de prevenção e controle devem ser

adotadas em todas as etapas de sua cadeia produtiva (SEIXAS et al., 2008). Quanto aos pescados, o retardo do crescimento microbiano pode ser atingido através de cuidados com o binômio tempo x temperatura de estocagem, qualidade da matéria prima e higiene durante manipulação e exposição do produto, assim como das embarcações, utensílios e equipamentos.

Apesar do grande potencial pesqueiro do *S. brasiliensis* e da sua importância econômica para o município da Raposa e para o estado do Maranhão, não se verifica a existência de estudos que abordem as características higiênico-sanitárias desse produto, assim como suas condições de frescor após seu desembarque em municípios maranhenses.

## 2 OBJETIVOS

### Peixe serra:

- Determinar o NMP de Coliformes a 35°C e a 45°C;
- Pesquisar *Escherichia coli*;
- Realizar a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas;
- Quantificar *Staphylococcus* spp. e pesquisar *Staphylococcus* coagulase positivo;
- Pesquisar *Salmonella* spp.;
- Pesquisar *Aeromonas* spp.;
- Realizar avaliação sensorial;
- Determinar o teor de Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA).

### Gelo:

- Determinar o Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 35°C e a 45°C;
- Pesquisar *Escherichia coli*;
- Realizar a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotólicas.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Importância do Pescado na Alimentação Humana**

A preocupação da sociedade ocidental com os alimentos tem aumentado de forma exponencial, isto se deve à ampla divulgação pela imprensa da relação entre alimentação e saúde (ANJO, 2004). Que tem incentivado muitas pessoas a incluírem em suas dietas, os chamados alimentos funcionais, que além de nutrir, apresentam propriedades fisiológicas específicas, estando presentes naturalmente ou sendo adicionados em produtos alimentícios (BRUM et al., 2002).

A atenção para este alimentos surgiu a partir da observação da baixa incidência de algumas doenças em alguns povos, como os esquimós que com sua alimentação baseada em peixes e produtos do mar, ricos em ômega 3 (n-3) e 6 (n-6), apresentam baixo índice de problemas cardíacos, assim como os franceses, devido ao consumo de vinho tinto o qual apresenta grande quantidade de compostos fenólicos (ANJO, 2004).

Desde então o aumento do consumo de pescado está associado ao baixo teor de gordura de muitas espécies e aos efeitos benéficos dos ácidos graxos da série n-3 e n-6 (MALAVOTA et al., 2009). Existem três famílias importantes de ácidos graxos comumente consumidos na dieta: ômega 9 (n-9), n-6 e n-3, sendo que apenas as duas últimas representam os ácidos graxos essenciais para o organismo (LIMA JUNIOR et al., 2011). A família n-3 compreende o ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3, n-3), que gera, por alongamento e desnaturação, os ácidos eicosapentaenóico (EPA) (C20:5, n-3) e docosahexaenóico (DHA) (C22:6, n-3) (BRUM et al., 2002). Que estão em grande concentração em alimentos de origem marinha e que possuem funções importantes na prevenção de doenças cardíacos. Além de possuírem efeitos benéficos na prevenção perinsulinemia e possivelmente o diabetes melittus tipo 2 (NOVELLO et al., 2008). Assim como a prevenção de certas arritmias cardíacas e morte súbita (RAMOS FILHO et al., 2008), redução do colesterol, pressão arterial e desenvolvimento cerebral e visual (BRUM et al., 2002).

Muitos estudos indicam que a série n-3 parece diminuir ou inibir o risco de fatores ligados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, não por concentrações de lipídio sanguíneas variáveis, embora EPA e DHA diminuam as concentrações de triglicerídeos, mas por reduzirem a coagulação sanguínea e arritmias ventriculares (NOVELLO et al., 2008).

No entanto os benefícios nutricionais não derivam apenas dos ácidos docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosapentaenóico (EPA), mas também a partir de aminoácidos e micronutrientes encontrados em peixes. O fato de que o consumo de peixes ajuda a prevenir a doença cardíaca coronária (CHD) tem sido conhecida há muito tempo. Porém existe hoje um foco crescente de que os peixes funcionam como fonte de DHA e iodo, que são essenciais para o desenvolvimento inicial do cérebro e do sistema neural. Estes nutrientes são quase exclusivamente encontrados em alimentos provenientes do meio aquático. O papel dos peixes na mitigação de transtornos mentais, como depressão e demência, também está recebendo maior atenção dos cientistas. (FAO, 2010).

O pescado é de extrema importância na dieta alimentar por sua riqueza de minerais, vitaminas, alto teor proteico, lipídios de excelente qualidade e baixo teor de colesterol (VILA NOVA et al., 2005; HASTEIN et al., 2006). E a constatação epidemiológica de que o seu consumo é capaz de reduzir riscos de doenças coronarianas, faz com que o consumo de pescado nos países em desenvolvimento, funcione não apenas como alternativa alimentar de alto valor nutritivo, mas também como um alimento funcional abundante (RAMOS FILHO et al., 2008).

E importante manter uma dieta equilibrada na relação n-3:n-6 e ingerir peixes pelo menos duas a três vezes por semana para alcançar a quantidade diária necessária de ácidos graxos poli-insaturados n-3, mantendo, dessa forma, a integridade das membranas celulares e dos tecidos nervosos, assim como o bom funcionamento de todo o organismo. A Food and Agriculture Organization (FAO) e a World Health Organization (WHO) recomendam desde 1994 que devemos ingerir 3% de ácidos graxos essenciais, principalmente n-3 e n-6, com base na energia total consumida de 3.000 calorias/dia. Porém, o

mais importante é que o consumo de n-3 e n-6 deve ser balanceado, com uma relação n-3/n-6 de 0,2 (BRUM et al., 2002).

### **3.2 Produção e Consumo de Pescado**

A distribuição heterogênea do consumo de peixes no mundo é marcante. As diferenças ocorrem entre continentes, países ou mesmo entre regiões, sendo que o consumo *per capita* pode variar de menos de 1kg a mais de 100kg dependendo do costume, disponibilidade e acesso do mercado consumidor ao produto (CREPALDI et al., 2006).

Em 2008, 81% (115 milhões de toneladas) da produção mundial de pescado foi destinada ao consumo humano, enquanto que o restante (27 milhões de toneladas) foi usado para fins não alimentares, como produção farinha de peixe e óleo de peixe (20,8 milhões de toneladas) e alimentação em aquicultura. A contribuição dos peixes para o consumo total de proteína animal foi significativo em cerca de 18,3% para os países em desenvolvimento. Quanto à forma de comercialização, o peixe fresco representou em 2008, 56,5 milhões de toneladas (39,7%) da produção total mundial, enquanto 58,6 milhões de toneladas (41,2%) foram para o peixe comercializado congelado, curado ou preparado para consumo humano direto (FAO, 2010).

No ano de 2009, a produção mundial de pescado atingiu aproximadamente 146 milhões de toneladas, com destaque para a China, Indonésia, Índia e Peru como principais produtores. Neste cenário o Brasil ocupou o 18º lugar. O Brasil obteve uma produção de 1.264.765t de pescado no ano de 2010, registrando-se um incremento de 2% em relação ao ano anterior, quando foram produzidas 1.240.813t, destacando a região Nordeste que assinalou a maior produção de pescado do país, com 410.532 t, respondendo por 32,5% da produção nacional (BRASIL, 2012).

No Brasil o consumo de peixes ainda é bastante pequeno. Isso se deve a questões culturais e ao desconhecimento do valor nutricional que o peixe oferece (DIAS et al., 2010; BORDIGNON, et al., 2010). No entanto este quadro é bem diferente em cidades litorâneas, onde os peixes e mariscos são bastante consumidos e comuns na elaboração de pratos culinários (MENEZES

et al., 2008). Segundo pesquisa realizada pelo Ministério da Aquicultura e Pesca, o consumo Per Capita Aparente de Pescado no país em 2010 foi de 9,75 Kg/hab./ano, com crescimento de 8% em relação ao ano anterior, observou-se também, que 66% do pescado produzido foram consumidos no próprio país (BRASIL, 2012).

Neste cenário, é interessante observar que a soma das onze espécies de peixes marinhos mais capturados no Brasil (sardinha-verdadeira, corvina, pescada-amarela, bonito listrado, tainha, sardinha, castanha, cação, pescadinha-real, serra e bagre) representam mais da metade (50,7%) do total de peixes marinhos capturados no país, onde o peixe serra (*S. brasiliensis*) obteve valores de 9.573 toneladas em termos de captura (BRASIL, 2012).

No Nordeste, o Maranhão ocupou a 5ª colocação na modalidade de pesca extrativa marinha, com uma produção de 43.780 toneladas, perdendo apenas para os estados de Santa Catarina, Pará, Bahia e Rio de Janeiro (BRASIL, 2012). O Estado apresenta uma grande variedade de espécies de pescado à disposição do consumidor e seu consumo *in natura* é elevado (SILVA & FERNANDES, 2010).

A economia do Estado do Maranhão está muito ligada ao mar e a navegação teve um papel histórico importante na ocupação desse território, bem como na sua evolução social, econômica, cultural e nos hábitos e costumes de sua população. Desta forma, a pesca continua exercendo um importante papel na vida da população maranhense e na economia do Estado (ALMEIDA et al., 2006a).

### **3.3 Peixe Serra (*S. brasiliensis*) no Maranhão**

O litoral maranhense possui 640 km de extensão, é considerado o segundo maior do país, além de possuir a maior área de mangues contíguos do planeta. O Estado caracteriza-se por uma plataforma continental vasta e rasa, com alta produtividade primária, decorrente da imensa carga de nutrientes lançada pelos rios que compõem as nove grandes bacias hidrográficas do estado e pela larga e extensa área de mangues ali existente.

Ao longo da costa estão localizados 26 municípios, onde estão assentadas 278 comunidades pesqueiras (IBAMA, 2008).

No Maranhão a exploração dos estoques pesqueiros é realizada por métodos e aparelhos de pesca bastante simples, porém, bem adaptados às condições ambientais e à realidade socioeconômica local (ALMEIDA et al., 2007). A pesca é basicamente artesanal, com cerca de 90% da produção provindo do litoral costeiro. Dentre as comunidades pesqueiras, a do município da Raposa é considerada a maior e mais desenvolvida, dedicando-se quase que exclusivamente à pesca do peixe serra (*S. brasiliensis*). Os métodos de captura utilizados são característicos da pesca de emalhe, sendo empregada a rede de espera e a gozeira. Em geral, a frota serreira opera durante todo o ano, com maior atividade nos meses de maio a meados de julho, período de safra (SOARES et al., 2006).

As capturas do peixe serra ocorrem em toda plataforma continental maranhense, no entanto, predominam no litoral ocidental destacando-se vários pesqueiros, dentre eles o de São Jorge, São João e Canto do Retiro que apresentam profundidade que varia de 10 a 120 metros. Entre os diversos sistemas de produção pesqueira existentes no Maranhão, podemos citar o SPP-serra (Sistema de Produção Pesqueira – serra), caracterizado por utilizar embarcações de fibra de vidro (de grande porte) e de madeira, e por apresentar recursos tecnológicos de média complexidade para localização do estoque, cuja espécie alvo é o *S. brasiliensis* (ALMEIDA et al., 2007).

As embarcações de fibra de vidro têm maior autonomia de mar e possuem capacidade de armazenamento; assim como as bianas fechadas, botes e embarcações de aço; porém são mais adequadas para a exploração do peixe serra, principalmente em época de safra, quando os cardumes encontram-se distantes do município da Raposa. Durante as viagens para captura do peixe serra, são carregados aproximadamente 2,5kg de gelo para cada kg de peixe capturado. A qualidade do pescado é geralmente boa, com exceção daqueles que são acondicionados na parte inferior dos porões, onde esta espécie é particularmente vulnerável a estragos causados pela pressão do peso do peixe e do gelo (SOARES et al., 2006).



O desembarque do serra é realizado em locais mais próximos da área de pesca e que possuem posto de abastecimento de combustível e fábrica de gelo. Destes locais são transportados, por meio de caminhão, até São Luís para ser comercializado para um segundo atravessador, sendo este o responsável pela negociação junto aos feirantes da cidade, pelo preço médio de R\$ 3,60/kg. Este produto é então comercializado em feiras ao consumidor final, pelo preço médio de R\$ 5,00/kg. Em época da safra, os armadores negociam a produção com empresas de beneficiamento de Fortaleza e Recife, sendo transportado em caminhões frigoríficos com capacidade de 5 a 6 toneladas (ALMEIDA et al., 2007).

No Maranhão, a atividade pesqueira está sujeita a legislação nacional (SEAP, IBAMA e Secretaria do Meio Ambiente) e às determinações estabelecidas por órgãos estaduais que atendem às peculiaridades de cada região. Embora não haja uma legislação específica direcionada ao SPP-serra, inúmeros esforços têm sido citados pelas lideranças locais, as quais visam a implementação de um período de defeso para a espécie e auxílio financeiro para os pescadores que dependem dessa atividade (ALMEIDA et al., 2006a).

### **3.4 Distribuição e Características Biológicas do *S. brasiliensis***

*S. brasiliensis* é um dos recursos pesqueiros mais explorados em águas maranhenses, demonstrando alto potencial pesqueiro em virtude da sua abundância e ocorrência em todos os períodos do ano. Sua alta produtividade é sustentada pela vasta extensão da plataforma continental maranhense, pela quantidade de materiais em suspensão e nutrientes trazidos pelos rios, e por uma larga faixa de manguezais profundamente recortada (STRIDE, 1992).

O *S. brasiliensis* ocorre na costa Atlântica da América Central ao longo do Caribe e América do Sul, desde Belize (Honduras Britânica) até o Rio Grande do Sul, no Brasil. Está mais concentrada nas regiões costeiras, comuns em costões, ilhas e praias abertas (COLLETE & NAUEN, 1983). É uma espécie marinha de valor comercial, que habita a maior parte do litoral brasileiro, com exceção das extremidades do norte e sul (ZAVALA-CAMIN, 1983). Quanto à sua distribuição temporal e espacial na costa maranhense, há grande

abundância entre os meses de março a abril, em virtude do seu deslocamento do litoral paraense ao cearense em busca dos cardumes de sardinhas que adentram ao estuário nessa época (BATISTA & FABRÉ, 2000).

É considerada uma espécie nerítica, que habita a zona epipelágica e estuarinas tidais, tendendo a formar cardumes quando jovens e no período de reprodução, e, quando adultos vivem em pequenos grupos ou solitários (FONTELES-FILHO, 1989; CARVALHO FILHO, 1999; SILVA et al., 2005; NÓBREGA & LESSA, 2009).

No Brasil, sua fase reprodutiva ocorre nos meses quentes do ano, época em que migram no sentido Sul-Norte-Sul (CARVALHO FILHO, 1999). Quanto ao tamanho e idade mínima de primeira maturação gonadal, Lima et al., (2009) em estudos no litoral ocidental maranhense, constataram valores que indicam que as fêmeas se reproduzem a partir do comprimento zoológico de 41,1 cm e os machos a partir de 44,3 cm, ao estarem com aproximadamente 3,0 e 3,4 anos de idade, respectivamente.

### **3.5 Qualidade do pescado**

Os alimentos são fonte de energia das pessoas, e como a população mundial aumenta a cada ano, a indústria alimentícia é um dos ramos que possui um futuro cada vez mais promissor (TOMASI et al., 2007). Tornando a qualidade um fator decisivo na hora da compra, diante da competitividade crescente (OLIVEIRA, et al., 2009).

Neste cenário os consumidores exigem garantias de que o alimento foi produzido, manipulado e vendido de forma não perigosa para sua saúde. Uma vez que saúde e bem-estar são também fatores que influenciam cada vez mais as decisões de consumo. Onde os peixes ganham destaque especial, diante da sequência de provas que confirmam os benefícios a saúde pela ingestão dos mesmos (FAO, 2010).

O frescor contribui de forma significativa para a qualidade dos produtos da pesca, uma vez que esta característica é essencial para a qualidade do produto final (ABBAS et.al., 2008). Para os consumidores os pescados devem estar sempre frescos, com boa aparência e possuir uma

qualidade excelente (TOMASI et al., 2007). O frescor dos peixes é estimado através da avaliação de atributos sensoriais como aparência, odor, cor e textura, que podem ser medidos e quantificados por métodos sensoriais ou instrumentais (OLAFSDOTTIR et al., 2004). No Brasil, a avaliação sensorial é principal método utilizado por indústrias e pelo serviço de inspeção sanitária, para avaliar o frescor do pescado *in natura* ou de produtos derivados, visto que métodos físico-químicos e microbiológicos são muitas vezes morosos e/ou de alto custo (FURLAN, 2011).

Segundo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal entende-se por peixe “fresco” aquele dado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação, a não ser a ação do gelo, sendo próprio para consumo, os que apresentarem superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural e suave; ventre roliço, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes, bem aderentes à pele; carne firme de consistência elástica e cheiro de plantas marinhas (BRASIL, 1952).

No entanto, não é apenas por meio da avaliação sensorial que se define a qualidade dos pescados, mas também utilizando uma série de outras variáveis químicas e biológicas que precisam ser analisadas e determinadas para a classificação e identificação daqueles que estão aptos ou não para consumo (TOMASI et al., 2007).

Como se sabe a indústria pesqueira é abastecida tradicionalmente com peixes capturados em habitat sem controle das condições ambientais (MURATORI, et. al., 2007). Desta forma, com poucas exceções, os peixes são considerados livres de microbiota saprófita, inerentes ao ambiente aquático, além de bactérias patogênicas de importância para a saúde pública, indicativas de falhas no manuseamento, processamento e estocagem desse produto (ALBUQUERQUE et al., 2007; PINU et al., 2007; LANZARIN, et al., 2011).

A falta de medidas que priorizem a qualidade do pescado por parte dos pescadores e empresários, que negligenciam o aspecto higiênico-sanitário

de captura e comercialização de pescado, contribui também para as precárias condições físico-químicas que estes produtos são comercializados (FREIRE et al., 2011). Uma vez que, depois de retirado da água, o pescado experimenta uma série de fenômenos naturais que levam a sua deterioração por autólise, atividade bacteriana e/ou oxidação. Pois o músculo do peixe é mais susceptível a deterioração do que a carne dos mamíferos, tendo em vista que o seu processo autolítico e reação menos ácida, favorecem o ataque bacteriano (VIEIRA et al., 2004). Devido a essas características é extremamente importante conservar os peixes em condições de higiene e em temperatura próxima a 0°C, para manter sua qualidade sensorial e microbiana por um período maior (ÁLVARES, et al.; 2008).

O pescado das regiões tropicais apresenta uma microbiota predominantemente mesófila e por isto, apresentam um período de estocagem em gelo mais longo, que os capturados em águas frias ou temperadas (YOKOYAMA, 2007). Embora a legislação brasileira ainda não contemple o limite para microrganismos heterotróficos aeróbios psicrotóxicos, observa-se que contagens elevadas desse grupo de bactérias contribuem para a redução do prazo de vida comercial em virtude de suas características proteolíticas e lipolíticas e, também, pelo fato de se desenvolverem em baixas temperaturas (LANZARIN, et al., 2011). Levando a deterioração microbiana nos pescados e fazendo com estes apresentem alterações sensoriais de cor, odor, sabor, textura (DIAS et al., 2010).

Sabe-se que grande parte das alterações na qualidade do pescado são consequência da atividade de microrganismos deteriorantes, como a *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium* sp., *Halococcus* sp. e *Halobacterium* sp. e famílias como a *Vibrionaceae* e *Enterobacteriaceae* (FURLAN, 2011). Desta forma não se deve descartar a importância da prática de cuidados básicos importantes para sanidade do peixe como produto, desde a captura, manuseio, transporte, processamento até a venda ao consumidor (BRAMORSKI et al., 2008; DIAS et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010). Pois o manuseio e a conservação incorretamente aplicados ao longo da cadeia

produtiva do pescado representam os principais problemas para manter a sua qualidade (BATISTA et al, 2004).

Desta forma, trabalhos que investiguem as condições de higiene da cadeia produtiva de pescado, são extremamente importantes, uma vez que dão ideia dos riscos potenciais de transmissão de doenças de origem alimentar que podem ser veiculadas por esse produto (SILVEIRA et al., 2008).

Dentre os microrganismos mais comumente encontrados em peixes podemos citar *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, diferentes espécies de *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes*. A contaminação por estes patógenos ocorre em tese antes da colheita, durante a captura, transformação, distribuição e/ou armazenamento e poluição da água do mar (VENUGOPAL, 2001; GHASEMI et al., 2010).

A disponibilização de informações sobre o processamento, a manipulação e as técnicas de armazenamento, incluindo tempo, histórico de temperatura, são extremamente importantes dentro da cadeia produtiva, uma vez que estes podem interferir diretamente, sobre o frescor e a qualidade desses produtos (OLAFSDOTTIR et al., 2004). Assim como, os programas de segurança alimentar que permitem um controle efetivo em toda a cadeia alimentar desde a produção, armazenagem e distribuição, até o consumo do alimento *in natura* ou processado, aumentando a segurança, a qualidade dos alimentos produzidos e competitividade nas empresas. O programa BPP (Boas Práticas de Produção) é recomendado para fabricação dos produtos sob condições sanitárias adequadas e como rotina de inspeção. Contempla aspectos higiênicos sanitários, incluindo a eliminação ou redução dos riscos de contaminação microbiológica, química e física (CARDOSO & TESSARI, 2008).

No Brasil, não há denominação específica relacionada às Boas Práticas para barcos pesqueiros artesanais, geralmente, o pescador artesanal manipula o pescado a bordo: realiza a lavagem, separação por espécies e tamanho, faz uso de gelos e utiliza equipamentos como caixas e pás para a transferência do produto (MACHADO et al., 2010).

### 3.6 Alterações químicas no pescado

O pescado é considerado um alimento altamente perecível, portanto necessita de cuidados durante seu manuseio e processos de captura e estocagem nas urnas exotérmicas ou câmeras frigoríficas dos barcos pesqueiros (VIEIRA, 2004). Uma vez que após a sua captura, o pescado sofre uma série de transformações bioquímicas, inicialmente associada com a degradação de vários compostos presentes na carne e consequente ocorrência do *rigor mortis* (PEREIRA, 2009).

O estado de *rigor mortis* é definido como a perda de plasticidade e extensibilidade dos músculos, como resultado da alteração dos ciclos de contração e relaxamento (CONTRERAS-GUSMÁN, 1994). Ocorrendo após a decomposição da ATP (adenosina trifosfato), com posterior produção de ADP (adenosina difosfato), acompanhada da desfosforilação de creatina-fosfato (CP) cujo fósforo inorgânico é utilizado para a regeneração do ATP. Quando não há mais CP disponível, a degradação do ATP ocorre de forma irreversível. Resultando no enrijecimento muscular devido à formação do complexo actina-miosina (BARROS, 2003).

Neste processo ocorre também produção de ácido láctico durante a glicólise anaeróbica, que se manifesta simultaneamente com a queda do pH do músculo entre 6,0 a 6,5 (PEREIRA, 2009). Facilitando a invasão e o desenvolvimento bacteriano, que na sua maioria apresentam atividades proteolíticas e lipolíticas, contribuindo para a desintegração dos tecidos e levando a uma série de reações bioquímicas indesejáveis, com subsequente formação e acúmulo de substâncias de odor desagradável, repugnantes e tóxicas (CARVALHO, 2000). Esta deterioração é facilitada também, por sua musculatura rica em compostos nitrogenados não proteicos, principalmente moléculas pequenas dissolvidas nos líquidos teciduais, que são rapidamente utilizadas pelas bactérias (ICMSF, 1985).

A perecibilidade do pescado também é determinada pelo processo autolítico (VIEIRA, 2004; FURLAN et al., 2007). Inicia-se, após morte do pescado, quando as enzimas presentes em sua musculatura e vísceras passam a atacar as substâncias do corpo do pescado, provocando

amolecimento da musculatura e produção de odores desagradáveis, que influenciam sobre características organolépticas originais do produto (ALMEIDA et al., 2006a; FURLAN, 2011). Desta forma, o prazo de validade do pescado é determinado por suas reações enzimáticas e pelo número de espécies de microrganismos presentes, fatores estes dependentes de sua microbiota natural e pelo modo de manuseio, desde sua captura até a estocagem (PEREIRA, 2009).

Sabe-se que os eventos bioquímicos que se iniciam no final do *rigor mortis* culminam com a deterioração do pescado, quando ocorre a alteração no teor de nitrogênio não proteico produzindo amônia e outras bases voláteis totais (BVT) como a trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA) (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; SCHERER et al., 2004). No início da deterioração não há utilização das proteínas, devido ao tamanho de suas moléculas. Somente após as reservas das substâncias nitrogenadas não proteicas (NNP) exaurirem-se, é que há a interrupção da repressão das proteases e se inicia o processo de hidrólise das proteínas, com formação de compostos nitrogenados voláteis. Entre as substâncias NNP, estão os aminoácidos livres e as BVT, tais como amônia, TMA, creatina, taurina, cadaverina, putrescina, histamina e outras (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

O óxido de trimetilamina (OTMA) é um composto de natureza não proteica, solúvel em água, de baixo peso molecular e que contém nitrogênio (HUSS, 1995). É encontrado em um grande número de peixes marinhos, crustáceos e moluscos, sendo o TMA quebrado por ação da enzima bacteriana, óxido de trimetilamina redutase; ou pode sofrer decomposição enzimática, gerando uma quantidade equimolar de DMA e formaldeído (FA). A presença de uma quantidade significativa de TMA, como um componente de compostos de BVT, tem sido relacionada com a perda de frescura dos produtos da pesca marinha, uma vez que nenhuma trimetilamina é encontrada nos seus primeiros 3-5 dias de armazenamento em gelo (ALUR et al., 1995; GRAM & HUSS, 1996; CINTRA et al., 1999; TIMM & JORGENSEN, 2002).

A TMA é uma amina volátil que apresenta odor forte e desagradável, sendo utilizada na verificação de alterações microbianas do pescado não

congelado (DYER, 1945; GALLARDO et al., 1990). Uma vez, que esta aumenta muito em concentração, durante os estágios iniciais de deterioração (VENUGOPAL, 2001). Sua presença determina várias alterações físicas na carne, tais como redução do potencial redox, aumento do pH e da condutância elétrica (HUSS, 1995).

As análises de TMA e BVT são fundamentais e bastante utilizadas para verificar o frescor dos pescados devido a sua fácil execução e maior rapidez (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; HUSS, 1995; PEREIRA, 2004). Sabe-se que as BVT aumentam em função da deterioração do produto (FURLAN et al., 2007). Nesta análise são determinados compostos básicos nitrogenados voláteis, como a trimetilamina, dimetilamina e amônia, resultantes da ação enzimática autolítica e microbiana sobre proteínas musculares, além de outras substâncias, cujas quantidades variam com o tempo de estocagem, aumentando à medida que a deterioração do pescado avança (MOURA et al., 2003). A legislação brasileira utiliza este parâmetro para avaliar a qualidade do pescado, considerando como deteriorado e impróprio para o consumo, o pescado com teor de bases voláteis  $\leq 30$  mgN/100 g (BRASIL, 1997) e TMA  $< 5$  mg/100g (BRASIL, 1952).

### **3.7 Microrganismos patogênicos carregados pelo pescado**

Doenças de transmissão alimentar (DTA) são definidas como qualquer doença de natureza infecciosa ou tóxica causada pelo consumo de alimentos ou água. Sendo a maioria dos surtos associado à contaminação microbiológica, em que as bactérias são consideradas os agentes mais importante (WHO, 2002).

Alimentos potencialmente perigosos são aqueles que, em razão de sua composição e suas características físicas, químicas ou biológicas favorecem o crescimento de microrganismos e formação de suas toxinas. Requerendo condições especiais de conservação, armazenamento, transporte, preparação e serviço. Neste grupo estão ovos, lácteos, carnes e seus derivados, assim como os produtos da pesca (BORBOLLA-SALA et al., 2004).



São fatores importantes para a presença de bactérias no pescado a contaminação por manipulação e processamento inadequados ou mesmo utilização de equipamentos e utensílios contaminados (MURATORI, 2000). Além das bactérias presentes no ambiente aquático, os pescados de águas quentes abrigam um número potencialmente maior de microrganismos patogênicos, do que os de águas frias (HASTEIN, 2006).

As bactérias patogênicas para o homem transmitidas por pescados podem ser divididas em dois grupos: um grupo constituído por gêneros e espécies cujo habitat natural é a água tais como o *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Plesiomonas shigelloides*, *Edwardsiella tarda*, *Aeromonas* móveis e outro que inclui bactérias presentes na água devido a contaminação de origem fecal e/ ou associada ao processo de manipulação posterior do pescado como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (ARIAS & BUELGA, 2005; ABEROUMAND, 2010).

Os agravos com DTA's são desagradáveis e geralmente se manifesta com indisposições leves e autolimitantes, restritas às gastroenterites. No entanto, podem ser fatal em crianças, idosos, gestantes e pessoas debilitadas. Merecendo uma atenção especial, devido aos impactos econômicos gerados, pelos gastos com cuidados com a saúde, perda de produtividade devido ao absentismo, custos de investigação de um surto e perda de vendas quando os consumidores evitam produtos em particular (WHO, 2002).

### **3.7.1 Grupo Coliformes**

O grupo coliforme inclui uma grande diversidade de gênero e espécies, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, reunidas neste grupo com base em características bioquímicas comuns (ROMPRE et al., 2002). É considerado indicador de contaminação e utilizado na avaliação da qualidade sanitária de alimentos (JAY, 1999).

Este grupo é constituído por bastonetes, Gram negativos, anaeróbicos facultativos, não esporogênicos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C, com exceção dos coliformes

termotolerantes que são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5-45,5°C. Os coliformes termotolerantes incluem pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem também cepas de origem não fecal. Por isso a pesquisa de coliformes termotolerantes é menos eficiente que a pesquisa direta de *Escherichia coli* (SILVA et al., 2007).

Uma vez que a *E. coli* está no trato gastrointestinal da maioria dos animais de sangue quente dentro de horas ou alguns dias após o nascimento e podem ser encontrada secundariamente no solo e na água como o resultado da contaminação fecal. Por outro lado, sua detecção em alimentos é indicativo de baixa qualidade desses produtos. Uma das características mais notáveis de *E. coli* é ampla diversidade de doenças causadas por este microrganismo, englobando diferentes sintomas e patologias do trato gastrointestinal, além de doenças em locais extra-intestinais (SOUSA, 2006).

Assim como a *E. coli* a maioria dos coliformes está presente em grande número na microbiota intestinal de seres humanos e outros animais de sangue quente, sendo portanto encontrado em resíduos fecais. Como consequência, os coliformes são usados como um índice do potencial da presença de agentes enteropatogênicos em ambientes aquáticos (ROMPRE et al., 2002). Esta informação é de grande importância, visto que a microbiota dos pescados é influenciada pelo meio no qual vivem, variando se marinho ou de água doce (SANTOS et al, 2008).

Além de seu ambiente natural, peixes e mariscos podem ser contaminados durante seu manuseio ou subsequente processamento (WHO, 2002; GHASEMI et al., 2010). Desta forma, valores excessivos de coliformes fecais podem ocorrer devido a uma manipulação inadequada do filetador/ eviscerador permitindo o contato do músculo com as vísceras (ÁLVARES et al., 2008). Assim como, práticas inadequadas na manipulação, por ocasião de alguns manipuladores de pescado que ignoram ou não sabem as regras indispensáveis de higiene (DIAS et al., 2010).

Apesar da RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, não estabelecer padrão microbiológico para coliformes em pescado *in natura*, resfriado ou

congelado não consumido cru, entende-se que a pesquisa de coliformes é de extrema importância para estes alimentos, uma vez que os mesmos dão indicativo das condições higiênico-sanitárias nas quais estes produtos foram manipulados, processados ou até mesmo do seu local de captura. Diante desta importância vários estudos já foram realizados, envolvendo a pesquisa de coliformes nos produtos da pesca.

Dias et al. (2010) ao avaliarem a qualidade do pescado comercializado em feiras da cidade de Imperatriz, MA, onde verificaram a presença de Coliformes fecais em 100% das amostras analisadas. Álvares et al. (2008) em trabalho com pescada e atum comercializados em feiras, mercados e GEAGESP, na grande São Paulo verificaram índices de contaminação de 91% para a espécie pescada e 96,9% para atum, com valores que variaram de 3,6 a  $> 1100$  NMP/g para Coliformes totais e de  $<3$  a  $>1100$  NMP/g para Coliformes fecais. Silva et al., (2008) ao analisarem 20 amostras de peixe, constataram que 65% (13) continham microrganismos indicadores, patógenos e/ou potencialmente patogênicos. A contagem de Coliformes termotolerantes variou entre  $<3 \times 10^0$  a  $4,3 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup>.

Farias & Freitas (2008) ao analisarem 51 peixes eviscerados congelados colhidos em indústrias de beneficiamento localizadas no estado do Pará, verificaram que 5,9% das amostras estavam contaminadas por coliformes fecais. Silveira et al., (2008) ao analisarem amostras de peixes marinhos *in natura* em 24 pontos da cadeia produtiva do pescado em municípios da Baixada Santista, verificaram que o nível populacional de coliformes fecais foi baixo, variando de  $10^1$  a  $10^3$  UFC por centímetro quadrado.

### **3.7.2 *Salmonella* spp.**

O gênero *Salmonella* é composto por 2.501 sorotipos dentre os quais 1.478 pertencem à subespécie entérica, sendo sorotipadas de acordo com seus antígenos somáticos (O), de envoltório (Vi) e flagelares (H) (POPOFF et al., 2001). São patógenos facultativos, intracelulares, capazes de infectar uma grande variedade de animais (CARDOSO & TESSARI, 2008), possuindo

como principal habitat o trato intestinal de aves, répteis e seres humanos (JAY, 1999).

Quanto aos parâmetros ambientais exigidos para seu o desenvolvimento destaca-se o pH ótimo para sua multiplicação, próximo de 7,0; uma vez que valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são considerados bactericidas. Com relação à concentração de sal, as salmonelas não toleram concentrações acima 9%. O nitrito possui efeito inibitório, acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal para seu desenvolvimento encontra-se na faixa de 35°C a 37°C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

A salmonelose é considerada uma das zoonoses mais problemáticas em todo mundo, em decorrência do extraordinário número de fontes de infecção envolvidas; praticamente todos os vertebrados, alguns dos quais, fonte de proteína animal para o homem (HOFFER, 2000; ALMEIDA et al., 2000b). Apesar das constantes inspeções por parte dos órgãos competentes, os surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) continuam a aumentar (ALVES et al. 2001). No que se refere aos casos de infecções alimentares por *Salmonella*, estes aumentaram de forma significativa a partir da década de 80 (TESSARI et al., 2008). O que a torna um sério problema de saúde pública, tanto em países em desenvolvimento como em países desenvolvidos (CARDOSO & CARVALHO, 2006).

A salmonelose acomete indivíduos de todas as faixas etárias. Suas formas clínicas são representadas por gastrinterite aguda, a mais comum; e febres entéricas: febre tifóide e paratifoide (LOUREIRO et al., 2010).

A febre tifoide é causada pela *Salmonella typhi*, acometendo somente o homem, sendo disseminada, principalmente, através da água e alimentos contaminados com material fecal, os sintomas são muito graves e incluem septicemia, febre alta, diarreia e vômitos. Já a febre entérica, possui como agente etiológico a *Salmonella paratyphi* A, B e C, os sintomas clínicos são mais brandos em relação aos da febre tifoide; o consumo de alimentos e água contaminados são também os principais responsáveis pela disseminação desta doença (SHINOHORA et al., 2008). As infecções entéricas, também

chamadas de salmoneloses, apresentam período de incubação que varia de 5 a 72 horas, com média de 12 a 36 horas, os sintomas consistem em náuseas, vômitos, cólica, febre, cefaleia, diarreia (PINTO, 2000).

Embora a maioria dos surtos envolvendo essa bactéria tenha como veículo mais frequente aves e ovos, um grande número de alimentos incluindo carne bovina, peixe, sorvete e chocolate também têm sido implicados (DUFFY et al., 1999). Peixe e marisco parecem ser portadores passivos de salmonela, não demonstram sinais clínicos e podem excretar *Salmonella* spp. sem problemas aparentes (NOVOTNY et al., 2004)

Geralmente, os alimentos são contaminados direta ou indiretamente pelas fezes de animais e pessoas portadoras da bactéria ou pelo contato com águas poluídas. A ocorrência de salmonelose está relacionada com a ingestão de um grande número de células bacterianas em alimentos contaminados que não foram mantidos em temperatura adequada de conservação, permitindo a multiplicação desses microrganismos (CARVALHO, 2006). Porém sabe-se que o resfriamento não inviabiliza a presença de bactérias do gênero *Salmonella* em alimentos (SANTOS et al., 2000).

Desta maneira os alimentos de origem animal, representam papel fundamental na epidemiologia das salmoneloses humanas, podendo tornar-se um problema potencial na determinação de quadros de infecção alimentar em seus consumidores (CARVALHO & CORTEZ, 2005; FARIAS & FREITAS, 2008). Registros epidemiológicos em todo o mundo mostram a importância da *Salmonella* spp. como a maior causadora de doenças bacterianas de origem alimentar no ser humano (LORENZON et al., 2010). No Brasil a legislação estabelece como padrão microbiológico para pescados “*in natura*” ausência de *Salmonella* spp. em 25g do produto (BRASIL, 2001).

Neste sentido algumas pesquisas envolvendo os produtos da pesca, já foram realizadas com intuito de verificar a qualidade dos mesmos quanto à presença de *Salmonella* spp. Santos et al., (2008) analisaram a piramutaba, com pele, eviscerada, sem cabeça, congelada e conservada a  $-18^{\circ}\text{C}$ , provenientes de dois distribuidores da região Metropolitana de Belo Horizonte, MG e verificaram a presença da *Salmonella* spp. em 10% das amostras

analisadas. No Peru foi também detectada a presença desta bactéria em amostras de caranguejo (*Cancer spp.*) e cavala (*Trachurus picturatus murphyi*) comercializados no Mercado do Peixe da cidade de Ventanilla (MENDOZA et al., 2003).

Farias & Freitas (2008) ao analisarem a 51 amostras de peixes eviscerados congelados, colhidas nas indústrias de beneficiamento localizadas no estado do Pará, verificaram a ausência deste microrganismo. Resultados semelhantes foram verificados por Silva et al., (2008) ao analisarem amostras de peixes comercializados em feiras livres da cidade de São Paulo, e Silveira et al., (2008) ao analisarem amostras de peixes marinhos *in natura* em 24 pontos da cadeia produtiva do pescado em municípios da Baixada Santista.

Embora o número de registros do envolvimento de peixes na transmissão de *Salmonella* spp. seja pequeno a possibilidade de contaminação não pode ser desprezada devido à importância desse microrganismo para a saúde pública (SILVA et al., 2008)

### **3.7.3 *Staphylococcus* spp.**

As bactérias do gênero *Staphylococcus* estão amplamente distribuídas na natureza, porém possuem o homem como principal reservatório, localizando-se na pele e em membranas mucosas do trato respiratório superior e intestinal (GERMANO & GERMANO, 2003). Este gênero apresenta cerca de 30 espécies e 17 delas podem ser isoladas em amostras biológicas humanas sendo as mais comuns *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus aureus* (KONEMAN et al, 2001). É o gênero responsável por aproximadamente 45% das intoxicações no mundo (CUNHA NETO et al.; 2002).

São considerados microrganismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8°C, podem produzir enterotoxinas termotolerantes a temperaturas entre 10 e 46°C, com temperatura ótima entre 40 e 45°C. O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7 a 7,5, porém é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3. Possuem capacidade de sobreviver e se multiplicar em concentrações de cloreto de

sódio de até 15% e a produção de enterotoxina acontece em concentrações de sal de até 10%. Quanto à atividade de água (aw) o valor mínimo para multiplicação deste microrganismo é de 0,86, apesar de já ter sido relatada a multiplicação em alimentos com aw de 0,83 (WONG & BERGDOLL, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2005). Estocagens sob temperaturas muito baixas, por períodos prolongados, podem reduzir o número de microrganismos viáveis (JAY, 1999).

O *S. aureus* é a principal espécie do gênero *Staphylococcus* associada a casos de intoxicação alimentar, representando em média, 98% dos surtos por este gênero (SANTANA et al., 2010). Este microrganismo produz várias enterotoxinas, responsáveis pelo quadro de intoxicação (VIEIRA, 2004). A intoxicação por *S. aureus* é provocada pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada (SILVA JR, 2002). Uma vez que, contagens de *S. aureus* superiores a  $10^4$  células por grama do alimento, podem favorecer a produção de quantidade suficiente de enterotoxina (JAY, 1999). Os sintomas habituais incluem náuseas, vômito e diarreia, que podem aparecer em trinta minutos a oito horas após o consumo de alimento contaminado. Esses sintomas persistem em geral por 24 horas, mas em casos graves a desidratação pode levar ao choque hipovolêmico e ao óbito (FRANCO & LANDGRANF, 2005).

Embora o *S. aureus* não seja um microrganismo do ambiente marinho, ele pode ser encontrado em pescado e frutos do mar, através da contaminação cruzada entre utensílios e alimentos crus e cozidos (VIEIRA, 2004). Outra forma importante de contaminação do pescado é sua manipulação inadequada, desde o momento da captura, ainda nos barcos pesqueiros, até o seu destino final, onde o *S.aureus*, encontra ambiente favorável à sua multiplicação (FURLAN, 2011) e produção de toxinas (CUNHA NETO et al., 2002). Há relatos do envolvimento de enterotoxinas como causa grave de gastroenterite após o consumo destes produtos (NOVOTNY et al., 2004),

Cerca de 20 a 50% dos indivíduos humanos saudáveis podem carrear este microrganismo, na pele, garganta e lesões intactas (WHO, 2002). Portanto a presença de *S. aureus* indica manipulação inadequada do produto e

más condições higiênico-sanitárias, sendo o homem de grande importância como agente transmissor (TEBALDI et al., 2008). Com isto o treinamento de manipuladores é fundamental para a prevenção da contaminação durante as fases de processamento do alimento. A prática de higiene adequada, armazenamento correto dos alimentos, afastamento do funcionário quando doente, ou proteção adequada de feridas e supurações podem minimizar a incidência de contaminação dos alimentos e/ou impedir a produção de toxinas a níveis capazes de provocar intoxicação (CUNHA NETO et al., 2002; SOUZA, 2010).

Diante da importância deste microrganismo para a saúde pública, a legislação brasileira determina um padrão de contagem de  $10^3$  UFC/g de *Staphylococcus* coag. positiva para pescado "in natura", resfriados ou congelados não consumido cru (BRASIL, 2001). Neste sentido vários trabalhos já foram realizados a fim de verificar a qualidade dos produtos da pesca para este microrganismo. Santos et al., (2008) analisaram a piramutaba, provenientes da região Metropolitana de Belo Horizonte e verificaram que 75% das amostras apresentaram contagens de *S. aureus* entre  $10^2$  e  $10^3$  UFC/g. Farias & Freitas (2008) ao analisarem amostras de peixe congelado beneficiado em indústrias paraenses, constataram que 2% das amostras não atenderam aos padrões da legislação federal brasileira, apresentando contagens acima de  $10^3$  UFC/g. Silva et al. (2008) analisaram amostras de peixes usualmente empregados no preparo de pratos à base de peixe cru, isolaram *S. aureus*, porém dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela legislação brasileira.

Apesar de espécies coagulase negativas não serem de importância epidemiológica em casos de intoxicações estafilocócicas, muitas pesquisas conclamam a explorações no sentido averiguar estas espécies (PEREIRA et al., 2001). Em virtude do elevado percentual de linhagens de *Staphylococcus* enterotoxigênicos coagulase negativo, é necessária uma revisão da legislação brasileira, uma vez que não existem padrões que considerem esses microrganismos também importantes do ponto de vista de segurança alimentar (LAMAITA et al., 2005).



### 3.7.4 *Aeromonas* spp.

Aparecimento de *Aeromonas* spp. como um importante patógeno humano conduziu a um interesse considerável neste microrganismo nas duas últimas décadas (SACHAN et al., 2012). Grande parte desse interesse se deve à associação desse microrganismo com causador de doença gastrointestinal em humanos (JANDA, 1991). No entanto, estas bactérias são também responsáveis, por quadros de meningites, endocardites, artrites, osteomielites e infecções cutâneas no homem (RODRIGUES et al., 2010; JANDA & ABBOTT, 2010). No Brasil, estas bactérias são descritas como patógenos emergentes de importância crescente em alimentos (BOIJINK & BRANDÃO, 2001).

Bactérias do gênero *Aeromonas* vivem em ambientes aquáticos e fazem parte de populações microbianas associadas com reciclagem de compostos orgânicos (COELHO et al., 2010). Podendo ser isoladas também, a partir de alimentos, animais domésticos, espécies de invertebrados, pássaros, insetos, carrapatos e solo. O vasto panorama de fontes ambientais a partir do qual podem ser encontrados permite uma exposição e interação constante entre *Aeromonas* spp. e seres humanos (JANDA & ABBOTT, 2010).

O gênero compreende bactérias oxidase e catalase positiva, fermentadoras de glicose, anaeróbias facultativas, Gram-negativas, em forma de bastonete, que são resistentes ao agente vibriostático O/129 (POPOFF, 1984). São classificadas em um grupo psicrófilo, não móvel, e um grupo mesófilo, móveis. Sendo a complexidade deste último agravada pela presença de sorotipos diferentes (SINHA et al., 2004; SACHAN et al., 2012).

Atualmente o gênero *Aeromonas* abrange 14 espécies (FIGUERAS et al., 2000) com taxonomia complexa. Durante as últimas duas décadas, o número de descrições de novas espécies tem aumentado progressivamente, resultando nas seguintes espécies reconhecidas: *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida* (compreendendo estirpes não-móveis e psicrófilica, bem como móveis e mesófilica), *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii* (com dois biótipos *sobria* e *veronii*), *A. jandaei*, *A. trota*, *A. schubertii*, *A. encheleia*, *A. allosaccharophila* e *A. popoffii* (KOZINSKA et al., 2002; SOLER et al., 2004).

As espécies *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. jandaei* e *A. veronii* são conhecidos por serem associadas a várias doenças no homem como gastrinterite, síndrome urêmica hemolítica, septicemia e infecções da pele e feridas (JANDA & ABBOTT, 1998). No entanto, apenas três espécies são reconhecidas (*A. hydrophila*, *A. caviae*, e *A. veronii* bv. Sobria) por produzir a grande maioria das infecções sistêmicas em seres humanos (JANDA et al., 1994; JANDA & ABBOTT, 1999; FIGUERAS et al., 2005).

No caso da gastrinterite por *Aeromonas*, a via de infecção presumida é a oral por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados (FIGUERAS et al., 2005). As bactérias ao serem ingeridas conseguem contornar os efeitos deletérios da acidez gástrica, conseguindo permanecer no intestino delgado ou grosso e competir com sucesso contra microrganismos autóctones (JANDA & ABBOTT, 2010). Já em alimentos armazenados a baixas temperaturas, sua multiplicação e sobrevivência são influenciados por fatores como temperatura, pH e concentrações de sal (KNOCHEL & JEPPESEN, 1990). A patogênese do gênero *Aeromonas* é multifatorial, tendo sido ligada a diferentes determinantes de virulência como toxinas, proteases, proteínas de membrana externa, o lipopolissacarídeo (LPS), S-camada, cápsulas, e flagelos (VILCHES et al., 2009).

Várias pesquisas realizadas constataram a presença desta bactéria em casos de diarreia em humano. Um estudo realizado na Espanha, envolvendo 863 pacientes com diarreia de viajantes constatou a presença de *Aeromonas* 2% (18) dos pacientes, sendo as espécies *A. veronii* biótipo sobria e *A. caviae* as mais frequentemente isoladas. Diarreia, febre e cólicas abdominais foram as características clínicas predominantes nestes casos (VILA et al., 2003). Em uma investigação epidemiológica envolvendo 2.170 casos de pacientes com quadros de diarreia, no município São Bento do Uma, Pernambuco, constatou uma predominância de isolamentos de *Aeromonas* spp. (114 casos - 19,5%), quando confrontada com os 31 (5,3%) casos com as etiologias clássicas (HOFER et al., 2006).

Um monitoramento realizado em 1.033 amostras de fezes de pacientes com sintomas de diarreia, em Israel, constatou a presença de

*Aeromonas* em 17 pacientes (2%). Quanto às espécies isoladas, 11 (65%) amostras foram positivas para *A. caviae*, cinco (29%) para *A. veronii*, e uma cepa H53AQ1. As amostras dos pacientes com diarreia foram também verificadas para outros enteropatogenos, onde os mesmos foram recuperados a partir dos 15% (155) dos casos. Infecções mistas por *Aeromonas* bem como para outros enteropatogenos conhecidos, foram encontradas em quatro pacientes (SENDEROVICH, 2012).

A pesquisa deste microrganismo em pescado também já foi realizada por vários autores. Rodrigues et al. (2010) verificaram uma incidência de 68% em três pisciculturas do estado do Rio de Janeiro. Pereira et al., (2004) ao analisarem 86 amostras de mexilhões (*Perna perna*), verificaram a presença de *Aeromonas* spp e *Plesiomonas shigelloides* em 74 (86%) das amostras *in natura* e pré-cozidas, para as amostras de mexilhões *in natura*, as espécies de *Aeromonas* spp. mais frequentes foram: *A. media* (12,36%), *A. hydrophila* (10%), *A. veronii* biogrupo *veronii* (7,10%), *A. caviae* (5,80%), *Aeromonas* sp. (4,73%), *A. trota* (2,63%), *A. sobria* (2,40%) e *A. veronii* biogrupo *sobria* (0,26%). Lanzarin et al., (2011) ao estimarem o prazo de validade comercial do filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) fresco, constataram multiplicação acentuada *Aeromonas* spp. durante estocagem até o 26º dia.

### **3.8 Qualidade do Gelo**

A presença do gelo na cadeia produtiva do pescado é de extrema importância, uma vez que a sua ausência eleva rapidamente o pH e acelera a multiplicação microbiana contribuindo para a deterioração do pescado (BRAMORSKI et al., 2008). Desta forma, o gelo funciona como principal método de conservação ou de preservação temporária do pescado até que outro processo seja aplicado (ECHEVENGUÁ et al., 2008). Porém, se o gelo utilizado para este fim não apresentar condições microbiológicas satisfatórias a deterioração do pescado ocorrerá com uma maior rapidez (DORTA et al., 2011).

Estudos mostram que o uso do gelo clorado é efetivo na redução da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos, ampliando

em aproximadamente três dias a vida de prateleira de pescados armazenados inteiros sob refrigeração (SCHERER et al., 2004).

Além de acelerar os processos deteriorativos do pescado, o gelo de má qualidade pode representar um perigo à saúde pública, uma vez que este pode ser ingerido, diretamente quando adicionado a sucos e refrigerantes ou indiretamente, quando utilizado para refrigerar alimentos como peixes e frutos do mar (FALCÃO et al., 2002), funcionando desta forma, como uma importante fonte de contaminação desses alimentos (SCHERER et al., 2004).

A Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) de nº 12, de 1978, define o gelo como produto resultante da congelação de água potável, devendo possuir como padrão microbiológico ausência de bactérias do grupo coliforme em 100 mL do produto degelado (BRASIL, 1978). Portanto, o gelo utilizado com ou como alimentos devem ser da mesma qualidade microbiológica da água potável. Uma vez que quase todos os enteropatógenos conhecidos da família *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* e *Escherichia coli* enteropatogênica), incluindo *Escherichia coli*, têm sido encontrados em água (FALCÃO et al., 2002; FALCÃO et al., 2004).

Microrganismos nocivos presentes na fonte de água utilizada na elaboração do gelo, podem permanecer viáveis no momento de seu uso, sendo capaz de causar infecção no consumidor. Desta forma, a relação entre água contaminada e doenças humanas enfatiza a importância de um estudo para obter informações sobre as condições higiênicas de gelo comercial (LATEEF et al, 2006).

O gelo pode ser contaminado por microrganismos patogênicos, através de água contaminada, utilizada na sua produção, ou por meio da falta de hábitos de higiene durante seu manuseamento (LATEEF et al, 2006). Ocorrendo maior contaminação de águas através de caixas de água abertas ou mal fechadas e devido à carência de hábitos de higiene pessoal e ambiental. Ao considerarmos a água como um recurso natural indispensável ao homem, é imprescindível que a sua qualidade seja preservada, por meio de medidas de controle da poluição e contaminação em geral (SIQUEIRA et al., 2011).

A avaliação da presença de organismos patogênicos na água é determinada pela presença ou ausência de um organismo indicador e sua respectiva população (BETTEGA et al., 2006). Vários estudos mostraram que a *E. coli*, coliformes e uma variedade de microrganismos podem estar presentes no gelo demonstrando tanto a má qualidade da fonte usada ou a falta de higiene na produção ou manipulação desse produto (LATEEF et al, 2006).

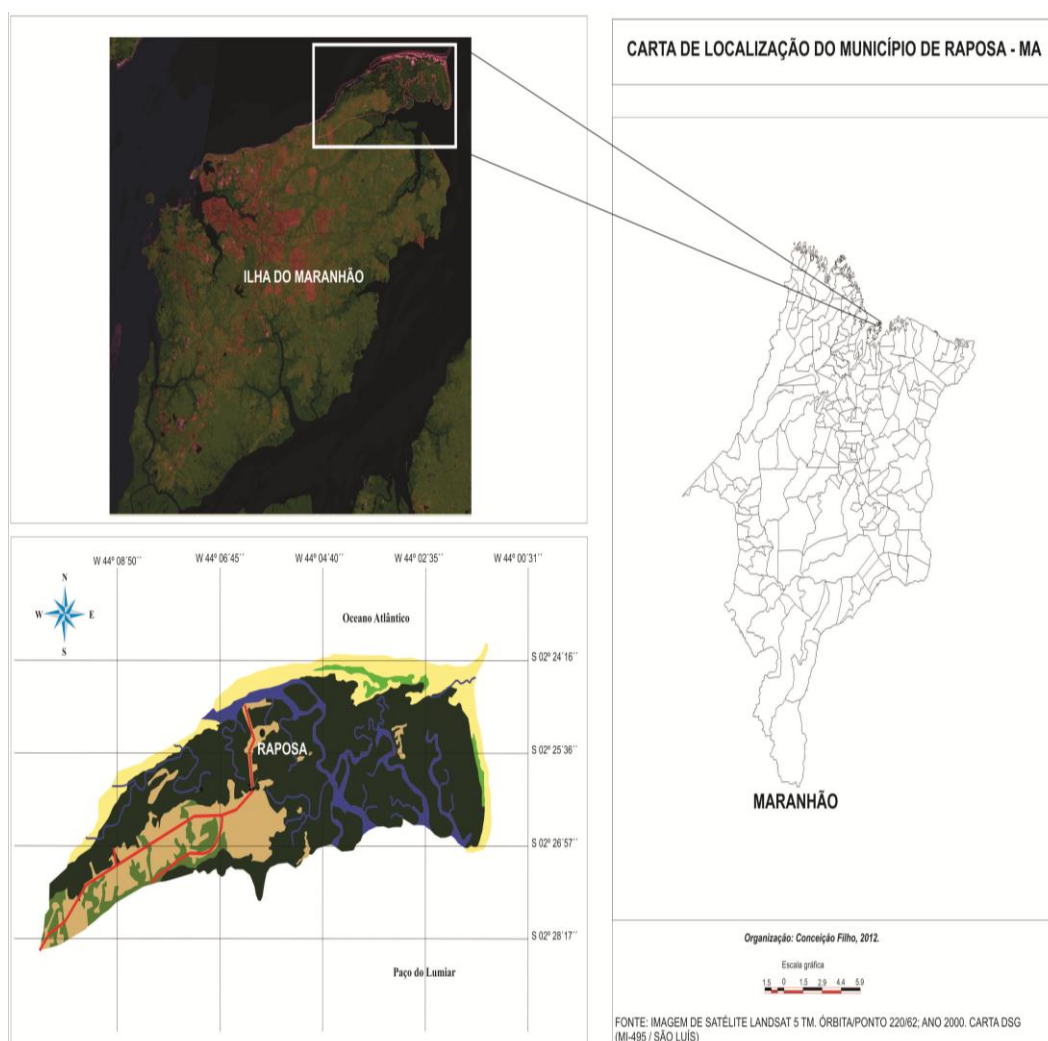
Dorta et al., (2011) ao analisarem a qualidade do gelo utilizado no resfriamento do pescado comercializado em três mercados da cidade de Teresina, constataram contaminação por Coliformes a 37°C e *E. coli*, em todas as fábricas que forneciam o produto aos feirantes, no entanto ao observarem este produto após contato com o pescado nas feiras, perceberam que os níveis de coliformes a 37°C permaneceram quase que inalterados, no entanto para *E. coli* houve um aumento destes valores.

Giampietro & Rezende-Lago (2009) ao analisarem 30 amostras de gelo utilizado na conservação de pescado, obtidas em quatro estabelecimentos comerciais da cidade de Ribeirão Preto, SP, contataram que 29 (96,7%) amostras apresentaram contaminação por Coliformes totais e 22 (73,3%), por Coliformes termotolerantes. Também Falcão et al., (2002) ao analisarem 60 amostras de gelo provenientes de fábricas de gelo, feiras e mercados, constataram a presença de Coliformes totais e termotolerantes em todas as amostras analisadas.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado no município de Raposa, localizado ao extremo norte da Ilha de São Luís, sendo limitado ao norte pelo Oceano Atlântico; ao sul pela sede do município de Paço do Lumiar e o município de São José de Ribamar; a leste pela Ilha do Curupu e Baía de São José e a oeste pelo município de São Luís. A região está compreendida entre as coordenadas de 02° 25' 22"S e 44° 05' 21"W (SOARES et. al., 2006).



**FIGURA 1.** Carta de localização do município da Raposa, MA.

O município da Raposa possui uma população de 26.327 habitantes (IBGE, 2010) e tem como principal atividade econômica a pesca (ALMEIDA et al. 2000a). Neste município encontra-se a maior e a mais importante comunidade pesqueira do Estado do Maranhão, com aproximadamente 359 embarcações ativas (IBAMA, 2008). Sendo o desembarque do pescado realizado nos dois portos do município, o porto da Praia e o porto do Braga. Neste último estão localizados dois estaleiros de madeiras e um de fibra e as duas fábricas de gelo (SOARES et al., 2006), responsáveis pelo fornecimento de gelo aos pescadores locais.

#### **4.2 Avaliação das condições de higiene, transporte e armazenamento das amostras**

Após o desembarque do peixe serra foram entrevistados 12 pescadores, sendo um por embarcação. A entrevista ocorreu por meio de aplicação questionário (Apêndice A) composto por 20 perguntas abertas e fechadas referentes à captura, manipulação, conservação e transporte do peixe serra.

#### **4.3 Obtenção das amostras**

No período de janeiro a outubro de 2011 foram coletados 12 lotes de peixe serra, sendo a produção de cada embarcação considerada como um lote, de onde foram coletadas ao acaso cinco unidades amostrais, perfazendo um total de 60 amostras. Após a coleta as mesmas foram colocadas em sacos plásticos estéreis individuais, devidamente identificados e armazenadas em caixas isotérmicas contendo gelo do tipo escama. As coletas foram realizadas na enchente da maré, momento em que as embarcações chegavam aos portos para o desembarque do produto.

Para esta pesquisa também foram coletadas e analisadas oito amostras do gelo utilizado na conservação do pescado, provenientes das duas fábricas de gelo, responsáveis pela comercialização do produto para os pescadores. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos estéreis, identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas.

Tanto as amostras de peixe serra como as amostras de gelo, foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água - UEMA, para que fossem realizadas as análises sensoriais e microbiológicas. Para as análises química do peixe serra, utilizou-se o Laboratório de Nutrição Animal - UEMA.

#### **4.4 Preparo das amostras**

##### **4.4.1 Peixe serra**

No laboratório as amostras foram retiradas dos sacos e em seguida colocadas sobre bandeja de inox previamente desinfetada com solução de álcool etílico a 70%, para posteriormente ser efetuada a avaliação sensorial. Com auxílio de faca estéril realizou-se o processo de filetagem (Figura 3B) e realização de cortes menores (Figura 3D), que em seguida foram pesados e utilizados nas análises microbiológicas e químicas.

##### **4.4.2 Gelo**

No laboratório as amostras de gelo foram descongeladas em suas embalagens de coleta, sob refrigeração, e em seguida homogeneizadas para serem utilizadas nas análises microbiológicas.

#### **4.5 Análises microbiológicas do gelo**

##### **4.5.1 Determinação de Coliformes a 35°C e 45°C (BRASIL, 2003)**

Para a determinação do Número Mais Provável inoculou-se 10 mL da amostra em uma série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em dupla concentração. Em seguida, inoculou-se 1 mL da amostra em uma segunda série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio em concentração simples e volumes de 0,1 mL em uma terceira série contendo o mesmo meio. Para a confirmação de Coliformes a 35°C, retirou-se uma alíquota de cada tubo positivo em caldo LST, que foi inoculada em caldo verde



brilhante bile 2% lactose (VB) e incubado à temperatura de 35°C por 24 a 48 horas, foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação do meio com produção de gás. Para determinação do número mais provável de Coliformes a 45°C inoculou-se alíquotas dos tubos positivos em caldo VB, para tubos contendo caldo *Escherichia coli* os mesmos foram incubados a 45,5°C por 24 a 48 horas em banho-maria, os tubos que apresentaram turvação do meio com produção de gás foram considerados positivos. Para a determinação do NMP utilizou-se a tabela de Hoskis (BRASIL, 2001).

#### **4.5.2 Pesquisa de *Escherichia coli* (VANDERZANT & SPLITTSOESSER, 1992)**

Para a pesquisa de *E. coli* em amostras de gelo, semeou-se alíquotas de cada tubo positivo no caldo EC, em placas contendo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) que em seguida foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após este período, selecionaram-se três colônias típicas para *E. coli* (azul escura e com brilho metálico) e transferiu-se para tubos de TSA inclinado, os quais foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Pequenas quantidades do crescimento bacteriano foram utilizadas na elaboração de esfregaços corados pelo método de Gram, verificando-se as características morfotintoriais das colônias. Constatada a presença de bacilos Gram negativos, realizaram-se os testes bioquímicos para confirmação: produção de Indol (I), Vermelho de Metila (MV), Voges-Proskauer (VP) e Citrato (C).

#### **4.5.3 Contagem de Psicotróficos (SILVA et al, 2007, com adaptações)**

A contagem de bactérias psicotróficas foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade preparando-se previamente as diluições decimais. A amostra de gelo em estado líquido foi considerada como diluição  $10^{-1}$ , de onde se retirou alíquotas de 1 mL que foram utilizadas no preparo das diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , utilizando-se tubos contendo 9 mL água peptonada 0,1%. De cada diluição retirou-se alíquotas de 1mL, que foram transferidas para três placas de Petri estéreis; logo após, adicionaram-se às placas cerca de 12 a 15

mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), previamente fundido, e em seguida realizaram-se a homogeneização e esperou-se pela solidificação do Ágar PCA em temperatura ambiente. As placas foram incubadas em estufa BOD a 28°C por 24 a 48 horas e após este período realizou-se as contagens bacterianas, com auxílio de um contador de colônias, selecionando-se placas com 25 a 250 colônias.

#### **4.6 Análises microbiológicas do peixe serra**

##### **4.6.1 Determinação de Coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli* (BRASIL, 2003)**

A determinação do NMP dos Coliformes a 35° e a 45°C foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos. Para tal, pesou-se 25 gramas de peixe e adicionou-se a 225 mL de água peptonada, obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ , a partir desta preparou-se diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , em tubos contendo 9 mL de água peptonada. Em seguida alíquotas das diluições foram inoculadas em três séries de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Tryptose (LST) e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 a 48 horas, foram considerados como positivos para o teste presuntivo de Coliformes a 35°C os tubos que apresentaram turvação do meio com produção de gás. Para a confirmação transferiu-se uma alíquota de cada tubo positivo para tubos contendo caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) que foram incubados a 35°C por 24 horas, os tubos que apresentaram turvação com meio com produção de gás foram considerados como positivos para Coliformes a 35°C. A partir destes retirou-se alíquotas que foram inoculadas em tubos com caldo *E. coli* (EC), os mesmos foram incubados a 45,5°C em banho-maria por 24 horas, foram considerados positivos para Coliformes a 45°C, os que apresentaram turvação do meio e produção de gás. A determinação do Número Mais Provável (NMP/g) seguiu a tabela de Hoskis (BRASIL, 2001). Para a pesquisa de *Escherichia coli* nas amostras seguiu-se a mesma metodologia adotada para o gelo.

#### **4.6.2 Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BRASIL, 2003)**

Para a quantificação de bactérias aeróbias heterotróficas mesófilas utilizou-se o método do plaqueamento em profundidade. A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , anteriormente preparadas, transferiu-se 1 mL para três placas de Petri estéreis, adicionando-se em seguida de 12 a 15 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), previamente fundido e resfriado. Após homogeneização e solidificação do Ágar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 a 48 horas. Para a contagem, foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias, utilizado um contador de colônias. Os valores encontrados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g).

#### **4.6.3 Contagem de *Staphylococcus* spp. (BRASIL, 2003)**

A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , anteriormente preparadas, retirou-se alíquotas de 0,1 mL de cada diluição que foram semeadas sobre a superfície de placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker (BP) e distribuídas sobre a toda a superfície do Ágar com o auxílio de alça de Drigalky, em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica invertidas a 35°C por 24-48 horas. Após este período, as colônias típicas de *Staphylococcus* spp. (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos), foram contadas. Os resultados foram expressos em UFC/g e calculados em função do número de colônias contadas e diluição inoculada.

#### **4.6.4 Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo (BRASIL, 2003)**

As colônias típicas de *Staphylococcus* coagulase positiva, foram repicadas em tubos contendo TSA (Ágar Trypticase Soja), para purificação e multiplicação bacteriana, em seguida as mesmas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, para então, serem submetidas à coloração

de Gram e testes de coagulase e catalase. Para o teste de catalase transferiu-se uma pequena quantidade do crescimento bacteriano, com auxílio de alça de níquel-cromo previamente flambada, para uma lâmina de vidro e adicionou-se uma gota de peróxido de hidrogênio; foram consideradas como positivas as que apresentaram efervescência imediata. As colônias positivas para catalase foram submetidas ao teste de coagulase, por meio da transferência do crescimento bacteriano, para tubos contendo caldo cérebro coração (BHI), os mesmos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Após este período, transferiu-se 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI adicionaram-se 0,3 mL de plasma de coelho para tubos estéreis, que foram incubados a 37°C por 24 horas, foram considerados positivos as reações que apresentaram qualquer grau de coagulação.

#### **4.6.5 Pesquisa de *Salmonella* spp. (ICMSF, 1988)**

##### **4.6.5.1 Pré-enriquecimento e Enriquecimento**

Foram pesadas 25 gramas da amostra de peixe, que foram adicionadas a 225 mL de água Peptonada a 0,1% e em seguida homogeneizadas por 60 segundos e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após este período foram inoculadas alíquotas de 0,1 mL em tubo contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) e de 1 mL em tubo com 10 mL de Caldo Selenito Cistina (SC), ambos os meios foram adicionados de 0,1 mL de solução de novabiocina a 0,4%, e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

##### **4.6.5.2 Plaqueamento Seletivo**

A partir dos tubos positivos de RVS e SC retirou-se alíquotas que foram estiradas, com auxílio de alça de níquel cromo, sobre a superfície de Ágar Xilose Lisina Desoxicolato, Ágar Entéric Hektoen e Ágar Verde Brilhante. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica invertidas a 37°C por 24 horas, após este período foram selecionadas três colônias típicas de

*Salmonella* spp. por placa, que foram repicadas em tubos contendo Ágar Nutriente (AN) e incubadas a 37°C por 24 horas.

#### **4.6.5.3 Provas Bioquímicas**

Para as provas bioquímicas, retirou-se uma pequena quantidade do crescimento bacteriano em tubos de AN, que foram inoculados, com auxílio de agulha de níquel cromo, por picada profunda e estiramento sobre a superfície inclinada do bisel dos ágares TSI (Tríplice Açúcar Ferro) e LIA (Ágar Lisina) os quais foram incubados a 37°C por 24 horas. Após este período realizou-se leitura; sendo considerados como positivos os tubos de ágar TSI que apresentaram bisel vermelho e base amarela com ou sem produção de gás sulfídrico e os tubos de LIA com base e bisel de cor púrpura.

#### **4.6.5.4 Reação Sorológica**

A verificação de reação sorológica foi realizada frente aos soros polivalentes flagelar e somático. Para isto ressuspendeu-se o cultivo obtido em ágar nutriente em aproximadamente 0,2 mL de solução salina 0,85%. Em placa de Huddleson depositou-se separadamente uma gota do soro flagelar e uma gota do soro somático. Em seguida, acrescentou-se a cada uma delas uma gota da suspensão em teste. Com movimentos circulares, realizou-se a leitura com iluminação sobre fundo escuro por 1 a 2 minutos. Foram considerados positivos aqueles que apresentaram aglutinação para ambos os soros.

#### **4.6.6 Pesquisa de *Aeromonas* sp.**

##### **4.6.6.1 Enriquecimento e Plaqueamento Seletivo**

Foram adicionados 25 gramas da amostra em 225 mL do Caldo Trypticase Soja (TSB) adicionado de ampicilina (30 mg/L), em seguida foram incubados em estufa BOD a 28°C por 24 horas. Transcorrido este período, alíquotas das culturas com multiplicação bacteriana, indicadas pelo aumento da turbidez do meio, foram semeadas sobre placas contendo Ágar Vermelho de

Fenol-Amido (PALUMBO et al., 1985; MAJEED et al., 1990) e Ágar Dextrina segundo Havelaar & Vonk (1988), adicionados de Ampicilina (10 mg/L) e incubadas em estufa BOD a 28°C por 24 horas.

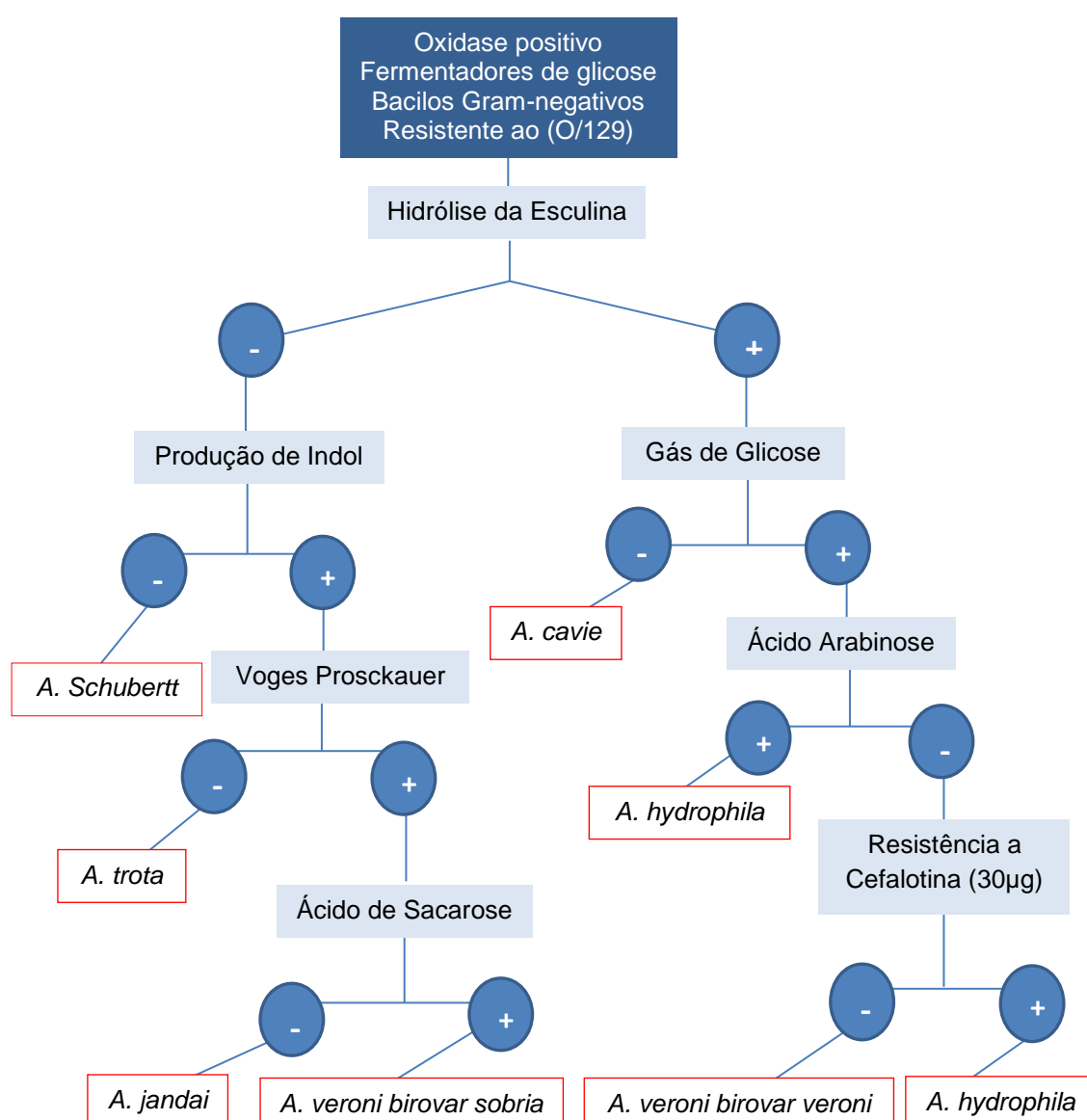
#### **4.6.6.2 Isolamento das colônias e identificação de *Aeromonas* spp.**

Para isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero, foram selecionadas três colônias típicas (amareladas circundadas por halo transparente) obtidas no plaqueamento seletivo, para cada um dos meios utilizados. As colônias típicas foram semeadas em Ágar Trypticase Soja (TSA) inclinado e incubadas em estufa BOD a 28°C por 24 horas. Após a incubação, foi realizada coloração pelo método de Gram e as culturas na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas foram repicadas em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e incubadas em estufa BOD a 28°C por 24 horas (SAAD et al., 1995). As culturas que apresentaram reação ácida com ou sem produção de gás e gás H<sub>2</sub>S negativas, foram submetidas aos testes de motilidade, oxidase e catalase para a caracterização do gênero.

Para prova de motilidade utilizou-se Ágar Motilidade, no qual se inoculou com picada o inóculo, que posteriormente foi incubado a 28°C por 24 horas, a motilidade foi visualizada pela difusão do crescimento no meio. A prova de oxidase foi realizada com auxílio de alça de platina, para espalhar a cultura sobre tiras de oxidase, o aparecimento de cor azul intenso foi indicativo de reação positiva. O teste de catalase foi realizado colocando-se uma gota de peróxido de hidrogênio 3% sobre uma lâmina; com uma de alça de platina, agregou-se a colônia em estudo na gota de peróxido de hidrogênio; foram consideradas positivas aquelas que apresentaram imediata produção de efervescência.

#### 4.6.6.3 Identificação das espécies

A identificação bioquímica das espécies de *Aeromonas* spp. foi realizada segundo a chave de Aerokey II (CARNARHAN et al., 1991), conforme Figura 2. Esse sistema tem sido utilizado na identificação das sete espécies mais comuns de *Aeromonas* móveis (*A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *veronii*, *A. veronii* biovar *sobria*, *A. trota*, *A. schubertii* e *A. jandaei*).



**Figura 2.** Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas para classificação dos isolados do gênero *Aeromonas* sp. (adaptados de CARNAHAN et al., 1991)

#### **4.7 Avaliação sensorial do peixe serra**

A avaliação da qualidade sensorial do peixe serra desembarcado nos portos do município de Raposa seguiu a Tabela de Classificação por Atributos Sensoriais, elaborada pela Divisão de Inspeção de Pescado e Derivados do Departamento de Inspeção dos Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Anexo I), que estabelece quesitos para determinação da qualidade sensorial do pescado fresco, conforme a portaria nº185 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997). De acordo com esta tabela, cada quesito recebe uma pontuação, o somatório dos pontos de todos os quesitos, determinam uma pontuação. A partir desta, foram considerados como de primeira qualidade os peixes que obtiveram pontuações entre 37 a 52; de segunda qualidade entre 18 a 36 pontos; e de terceira qualidade os que obtiveram menos de 17 pontos.

#### **4.8 Avaliação química do peixe serra**

##### **4.8.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA) (BRASIL, 1981)**

Para a determinação das Bases Voláteis e Trimetilamina foram pesadas 100 gramas de cada amostra, que em seguida foram trituradas em liquidificador e adicionadas a 300 mL de solução de ácido tricloroacético. Posteriormente, foram homogeneizadas e filtradas utilizando papel filtro para obter um extrato límpido. Com auxílio de pipeta volumétrica, foram transferidos 5 mL do extrato para o aparelho de destilação semi-micro e adicionados de 5 mL de solução de hidróxido de sódio 2M. Após a destilação, foi retirado 15 mL do destilado, adicionado a 5 mL de solução de ácido clorídrico 0,01N e três gotas de fenolftaleína. Em seguida o excesso de ácido foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,01N até coloração rósea pálido. Logo após foi adicionado 1 mL de formaldeído para cada 10 mL de líquido no Erlenmeyer, sendo o ácido liberado titulado com solução de hidróxido de sódio 0,01N até o



mesmo ponto final. Sendo os valores para BVT e TMA calculados pelas fórmulas abaixo:

$$\text{Bases Voláteis Totais (mg/100g)} = \frac{14 (300 + A) \times V}{V_a \times P}$$

$$\text{Trimetilamina (mg/100g)} = \frac{14 (300 - 1 - A) \times V'}{V_a \times P}$$

**V** = volume de ácido consumido, indicado pela 1ª titulação (diferença entre o volume inicial do ácido e o da base gasto na 1ª titulação)

**V'** = volume de ácido liberado, indicado pela 2ª titulação (diferença entre o volume inicial do ácido e o da base gasto)

**A** = conteúdo de água na amostra expressa como mg/ 100g.

**V<sub>a</sub>** = volume da alíquota

**P**= peso da amostra



**Figura 3.** Amostra de peixe serra (A); Filetagem do peixe serra (B); Filé de peixe serra (C); Realização de cortes menores em filé de peixe serra (D).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises microbiológicas revelaram que as amostras provenientes das duas fábricas de gelo do município da Raposa (fábrica A e B) apresentaram contaminação por Coliformes a 35°C e a 45°C. Os dados da Tabela 1 mostram que as populações variaram de <3 a >1100NMP/mL para coliformes a 35°C e de <3 a 210NMP/mL para Coliformes a 45°C.

**Tabela 1.** Número Mais Provável de Coliformes a 35°C e a 45°C, pesquisa de *Escherichia coli* e contagem de psicotróficos em amostras de gelo, Raposa, MA, 2012.

Fábrica de Gelo	Amostra	NMP/g		<i>E. coli</i>	Psicotróficos UFC/g
		Coliformes a 35°C	Coliformes a 45°C		
A	1	9,2	9,2	ausência	Ausência
	2	93	93	presença	4,5×10 <sup>4</sup>
	3	23	23	ausência	1,5×10 <sup>4</sup>
	4	<3	<3	ausência	3,2×10 <sup>2</sup>
B	1	<3	<3	ausência	2,5×10 <sup>4</sup>
	2	23	23	ausência	Ausência
	3	>1100	11	presença	3,5×10 <sup>3</sup>
	4	210	210	ausência	1,3×10 <sup>4</sup>

Segundo a RDC da Anvisa de nº 274, de 22 de setembro de 2005 de o gelo utilizado na conservação de alimentos deve ser elaborado com água, cujos parâmetros microbiológicos atendam as normas de qualidade para água de consumo humano. A portaria da Anvisa de nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011, dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e determina como padrão de potabilidade a ausência de Coliformes totais e *Escherichia coli* em 100mL.

Desta forma seis (75%) das amostras de gelo apresentaram contaminação por Coliformes a 35°C e a 45°C e em duas (25%) verificou-se a presença de *E. coli*, o que as torna impróprias para o resfriamento do pescado, além de indicar as condições higiênico-sanitárias insatisfatórias deste produto. Visto que os Coliformes a 45°C não se multiplicam e nem se matém viáveis na

água ambiental por longos intervalos de tempo, devido às baixas concentrações de nutrientes e de temperatura adversa, sua presença indica fonte de contaminação recente (CARDOSO et al., 2001).

Outros estudos avaliando a qualidade microbiológica do gelo constataram também a presença de coliformes, como trabalho de Giampietro & Rezende-Lago (2009) que ao avaliarem amostras do gelo utilizado na conservação do pescado em quatro diferentes estabelecimentos comerciais de Ribeirão Preto, SP, verificaram que 29 (96,7%) amostras apresentaram contaminação por Coliformes a 35°C e 22 (73,3%) por Coliformes a 45°C. No entanto, Lateef et al., (2006) ao analisarem amostras do gelo usado no resfriamento de pescado, provenientes de 4 fábricas de Ogbomoso, Nigéria, verificaram ausência de coliformes em todas as amostras.

A pesquisa de *E. coli* realizada por Dorta et al. (2011) em fábricas de gelo da cidade de Teresina, identificaram Coliformes a 37°C e *E. coli* em todas as amostras de gelo. Em outro estudo Falcão et al. (2002) analisando gelo provenientes de fábricas, feiras e mercados, verificaram que quatro locais apresentaram valores de *E. coli* em  $\geq 2\text{MPN}/100\text{ml}^{-1}$ , sendo identificadas cinquenta linhagens pertencentes a 33 sorotipos diferentes.

A presença de *E. coli* e Coliformes a 45°C nas amostras de gelo é preocupante pois indica que a água utilizada para o seu preparo possivelmente teve contato direto ou indireto com contaminação fecal, evidenciando uma má qualidade da matéria prima utilizada ou falhas durante o processo elaboração do produto, tais como falta de hábitos de higiene dos manipuladores, contaminação cruzada por utensílios e equipamentos ou inadequada limpeza e desinfecção de equipamentos e utensílios de preparação. Podendo também representar um risco a saúde do consumidor, uma vez que existem cinco grupos desta bactéria que determinam gastroenterites em humanos (*E. coli* enterotoxigênica; *E. coli* enteropatogênica; *E. coli* enterohemorrágica; *E. coli* enteroinvasiva e *E. coli* enteroagregativa) (VILA et al., 2009), com destaque para *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), responsável pela produção de toxinas termo-lábeis (LT) e/ ou termoestáveis (ST) (SOUSA et al., 2006).

Quanto às bactérias heterotróficas psicrotróficas, seis (75%) das amostras de gelo apresentaram contaminação, com valores entre  $3,2 \times 10^2$  a  $4,5 \times 10^4$  UFC/g. A presença psicrotróficos no gelo merece atenção, principalmente quando inserido à cadeia do pescado, uma vez que as baixas temperaturas de estocagem não prevenirão a deterioração, por estes microrganismos, mas predisporão a este processo (LEE & YOON, 2001), contribuindo para a redução da vida útil do pescado (MANSKE et al., 2011). Além de sua presença dar indícios das condições sanitárias ou práticas de higiene deficientes, durante ou após a produção do gelo (LATEEF et al. 2006).

A qualidade do gelo consiste em um ponto crítico a ser controlado, uma vez que através de questionários constatou-se que 75% dos pescadores haviam adquirido gelo nas duas fábricas de Raposa e 25% em outros municípios, tais como Luís Corrêa (PI), Apicum Açú e Carutapera (MA), evidenciando a importância destas fábricas na cadeia produtiva do pescado local.

Quanto aos parâmetros microbiológicos do peixe serra, os dados da Tabela 2 revelaram ausência ( $<3$  NMP/g) de Coliformes a  $35^\circ\text{C}$  em 31 (51,67%) das amostras; em 28 (46,67%) o intervalo de contagem foi de 3 a 95 NMP/g e apenas uma (1,66%) demonstrou valor  $>1.100$  NMP/g. Para coliformes a  $45^\circ\text{C}$  verificou-se ausência ( $<3$ NMP/g) em 52 (86,67%) das amostras, em oito (13,33%) observou-se contagens entre 3 a 95NMP/g. Em uma (1,67%) evidenciou-se *E. coli*. A legislação não estabelece padrão para estes microrganismos em pescado, no entanto estes dão uma noção do aspecto higiênico-sanitário no qual o pescado foi capturado e/ou manipulado.

As baixas contagens de Coliformes a  $45^\circ\text{C}$  podem está relacionadas a pouca contaminação do local de captura do peixe serra, uma vez que todos os pescadores realizaram a captura em alto mar, local onde características como salinidade, sedimentos e condições de mare, dificultam o isolamento de bactérias patogênicas (SILVA et al, 2008).

Apesar de pequena, a contaminação do peixe serra por Coliformes e *E. coli* pode ter ocorrido pela contaminação cruzada com o gelo, uma vez que foi detectada a presença destes microrganismos nas amostras analisadas.

**Tabela 2.** Número e percentual de amostras de peixe serra contaminadas por Coliformes a 35°C e a 45°C (NMP/g), Raposa, MA, 2012.

NNP/g	Coliformes a 35°C		Coliformes a 45°C	
	N	%	N	%
< 3	31	51,67	52	86,67
3 a 95	28	46,67	8	13,33
1100 a > 1100	1	1,66	-	-
<b>TOTAL</b>	60	100%	60	100%

**NMP/g** = Número Mais Provável por grama

A evisceração é outro ponto crítico de possível contaminação, pois 100% dos pescadores realizaram este procedimento a bordo das embarcações, sobre a superfície do convés, utilizando a água do mar sem adição de cloro. Vale ressaltar que, 75% das embarcações eram constituídas de madeira, para Borges et al., (2008) este material é de difícil limpeza, principalmente quando se trata de resíduos de proteínas e gorduras.

Nos portos foi possível observar alguns pescadores realizando a evisceração sobre o convés em precárias condições higiênicas (Figura 4A) e utilizando água de má qualidade na lavagem de peixes, sendo esta usada para várias espécies (Figura 4C). A reutilização da água para lavagem de peixes, de espécies diferentes, pode favorecer a contaminação cruzada, já que os cardumes podem ser capturados em locais com condições microbiológicas distintas. Por meio dos questionários verificaram-se que todas as embarcações traziam a bordo mais de duas espécies de pescado. Tais observações sugerem a execução destes mesmos procedimentos em alto mar, o que poderia ter contribuído para a contaminação do peixe serra.

Um estudo para avaliação das condições higiênico-sanitária da cadeia produtiva do pescado marinho da Baixada Santista - SP, realizado por Silveira et al. (2008), constataram contaminação por Coliformes a 45°C em

41,6% das amostras de peixes, observaram ainda que as operações de lavagem foram eficientes, uma vez que os indicadores de contaminação foram reduzidos após o tratamento.



**Figura 4.** Condições higiênicas insatisfatórias do convés (A); Pesagem de peixe serra sobre base da balança (B); Uso de água de má qualidade na lavagem de peixes (C); Pesagem de peixes em caixas de plástico tipo monobloco (D).

No momento do desembarque foi verificada a presença de muitas pessoas sobre a embarcação para retirada do pescado, normalmente realizada com luvas em péssimas condições higiênicas. Em seguida o produto era colocado em caixas de plásticos, tipo monobloco e levadas à feira do município, próximo ao porto, para pesagem e distribuição aos atravessadores,



ou então encaminhados a ranchos sem estrutura mínima necessária (ausência de piso, iluminação e ventilação adequados). Nas feiras, o peixe serra era pesado sobre caixas tipo monobloco ou na base da própria balança (Figuras 4B e 4D), sendo manipulado sem nenhuma proteção.

O envolvimento das caixas do tipo monobloco, tanto no transporte como na pesagem, pode ter influenciado na contaminação do peixe-serra. Uma vez que Vargas & Quintaes (2003) constataram a presença de microrganismos patogênicos em todas as amostras de caixas do tipo monobloco, utilizadas no transporte e comercialização do pescado no mercado de São Paulo, com 50% delas contaminadas por Coliformes totais e fecais, onde os mesmos concluíram que estas caixas são inadequadas por servirem de veículo para microrganismos deteriorantes e de patógenos importantes, tanto pelo material em si como pela higienização deficiente. Para estes autores o poliuretano do monobloco favorece a aderência de sujidades e de microrganismos.

A manipulação inadequada durante o desembarque pode ter influenciado também, pois para Dias et al., (2010) tais práticas contribuem para baixa qualidade do pescado, devido alguns manipuladores ignorarem ou não saberem as regras indispensáveis de higiene.

Quanto à contagem de bactérias aeróbias mesófilas, observa-se na Tabela 3 que o maior percentual de amostras, 34 (56,67%), apresentou contagens com intervalo de  $3,3 \times 10^2$  a  $8,5 \times 10^3$  UFC/g e seis (10%) amostras apresentaram contagens entre  $2,7 \times 10^4$  a  $1,2 \times 10^5$  UFC/g, no entanto 20 (33,33%) amostras não estavam contaminadas por mesófilos.

A legislação federal atual, não determina padrão para microrganismos mesófilos, porém, os padrões microbiológicos estabelecidos pela CNNPA do Ministério da Saúde para peixes crus, frescos, refrigerados e congelados estabelece que a contagem padrão máxima de microrganismos mesófilos permitidos de  $10^6$  UFC  $g^{-1}$ . Sendo a contagem desses microrganismos comumente empregada para se indicar a qualidade sanitária dos alimentos (BORDIGNON et al. 2010).



**Tabela 3.** Número e percentual de amostras de peixe serra contaminadas por bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, Raposa, 2012.

UFC/g	Mesófilos	
	N	%
Ausência	20	33,33
$3,3 \times 10^2$ a $8,5 \times 10^3$	34	56,67
$2,7 \times 10^4$ a $1,2 \times 10^5$	6	10
<b>TOTAL</b>	60	100%

**UFC/g** = Unidade Formadora de Colônia por grama de peixe serra

A identificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas pode ter ocorrido durante a estocagem do produto, uma vez que após a captura 100% dos pescadores afirmaram armazenar os peixes em urnas, sendo estas higienizadas após o desembarque. No entanto durante as coletas pode-se verificar a higienização de algumas embarcações com água do mar onde era visível a presença de lixo, contrariando as boas práticas para alimentos que determinam o uso de água potável, água sanitária e detergente neutro na limpeza e desinfecção de superfícies. As redes de pesca, assim como os monoblocos não higienizados também podem ter interferido nesta contaminação.

A atividade microbiana é responsável pela deterioração da maioria dos alimentos marinhos. Por esta razão as contagens de bactérias heterotróficas aeróbias, mesófilas e psicrotróficas têm sido utilizadas como um padrão de qualidade em alguns países com intuito de determinar níveis típicos de contaminação e padrão de crescimento de microrganismos deteriorantes em produtos de origem marinha (DALGAARD, 2000), já que estes podem influenciar sobre menor durabilidade dos produtos expostos à venda (VARGAS & QUINTAES, 2003).

A carga bacteriana do pescado tropical, a 0°C, mantém-se na fase de latência por período mais longo e com uma velocidade de multiplicação

menor, acarretando em uma vida útil de cerca de 30 dias. Este fato ocorre provavelmente, devido à baixa concentração de bactérias capazes de crescer as baixas temperaturas e a uma menor velocidade de crescimento das espécies psicotróficas presente nesse pescado. Por este motivo, faz-se necessário a rápida refrigeração do pescado, já que a microbiota mesofílica multiplica-se rapidamente a temperatura ambiente (ICMSF, 1985; VARGAS & QUINTAES, 2003).

No entanto, durante as coletas foi possível observar o transporte de peixe serra na parte traseira de carros abertos, em caixas do tipo monobloco, sem nenhuma refrigeração. Diante desta realidade e conhecendo o longo percurso até o consumidor, esta contagem inicial poderá aumentar ao ponto de alterar as características físico-químicas e sensoriais do produto, com a possibilidade de multiplicação de microrganismos patogênicos.

Apesar da grande manipulação do peixe serra, não foi verificada a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo nas amostras analisadas, portanto, as mesmas estavam dentro do padrão exigido pela legislação brasileira para este microrganismo. Entretanto, constatou-se *Staphylococcus* coagulase negativo em uma (1,67%) amostra, que apresentou contagem de  $3,06 \times 10^6$  UFC/g. Para Silva et al., (2008), baixas contagens de *Staphylococcus* spp são esperadas para este tipo de produto, por não serem considerados bons competidores frente a outras bactérias e, por essa razão, raramente causam intoxicação quando presentes em alimentos crus, nos quais a microbiota normal não tenha sido destruída.

Outras pesquisas realizadas confirmam esta informação. Duarte et al., (2008) ao analisarem 143 amostras de pescado (peixes, crustáceos e cauda de lagosta) provenientes dos Estados da Região Nordeste do Brasil, observaram contagens *Staphylococcus* coagulase positiva  $<1,0 \times 10^2$  UFC/g em amostras de peixe e cauda de lagosta. Farias & Freitas (2008) ao analisarem 133 amostras de pescado beneficiado em 20 indústrias localizadas no estado do Pará, sob inspeção federal, verificaram contagens de *Staphylococcus aureus* em apenas uma (2,0%) amostra de peixe eviscerado

congelado e uma (1,9%) de filé de peixe congelado acima de  $10^3$ UFC/g, porém nenhuma cepa de foi positiva à prova de coagulase.

Resultados divergentes foram verificados por Santos et al. (2008) ao analisarem amostras de piramutaba com pele, eviscerada, sem cabeça, congelada e conservada a  $-18^\circ\text{C}$ , provenientes de dois distribuidores da região Metropolitana de Belo Horizonte, MG, onde constataram contagens de *Staphylococcus aureus* em 75% das amostras, com padrões entre  $10^2$  e  $10^3$  UFC/g .

Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Salmonella* spp., portanto, do ponto de vista sanitário este alimento não representa risco de veicular este patógeno para o ser humano. Qualificando-o como próprio para o consumo e dentro dos padrões da legislação brasileira que determina ausência deste microrganismo em 25g de pescado *in natura*.

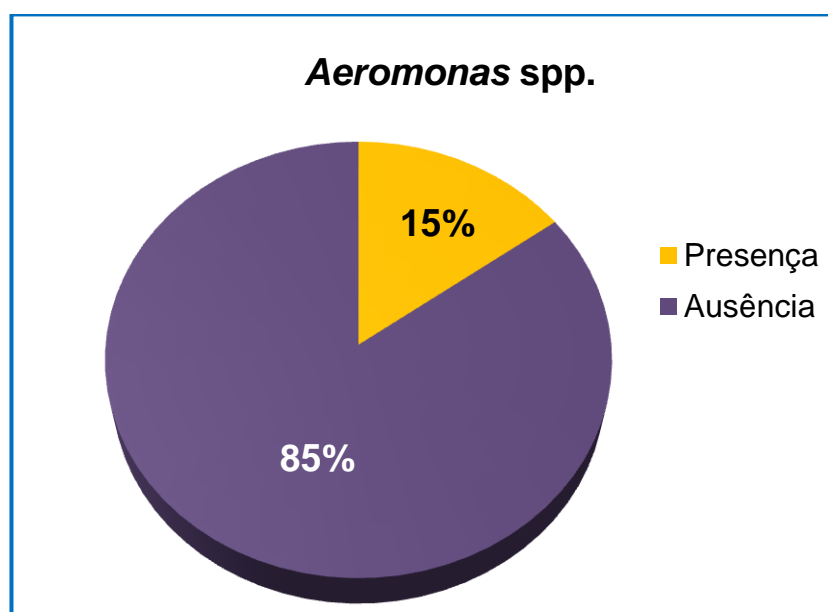
A ausência de *Salmonella* spp. foi também verificada em estudo de Silva et al., (2008) ao analisarem 20 amostras de peixe cru comercializado em cinco feiras de quatro regiões da cidade de São Paulo. Assim como estudo de Farias & Freitas (2008) ao avaliarem 133 amostras de pescado beneficiado em 20 indústrias localizadas no Estado do Pará.

A *Salmonella* spp. possui como principal habitat o trato intestinal de aves, répteis e seres humanos (JAY, 1999). Desta forma, a contaminação do pescado por este patógeno pode ocorrer antes da colheita, durante a captura, transformação, distribuição e/ou armazenamento e pela poluição da água do mar (GHASEMI et al., 2010). O não isolamento desta bactéria nesta pesquisa pode está relacionado às baixas contagens de Coliformes a  $45^\circ\text{C}$  verificadas nas amostras.

Embora esta pesquisa tenha verificado que todas as amostras estavam dentro dos padrões para *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. a possibilidade de contaminação em pescado não pode ser desprezada devido à importância desses microrganismos para a saúde pública. Com atenção especial os *Staphylococcus* coagulase positivo, pois neste grupo existem espécies produtoras de toxinas termoestáveis.

Nesta pesquisa verificou-se contaminação em nove (15%) das amostras por *Aeromonas* spp. (Figura 5), sendo todas confirmadas para a espécie *Aeromonas hydrophila*. O isolamento de bactérias deste gênero já foi verificado em outras pesquisas envolvendo os produtos da pesca. Lanzarin et al., (2011) ao estudarem a ocorrência de *Aeromonas* sp. e estimarem o prazo de validade comercial do filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) fresco, estocado à temperatura entre 0°C a 3°C, contataram crescimento de *Aeromonas* sp. até o 26º dia de estocagem, e sua presença também foi associada a deterioração do pescado, a prevalência de *A. hydrophila* ocorreu em 6,7% das amostras.

Britto et al., (2007) ao verificarem a evolução da deterioração do jaraqui adquirido no mercado de Manaus conservado entre camadas de gelo, isolaram *Aeromonas* sp. e observaram que a mesma apresentou comportamento deteriorador no tempo zero de estocagem.



**Figura 5.** Percentual de amostras de peixe serra contaminadas por *Aeromonas* spp. desembarcadas em Raposa, MA, 2012.

Tais pesquisas confirmam a importância da *Aeromonas* spp. como agente deteriorador, merecendo atenção especial por se tratar de uma bactéria

psicrotrófica que consegue se multiplicar a temperatura ambiente e sob refrigeração (LANZARIN et al., 2011). Desta forma, seu controle pelo uso de baixas temperaturas não é indicado, como ocorre para outros microrganismos de importância nas DTA's.

Por ser um patógeno emergente de importância em saúde pública e associado a casos de toxinfecções alimentares há necessidade de estudos no sentido de instituir limite máximo para este microrganismo em peixe fresco na legislação brasileira.

A contaminação do peixe serra por *A. hydrophila* pode ter ocorrido durante o contato com o gelo, já que nesta pesquisa foi observada contagens de psicrotróficos neste produto. Esta bactéria é comum em ambientes aquáticos, porém as *Aeromonas* spp. são muito sensíveis a condições ácidas e ao sal e é pouco provável que a sua multiplicação constitua um problema em alimentos com um teor em NaCl superior a 3,0% (HUSS, 1997). Tal fato poderia descartar a possibilidade de contaminação pelo local de captura. Outra forma de contaminação seria pelo uso de caixas do tipo monobloco, uma vez que Vargas & Quintaes (2003) isolaram *A. hydrophila* em 6,25% das amostras de caixas do tipo monobloco usadas no armazenamento e transporte do pescado comercializado em mercado da cidade de São Paulo.

Evitar perdas de qualidade do pescado pela contaminação com bactérias patogênicas é muito importante (GHASEMI et al., 2010). Sabe-se que peixe serra passa por processos térmicos antes de ser consumido, no entanto, uma vez contaminado, este pode adentrar cozinhas domésticas e de estabelecimentos comerciais, representando um risco de veicular patógeno por contaminação cruzada.

Quanto à avaliação sensorial verificou-se que 10 (83,33%) dos lotes encontravam-se dentro do padrão de primeira qualidade e dois (16,67%) foram avaliados como de segunda qualidade. A média dos parâmetros sensoriais variou para os lotes de primeira qualidade entre 40,6 a 52,8 e para os de segunda qualidade entre 30,6 a 35,4 (Tabela 4).

As baixas contagens de mesófilos observadas nesta pesquisa podem ter contribuído para o maior percentual de amostras com características

sensoriais de primeira qualidade. Uma vez que bactérias deterioradoras possuem habilidade quantitativa de produzir metabólitos (BRITTO et al., 2007), resultando em alterações de cor, odor, sabor e textura da carne (DIAS et al., 2010).

**Tabela 4.** Valores médios dos parâmetros sensoriais do peixe serra, desembarcado no município de Raposa, MA, 2012.

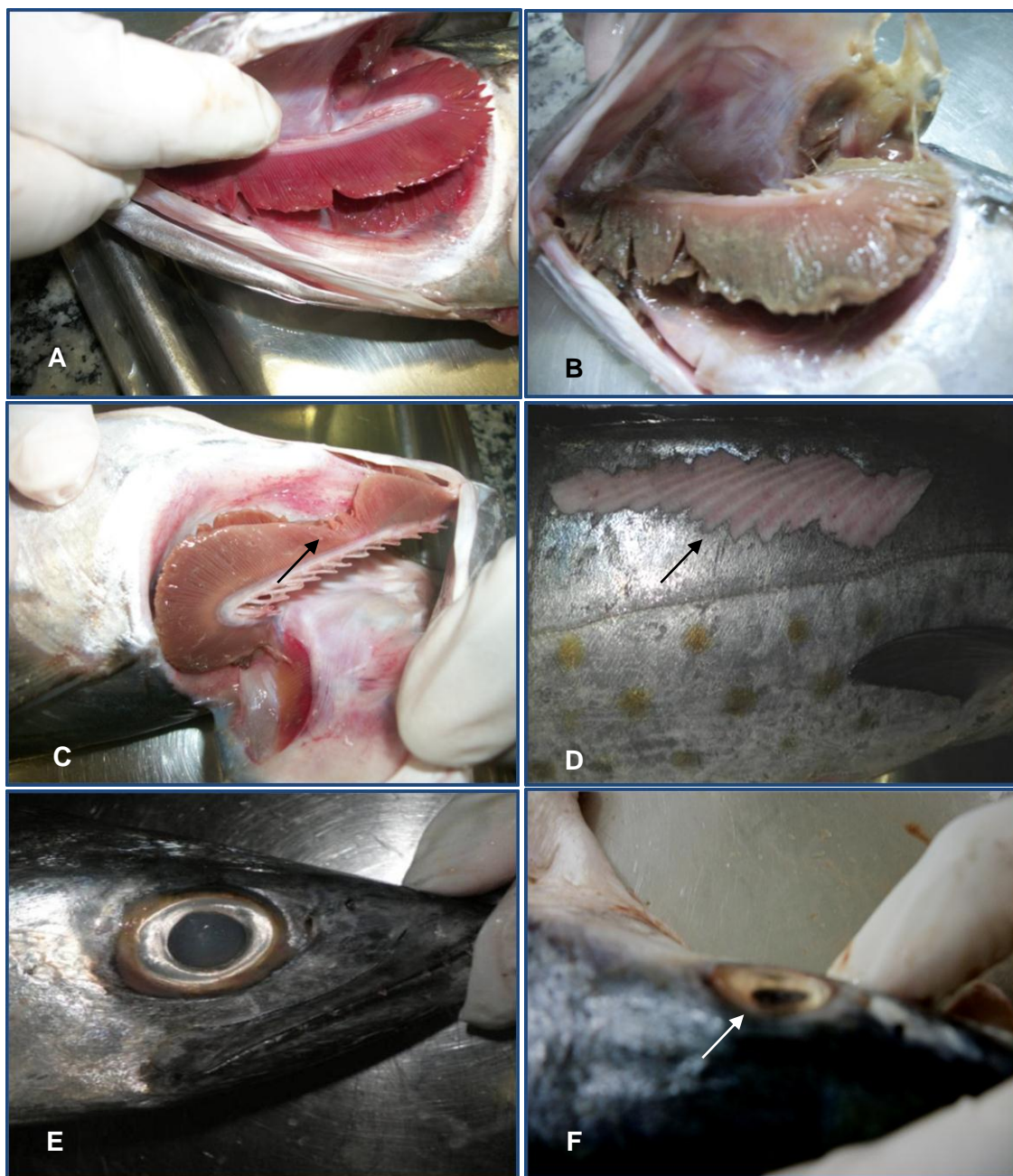
U.A.	LOTE											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	31	28	39	43	44	54	54	53	54	47	50	53
2	24	34	41	45	43	51	49	49	53	54	51	47
3	33	42	41	46	43	49	53	52	53	45	51	51
4	42	35	42	53	44	52	53	50	52	53	52	53
5	23	38	40	51	47	51	52	53	52	54	47	50
<b>M</b>	<b>30,6</b>	<b>35,4</b>	<b>40,6</b>	<b>47,6</b>	<b>44,2</b>	<b>51,4</b>	<b>52,2</b>	<b>51,4</b>	<b>52,8</b>	<b>50,6</b>	<b>50,2</b>	<b>50,8</b>
	(±6,89)	(±4,63)	(±1,02)	(±3,77)	(±1,47)	(±1,62)	(±1,72)	(±0,75)	(±0,75)	(±3,83)	(±1,72)	(±2,23)

**M** = média      **U.A.** = unidade amostral      **±** = Desvio padrão

A forma de armazenamento em urnas isotérmicas sob ação do gelo, também pode ter influenciado sobre a característica desses lotes, uma vez que a ausência do gelo na cadeia de frio do pescado eleva rapidamente o pH e acelera a multiplicação microbiana (BRAMORSKI et al., 2008). Assim como o período entre a captura e desembarque nos portos de origem, que em média foi de 8,18 (±4,42) dias, considerado curto. Almeida et al. (2006a) em estudo com tambaqui conservado em gelo, constaram que este produto apresentou “qualidade especial” (classe A) até 22 dias de conservação em gelo, permanecendo em padrão de “boa qualidade” (classe B) até o 40º dia. Aos 43 dias, atingiu “qualidade de consumo corrente”; e, aos 49 dias em gelo, foram considerados pútridos.

Os parâmetros que mais contribuíram para a redução da qualidade das amostras de peixes serra foram coloração e forma de serrilhar das brânquias (Figura 6C), aspecto do muco branquial (Figura 6B), afundamento de globo ocular (Figura 6F) e lesões de pele (Figura 6D). Almeida et al. (2006b) observaram alterações de guelras e presença de muco viscoso em tambaqui

armazenado em gelo entre 19 e 25 dias. Também Santos et al., (2008) ao analisarem a piramutaba congelada verificaram alterações de pele em 65% e 66,6% das amostras para os distribuidores A e D, respectivamente. Para estes autores estas lesões representam condições inadequadas de captura, processamento e conservação do pescado.



**FIGURA 6.** Brânquia com aspecto de primeira qualidade (A); Brânquia com alteração de cor e aspecto do muco (B); Brânquia com alteração de serrilhamento (C); Lesões de pele (D); Globo ocular com aspecto de primeira qualidade (E); Afundamento de globo ocular (F).

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se constatar que o peixe serra desembarcado apresentava características sensoriais satisfatórias, e, portanto, apto para o consumo neste momento de sua cadeia produtiva.

As análises químicas, revelaram valores de Bases Voláteis Totais (BVT) entre 17,35mg/100g a 25,89mg/100g e teores de Trimetilamina (TMA) com variação de 0,66mg/100g a 2,45mg/100g (Tabela 5). Portanto todas as amostras estavam dentro do padrão para BVT estabelecido pela legislação brasileira que determina para pescado valores <30mg/100 (BRASIL, 1997) e para TMA concentrações <5mg/100g (BRASIL, 1952).

**Tabela 5.** Valores médios de (BVT) e Trimetilamina (TMA) por lote de peixe serra desembarcado no município de Raposa, MA, 2012.

Lote	BVT		TMA	
	MÉDIA (mg/100g)	D.P.	MÉDIA (mg/100g)	D.P.
1	21,64	±1,32	1,31	±0,30
2	20,14	±2,82	1,20	±0,25
3	20,48	±1,49	0,84	±0,31
4	19,62	±1,22	0,66	±0,13
5	17,35	±0,88	1,03	±0,16
6	22,71	±0,75	1,69	±0,16
7	22,37	±2,30	1,30	±0,25
8	22,33	±1,38	1,07	±0,24
9	23,70	±2,35	1,25	±0,24
10	25,89	±3,26	2,29	±0,32
11	20,95	±1,69	1,66	±0,48
12	25,20	±3,03	2,45	±0,24

D.P. = desvio padrão

Outras pesquisas, envolvendo pescado marinho, constataram valores de BVT semelhantes aos desta pesquisa. No México, Pacheco-Aguilar et al., (2003) acompanharam as mudanças químicas e bioquímicas da *Balistes polylepis* fresca armazenada a 0°C por 20 dias e verificaram variação para BVT



de 11,8 a 29,7mgN/100g de músculo, concluindo que a vida útil desta espécie é de 20 dias quando estocada a 0°C. Borges et al., (2007) ao analisarem corvinas recém-capturadas obtidas de colônia de pesca localizada na cidade de Nitério, RJ, contataram que os teores BVT aumentaram de 10,1mgN/100g para 56,7 mgN/100g no período de 28 dias de estocagem a 0°C, tendo alcançado valores >30 mgN/100g a partir do 23º dia, porém se mantiveram aceitáveis até o 21º dia de estocagem. Pereira & Tenuta-Filho (2005) analisaram sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) frescas obtidas em freiras livres da cidade de São Paulo e observaram valores médios para BVT de  $27,06 \pm 2,18$  mg/100g. Evangelista et al. (2000) ao determinarem os conteúdos de óxido de trimetilamina (OTMA) e Trimetilamina (TMA) de diversas espécies de pescado de valor comercial no estado do Ceará, verificaram para o peixe serra valor médio de OTMA de  $51,37 \pm 4,95$  mg/100g e TMA  $0,26 \pm 0,13$  mg/100g.

A análise de BVT possibilita a determinação de compostos básicos nitrogenados voláteis, como a trimetilamina, dimetilamina e amônia, resultantes da ação enzimática autolítica e microbiana sobre proteínas musculares, além de outras substâncias, cujas quantidades variam com o tempo de estocagem, aumentando à medida que a deterioração do pescado avança (MOURA et al., 2003; FURLAN et al., 2007). Desta forma os teores de BVT, assim como os de TMA são bastante empregados para avaliar o índice de frescor do pescado (RUIZ-CAPILLAS & MORAL, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

Nesta pesquisa constatou-se que os resultados das análises sensorial e química foram satisfatórios. Porém devemos considerar que as amostras foram coletadas no início da cadeia produtiva, e que este produto irá percorrer um longo período, podendo sofrer alterações enzimáticas e microbiológicas que poderão aumentar os valores dos parâmetros químicos, levando a um produto com condições insatisfatórias para o consumidor.

Desta forma procedimentos higiênico-sanitários tais como lavagem do pescado com água do mar adicionada de 50ppm de cloro e correta higienização do convés e porões e conservação do pescado a bordo, com gelo de excelente qualidade microbiológica, poderiam contribuir para melhoria da qualidade deste produto.

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com as condições de realização do trabalho foi possível concluir que:

✚ As amostras de gelo apresentaram qualidade microbiológica insatisfatória, portanto, impróprias para a conservação do pescado local;

✚ As amostras de peixe serra apresentaram baixa contaminação para bactérias mesófilas e coliformes;

✚ O peixe serra apresentou-se dentro dos padrões microbiológicos para *Salmonella* sp. e para contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo;

✚ O peixe serra pode representar um risco de veicular *A. hydrophila* ao ser consumido pela população;

✚ O peixe serra apresentou parâmetros sensoriais e de BVT e TMA adequados de diante da legislação brasileira.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

✚ A cadeia produtiva do peixe serra, no município de Raposa, necessita de maior acompanhamento por parte dos órgãos de fiscalização a fim de garantir a qualidade deste produto e assegurar a saúde do consumidor;

✚ É necessário o investimento na capacitação de todos os manipuladores envolvidos na cadeia produtiva do peixe serra, de modo a esclarecer a importância da aplicação das Boas Práticas de Fabricação para este setor;

✚ Necessita-se de um estudo mais aprofundado para determinar o tempo de prateleira do peixe serra, com base em parâmetros sensoriais e químicos;

✚ O estabelecimento de padrões para bactérias *Aeromonas* spp. em pescado, pela legislação brasileira, é necessário, diante da importância desse patógeno emergente para a saúde pública.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, K.A.; MOHAMED, A.; JAMILAH, B.; EBRAHIMIAN, M. A Review on Correlations between Fish Freshness and pH during Cold Storage. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 416-421, 2008.

ABEROUMAND, A. Estimation of Microbiological Variations in Minced Lean Fish Products. **World Journal of Fish and Marine Sciences**. v. 2, n. 3, p. 204-207, 2010.

ALBUQUERQUE, W.F.; MACRAE, A.; SOUSA, O.V.; VIEIRA, G.H.F.; VIEIRA, R.H.S.F. Multiple drug resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from a fish market and from fish handlers. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 131-134, 2007.

ALMEIDA, Z.S.; CASTRO, A.C.; PAZ, A.C.; BARBOSA, N.; RIBEIRO, D.; RAMOS, T. Diagnóstico da pesca artesanal no litoral do Maranhão. **Relatório Técnico**. RECOS-MGP-MA, 2000a. 60 p.

ALMEIDA, I.A.Z.C.; PERESI, J.T.M.; CARVALHO, I.S.; RODRIGUES, E.C.A.; MARQUES, D.F.; TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A. *Salmonella*: sorotipos identificados na região de São José do Rio Preto/SP, no período de 1990 – 1999. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, n. 1/2, p. 33-37, 2000b.

ALMEIDA, Z.S.; FERREIRA, D.S.C.; NAHUM, V.J.I. Classificação e evolução das embarcações maranhenses. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 19, p. 31-40. 2006a.

ALMEIDA, N.M.; BATISTA, G.M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1288-1293, jul./ago., 2006b.

ALMEIDA, Z.S.; SILVA, C.M.L.; CAVALCANTE, A.N.; PAZ, A.C.; SANTOS, N.B.; GONÇALVES, F.S. Contribuição à conservação e manejo do peixe serra *Scomberomorus brasiliensis* (Collette Russo & Zavalla-Camin, 1978) (*Osteichthyes, Scombridae*) no estado do Maranhão, Brasil. **Boletim Técnico Científico CEPENE**, Tamandaré, v. 15, n. 2, p. 87-97, 2007.

ALUR, M.D.; DOKE, S.N.; WARRIER, S.B.; NAIR, P.M. Biochemical methods for determination of spoilage of foods of animal origin. A critical evaluation. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 32, p. 181–188, 1995.

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, maio, 2008.

ALVES, L.M.C.; COSTA, N.F.; SILVA, M.S.; SALES, S.S.; CORREIA, M.R. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* Enteretidis: relato de um surto ocorrido em São Luís-MA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 80/81, p. 57-58, 2001.

ANJO, D.F.C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ARIAS, F.C.H.; BUELGA, J.A.S. Prevalência de *Salmonella* spp. em pescado fresco expendido em Pamblona (Norte de Santander). **Revista de La Facultad de Ciencias Básicas**, Bucaramanga, v. 3, n. 2, julho, 2005.

BARROS, G.C. Perda de qualidade do pescado, deterioração e putrefação. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, n. 30, p. 59-64, set./dez., 2003.

BATISTA, V.S.; FABRÉ, N.N. Temporal and spatial patterns on serra, *Scomberomorus brasiliensis* (TELEOSTEI, SCOMBRIDAE), catches from the fisheries on the Maranhão coast, Brasil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 61, n. 4, p. 541-546, 2000.

BATISTA, G.M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P.T. Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 573-581, out./dez., 2004.

BETTEGA, J.M.P.R.; MACHADO, M.R.; PRESIBELLA, M.; BANISKI, G.; BARBOSA, C.A. Métodos analíticos no controle microbiológico da água de consumo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 950-954, set./out., 2006.

BOIJINK, C.L.; BRANDÃO, D.A. Inoculação bacteriana de *Aeromonas hydrophila* e a sobrevivência de juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 503-507, 2001.

BORBOLLA-SALA, M.E.; VIDAL-PÉREZ, M.R.; PIÑA-GUTIÉRREZ, O.E.; RAMÍREZ-MESSNER, I.; VIDAL-VIDAL, J.J. Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholera*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* em Tabasco durante 2003. **Salud em Tabasco**, v. 10, n. 1/2, jan/abril, maio/ago., 2004.

BORDIGNON, A.C.; SOUZA, B.E.; BOHNENBERGER, L.; HILBIG, C.C.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em 'V' do filé e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 109-116, 2010.

BORGES, A.; TEIXEIRA, M.S.; FREITAS, M.Q.; FRANCO, R.M.; MÁRSICO, E.T.; SÃO CLEMENTE, S.C. Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem a 0°C. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, Santa Maria, jan./feb., 2007.

BORGES, M.F.; NASSU, R.T.; PEREIRA, J.L.; ANDRADE, A.P.C.; KUAYE, A.Y. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1431-1438, agosto, 2008.

BRAMORSKI, A.; VASCONCELOS, K.S.; MEZADRI, T.; TONEZER, A.L.; SANTOS, R.G. Condições de Armazenamento de pescarias do Norte Catarinense. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 166/167, p. 62-65, nov./dez., 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30691 de 29/03/52. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, 1952.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978. **Dispões sobre os padrões de identidade e qualidade os alimentos (e bebida)**, Brasília, 1978.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos Analíticos para oficiais de controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981, cap. 11, p. 5-6.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)**. Brasília, 1997.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Brasília, 2001.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de agosto de 2003. M. **Métodos Microbiológicos para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Brasília, 2003.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Brasília, 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura-Brasil 2010**. Brasília, 2012.

BRITTO, E.N.; LESSI, E.; CARDOSO, A.L.; FALCÃO, P.T.; SANTOS, J.G. Deterioração bacteriológica do jaraqui *Semaprochilodus* spp. capturado no estado do Amazonas e conservado em gelo. **Acta Amazônica**, v. 37, n. 3, p. 457-464, 2007.

BRUM, A.A.S.; OETTERER, M.; D'ARCE, M.A.B.R. Óleo de Pescado como Suplemento Dietético. **Revista de ciência e tecnologia**, v. 10, n. 19, p. 71-78, jan./jun. 2002.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, A.M.I.A. A técnica de membrana filtrante, aplicada ao estudo bacteriológico da água de rede de abastecimento, utilizada pela população de Descalvado, SP. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 82, p. 33-38, março, 2001.

CARDOSO, T.G.; CARVALHO, V.M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Revista instituto Ciência e Saúde**, v. 24, n. 2, p. 95-101, 2006.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 11-13, jan./jun., 2008.

CARNAHAN, A.M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S.W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, p. 2843-2849, 1991.

CARVALHO FILHO, A. **Peixes da Costa brasileira**. São Paulo: Editora Melro, 1999. 320 p.

CARVALHO, M.R.B. Composição e deterioração de pescados. In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA, 2000, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: 2000. p. 176.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1465-1468, nov./dez., 2005.

CARVALHO, F.C.T. - Influências exógenas na qualidade Bacteriológica da água, solo e camarão (*Litopenaeus vannamei*), em quatro fazendas de camarão do estado do Ceará. 2006. 87 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CINTRA, I.H.A.; OGAWA, N.B.P.; SOUSA, M.R.; DINIZ, F.M.; OGAWA, M. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 314-317, set./dez., 1999.

COELHO, M.I.S.; MENDES, E.S.; CRUZ, M.C.S.; BEZERRA, S.S.; SILVA, R.P.P. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais consumidas



na região metropolitana de Recife, Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 1-8, 2010.

COLLETE, B.B.; NAUEN, C.E. **Scombrids of the words. An annotated and illustrated catalog of tunas, mackerels, bonitos and related species know to date**. FAO. FAO SPECIES CATALOG, v. 22, 1983, 137 p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: Editora FUNEP, 1994, 409 p.

CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.A.P.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.P.; COSTA, F.A.A. DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. A situação da Aquicultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 81-85, jul./dez. 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. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, 2002.

DIAS, V.L.N.; FERREIRA, E.F.; CORÉIA, G.A.; SILVA, E.C.R.; OLIVEIRA, I.N.; MOUCHEK FILHO, V.E.; LOPES, J.M.; CARVALHO, N.C.C. Avaliação da qualidade de peixe comercializado em Imperatriz, MA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, n. 186/187, p. 109-112, jul./ago., 2010.

DORTA, V.F.; MURATORI, M.C.S.; ALMEIDA, C.K.S.; CARDOSO FILHO, F.C. Condições higiênico-sanitárias do gelo utilizado para conservação do pescado nos mercados de Teresina, PI. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 196/197, p. 124-128, maio/jun., 2011.

DUARTE, D.A.M.; RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, A.M.M.; SILVA, J.V.D.; ANDRADE, P.L.A.; SANTANA, A.A.P. Ocorrência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva em pescado no nordeste, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 711-713, out./dez., 2010.

DUFFY, G.; CLOAK, O.M.; SULLIVAN, M.G.O.; GUILLET, A.; SHERIDAN, J.J.; BLAIR, I.S.; MCDOWELL, D.A. The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. on Irish retail meat products. **Food Microbiology**, London, v. 16, p. 623-631, 1999.

DYER, W.J. Amines in fish muscle. I. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. **Journal of the fish research board of Canadá**, Canadá, v. 6, p. 351-358, 1945.

ECHEVENGUÁ, M.M.; ECHEVENGUÁ, W.O.; CARBONERA, A.A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; FIGUEIREDO, M.R.C. Qualidade da polpa da

carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2004-2010, out., 2008.

EVANGELISTA, N.P.; OGAWA, N.B.P.; OGAWA, M. Determinação de Óxido de Trimetilamina (OTMA) e Trimetilamina (TMA) em pescado. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 2, n. 2, p. 168-177, 2000.

FALCÃO, J.P.; DIAS, A.M.G.; CORREA, E.F.; FALCÃO, D.P. Microbiological quality of ice used to refrigerate foods. **Food Microbiology**, v. 19, p. 269-276, 2002.

FALCÃO, J.P.; FALCÃO, D.P.; GOMES, T.A.T. Ice as a vehicle for diarrheagenic *Escherichia coli*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 91, p. 99-103, 2004.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. **The state of world fisheries and aquaculture 2010**, Rome, 2010, 218 p.

FARIAS, M.C.A.; FREITAS, J.A. Qualidade microbiológica de pescado beneficiado em indústrias paraenses. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 113-117, 2008.

FIGUERAS, M.J.; GUARRO, J.; MARTÍNEZ-MURCIA, A.. Clinically Relevant *Aeromonas* Species. **Clinical Infectious Diseases**. v. 30, p. 988-989, 2000.

FIGUERAS, M.J.; SUAREZ-FRANQUET, A.; CHACON, M.R.; SOLER, L.; NAVARRO, M.; ALEJANDRE, C.; GRASA, B.; MARTINEZMURCIA, A.J.; GUARRO, J. First record of the rare species *Aeromonas culicicola* from a drinking water supply. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 1, p. 538-541, 2005.

FONTELES-FILHO, A.A. **Recursos pesqueiros: Biologia e dinâmica populacional**. Fortaleza: Imprensa Oficial do Ceará, Fortaleza, 296 p, 1989.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Conservação de alimentos pelo emprego da radiação ionizante**. São Paulo: Ateneu, 1996. 136 p.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

FREIRE, J.L.; SILVA, B.B.; SOUZA, A.S. Aspectos Econômicos e Higiênico-Sanitários da Comercialização do Pescado no Município de Bragança (PA). **Biota Amazônia**, Macapá, v. 1, n. 2, p. 17-28, 2011.

FURLAN, E.F.; GALVÃO, J.A.; SALÁN, E.O.; YOKOYAMA, V.A.; OETTERER, M. Estabilidade físico-química e mercado do mexilhão (*Perna perna*) cultivado

em Ubatuba-SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 516-523, jul./set., 2007.

FURLAN, E.F. Valoração da qualidade do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcado no litoral de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instinto de Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 317-326, 2011.

GALLARDO, J.M.; PEREZ-MARTINS, R.I.; SOTELO, G.G.; AUBOURG, S.; BRANGA, J.R. Nota. Evolución de amina volatiles em dos tipos de merluza (*Merluccius australis* y *Merluccius capensis*) y en rosada (*Xiphirus capensis*) durante el almacenamiento a 18°C. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 103-110, 1990.

GERMANO, P. M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária dos alimentos**. 2ª Edição. São Paulo: Varela; 2003. 263 p.

GIAMPIETRO, A.; REZENDE-LAGO, N.C.M. Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 505-508, jul./set., 2009.

GHASEMI, M.S.A.; AZADNIA, P.; RAHNAMA, M.H. Bacterial Counts in Two Species (*Scomberomerus juttatus* and *Otolithes ruber*) of Fresh south-Harvested Fish, While Loading in Kazeroon. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 4, p. 671-673, 2010.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbial spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 121–138, 1996.

HASTEIN, T.; HJELTNES, B.; LILLEHAUG, A.; SKARE, J.U.; BERNTSSEN, J.U.M.; LUNDEBYE, A.K. Food safety hazards that occur during the production stage: challenges for fish farming and the fishing industry. **Revue scientifique et techque (International Office of Epizootics)**, v. 25, n. 2, p. 607-625, 2006.

HAVELAAR, A.H.; VONK, M. The preparation of ampicillin dextrin agar for the enumeration of *Aeromonas* in water. **Letters in Applied Microbiology**, v. 7, p. 169-171, 1988.

HOFFER, E.; ZAMORA, N.R.M.; LOPES, A.E.; MOURA, A.M.C. A Sorovares de *Salmonella* em carne de equídeos abatidos no nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 80-84, abr./jun., 2000.

HOFER, E.; REIS, C.M.F.; THEOPHILO, G.N.D.; CAVALCANTI, V.O.; LIMA, N.V.; HENRIQUES, M.F.C.M. Envolvimento de *Aeromonas* em surto de doença diarréica aguda em São Bento do Una, Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 2, p. 217-220, mar/abr, 2006.

HUSS, H. H. **Fresh fish quality and quality changes**. FAO. Fishseries series, n. 29, Rome, 1995.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis **Monitoramento da atividade pesqueira no litoral nordestino–Projeto Estatpesca**. Tamandaré, 2008. 385 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Dados do censo 2010**, Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=ma>> Acesso em 13/06/2012.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Ecologia Microbiana de los Alimentos 2**, Espanha: Zaragoza, 1985.

\_\_\_\_\_. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in food. I - Their significance and methods of enumeration**. 2ª Edição, Toronto: University Press, 1988. 436 p.

JANDA, J.M. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, n. 4, p. 397-410, 1991.

JANDA, J.M., GUTHERTZ, L.S.; KOKKA, R.P.; SHIMADA, T. *Aeromonas* species in septicemia: laboratory characteristics and clinical observations. **Clinical Infectious Diseases**, v. 19, p. 77–83, 1994.

JANDA, J.M.; ABBOTT, S.L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, p. 332-344, 1998.

JANDA, J.M.; ABBOTT, S.L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection, **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 1, p. 35-73, janeiro, 2010.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. 6. ed. Gaithersburg: Aspen, 1999. 679 p.

KNOCHEL, S.; JEPPESEN, C. Distribution and characteristics of *Aeromonas* in food and drinking water in Denmark. **International Journal of Food Microbiology**, v. 10, p. 317-322, 1990.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W.C. Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KOZINSKA, A.; FIGUERAS, M.J.; CHACON, M.R.; SOLER, L. Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio*). **Journal of Applied Microbiology**. v. 93, p. 1034–1041. 2002.

LAMAITA, H.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S.; SANTOS, D.A.; PENNA, C.F.A.M.; SOUZA, M.R. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 5, p. 702-709, 2005.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E.S.; RITTE, D.O.; MELLO, C.A.; CORRÊA, G.S.S.; IGNÁCIO, C.M.S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotóxicos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1541-1546, 2011.

LATEEF, A.; OLOKE, J.K.; KANA, E.B.G.; PACHECO, E. The microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Ogbomoso Metropolis, Southwest, Nigeria. **Internet Journal of Food Safety**, v. 8, p. 39-43, 2006.

LEE, K. T.; YOON, C.S. Quality changes and shelf life of imported vacuum-packaged beef chuck during storage at 0°C. **Meat Science**, Barking, v. 59, p. 71-77, 2001.

LIMA, P.R.S.; LESSA, R.P.T.; CASTRO, A.C.L.; AZEVEDO, J.W.J. Tamanho e idade de primeira maturação do serra, *Scomberomorus brasiliensis* (Osteichthyes; Scombridae - Collette Russo & Zavalla-Camin, 1978) no litoral ocidental do Maranhão – Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, p. 39-44, 2009.

LIMA JÚNIOR, D.M.; MONTEIRO, P.B.S.; RANGEL, A.H.N.; OLIVEIRA, S.E.O.; MACIEL, M.V. Alimentos funcionais de origem animal. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 1, p. 10 -20, jan./mar., 2011.

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. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 617-624, out./dez., 2010.

LOUREIRO, E.C.B.; MARQUES, N.D.B.; RAMOS, F.L.P.; REIS, E.M.F.; RODRIGUES, D.P.; HOFER, E. Sorovares de *Salmonella* de origem humana identificados no Estado do Pará, Brasil, no período de 1991 a 2008. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, p. 93-100, 2010.

MACHADO, T.M.; FURLAN, E.F.; NEIVA, C.R.P.; CASARINI, L.M.; ALEXANDRINO DE PÉREZ, A.C.; LEMES NETO, M.J.; TOMITA, R.Y. Fatores que afetam a qualidade do pescado na pesca artesanal de municípios na costa sul do estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 213-223, 2010.

MAJEED, K.N.; EGAN, A.F.; MacRAE, I.C. Production of exotoxins by *Aeromonas* spp. at 5°C. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 69, n. 3, p. 332-337, 1990.

MALAVOTA, L.C.M.; COSTA, J.C.B.; JARDIM, M.F.; OLIVEIRA, L.A.T.; FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, V.M. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* spp. em “sashimis” comercializados em restaurantes no município do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 16, n. 2, p. 89-94, maio./ago., 2009.

MANSKE, C.; MALUF, M.L.F.; SOUZA, B.E.; SIGNOR, A.A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. Composição centesimal, microbiológica e sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido ao processo de defumação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 181-190, jan./mar. 2011.

MENDOZA, M.T.C.; SALVA, P.R.; GONZALES, C.S.; GALDÓS, M.E.A. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla – Perú. **Revista Cubana de Salud Pública**, v. 29, n. 2, p.121-23, 2003.

MENEZES, M.E.S.; LIRA, G.M.; OMENA, C.M.B.; FREITAS, J.D.; SANT’ANA, A.E.G. Composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos dos peixes tainha (*Mugil cephalus*) e camurim (*Centropomus undecimalis*) da Lagoa Mundaú, AL/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 89-95, 2008.

MOURA, A.F.P.; MAYER, M.D.B.; LANDGRAF, M.; TENUTA FILHO, A. Qualidade química e microbiológica de camarão-rosa comercializado em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 2, abr./jun., 2003.

MURATORI, M.C.S.; COUTO FILHO, C.C.C.; ARARIPE, M.N.B.A.; LOPES, J.B.; COSTAL, A.P.R. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em manipuladores de pisciculturas. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 9, n. 2, 2007.

MURATORI, M.C.S. Consórcio suíno peixe: riscos ambiental e sanitário. Proposta alternativa para descontaminação. 2000. 71f. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

NÓBREGA, M.F.; LESSA, R.P. Age and growth of Spanish mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*) off the northeastern coast of Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 4, p. 667-676, 2009.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D.A. A importância dos ácidos graxos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**. Guarapuava, v. 2, n. 1, p. 77-87, jan./jun., 2008.

NOVOTNY, L.; DVORSKA, L.; LORENCOVA, A.; BERAN, V.; PAVLIK, I. Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. **Veterinary Medicine**. Czech, v. 9, p. 343–358, 2004.

OLAFSDOTTIR, G.; NESVADBA, P.; DI NATALE, C.; CARECHE, M.; OEHLENSCHLAGER, J.; TRYGGVADOTTIR, S.V.; SCHUBRING, R.; KROEGER, M.; HEIA, K.; ESAIASSEN, M.; MACAGNANO, A.; JORGENSEN, B.M. Multisensor for fish quality determination. **Trends in Food Science & Technology**. v. 15, p. 86–93, 2004.

OLIVEIRA, M.N.; BRASIL, A.L.D.; TADDEI, J.A.A.C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 1051-1060, maio/jun., 2008.

OLIVEIRA, W.F.S.; GASPARGAS, A.; REIS, S.R.C.; SILVA, A.T. Avaliação das condições de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e identificação dos pontos críticos em linha de processo de filé de peixe congelado. **Revista Gestão da Produção, Operações e Sistemas**. Ano 4, n. 2, p. 49-62, abr./jun./2009.

PALUMBO, S. A.; MAXINO, F.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; THAYER, D. W. Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 1027-1030, 1985.

PEREIRA, M.L.; CARMO, L.S.; PEREIRA, J.L. Comportamento de Estafilococos coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas, em alimentos experimentalmente inoculados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 171-175, maio/ago., 2001.

PEREIRA, C.S.; POSSAS, C.A.; VIANA, C.M.; RODRIGUES, D.P. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozidos no Rio de Janeiro, RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 562-566, out./dez. 2004.

PEREIRA, A.G.F. Avaliação de condições de consume da sardinha fresco descongelada e processada através de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico e do nitrogênio de bases voláteis totais. São Paulo, 2004. 61f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

PEREIRA, A.A.F.; TENUTA-FILHO, A. Avaliação de condições de consumo da sardinha (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n.4, p. 720-725, out./dez., 2005.

PEREIRA, A.C.S. Qualidade do gelo utilizado na conservação dos pescados e sua importância para a qualidade do pescado. 2009. 40f. **Monografia** (Especialização *Latu sensu* em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, São Paulo, 2009.

PINTO, P.S.A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 73, p. 39-43, junho, 2000.

PINU, F.R.; YEASMIN, S.; BARI, M.L.; RAHMAN, M.M. Microbiological Conditions of Frozen Shrimp in Different Food Market of Dhaka City. **Food Science and Technology Research**, v. 13, n. 4, p. 362-365, 2007.

POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluver and Van Niel. **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1984, p. 545-548.

POPOFF, M.; BOCKEMUEHL, J.; BRENNER, F.W.; GHEESILING, L.L. Supplement 2000 to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, Paris, v. 152, n. 44, p. 907-909, 2001.

RAMOS FILHO, M.M.; RAMOS, M.I.L.; HIANE, P.A.; SOUZA, E.M.T. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 361-365, abr./jun., 2008.

RODRIGUES, E.; FONSECA, A.B.; FERNANDES, M.L.; CASTAGNA, A.A.; FEIJÓ, M.B.; SANTOS, M.A.V. Diversidade na ocorrência de *Aeromonas* spp. em tilápia cultivadas em três diferentes pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, n. 186/187, p. 116-120, jul./ago., 2010.

ROMPRE, A.; SERVAIS, P.; BAUDART, J.; DE-ROUBIN, M.; LAURENT, P. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. **Journal of Microbiological Methods**, v. 49, p. 31-54, 2002.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. **Food Research International**, v. 34, n. 5, p. 441-447, 2001.

SAAD, S.I.; IARIA, S.T.; FURLANETTO, S.M.P. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 26, n. 1, p. 22-27, 1995.

SACHAN, N.; AGARWAL, R.K.; SINGH, V.P. Study on Outer Membrane Protein (OMP) Profile of *Aeromonas* Strains using SDS-PAGE. **Veterinary World**, v. 5, n. 3, p. 173-177, 2012.

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M.B.O.C. Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 545-554, jul./set., 2010.



SANTOS, D.M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; AMARAL, L.A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 39-42, jan./mar., 2000.

SANTOS, T.M.; MARTINS, R.T.; SANTOS, W.L.M.; MARTINS, N.E. Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físico-química da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*) congelada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 6, p. 1538-1545, 2008.

SCHERER, R.; DANIEL, A.P.; AUGUSTI, P.R.; LAZZARI, R.; LIMA, R.L.; FRIES, L.L.M.; RADUNZ NETO, J.; EMANUELLI, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 680-684, out./dez., 2004.

SENDEROVICH, Y.; KEN-DROR, S.; VAINBLAT, I.; BLAU, D.; IZHAKI, I.; HALPERN, M. A Molecular Study on the Prevalence and Virulence Potential of *Aeromonas* spp. Recovered from Patients Suffering from Diarrhea in Israel. **Plos one**, v. 7, n. 2, p. 1-6, fev., 2012.

SEIXAS, F. R. F.; SEIXAS, J.R.F.; REIS, J.A.; HOFFMANN, F.L. Check-list para diagnóstico inicial das boas práticas de fabricação (BPF) em estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de São José do Rio Preto (SP). **Revista Analytica**, São Paulo, n. 33, p. 36-41, fev./mar., 2008.

SHINOHARA, N.K.S.; BARROS, V.B.; JIMENEZ, S.M.C.; MACHADO, E.C.L.; DUTRA, R.A.F.; LIMA FILHO, J.L. *Salmonella* spp. importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA JR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário de alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela; 2002. 350 p.

SILVA, G.C.; CASTRO, A.C.L.; GUBIANI, E.A. Estrutura populacional e indicadores reprodutivos de *Scomberomorus brasiliensis* Collette, Russo e Zavala Camin, 1978 (Perciformes: Scombridae) no litoral ocidental maranhense. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringa, v. 27, n. 4, p. 383-389, out./dez., 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; ROSANA, F.S.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. 3ªEd. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

SILVA, M.L. MATTÉ, G.R.; MATTÉ, M.H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 208-214, 2008.

SILVA, S.R.; FERNANDES, E.C.S. Aproveitamento da corvina (*Argyrosomus regius*) para elaboração do fishburger. **Caderno de Pesquisa**, São Luís, v. 17, n. 3, set/dez., 2010.

SILVEIRA, N.F.A.; NEIVA, C.R.P.; LEMOS NETO, M.J.; PEREZ, A.C.A.; MONTOVANI, D.M.B.; CASTRO, M.F.P.M.; OKAZAKI, M.M. Caracterização higiênico-sanitária da cadeia produtiva do pescado marinho da Baixada Santista, SP I – Avaliações microbiológicas. **Revista Higiene Alimentar**, Edição Temática, v. 25, n. 2, p. 69-171, 2008.

SINHA, S.; SHIMADA, T.; RAMAMURTHY, T.; BHATTACHARYA, S.K.; YAMASAKI, S.; TAKEDA, Y.; NAIR, G.B. Prevalence, serotype distribution, antibiotic susceptibility and genetic profiles of mesophilic *Aeromonas* species isolated from hospitalized diarrhoeal cases in Kolkata, India. **Journal of Medical Microbiology**, v. 53, p. 527–534, 2004.

SIQUEIRA, I.B.; SOUSA, P.M.O.; VIEIRA, B.R.; OKURA, M.H. Análise de água dos bebedouros da Universidade da cidade de Uberaba, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 194/195, mar./abr., p. 98-102, 2011.

SOARES, E.G.; CASTRO, A.C.L.; SILVA JÚNIOR, M.G. Características, operacionalidade e produção da frota serreira no município da Raposa – MA. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 19, p. 13-22, 2006.

SOLER, L.; YÁÑEZ, M.A.; CHACON, M.R.; AGUILERA-ARREOLA, M.G.; CATALAN, V.; FIGUERAS, M.J.; MARTINEZ-MURCIA, A.J. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, p. 1511–1519, 2004.

SOUSA, C.P. *Escherichia coli* as a specialized bacterial pathogen. **Revista de biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, 2006.

SOUZA, J.; RODRIGUES, L.G.G.; GONZALEZ, P.N.M.; TORTATO, R.; CARBONEA, N.; ESPÍRITO SANTO, M.L.P. Atividade antimicrobiana do *Lactobacillus sakei* na fermentação do bonito-de-barriga-listrada (*Euthynnus pelamis*). **Vetor**, Rio Grande, v. 16, n.1/2, p. 25-36, 2006.

SOUZA, V. A. Surtos de doenças transmitidas por alimentos envolvendo manipuladores de alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, n. 182, março, p. 40-46, 2010.

STRIDE, R.K. **Diagnóstico da pesca artesanal marinha do Estado do Maranhão**. São Luís: CORSUP/EDUFMA, 1992, 205 p.

TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A.; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques

de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, jul./set., 2008.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.P.; KANASHIRO, A.M.I.; STOPPA, G.F.Z.; LUCIANO; R.L.; CASTRO, A.G.M. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, dez., 2008.

TIMM, M.; JORGENSEN, B.M. Simultaneous determination of ammonia, dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine-oxide in fish extracts by capillary electrophoresis with indirect UV-detection. **Food Chimistre**, Denmark, v. 76, n. 4, p. 509-518, 2002.

TOMASI, M.; FERNANDES, A.M.R.; PESSATTI, M.L.; DAZZI, R.L.S. Sistema para Gerenciamento da Produção e Avaliação da Qualidade de Pescados. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 9, n. 2, jul./dez., 2007.

YOKOYAMA, V.A. Qualidade do camarão da espécie *Xyphopenaeus kroyeri* mediante a ação dos agentes antimelanóticos. Piracicaba, 2007. 124f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium for the microbiological examination of foods**. 3ª Edição. Washington: American Public Health Association, 1992, 1219 p.

VARGAS, D.S.T.; QUINTAES, K.D. Potencial Perigo Microbiológico resultantes do uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescado em São Paulo. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 517-522, set./dez., 2003.

VENUGOPAL, V. Biosensors in fish production and quality control. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 17, p. 147-157, 2001.

VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004.

VILA, J.; RUIZ, J.; GALLARDO, F.; VARGAS, M.; SOLER, L.; FIGUERAS, M.J.; GASCON, J. *Aeromonas* spp. and Traveler's Diarrhea: Clinical Features and Antimicrobial Resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 5, p. 552-555, Maio, 2003.

VILA, J.; ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, M.J.; BUESA, J.; CASTILLO, J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. **Enferm Infecc Microbiol Clin**. v. 27, n. 7, p. 406-411, 2009.

VILA NOVA, C.M.V.M.; GODOY, H.T.; ALDRIGUE, M.L. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia e pargo (*Oreochromis niloticus*) (*Lutjanus purpureus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 430-436, jul./set., 2005.

VILCHES, S.; JIMENEZ, N.; TOMÁS, J.M.; MERINO, S. *Aeromonas hydrophila* AH-3 Type III Secretion System Expression and Regulatory Network. **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 19. p. 6382–6392, outubro, 2009.

WHO. **World Health Organization. Segurança Básica dos Alimentos para Profissionais da Saúde**. 1. ed. São Paulo, Roca, 2002.

WONG, A.C.L.; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning. In: CLIVER, DO; RIEMANN, H.P. **Foodborne Diseases**. 2.ed. Amsterdam: Academic Press, 2002. p. 231-248.

ZAVALA-CAMIN, L.A. Caracterização das espécies brasileiras da família Scombridae (Osteichthyes - Perciformes). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 73-93, 1983.

## **APÊNDICE A**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO**

- 1) Número da amostra:\_\_\_\_\_ Nome do Pescador:\_\_\_\_\_
- 2) Município de coleta: \_\_\_\_\_
- 3) Tipo de embarcação:\_\_\_\_\_
- 4) Produção diária\_\_\_\_\_
- 5) Material que compõe as urnas:\_\_\_\_\_
- 6) Espécies capturadas:\_\_\_\_\_
- 7) Duração da pescaria: ( ) <1 dia\_\_\_\_\_ ( ) 1 dia ( ) > 1 dia \_\_\_\_\_
- 8) Refrigeração do pescado: ( ) urnas ( ) caixas de isopor
- 9) Capacidade das urnas: \_\_\_\_\_
- 10) Fornecedor de gelo:\_\_\_\_\_
- 11) Tipo de gelo:\_\_\_\_\_
- 12) Eviscera o pescado a bordo: ( ) sim ( ) não
- 13) Lava após evisceração: ( ) sim ( ) não
- 14) Origem da água: \_\_\_\_\_
- 15) Adiciona cloro: ( ) sim ( ) não
- 16) Superfície utilizada para evisceração: ( ) tábua de madeira ( ) tábua de polietileno
- 17) Forma de armazenamento do peixe:\_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- 18) Frequência da limpeza do piso:\_\_\_\_\_
- 19) Urnas ou caixas são higienizadas: ( ) sim ( ) não Frequência:\_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- 20) Destino do produto: ( ) comércio local ( ) atravessadores\_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_

## **ANEXO**