



**UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*)  
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA**

**SÃO LUÍS**

**2017**

**HORTÊNCIA REGINA MARAMALDO NUNES**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*)  
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, como requisito para obtenção do grau de Médica Veterinária

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francisca Neide Costa

**SÃO LUÍS**

**2017**

Nunes, Hortência Regina Maramaldo.

Avaliação microbiológica da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada na cidade de São Luís - MA / Hortência Regina Maramaldo Nunes. – São Luís, 2017.

51 f.

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Profa. Dra. Francisca Neide Costa.

1. Pescada amarela. 2. *Cynoscion acoupa*. 3. *Escherichia coli*. 4. *Salmonella sp.* 5. *Staphylococcus sp.* I. Título.

CDU 639.2:579.62(812.1)

HORTÊNCIA REGINA MARAMALDO NUNES

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*)  
COMERCIALIZADA NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA

Monografia de Graduação defendida e aprovada em: 26/06/17 pela  
banca examinadora composta pelos seguintes membros:

**BANCA EXAMINADORA**



---

**Profª. Drª. Isabel Azevedo Carvalho - UEMA**  
Médica Veterinária  
1º examinador



---

**Profª. Drª. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra – UEMA**  
Médica Veterinária  
2º examinador



---

**Profª. Drª. Francisca Neide Costa - UEMA**  
Médica Veterinária  
Orientadora

Dedico essa conquista a Deus e aos meus  
pais, Marinalva Silva Maramaldo e  
Reginaldo Silveira Nunes, pois sem a ajuda,  
força, amor e incentivo de vocês eu não  
teria chegado até aqui.

Essa conquista é nossa !!!

## AGRADECIMENTOS

“Por isso não temas, pois estou com você; não tenhas medo, pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa”. **Isaías 41:10.**

E são com essas palavras que início meus agradecimentos, pois Deus foi minha fortaleza, me ajudou nos momentos de dificuldade e sei que sem ele eu não chegaria até aqui. Obrigada Deus, por tudo, sem você nada seria possível.

Quero agradecer imensamente aos meus pais, Marinalva e Reginaldo, anjos maravilhosos que me ensinaram a ser o ser humano que sou e sempre me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos. Obrigada por todo amor, paciência, carinho, suporte, respeito, orgulho, palavras e também por nunca medirem esforços para me proporcionarem sempre as melhores coisas desse mundo, sei que em muitos momentos vocês abdicaram dos seus sonhos e suas vontades para realizarem os meus, espero que algum dia eu possa retribuir tudo em dobro, vocês não imaginam o tamanho da minha gratidão e do meu amor por vocês dois. Obrigada é o mínimo que posso dizer a vocês.

Agradeço a Ricardo, meu namorado, que mesmo diante do meu estresse, meus desesperos, minhas angustias, estava sempre do meu lado, ajudando sempre quando preciso fosse. Obrigada por tudo, espero ainda poder compartilhar muitas vitórias ao teu lado.

A minha irmã Laina que sempre me apoiou e sempre sentiu orgulho de mim. Você foi como um presente que Deus me deu e mesmo distante eu sinto você todos os dias ao meu lado. Obrigada por me dar um dos maiores presentes da minha vida, o meu Davi.

A Suzi, minha cadelinha, que sempre estava do meu lado quando eu precisei, enxugou por várias vezes as minhas lágrimas, dá pulos de alegrias quando eu chego da UEMA e se fez presente durante esses 5 anos de graduação. Te amo minha filhota e se preciso for eu darei a minha vida para te ver sempre bem, minha escolha por esse curso é dedicada a você.

Quero agradecer também a minha avó, meus tios e tias, primos e primas por todo o apoio durante todos esses anos. Obrigada pelo incentivo, torcida, orgulho e

carinho que vocês sempre me deram, obrigada por fazerem sempre a diferença em minha vida.

Aos meus amigos de UEMA que fizeram com que os dias fossem menos chatos e maçantes: Thayze, Adriana e Talyta, quero que vocês permaneçam sempre na minha vida, que a distância do pós-graduação de grau e formatura, não abale nada de bom que construímos juntas, aprendi com vocês que as diferenças são superadas durante a convivência. Amo vocês minhas meninas. Quero agradecer em especial a dois homens que foram irmãos e sempre estiveram do meu lado, João José e José Willyam. Eu não tenho palavras para descrever a minha admiração por vocês, tenho certeza que se não fossem as palavras, a atenção e a confiança de vocês, eu não teria conseguido vencer e superar muita coisa durante esses 5 anos. Obrigada, meus meninos, por tudo, vocês são irmãos que a Universidade me deu. Agradeço também a Elayne, Bruna, Rayane, Tássia e Priscila Abreu, que foram presença marcante durante vários dias da minha vida. Obrigada meninas.

Ao meu amigo, Seu Vivico (*in memoriam*), por todo carinho e atenção. Deus sabe bem o quanto eu sinto sua falta, queria muito que você estivesse aqui agora, pois sei que estaria em uma dessas primeiras cadeiras aplaudindo mais essa vitória minha. Obrigada pelo exemplo de ser humano que o senhor foi e sempre será e sei que aí de cima o senhor está me mandando as melhores vibrações possíveis.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Neide, por ter me dado a oportunidade de ser sua bolsista de iniciação científica e, subsequente a isso, sua orientada de monografia. Obrigada por toda atenção, paciência e por ter me dado oportunidade de ingressar numa área apaixonante, a da microbiologia. À Prof<sup>a</sup> Isabel, que sempre me ajudou quando precisei, obrigada por sua atenção sempre, por todas as palavras e por ser essa profissional exemplar que és, saiba que tens em mim uma eterna admiradora. Ao meu anjo, conhecida como Prof<sup>a</sup> Nancy, por ter aceitado ser da minha banca, por ter me ajudado sempre que eu precisei e por todo carinho. Saiba que és um exemplo na minha vida, tanto pessoal quanto profissional.

A toda a equipe do Laboratório de Microbiologia de Alimentos Águas e da UEMA, Dona Ruth, Thaliane, Luciana, Karol e Mayane e aos membros e colegas de pesquisa do Grupo de Estudos em Medicina Veterinária Preventiva (GEMVESP) Lygia, Priscila, Caroline, Prof<sup>a</sup> Isabel, Leticia e Karina, e em especial à Fabiana,

obrigada por todas as tardes de risos, obrigada pela ajuda, pela atenção, sem você Fabix essa pesquisa não teria sido concluída.

Enfim, quero agradecer a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para minha vitória e a trilhar meus caminhos até aqui, peço desculpas a todos pelas falhas e espero sempre contribuir na vida de vocês assim como vocês contribuíram e contribuem na minha vida.

Depois de ter vencido obstáculos imensos que apareceram na minha vida durante esses 5 anos, depois de várias decepções, ensinamentos, lágrimas e sorrisos, posso dizer que venci e que Deus sempre esteve ao meu lado. Me disseram uma vez que tudo isso acontece para testar a nossa fé, graças a Deus a minha fé é inabalável e quantas vezes for necessário acontecer esses testes, eu estarei aqui com uma fé bem maior do que a que eu já tinha. A vida é feita de ciclos, hoje eu fecho um dos mais importantes da minha vida e levo como aprendizado uma força que nem eu mesma sabia que tinha.

“Os sonhos antecipam as realizações  
assim como as flores antecipam os  
frutos”.

## RESUMO

A procura por hábitos alimentares cada vez mais saudáveis fez com que o consumo de pescado aumentasse consideravelmente em todo o mundo. O pescado pode oferecer ao consumidor quantidades adequadas de nutrientes essenciais, porém se a qualidade deste alimento não for garantida durante toda a sua cadeia de produção, ele pode causar problemas sérios à saúde do consumidor, principalmente os ligados a DTA's (Doenças Transmitidas por Alimentos), já que este alimento é considerado perecível e de fácil deterioração e possibilita a rápida multiplicação de micro-organismos patogênicos. Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada na cidade de São Luís, procurando-se quantificar coliformes a 35°C e 45°C, pesquisar *Escherichia coli*, realizar contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisar sorovares de *Salmonella* sp., foram coletadas 30 amostras de postas de peixe, nas principais feiras e supermercados de São Luís e submetidas a análises microbiológicas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão, segundo a Instrução Normativa nº 62 de 2003 do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). Das 30 amostras analisadas, nenhuma apresentou positividade para *Salmonella* sp. ou *Staphylococcus* coagulase positiva, 20 amostras (66,6%) apresentaram resultado positivo pra *Staphylococcus* sp., em 29 amostras (96,6%) foram encontrados coliformes a 35°C, 23 amostras (76,6%) foram positivas para coliformes a 45°C e três amostras foram positivas para *Escherichia coli*. Diante dos resultados obtidos, pode-se observar que as condições higiênico-sanitárias das amostras analisadas são inadequadas.

**Palavras-chave:** Pescada amarela, *Cynoscion acoupa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp.

## ABSTRACT

The demand for healthy eating habits has led to a significant increase in fish consumption throughout the world. Fish can offer the consumer adequate amounts of essential nutrients, but if the quality of this food is not guaranteed throughout its production chain, it can cause serious problems for health of the consumer, especially those related to FBD (Foodborne Diseases) since this food is considered perishable and easy to deteriorating and pathogenic microorganisms. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of yellow hake (*Cynoscion acoupa*) commercialized in São Luís city, aiming to quantify coliforms at 35°C and 45°C, to investigate *Escherichia coli*, to count and identify coagulase positive *Staphylococci* and to investigate serovars of *Salmonella* sp. 30 fish samples were collected at the main fairs and supermarkets of São Luís and submitted to microbiological analyzes at the Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água of Universidade Estadual do Maranhão, according to the MAPA Normative Instruction 62 of 2003. We found none positive sample for *Salmonella* sp. and coagulase positive *Staphylococci*. 20 samples (66,6%) were positive for *Staphylococcus* sp., 29 samples (96.6%) we positive for coliforms at 35°C, 23 samples (76.6%) were positive for coliforms at 45°C and three samples were positive for *Escherichia coli*. Considering the results obtained we concluded that the hygienic-sanitary conditions of the analyzed samples are inadequate.

**Keywords:** yellow hake, *Cynoscion acoupa*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Determinação do NMP/g de coliformes a 35°C e a 45°C em amostras de pescada amarela ( <i>Cynoscion acoupa</i> ) comercializadas em feiras e supermercados na cidade de São Luís – MA, 2017. ....	30
<b>Tabela 2:</b> Contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. em amostras de pescada amarela ( <i>Cynoscion acoupa</i> ) comercializadas em feiras e supermercados na cidade de São Luís – MA, 2017. ....	34

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**BHI:** Caldo de Infusão de cérebro e coração

**DHA:** docosaenoico

**DTA's:** Doenças Transmitidas por Alimentos

**EPA:** eicosapentaenoico

**RDC:** Resolução de Diretoria Colegiada

**MA:** Maranhão

**NMP/g:** Número mais provável por grama

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**pH:** Potencial Hidrogeniônico

**RIISPOA:** Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

**S:** Sul

**SP:** São Paulo

**sp:** Espécie

**TSA:** Ágar Trypticase Soja

**UFC/g:** Unidade Formadora de Colônia por grama

**UEMA:** Universidade Estadual do Maranhão

**W:** oeste

**Ω-3:** ômega -3

**μm:** micrômetro

**%:** percentagem

**°C:** Grau Celsius

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
2.1	GERAL	17
2.2	ESPECÍFICOS	17
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>18</b>
3.1	PEIXE: PANORAMA DE CONSUMO E IMPORTÂNCIA NA ALIMENTAÇÃO HUMANA	18
3.2	PESCADA AMARELA	19
3.3	CONTAMINAÇÃO DO PEIXE	20
3.3.1	Micro-organismos indicadores: coliformes	21
3.3.2	<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	22
3.3.3	<i>Staphylococcus</i>	23
3.3.4	<i>Salmonella</i>	24
3.4	LEGISLAÇÃO E IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	25
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
4.1	ÁREA DE ESTUDO	27
4.2	LOCAL DE OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E AMOSTRAGEM	27
4.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	27
4.3.1	Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C	27
4.3.2	Pesquisar <i>Escherichia coli</i>	28
4.3.3	Contagem e identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	28
4.3.4	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. (ICMSF, 1998)	29
4.4	ANÁLISE DE DADOS	30
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>30</b>
5.1	DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES A 35°C E 45°C	30
5.2	PESQUISA DE <i>Escherichia coli</i> NAS AMOSTRAS	33
5.3	CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	34
5.4	PESQUISA DE <i>Salmonella</i> sp.	37
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A população brasileira vem seguindo a tendência mundial de consumir preferencialmente alimentos que de alguma forma, tragam benefícios à saúde (PACHECO et al., 2004). Nesse contexto, o pescado vem se destacando cada vez mais.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o consumo de 12 kg de pescado por habitante/ano. Estima-se que o consumo mundial aparente de pescado no ano de 2012 foi de 19,2 kg por habitante/ano. Já no Brasil, em 2011, o consumo foi de 11,1 kg por habitante/ano, valor inferior à média mundial e ao consumo de carne de frango, suíno e bovino no país (BRABO et al., 2016).

Além da procura por hábitos saudáveis, outros fatores também impulsionaram o aumento do consumo de pescado, como o aumento da renda da população, diversidade de produtos ofertados, valorização da moeda e incentivos governamentais para a produção, consumo e melhoria na forma de se produzir essa matéria prima.

Na Região Nordeste, o Maranhão destaca-se como um dos maiores produtores de pescado. Os recursos pesqueiros de maior importância econômica no estado são a pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), pescada branca (*Cynoscion leiarchus*) e a gurijuba (*Hexanemichthys parkeri*), que possuem valores comerciais diferenciados entre os municípios (LOPES et al., 2012). Dentre as espécies citadas, a pescada amarela é uma das produzidas em maior quantidade e possui grande valor comercial, tanto pela qualidade de sua carne, como também pela bexiga natatória, denominada “grude”, utilizada para a elaboração de emulsificantes e clarificantes (CERVIGÓN, 1993; WOLFF et al., 2000).

O pescado pode oferecer ao consumidor quantidades adequadas de nutrientes essenciais, a proteína encontrada neste alimento é de excelente qualidade e digestibilidade, 200 a 250g de carne são suficientes para suprir a necessidade diária de aminoácidos essenciais (TOPPE, 2008), apresenta também grandes quantidades de ácido graxo poli-insaturado, a exemplo o  $\Omega$ -3, que é um grande aliado na promoção da saúde cardiovascular e cerebral, além de ser também rico em vitaminas (D, A e B) e minerais (cálcio, zinco, ferro e selênio). Em 2013, o pescado foi responsável por 17% de toda a proteína animal consumida no mundo,

sendo que o peixe foi responsável por 6,5% de toda a proteína, considerando as duas origens, animal e vegetal (FAO, 2016).

Apesar da elevada importância nutricional, o pescado é o alimento de origem animal com maior probabilidade de deterioração, principalmente por apresentar pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos micro-organismos, acentuado teor de fosfolípidios e rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe (SOARES; GONÇALVES, 2012) e essa deterioração muitas vezes é causada por micro-organismos patogênicos (LOPES et al., 2012), que podem causar um problema de grande preocupação nos dias atuais, as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's).

O pescado pode albergar agentes microbianos e/ou ser contaminado e ter multiplicada a sua microbiota inicial, em qualquer um dos segmentos da cadeia produtiva. Por isso, a legislação sanitária impõe limites à presença de micro-organismos, patogênicos ou deterioradores, para garantir a segurança dos alimentos (FARIAS; FREITAS, 2008).

Dentre os principais agentes bacterianos presentes no pescado, são destacados *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas* spp., *Vibrio vulnificus* e *Vibrio cholerae* (VIEIRA, 2004). Existem também os grupos de micro-organismos chamados indicadores que são de extrema importância durante a avaliação das condições higiênicossanitárias da matéria prima e do processamento realizado, é o caso dos coliformes, cuja presença está diretamente relacionada com falhas no processamento e possível contaminação de origem fecal recente, evidenciando a ocorrência de bactérias enteropatogênicas (OPAS/INPPAZ, 2001).

Portanto, para que o pescado tenha sua qualidade assegurada, é necessário que haja uma inter-relação entre tempo, higiene e temperatura (PEREDA et al., 2005), e a adoção de boas práticas de fabricação (BPF) é uma ferramenta importante quando se quer eliminar ou minimizar os riscos de contaminação de qualquer natureza, seja ela química, física ou microbiológica, e assegurar que o produto final não cause riscos à saúde dos que o consomem.

Levando em consideração que o pescado vem sendo um alimento cada vez mais consumido no mundo e os vários fatores que podem levar esse tipo de

alimento a ser um veiculador de patógenos, fazem-se necessários estudos que determinem a qualidade sanitária desses alimentos e as análises microbiológicas são de extrema importância quando se quer definir padrões de qualidade dos alimentos consumidos incluindo o pescado. Diante das considerações apresentadas delinear-se os objetivos a seguir:

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

- Avaliar a qualidade microbiológica da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada na cidade de São Luís, Maranhão.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Quantificar coliformes a 35°C/g e 45°C/g em postas de pescada amarela;
- Pesquisar *Escherichia coli* nas amostras do peixe;
- Realizar a contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras analisadas;
- Pesquisar sorovares de *Salmonella* spp. nas amostras analisadas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 PEIXE: PANORAMA DE CONSUMO E IMPORTÂNCIA NA ALIMENTAÇÃO HUMANA

O consumo de pescado no mundo vem crescendo cada vez mais, o que se deve pelo aumento da população, aumento do poder aquisitivo e mudança nos hábitos alimentares, pois o consumidor procura cada vez mais alimentos que de alguma forma ajudem na saúde.

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por pescado “os peixes, os crustáceos, os moluscos, os anfíbios, os répteis, os equinodermos e outros animais aquáticos usados na alimentação humana” (BRASIL, 2017).

A produção mundial de pescado tem crescido a uma taxa média anual de 3,2% nos últimos 50 anos, superando o incremento populacional do mesmo período em 1,6%. Neste contexto, o consumo *per capita* aparente de pescado passou de 9,9 kg por ano na década de 1960 para 19,2 kg por ano em 2012. Por outro lado, o consumo *per capita* de pescado no Brasil foi de apenas 11,1 kg em 2011, valor inferior à média mundial e ao consumo das carnes de frango, bovino e suíno no país (BRABO et al., 2016). Contudo, esse cenário está mudando, uma vez que há a preocupação dos consumidores por uma alimentação mais saudável, fazendo do pescado um forte concorrente à carne vermelha (BORGLESI, et al. 2013).

Dentre os pescados utilizados na alimentação humana, o peixe é um dos representantes de maior importância e de maior frequência na mesa dos consumidores. BASTOS (2015) diz que o consumo *per capita* de peixe no Brasil, em 2013, foi de 14,5kg habitante/ano, superando a média de consumo recomendada pela OMS, que é de 12 kg habitante/ano.

O pescado, sobretudo o peixe pode oferecer ao consumidor quantidades adequadas de nutrientes essenciais, sendo rico em proteínas de alta digestibilidade e valor biológico, aminoácidos, vitaminas e minerais. É um alimento que apresenta um baixo teor de gordura além de possuir elevados teores de ácidos graxos poli-insaturados, como o  $\Omega$ -3, que traz benefícios à saúde humana (FAO, 2014). Alguns estudos já demonstraram benefícios para a saúde, ligados ao consumo de peixe, onde existe uma correlação entre os ácidos graxos  $\Omega$ -3 e diminuição da incidência

de insuficiência cardíaca, depressão, acidente vascular cerebral, pressão, índice glicêmico, triglicéridos, câncer e outros (FERNANDES et al., 2012).

Os ácidos graxos essenciais  $\Omega$ -3 presentes nos peixes são do tipo eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) (SARTORI; AMANCIO, 2012). A ingestão de ácidos graxos EPA e DHA, especialmente DHA, é necessária para manutenção das membranas biológicas, retina, córtex cerebral, tecidos nervosos, testículos e plaquetas sanguíneas (NETTLETON, 1995; SCHIMIDT, 2000). O EPA assume importância maior ainda pelos seus efeitos vasculares, especificamente ações antitrombóticas e anti-inflamatórias, exercidas através do metabolismo dos eicosanoides (MUELLER; TALBERT, 1988).

Apesar do pescado possuir grande importância em todo o mundo devido ao seu alto valor nutricional, este é também um dos alimentos mais susceptíveis à deterioração devido à sua elevada atividade de água, riqueza de nutrientes, alto teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, pH próximo da neutralidade (RIBEIRO et al., 2009), essa deterioração é causada muitas das vezes por micro-organismos patogênicos, como bactérias e parasitos, e podem causar sérios riscos à saúde do consumidor, principalmente as DTA's.

### 3.2 PESCADADA AMARELA

A pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) é um peixe distribuído por todo o litoral brasileiro, pertencente à família Sciaenidae, apresentando hábito demersal e costeiro, nectônica, comum nas águas salobras dos estuários e lagoas estuarinas (SZPILMAN, 2000).

Segundo Almeida et al. (2009), *C. acoupa* possui grande valor comercial na região Norte do Brasil, e está entre os peixes mais valorizados nas cidades do litoral maranhense. A pescada amarela apresenta grande valor comercial, tanto pela qualidade de sua carne, como também pela bexiga natatória, denominada "grude", utilizada para a elaboração de emulsificantes e clarificantes (CERVIGÓN, 1993; WOLFF et al., 2000).

Na região nordeste, o Maranhão destaca-se como um dos maiores produtores de pescado, dentre eles a pescada amarela, que contribui com maior volume de produção. Somente em 2010, a produção extrativa marinha da pescada amarela foi

de 20.879 toneladas, destacando-se como a terceira espécie mais capturada no país (BRASIL, 2010).

### 3.3 CONTAMINAÇÃO DO PEIXE

Por ser um alimento altamente perecível e por viver em ambiente aquático, o peixe exige muitos cuidados em relação ao manuseio, desde a captura até o consumo. Quando o peixe é despescado, ou seja, retirado do seu *habitat*, até chegar à mesa do consumidor, diversos fatores podem vir a afetar a qualidade do alimento (VIEIRA, 2004; LORENZON et al., 2010).

A manipulação inadequada, armazenamento e transporte do pescado fresco muito contribuem para a perda da qualidade e mesmo deterioração do pescado desembarcado (ARAUJO, et al., 2012). Vieira e Sampaio (2004) destacam que a manutenção da qualidade do pescado está ligada ao trinômio: tempo, higiene e temperatura. O tempo é importante na rapidez com que se desencadeiam reações autolíticas e/ou microbianas, que estão relacionadas com o grau de higiene do barco, estrutura de processamento e dos manipuladores do pescado, aliados às baixas temperaturas que, se devidamente aplicadas, evitarão ou retardarão as reações que levam à sua degradação.

Segundo Ribeiro et al. (2009), os produtos pesqueiros podem atuar como veiculadores de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens*, entre outros organismos mesófilos. A presença desses micro-organismos evidencia deficiências em alguma das etapas do processamento ou na conservação do produto final, que comprometem a qualidade e o grau de frescor, podendo causar sérios danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação até a morte (REBOUÇAS, 2005).

O pescado, por outro lado, pode também ser contaminado por organismos patogênicos ainda no seu *habitat* natural, tendo em vista a problemática da contaminação ambiental pelo lançamento de dejetos humanos (GERMANO; GERMANO e OLIVEIRA, 1998). A contaminação da água de cultivo seja ela estuarina, lacustre ou marinha, por esgotos e por fezes de animais homeotérmicos, assim como, o processamento higiênico-sanitário deficiente são fatores importantes que estão relacionados à maioria das doenças de origem microbiana veiculadas por alimentos (VIEIRA, 2003).

Outro fator também muito importante é a manipulação: manipuladores de alimentos possuem um papel importante na disseminação de micro-organismos. Por essa razão, em feiras, por exemplo, deve-se ter uma pessoa específica apenas para o manuseio do dinheiro, além disso é importante que a pessoa responsável pela venda do pescado utilize vestimentas e façam o asseio e higiene pessoais e do local de forma correta, visando à diminuição da contaminação por manipulação (SILVA et al., 2008).

Dentre as bactérias que podem ser encontradas tanto na água como também nos peixes estão aquelas pertencentes à Família Enterobacteraceae à qual pertencem as bactérias do grupo coliformes. Segundo Jay (1992), a presença de coliformes de origem fecal (*Escherichia coli*) oferece os maiores riscos à saúde do consumidor. De acordo com Tôrres (2004), *E. coli* é uma bactéria do grupo dos coliformes termotolerantes e a principal causadora de doenças diarreicas, via ingestão de água e alimentos contaminados.

Outros gêneros como *Staphylococcus*, também são encontrados em água e em tecidos de organismos aquáticos (BROWN e DORN, 1977; FELDHUSEN, 2000). *Staphylococcus aureus* se destaca pela sua patogenicidade para o homem e animais, são cocos Gram-positivos, mesófilos e anaeróbios facultativos, é responsável por surtos de intoxicação alimentar decorrentes da formação de toxinas estafilocócicas no alimento consumido (ROCHA et al., 2013).

Outra bactéria de grande importância é a *Salmonella*, que é um micro-organismo encontrado naturalmente no trato gastrointestinal de animais, bacilo Gram-negativo, pertencente à família Enterobacteriaceae, anaeróbio facultativo, produtor de gás e capaz de utilizar citrato como única forma de carbono. Atualmente é uma das bactérias mais citadas no tocante à contaminação de seres humanos por origem alimentar (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

### **3.3.1 Micro-organismos indicadores: coliformes**

Os coliformes totais e termotolerantes são grupos de bactérias indicadoras de contaminação utilizadas na avaliação da qualidade higiênico-sanitária de alimentos (MARTINS, 2006). Segundo Silva et al. (1997), o grupo dos coliformes totais inclui bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas

a 35°C. Apresenta cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos quanto de outros animais homeotérmicos. Sua presença não indica necessariamente contaminação de origem fecal, já que este grupo de micro-organismos é encontrado naturalmente no ambiente como no solo, insetos e vegetais.

Coliformes termotolerantes são definidos como aqueles capazes de continuar fermentando lactose com produção de gás, no período de 24 a 48 horas, quando incubados à temperatura de 45°C. Este grupo de indicadores inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Os dois últimos incluem também cepas de origem não fecal (MARTINS, 2006).

Os coliformes termotolerantes são muito utilizados como indicadores das condições higiênico-sanitárias de alimentos. Segundo Álvares et al. (2008), valores excessivos de coliformes termotolerantes podem ocorrer devido a manipulação inadequada ou em decorrência do local de captura. Os autores verificaram que, quanto mais próximo dos centros urbanos, maior é a contaminação por este grupo de micro-organismos em virtude de receber maior carga de dejetos domésticos.

### **3.3.2 *Escherichia coli* (*E. coli*)**

Dentre as bactérias que pertencem ao grupo dos coliformes termotolerantes, *E. coli* é a de maior importância. É uma bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae, não esporulada, anaeróbia facultativa, possui usualmente mobilidade por flagelo, fermentativa, cresce em temperaturas de 18 a 44°C, metaboliza uma ampla variedade de substâncias como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos e ácidos orgânicos, produz catalase e utiliza glicose, amônia e nitrogênio como fontes de carbono (BRASIL, 2001).

*E.coli* faz parte da microbiota intestinal de animais homeotérmicos. A presença destes micro-organismos indica contaminação de origem fecal e risco potencial à saúde humana (MELO, 2015). Sua incidência tem sido relacionada com doenças do trato gastrintestinal, que podem variar, desde formas benignas até formas que podem ser mortais, dependendo de fatores como a patogenicidade das estirpes, a susceptibilidade do paciente e o grau de exposição (MURATORI, 2000; BRASIL, 2004).

Barreto et al. (2012), avaliando a qualidade do pescado comercializado em Cruz das Almas – BA, constataram a presença de *E. coli* em mais de 70% das amostras de peixe analisadas.

### 3.3.3 *Staphylococcus*

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são responsáveis por aproximadamente 45% das intoxicações alimentares no mundo. A contaminação pode ocorrer durante os estágios de produção ou estocagem do alimento, por cepas de origem ambiental ou humana (Cunha-Neto et al., 2002). São um grupo de micro-organismos que está dividido em 36 espécies, com destaque para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hycus* e *Staphylococcus epidermidis*.

São bactérias pertencentes à família Micrococcaceae, possuem células esféricas (0,5 – 1,5 µm), Gram-positivas, que podem ser encontradas isoladas, aos pares e em grupamentos irregulares. São imóveis, não esporulados, anaeróbios facultativos, com metabolismo fermentativo e respiratório. A temperatura ótima de multiplicação é de 30 - 37°C (Gatti-Júnior, 2011). Essas bactérias são divididas em duas categorias: coagulase positiva e coagulase negativa, esta enzima tem a capacidade de coagular o plasma sanguíneo, sendo uma característica de patogenicidade (HOLT et al., 1994; DAMASCENO, 2009).

Dentre as espécies do gênero *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* se destaca pela sua patogenicidade para o homem e animais. Coco Gram-positivo, mesófilo, anaeróbio facultativo, coagulase positiva, é responsável por surtos de intoxicação alimentar decorrentes da formação da enterotoxinas estafilocócicas no alimento consumido (ROCHA, et al., 2013). Essa enterotoxina é termoestável e está presente no alimento mesmo após o cozimento, possibilitando desta forma, a instalação de um quadro de intoxicação de origem alimentar (NETO, et al., 2002). Esta espécie é um dos agentes patogênicos mais comuns e seu *habitat* é amplo, tornando sua presença largamente distribuída na natureza, onde sobrevive muito bem. Entretanto, *S. aureus* é também integrante da microbiota da superfície e da mucosa humana (CASTRO et al., 1984) e por isto sua presença muitas vezes é relacionada à contaminação de alimentos por manipulação humana.

Barreto e Vieira (2003), em estudo sobre portadores de *S. aureus* em indústrias de pesca, verificaram que 60% dos funcionários de empresas de pesca no

estado do Ceará eram portadores de *S. aureus*, o que ressalta a necessidade de se implantar programas de controle das condições sanitárias nesses estabelecimentos, visando a reduzir os riscos que a manipulação do pescado representa para a saúde pública.

A intoxicação alimentar causada por *S. aureus* ocorre devido à ingestão de enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento (JORGENSEN et al., 2005). Os sintomas da doença incluem náuseas e vômitos, por vezes acompanhados de diarreia e dores abdominais e duram em torno de um a dois dias (VINCENT, et al., 2006).

#### **3.3.4 Salmonella**

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, e é constituído por bactérias Gram-negativas, geralmente móveis, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas, catalase positiva, oxidase negativa, que se desenvolvem no intervalo de temperatura entre 5°C e 47°C, porém idealmente na faixa de 35°C a 37°C. Como não formam esporos, podem ser destruídas a 60°C por 15 a 20 minutos. A faixa de pH para sua multiplicação está entre 3,7 a 9,0, sendo o valor ótimo próximo de 7,0 (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

As espécies de salmonelas são distribuídas amplamente pelo ambiente, sendo encontradas, principalmente, no trato gastrointestinal de aves, insetos, mamíferos e répteis. Apesar do meio aquático não ser um reservatório natural, ela pode estar presente devido à contaminação fecal, podendo ser detectada em peixes e produtos derivados (FDA, 2006). Os principais fatores que levaram ao aumento da salmonelose e de outras doenças veiculada por alimentos são os processos inadequados de armazenamento, o costume cada vez mais frequente de comer produtos crus ou insuficientemente aquecidos, aumento do comércio de alimentos de origem animal não passam por uma inspeção e o aumento da susceptibilidade à infecção, sobretudo, das pessoas imunodeficientes ou imunocomprometidas, (BARROS; PAIVA; PANETTA, 2002).

De acordo com TESSARI et al. (2012), regiões tropicais e subtropicais são os pontos mais favoráveis à transmissão de *Salmonella*, visto que a multiplicação destes micro-organismos fora do corpo dos hospedeiros é facilitada por temperaturas favoráveis no ambiente. No entanto, essas bactérias podem ser

encontradas, também, em produtos refrigerados a 2°C, além de permanecer viável em produtos congelados por longos períodos.

Em relação à sintomatologia no homem, as salmoneloses podem produzir gastroenterites, febre, dores de cabeça, dores nos membros, diarreia mucosa, sanguinolenta, dores abdominais, náuseas e vômitos, até quadros clínicos mais severos como as febres entéricas (febres tifoide e paratifoide), afetando mais o homem e outros primatas. Os sintomas duram de 1 a 7 dias, iniciando-se por volta de 12 a 14 horas de ingestão do alimento (BARROS; PAIVA; PANETTA, 2002).

A incidência de *Salmonella* vem aumentando nos últimos anos, particularmente em alimentos de origem animal, fato que tem preocupado os produtores, as indústrias e os órgãos oficiais de fiscalização (TESSARI, et al., 2003). No Brasil, tem sido observado significativo aumento no número de surtos por *Salmonella* spp. desde 1994. Na grande São Paulo, foram relatados, no período de outubro de 1994 a junho de 1997, 18 surtos envolvendo 23 tipos diferentes de alimentos, predominantemente de origem animal, sendo *Salmonella* spp. o agente causal identificado em 13 (72,2%) destes surtos (JAKABI, et al. 1999).

A presença de *Salmonella* no pescado é oriunda normalmente do manuseio, processamento, armazenamento e comercialização em condições higiênico-sanitárias deficientes ou contato com equipamentos, superfícies e utensílios higienizados inadequadamente (MATAÇA, 2014).

### 3.4 LEGISLAÇÃO E IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Atualmente, há uma preocupação em relação à qualidade dos alimentos e ao conhecimento das condições higiênico-sanitárias durante sua produção, já que é crescente o número de casos de DTA's (SOUZA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

O consumo de peixes contaminados pode causar distúrbios que vão desde uma gastroenterite leve até casos mais sérios, com possível risco de morte (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012). Dessa forma, a análise microbiológica de amostras de peixe, bem como, de materiais de processamento de peixe, pode indicar a qualidade do peixe (SANJEE; KARIM, 2016).

Gonçalves (2009) ressalta a importância da análise de risco no setor pesqueiro, destacando, nas etapas que vão do processamento à comercialização, os patógenos emergentes como os principais contribuintes para as doenças

carreadas pelos alimentos atualmente. Além disso, enfatiza o risco microbiológico como um dos itens mais avaliados pela indústria de processamento do pescado visando à segurança alimentar.

Visando à segurança alimentar dos consumidores, no Brasil, a Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão que regulamenta os padrões microbiológicos em alimentos, através da Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza que o pescado *in natura*, resfriado ou congelado e não consumido cru, deve apresentar-se livre de *Salmonella* sp. em 25 g e limita em  $10^3$  o número de *Staphylococcus* coagulase positiva/g do pescado (BRASIL, 2001). Não há limites definidos para coliformes na categoria de peixe descrita acima, embora haja limites para todos os outros produtos derivados do pescado.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado na cidade de São Luís, que tem uma população estimada de 1.082.935 habitantes, e 834,785 km<sup>2</sup> de extensão territorial, estando sob as seguintes coordenadas geográficas 2° 31' 48" S, 44° 18' 10" W (IBGE, 2016).

### 4.2 LOCAL DE OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E AMOSTRAGEM

As amostras da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) foram obtidas nos principais supermercados e feiras que comercializam esta espécie na cidade de São Luís - MA. Foram coletadas 30 amostras (15 de feiras e 15 de supermercados), no período de outubro de 2016 a janeiro de 2017. Cada amostra foi acondicionada em caixa isotérmica com gelo e transportada até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

### 4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas segundo a Instrução Normativa nº 62 de 2003 (BRASIL, 2003) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram realizadas determinação do Número Mais Provável/g (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C; pesquisa de *Escherichia coli*; contagem e identificação de *Staphylococcus coagulase positiva*; e pesquisa de *Salmonella* sp. (ICMSF, 1998).

#### 4.3.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C

Foram pesados 25 gramas de cada amostra de pescada amarela e inoculados em 225 mL de água peptonada a 0,1% e obtiveram-se as diluições decimais ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) e a partir das diluições decimais foi inoculado 1mL de cada amostra em três séries de tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C ± 1°C por 48 horas e foram considerados como positivos na prova presuntiva, aqueles tubos com turvação e produção de gás.

Para confirmação dos testes de coliformes a 35°, alíquotas das culturas positivas no Caldo LST foram transferidas para tubos contendo Caldo lactose verde-brilhante bile a 2% (VB). Os tubos foram incubados em estufa a 35°C ± 1°C por 48 horas, sendo considerados positivos os tubos que apresentaram turvação e formação de gás.

Para confirmação de coliformes a 45°C, alíquotas das culturas positivas no Caldo LST foram transferidas para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos foram incubados em estufa a 45°C ± 1°C por 48 horas. Os tubos com produção de gás e turvação foram considerados positivos para coliformes a 45°C e, em seguida foi determinado o Número Mais Provável por grama de alimento (NMP/g), conforme tabela de Hoskis (BRASIL, 2003).

#### **4.3.2 Pesquisar *Escherichia coli***

Para a pesquisa de *E. coli* nas amostras do peixe, foram semeadas alíquotas de cada tubo positivo no caldo EC, em placas contendo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) e foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24hs. Após este período, foram selecionadas 3 colônias sugestivas (azul escura com brilho verde metálico) e transferidas para tubos de TSA inclinado, incubados em estufa a 35°C/24h. Em seguida, foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram, para a verificação de sua morfologia. Após a constatação da presença de bacilos Gram-negativos, estes foram submetidos à confirmação bioquímica, onde foram realizados os testes de produção de indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e do citrato (IMViC).

#### **4.3.3 Contagem e identificação de *Staphylococcus coagulase positiva***

A partir das diluições decimais ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas sobre a superfície de Agar Baird-Parker (BP), em placas, adicionado de telurito de potássio e gema de ovo, distribuído em toda a placa com auxílio de alça de Drigalski e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C durante 48 horas.

Após este período, foi realizada a contagem do número de colônias que apresentaram características típicas do gênero: cor negra brilhante, zona de

precipitação branca ao seu redor e circundada por um halo transparente, assim como a contagem das colônias atípicas.

As colônias típicas de *Staphylococcus aureus* foram transferidas para caldo o cérebro-coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida foram submetidas à prova de catalase, que consiste em transferir a colônia com a alça de níquel-cromo previamente flambada, para uma lâmina de vidro, adicionada de uma gota de peróxido de hidrogênio para observação de presença do borbulhamento imediato indicando que a amostra é positiva. Posteriormente, foi realizado o teste de coagulase utilizando-se plasma de coelho liofilizado. Esse teste consistiu em transferir 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho reconstituído e incubar a 36°C por 6 horas, onde foi observado a formação ou não de coágulos a cada 30 minutos.

#### **4.3.4 Pesquisa de *Salmonella* spp. (ICMSF, 1998)**

##### *Pré-enriquecimento*

Foram pesados 25 gramas de cada amostra de posta de peixe, adicionadas de 225mL de solução de água peptonada a 0,1%. Os frascos foram incubados a 37°C por 24 horas.

##### *Enriquecimento seletivo*

Com o auxílio de uma pipeta, foi transferido 1mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo selenito cistina, e 0,1 mL dessas mesmas amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas.

A partir do crescimento nos meios de enriquecimento, foram realizados plaqueamento em meio Ágar entérico de Hectoen (HE) e Ágar xilose lisina desoxicilato, incubados em estufa a 37°C por 24 horas. Após este período, as colônias sugestivas de *Salmonella* foram repicadas em Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar lisina-ferro (LIA), incubadas a 37°C/24 horas. Os cultivos TSI e LIA positivos foram submetidos à prova de soroglutinação rápida em placas, utilizando-se soros polivalentes somático e flagelar, para identificação do gênero *Salmonella*.

#### 4.4 ANÁLISE DE DADOS

Os dados obtidos foram tabulados em programa Microsoft Office Excel 2010 e interpretados por meio de estatística descritiva.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES A 35°C E 45°C

Verificou-se que em 29 amostras (96,6%) foram encontrados coliformes a 35°C/g, e em 23 amostras (76,6%) foram encontrados coliformes a 45°C/g. O Número Mais Provável (NMP/g) de todas as amostras está expresso na Tabela 1.

**Tabela 1:** Determinação do NMP/g de coliformes a 35°C/g e a 45°C/g em amostras de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializadas em feiras e supermercados na cidade de São Luís – MA, 2017.

<b>Amostras</b>	<b>Coliformes a 35°C (NMP/g)</b>	<b>Coliformes a 45°C (NMP/g)</b>
<b>P1</b>	9,2 NMP/g	9,2 NMP/g
<b>P2</b>	15 NMP/g	9,2 NMP/g
<b>P3</b>	460 NMP/g	38 NMP/g
<b>P4</b>	3,6 NMP/g	< 3,0 NMP/g ou ausente
<b>P5</b>	35 NMP/g	7,2 NMP/g
<b>P6</b>	9,2 NMP/g	9,2 NMP/g
<b>P7</b>	150 NMP/g	150 NMP/g
<b>P8</b>	23 NMP/g	23 NMP/g
<b>P9</b>	23 NMP/g	23 NMP/g
<b>P10</b>	93 NMP/g	93 NMP/g
<b>P11</b>	3,6 NMP/g	3,6 NMP/g
<b>P12</b>	150 NMP/g	150 NMP/g
<b>P13</b>	43 NMP/g	43 NMP/g
<b>P14</b>	23 NMP/g	23 NMP/g

<b>P15</b>	23 NMP/g	23 NMP/g
<b>P16</b>	240 NMP/g	240 NMP/g
<b>P17</b>	210 NMP/g	120 NMP/g
<b>P18</b>	15 NMP/g	< 3,0 NMP/g ou ausente
<b>P19</b>	43 NMP/g	43 NMP/g
<b>P20</b>	240 NMP/g	240 NMP/g
<b>P21</b>	23 NMP/g	< 3,0 NMP/g ausente
<b>P22</b>	75 NMP/g	23 NMP/g
<b>P23</b>	210 NMP/g	150 NMP/g
<b>P24</b>	3,6 NMP/g	< 3,0 NMP/g ou ausente
<b>P25</b>	< 3,0 NMP/g ou ausente	< 3,0 NMP/g ausente
<b>P26</b>	23 NMP/g	23 NMP/g
<b>P27</b>	210 NMP/g	150 NMP/g
<b>P28</b>	3,6 NMP/g	< 3,0 NMP/g ou ausente
<b>P29</b>	> 1100 NMP/g	460 NMP/g
<b>P30</b>	9,2 NMP/g	< 3,0 NMP/g ou ausente

Quanto ao NMP, pode-se observar contagem entre 3,6 e 460 NMP/g tanto para coliformes a 35°C como para coliformes a 45°C e uma amostra apresentou contagem superior a 1100 NMP/g para coliformes a 35°C/g.

A legislação brasileira atual, a Resolução da diretoria colegiada, Nº 12, de 02 de janeiro de 2001, não estabelece padrões para coliformes totais e termotolerantes (BRASIL, 2001), porém a presença de coliformes em produtos alimentícios é um indicador de condições higiênicossanitárias inadequadas (SIQUEIRA, 1995).

A contaminação do alimento por coliformes pode ocorrer durante as várias etapas do processamento do pescado, desde a captura até a venda deste produto para o consumidor. Durante a coleta das amostras, foi observada constante manipulação do peixe, exposição ao ambiente, acondicionamento em temperaturas inadequadas, o que se mostra um fator muito importante a ser levado em consideração quando comparados aos resultados laboratoriais. Sabe-se que as mãos dos manipuladores podem ser uma importante fonte de contaminação para os

alimentos. Oliveira et al. (2008), estudando as condições higiênicossanitárias das mãos de manipuladores de carne, observaram que os coliformes totais e termotolerantes apresentam presença elevada, onde dos cinco manipuladores avaliados, 100% apresentaram crescimento para coliformes totais e termotolerantes, apresentando contagens que variaram de  $1,5 \times 10$  a  $4,6 \times 10^3$  NMP/cm<sup>2</sup>

Essa contaminação pelas mãos de manipuladores se explica principalmente pela falta de higiene pessoal, sobretudo a falta do hábito simples de lavar as mãos antes de manipular os alimentos. A higiene pessoal e a manipulação adequada devem ser prioridade para quem trabalha com alimentos (GERMANO, 2015). Dessa forma, as BPF são de extrema importância e precisam ser sempre adotadas, pois são utilizadas para garantir a segurança do produto no decorrer de todo o processo de produção.

Estudos também associam o gelo como contaminante do pescado. Lopes et al. (2012), ao analisarem a qualidade microbiológica de gelo proveniente de fábricas localizadas em Cedral - MA, destacam que a presença de coliformes em amostras de pescados, embora encontradas em baixas concentrações, podem ser decorrentes também da contaminação do gelo utilizado durante a conservação do produto, além de outras fontes de contaminação durante o manuseio desse alimento. Giampietro e Rezende-Lago (2009), ao avaliarem amostras do gelo em quatro diferentes estabelecimentos comerciais de Ribeirão Preto (SP), verificaram que 29 (96,7%) amostras estavam contaminadas por coliformes totais, e 22 (73,3%) por coliformes termotolerantes. Dorta et al. (2011) identificaram coliformes a 35°C em todas as amostras de gelo provenientes de fábricas da cidade de Teresina. Ferreira et al. (2014), em pesquisa sobre a qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação, constataram que das oito amostras de gelo analisadas, seis (75%) estavam contaminadas por coliformes totais e termotolerantes, e duas (25%) por *E. coli*.

Pode-se observar por meio dos resultados obtidos pelos autores citados acima, que a contaminação do gelo por coliformes é bem frequente, o que mostra que a produção do gelo pode está acontecendo de forma errônea, onde provavelmente, as condições de infraestrutura e de manuseio de gelo são inadequadas e/ou a água utilizada para produção não é própria para consumo, e

tudo isso acaba por interferir na qualidade do produto final, o pescado. Segundo a RDC nº274 de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2005), o gelo utilizado na conservação de alimentos deve ser composto de água cujos parâmetros microbiológicos atendam às normas de qualidade para consumo humano, que, segundo a Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, determina “ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* em 100 mL” (BRASIL, 2011).

A presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras analisadas é preocupante, pois sua detecção no alimento evidencia que houve contaminação, possivelmente de origem fecal de forma direta ou indireta, indicando assim a má qualidade do alimento e o risco para a saúde do consumidor.

## 5. 2 PESQUISA DE *Escherichia coli* NAS AMOSTRAS

Do total de 30 amostras analisadas, 10% (3 amostras) foram positivas para *E. coli*. Resultado similar foi encontrado por Santos (2006), que ao analisar 20 amostras de peixe, identificou *E. coli* em duas amostras (10%), ambas de peixe de origem marinha e por Silva (2007) que encontrou *E. coli* em 10% (2) das amostras analisadas. Os resultados revelam informação bem interessante: todas as amostras analisadas e positivas são de peixes de origem marinha. Como *E. coli* não integra da microbiota do pescado, deve-se ter atenção também ao local de captura desse peixe, pois a poluição das águas por dejetos é cada vez mais frequente, não esquecendo também das outras formas de contaminação, como manuseio, transporte, contaminação por utensílio e afins.

Micro-organismos como *E. coli*, podem ser veiculados por pescado proveniente de ambientes aquáticos poluídos, ou estes podem ser contaminados na captura e/ou manipulação. Para Doi et al. (2015) e vários outros autores, a presença de *E. coli* no alimento representa a presença de matéria fecal, pois esse micro-organismo tem como *habitat* natural o trato intestinal do homem e de vários outros animais homeotérmicos.

A mão do manipulador é considerada uma grande fonte de contaminação para os alimentos, principalmente as contaminações por coliformes e *E. coli*. Muratori et al. (2007), durante estudo sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em manipuladores de piscicultura, isolaram *E. coli* a partir do lavado das

mãos dos manipuladores em todas as propriedades analisadas. Os autores ainda afirmam que este resultado confirma a possibilidade de veiculação da bactéria nas mãos, podendo a mesma inclusive ser transmitida para os equipamentos, instalações e aos peixes.

É importante salientar que a ingestão de alimentos contaminados por *E. coli*, pode causar distúrbios gastrointestinais que vão desde formas benignas e brandas até formas graves e mortais. A legislação brasileira não dispõe de padrões para *E. coli* para o tipo de peixe analisado, porém devido aos danos que esse patógeno causa para a saúde do consumidor, o aconselhável é que os alimentos estejam sempre isentos deste e de todos os outros micro-organismos patogênicos.

As três amostras positivas para *E. coli* foram provenientes de feiras municipais. Este fato é de extrema importância, pois constata as condições higiênicossanitárias insatisfatórias desses estabelecimentos, confirmando o que foi observado durante as coletas, além de ser um alerta para os órgãos fiscalizadores sobre as condições em que este tipo de alimento está sendo comercializado e chegando à mesa dos consumidores.

### 5.3 CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus* coagulase positiva

Na presente pesquisa, das 30 amostras analisadas, 20 (66,6%) apresentaram resultados positivos para *Staphylococcus* sp, onde apenas foi observado crescimento de colônias atípicas do gênero em questão com contagens entre  $2,2 \times 10^2$  a  $1,3 \times 10^6$  UFC/g, sendo que duas amostras apresentaram contagem  $< 20$ . Os resultados estão expressos na Tabela 2.

**Tabela 2:** Contagem de *Staphylococcus* sp. em amostras de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializadas em feiras e supermercados na cidade de São Luís – MA, 2017.

Amostras	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC/g)
P1	$< 20$
P2	$1,4 \times 10^4$ UFC/g
P3	$1,5 \times 10^4$ UFC/g
P4	$2,3 \times 10^3$ UFC/g
P5	$2,2 \times 10^2$ UFC/g
P6	$2,5 \times 10^2$ UFC/g
P7	$1,6 \times 10^3$ UFC/g
P8	$4,1 \times 10^2$ UFC/g

P9	< 20
P10	Ausência
P11	Ausência
P12	8,7 x 10 <sup>5</sup> UFC/g
P13	Ausência
P14	Ausência
P15	2,7 x 10 <sup>5</sup> UFC/g
P16	1,3 x 10 <sup>6</sup> UFC/g
P17	Ausência
P18	2,2 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
P19	3,4 x 10 <sup>4</sup> UFC/g
P20	2,4 x 10 <sup>5</sup> UFC/g
P21	Ausência
P22	5,1 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
P23	3,6 x 10 <sup>3</sup> UFC/g
P24	1,19 x 10 <sup>3</sup> UFC/g
P25	Ausência
P26	2,3 x 10 <sup>5</sup> UFC/g
P27	Ausência
P28	3,6 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
P29	Ausência
P30	Ausência

Nenhuma das amostras apresentou *Staphylococcus* coagulase positiva. A legislação brasileira estabelece padrões apenas para *Staphylococcus* coagulase positiva, como contagem máxima para pescado *in natura*, resfriado ou congelado não consumido cru, de até 10<sup>3</sup> UFC/g.

Conforme sumarizado na Tabela 2, as amostras com maior frequência de contaminação por *Staphylococcus* sp. foram: a P16 (1,3 x 10<sup>6</sup> UFC/g), seguida pela P12 (8,7 x 10<sup>5</sup> UFC/g) e a P15 (2,7 x 10<sup>5</sup> UFC/g), duas de feiras (P15 e P16) e uma de supermercado (P12).

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

pagues. Porém, há também estudos que constataam a presença desse patógeno. Lucindo et al. (2016), durante suas análises em 105 amostras de pescada branca, observaram que 70 amostras (66,6%) apresentaram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido pela legislação, que é de  $10^3$  UFC/g. Silva-Junior et al. (2015) também identificaram que, nas 40 amostras de peixe analisadas, houve presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 80% das amostras, apresentando contagens mínima e máxima equivalentes a  $1,0 \times 10^3$  UFC/g e  $1,05 \times 10^4$  UFC/g, respectivamente.

Mesmo que a legislação vigente não estabeleça padrões para *Staphylococcus* coagulase negativa, a presença dessa bactéria quando isolada de alimentos, também é um dado importante, pois é considerada oportunista e apresenta capacidade de causar intoxicações alimentares. Considerando-se que os seres humanos são portadores naturais dessa bactéria na pele e em mucosas, deve-se adotar hábitos higiênicos durante a manipulação do pescado (LOPES et al., 2012), desta forma, são necessárias medidas de controle que possam melhorar a qualidade higiênicossanitária desse produto aumentando assim a sua vida de prateleira.

Duarte et al. (2010), ao analisarem 143 amostras de pescado provenientes dos estados da região Nordeste do Brasil, comprovaram uma considerável ocorrência de *Staphylococcus* em peixes submetidos a intensa manipulação e expostos a altas temperaturas, o que corrobora os achados deste estudo, pois o elevado índice de contaminação pode estar associado aos equipamentos, superfícies e infraestrutura do local, que contribuem de forma significativa para a multiplicação desse micro-organismo no alimento. Muratori et al. (2007), durante o seu estudo, identificaram que todos os manipuladores analisados apresentaram *Staphylococcus aureus* nas mãos.

Outro ponto também muito importante no que se refere ao crescimento de *Staphylococcus* sp., é a forma como o pescado é refrigerado, pois quando este é conservado em temperatura inadequada, a multiplicação desse e de muitos outros micro-organismos é favorecida, levando assim à produção de toxinas, que podem causar intoxicações alimentares ao consumidor.

Para que se tenha um alimento livre de contaminação por *Staphylococcus* spp., é necessário que se tenha bons hábitos de higiene e o recomendável é que se faça uma correta higiene tanto do manipulador quanto das instalações e superfícies

onde esses alimentos ficarão disponíveis ao consumidor, além de promover sempre a conservação destes alimentos em temperaturas adequadas.

#### 5.4 PESQUISA DE *Salmonella* sp.

Quanto à pesquisa de *Salmonella* sp., nenhuma das amostras analisadas apresentou resultado positivo, atendendo assim as exigências da legislação vigente (RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001), que estabelece ausência desse micro-organismo em 25g de amostra analisada.

Lopes et al. (2012), Ferreira et al. (2014) e Ribeiro et al., (2009), obtiveram resultados similares ao desta pesquisa, ou seja, ausência de *Salmonella* sp. Resultados semelhantes foram encontrados também por Farias et al. (2007) ao avaliar a qualidade microbiológica de pescado beneficiado no estado do Pará.

Resultados divergentes foram encontrados na pesquisa de Costa et al. (2016), onde foi verificada a presença do gênero *Salmonella*. Nas 36 amostras, foram encontrados 21 (58,34%) isolados do gênero, sendo 11 (61,12%) isolados presentes nas amostras de filés de tilápia e 10 (55,56%) nos peixes inteiros. Dantas et al. (2012), durante sua pesquisa sobre presença e isolamento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. provenientes de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) comercializados no mercado modelo Nerival Araújo, em Currais Novos/RN, também encontraram presença de *Salmonella* sp.

*Salmonella* sp. possui como principal *habitat* o trato intestinal de animais e seres humanos, não sendo assim próprio da microbiota do peixe. Dessa forma, a contaminação do pescado por este patógeno pode ocorrer antes ou durante sua captura, já que este pode ser oriundo de água contaminada com altas concentrações desse patógeno, ou durante seu transporte e armazenamento, devido à manipulação inadequada ou uso de equipamentos sem condições de higiene adequada.

## 6 CONCLUSÕES

As amostras de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada na cidade de São Luís - Maranhão, que foram analisadas, apresenta condições higiênicossanitárias insatisfatórias, pois as amostras apresentam contaminação por coliformes a 35°C/g e coliformes a 45°C/g e *E. coli*.

As amostras de pescada amarela analisadas apresentam riscos de veicular *E. coli* para o consumidor.

As amostras analisadas não apresentam riscos de veicular *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonela*.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Levando em consideração o aumento no consumo de pescado e, sobretudo o destaque na produção da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) no Nordeste, em especial no Maranhão, faz-se necessária uma atenção especial à fiscalização em todo o processo produtivo do pescado, desde sua captura até sua venda para o consumidor.

São necessárias atenções voltadas no sentido de conscientizar os produtores e vendedores sobre a adoção de Boas Práticas de Fabricação, abrangendo assim um conjunto de medidas que visem a garantir a qualidade do produto que será comercializado, medidas estas que vão desde a aquisição da matéria prima adequada até higiene pessoal do manipulador de forma correta. Essa conscientização pode ser feita com a ajuda dos órgãos de fiscalização sanitária, que além de trabalhar com a inspeção dos estabelecimentos, devem atuar também através de medidas educativas que objetivam a boa produção e comercialização dos produtos alimentícios.

É importante também que pesquisas como esta cheguem ao conhecimento do público e dos órgãos fiscalizadores para que providências sejam tomadas e a população tome conhecimento dos riscos que está correndo.

## 8 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.C., et al. **Contribuição para gestão do sistema de produção pesqueira da pescada amarela, *Cynoscion acoupa* (pisces:Sciaenidae) (Lacepède, 1802) na costa do Maranhão, Brasil.** Boletim do laboratório de hidrobiologia, v.22, p. 25-38, 2009.

ÁLVARES, P.P., et al. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 161, p. 88-93, 2008.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v.45, p.780–788, 2012.

ARAUJO, E.C., et al. **Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado no mercado municipal em Açailândia-Ma.** (VII CONNEP). Açailândia - MA, 2012.

BARRETO, N. S. E.; MOURA, F. C. M.; TEIXEIRA, J. A.; ASSIM, D. A.; MIRANDA, P. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas, Bahia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.3, p.86-95, jul.-set., 2012.

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

BARROS, V.R.M; PAIVA, P.C; PANETTA, J.C. *Salmonella* spp: sua transmissão através dos alimentos. **Higiene Alimentar.**, v. 16, n. 94, p. 15-19, mar. 2002.

BASTOS, T. R. **Veja os dados da piscicultura no brasil.** 2015. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Criacao/Peixe/noticia/2015/04/veja-osdados-da-piscicultura-no-brasil.html>> Acesso em: 14 de maio de 2017.

BRABO, M. F., et al. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. Acta of Fisheries and Aquatic Resources. 4 (2): 50-58, 2016

BRASIL. Presidência da República. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989 que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 29/03/2017

BRASIL, 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. 2010. Disponível em: <[http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes\\_e\\_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf](http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf)>. Acesso em: 14 de maio de 2017

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 2001.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005. Brasília, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.62, 18 de setembro de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, de 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº518, de 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu

padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14 maio 2017.

BROWN, L.D.; DORN, C.R. 1977. Fish, selfish and human health. **Jornal of food Protect.** v.40(10), p: 712-717.

BORGLESI, R., et al. Influência da nutrição sobre a qualidade do pescado: especial referência aos ácidos graxos. Corumbá - MS: Embrapa Pantanal; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 21 p.

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

CERVIGÓN, F. **Los peces marinhos de Venezuela**. Vol. II. 2ª ed. Venezuela: Editora ExLibris. 497p, 1993.

COSTA, T. D.; COSTA, R. D., VAZ, A. C. N.; VIDAL, A. M. C. **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE TILÁPIAS OBTIDAS DE PESQUEIROS NO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**. Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal (SP), v. 8, Número Especial, 2016. (ISSN 2178-9436).

CUNHA-NETO, A.; SILVA, C.G.M.; STAMFORD, T.L.M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciên. Tecnol. Alim.**, Campinas, v.22, n.3, 2002.

DAMASCENO, A. **Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (*Salmo salar*, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte – MG**. Dissertação (Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

DANTAS, L. I. S.; ROCHA, F. A. G. R.; SOUZA3, J. A. B.; ARAÚJO, M. F. F.; SILVA, R. P. **PRESENÇA E ISOLAMENTO DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli***

**e *Salmonella* sp. PROVENIENTES DE FILÉS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COMERCIALIZADOS NO MERCADO MODELO NERIVAL ARAÚJO, CURRAIS NOVOS/RN. VII CONNEP, Palmas, Tocantins, 2012**

DOI, S. A., OLIVEIRA, A. J. F. C., BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v.20, n.1, jan/mar, p.111-118, 2015.

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. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.25, n.196/197, p.124-128, 2011.

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

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos, 2008. São Paulo: Ateneu, 182p

FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp, 2016.

FAO. Fisheries and Aquaculture Department. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Roma, 2014. Disponível em: <[www.fao.org/3/a-i3720e.pdf](http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf)> Acesso em: 14 de maio de 2017

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

FARIAS, M. C.A.; MOURA, C.S.A.F.; FREITAS, J. de A. Qualidade microbiológica do pescado beneficiado por indústrias no estado do Pará. **Rev. Higiene Alimentar**, v. 21, n. 150, p. 254, 2007.

FDA, Foods and Drugs Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, 2006. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>>. Acesso em: 14 maio 2017.

FELDHUSEN, F. 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. **Microbes and Infections**, v.2, p: 1651–1660.

FERNANDES, A. C., et al. Benefits and risks of fish consumption for the human health. *Rev. Nutr.*, Campinas, 25(2):283-295, mar./abr., 2012.

.

FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PEREIRA, D. M.; RODRIGUES, L. C.; COSTA, F. N. **Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**, v.81, n.1, p. 49-54, 2014.

GATTI-JUNIOR, P. **Qualidade higiênica e sanitária de tilápias provenientes de cultivo, comercializadas no varejo**. Dissertação de Mestrado, Centro de Aqüicultura, UNESP, 47 p., Jaboticabal, 2011.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A. F. de; Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública. **Revista Higiene Alimentar** – Nº 53. São Paulo. 1998

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 5 ed. São Paulo: Manole, 2015. 1112p.

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

GONÇALVES A. A. Análise de risco no setor pesqueiro – parte II: a pesca. **Hig Aliment.** **2009**; 23(174/175):99-104

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 3<sup>a</sup> ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994, 789p.

ICMSF. **Internacional Commision on Microbiological Specification for Foods. Microorganisms in food. I-Their significance and methods of enumeration**. 2. Ed. Toronto: University Press; 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Diretoria de Pesquisas - DPE - Coordenação de População e Indicadores Sociais – COPIS. Informações completas, Maranhão, São Luís. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=211130&search=%7C%7Cinfogr%E1ficos:-informa%E7%F5es-completas>> Acesso em: 14 mai 2017.

JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Laboratorial observation about foodborne salmonellosis outbreaks in Great São Paulo city, from 1994 to 1997. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 58. N. 1, p. 47-51, 1999.

JAY, J.M. 1992. **Modern food microbiology**. Van Nostrand Reinhold, New York. 4ed. vol.2, p:222.

JORGENSEN, H.J., et al. Enterotoxigenic *S. aureus* in bulk Milk in Norway. *Journal of Applied Microbiology*, v. 99, n. 1, p. 158-166, 2005.

LOPES, I. S.; FERREIRA, E. M.; PEREIRA, D. M.; PEREIRA, L. S.; CUNHA, M. C. S.; COSTA, F. N. Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada:

características microbiológicas e qualidade de gelo utilizado na sua conservação. **Rev Inst Adolfo Lutz**. v.71, n.4, p. 677-84. São Paulo, 2012

LORENZON, C. S.; GATTI JÚNIOR, P.; NUNES, 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**, v. 77, n. 4, p. 617-624, 2010.

LUCINDO, M. B.; DONATELE, D. M.; FERREIRA, M. F.; GUIMARÃES, T. S. Qualidade microbiológica da pescada branca comercializada na região litorânea do sul do estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** (v.10, n.2) p. 199 – 210, abr - jun (2016)

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

MATACA, A. R. **Estudo da frequência de *Salmonella* spp. no pescado comercializado no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MELO, R.R., et al. **Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasiliensis*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, São Paulo, 2015.

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

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

MUELLER, B. A.; TALBERT, R. L. Biological mechanisms and cardiovascular effects of Omega-3 fatty acids. **Clinical Pharmacology**, v. 7, n. 11, p. 795-807, 1988.

MURATORI, M.C.S. 2000. Consorcio suíno peixe: risco ambiental e sanitário. Proposta alternativa pela descontaminação. **Tese (Doutorado em Ciência Animal)**. Belo Horizonte: UFMG, 71p.

MURATORI, M.C.S.; FILHO, C. C. C. C.; ARARIPE, N. B. A.; LOPES, J. B.; COSTA, A. P. R. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em Manipuladores de Piscicultura. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v.9, n.2, 2007.

NETO, A.C., et al. **STAPHYLOCOCCUS ENTEROTOXIGÊNICOS EM ALIMENTOS IN NATURA E PROCESSADOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**. Ciênc. Technol. Aliment., Campinas, 22(3): 263-271, set-dez.2002

NETTLETON, J.A. **Omega-3 fatty acids and health**. New York: Chapman & Hall, 1995. 357 p.

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, 2008 a.

OLIVEIRA, M. M. M., et al. Condições higiênico-sanitárias de máquinas de moer carne, mãos e manipuladores e qualidade microbiológica de carne moída. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.6, p.1893-1898, 2008 b.

OPAS/INPPAZ. HACCP: Instrumentos essenciais para a inocuidade alimentar. Buenos Aires, OPAS/INPPAZ, 2001.

PACHECO, T. A., et al. Análises de coliformes e bactérias mesofílicas em pescado de água doce. **Rev. Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116/117, p. 68-72, 2004.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. DE F.; PERALES, L. DE LA H.; CORTECERO, M. D. S. (org.) **Tecnologia de alimentos**. v.2: Alimentos de origem animal. Porto Alegre: ARTMED, cap.13, p.241-267, 2005.

REBOUÇAS, R.H. *Staphylococcus* coagulase positiva em camarão marinho sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) comercializado na feira-livre de pescado do Mucuripe. (Monografia). Universidade Federal do Ceará, 2005.

RIBEIRO, A. L. M. S., et al. **Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro**. Revista brasileira de Ciência Veterinária, v. 16, n. 3, p. 109-112, set./dez. 2009.

RIBEIRO, A. L. M. S.; Oliveira, M. G.; Ferreira, V. M.; Pereira, M. M. D.; Silva, P. P. O. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.16, n.3, p.109-112, 2009.

ROCHA, F. A. G. et al. **ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVOS EM FILÉS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COMERCIALIZADOS NO MERCADO NERIVAL ARAÚJO, CURRAIS NOVOS/RN**. HOLOS, Ano 29, Vol 1. 2013

SANJEE, S. A.; KARIM, MD. E. Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Bangladesh. **International Journal of Food Science**, v.2016, Article ID 8605689, p.1-6, 2016.

SANTOS, R. M. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados municipais da cidade de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 98 p., 2006.

SARTORI, A. G. DE O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.19, n.2, p.83-93, 2012.

SILVA, C. C.; RODRIGUES, M. M.; MARTINS B. R.; EDUARDO, M. B. P., BASSIT, N. P.; CÉSAR, M. L. V. S.; et al. **Toxinfecção Alimentar por Salmonella em São Paulo/ SP, setembro de 2004**. Boletim epidemiológico Paulista. 2004. Nov, 11.

SILVA-JÚNIOR, A. C. S.; SILVA, A. S. S.; BRITO, T. P.; FERREIRA, L. R. **Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em Jaraqui, *Semaprochilodus brama* (Valenciennes, 1850) comercializado na Feira do Pescado, Macapá-AP**. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 32-36, 2015.

SILVA, M. L. **Pesquisa de *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 146 p., 2007.

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

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. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 67, n 3, p. 208-14, 2008.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. **Qualidade e segurança do pescado**. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), vol.71, n.1, p.1-10. São Paulo, 2012.

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.

SIQUEIRA, R.S. Manual de microbiologia de alimentos. Brasília: EMBRAPA, 1995.

SCHIMIDT, M. A. **Gorduras inteligentes**. São Paulo: Roca, 2000. 231 p.

SZPILMAN, M. **Peixes Marinhos do Brasil: Guia prático de identificação**. Rio de Janeiro: Mauad. 288p. 2000.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M.; ZANATTA, G. F. Prevalência de *Salmonella enteritidis* em carcaças de frango industrialmente processados. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 107, p. 52-55, abri. 2003.

TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P. Important Aspects of Salmonella in the Poultry Industry and in Public Health, *Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen*, Dr. Barakat S. M. Mahmoud (Ed.), **InTech**, Available from: <http://www.intechopen.com/books/salmonella-a-dangerous-foodborne-pathogen/important-aspects-of-salmonella-in-the-poultry-industry-and-in-public-health>, 2012.

TÔRRES, R.C.O. *Escherichia coli*, p.125-139, in Vieira, R.H.S.F. (org.), *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. Varela Editora e Livraria Ltda., 380 p., São Paulo, 2004.

TOPPE, J. **Consumo de pescado, riesgos e benefícios: uma perspectiva nutricional**. 15º Reunião de LA Red Panamericana de Inspección, Control de Calidad y Tecnologia de Productos Pesqueros, Guayaquil, Ecuador, 2008.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 2004, p.380.

VIEIRA, R. H. S. F. (coordenadora); **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado: Teoria e Prática** – São Paulo: Livraria Varela, 2003.

VIEIRA, R.H.S.F.; SAMPAIO, S.S. Emprego de gelo nos barcos de pesca, p.37-44, *in* Vieira, R.H.S.F. (org.), **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. Varela Editora e Livraria Ltda., 380 p., São Paulo, 2004.

VICENT, J.L., et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Medicine*, v. 34, n. 2, p. 344-353, 2006.

WOLFF, M.; KOCH, V.; ISAAC, V. A Trophic flow model of the Caeté mangrove estuary (north Brazil) with considerations for the sustainable use of its resources. *Estuarine, costal and shelf science*, London, n.50, p.789-803, 2000.