



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



**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, SENSORIAL E QUÍMICA DA  
PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*) DESEMBARCADA EM  
CEDRAL-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 na Região Norte do Brasil

**ILDERLANE DA SILVA LOPES**

**São Luís - Maranhão**

**2012**

**ILDERLANE DA SILVA LOPES**

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, SENSORIAL E QUÍMICA DA  
PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*) DESEMBARCADA EM  
CEDRAL-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 Curso de 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**

Lopes, Ilderlane da Silva.

Caracterização microbiológica, sensorial e química da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada em Cedral-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação / Ilderlane da Silva Lopes.– São Luís, 2012. 97f

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

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

1.Pescado. 2.Conservação. 3. Microbiologia. I.Título

CDU: 639.2.068(812.1Cedral)

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.

---

Ilderlane da Silva Lopes

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

---

Profª Drª Patrícia de Maria Silva Figueiredo  
Examinador

---

Profª Drª Lúcia Maria Coelho Alves  
Examinador

---

Profª. Drª Francisca Neide Costa  
Orientadora

*À Deus*

*Aos meus pais Ildete Garcês e Gideone Lopes*

*Aos minhas irmãs Ilderlene, Ilderlange e Gislane*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, força e ânimo. Por ter se mostrado onipresente durante todo esse caminho percorrido.

À Uema, representado pelo programa de Mestrado em Ciência Animal, pela oportunidade concedida.

À FAPEMA, pela concessão da bolsa.

Aos meus pais, Hildete e Gideone, pelo carinho, empenho, paciência e amor ofertados.

As minhas irmãs queridas, Ilderlene, Gislane e Ilderlange, pelo carinho, companheirismo, apoio através de palavras positivas, e durante a realização das coletas.

À Dona Ruth, pela amizade, carinho, dedicação, cuidado e pela hospedagem em sua casa, sem a qual tornaria quase que impossível a execução da pesquisa.

À prof<sup>a</sup> Francisca Neide Costa, pela oportunidade e contribuição na execução do trabalho, pela qual possibilitou a minha qualificação e também pela paciência.

À prof<sup>a</sup> Lúcia Alves, pela agradável amizade, e disposição a sempre tirar as dúvidas.

Ao meu amado namorado Luís Arthur pelo carinho, paciência e ajuda durante as coletas.

À minha amiga Elka Machado, pela amizade, renúncia, companheirismo, tolerância, disposição e dedicação.

As minhas amigas Débora e Weline que ajudaram bastante na tarefa do laboratório, com total dedicação e compromisso, principalmente no início da pesquisa.

À minha amiga Lidiane Soares, pelo total apoio, dedicação, pelas palavras de ânimo e de estímulo e pelas todas as dicas sugeridas.

À minha amiga Lucélia que nos momentos mais difíceis tinha sempre uma boa palavra positiva e de solução.

À Maria Cecília pela ajuda no Laboratório e também pela demonstração da amizade.

À todos os estagiários pela colaboração nas atividades do Laboratório, em especial ao Márcio, Ana Maria, Marcelo, Idayane, Osmar, Thaisa, Iara, Isabela, Polyana e os demais.

As técnicas do Laboratório Célia, Viramy e Nancy pela contribuição, compreensão e paciência.

Aos meus amigos Gabriel, Israel, Nara, Fernando que direta e indiretamente, contribuíram na execução do trabalho e, principalmente, pelos momentos super agradáveis que proporcionaram no Laboratório.

À minha turma do mestrado: Hallyne, Nayanna, Verônica, Diego, Arannadia, Madson, Cícero, Liah, Paula, Hermilton, Milena, por todos os momentos juntos e compartilhados.

Aos motoristas do mestrado, em especial, ao seu Marion, pela paciência e disposição em ajudar.

À querida Dona Socorro pela amizade, e prestação de serviço com amor e dedicação.

Aos professores do mestrado.

LOPES, I. S.; COSTA, F. N. **Caracterização microbiológica, sensorial, e química da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada em Cedral-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação.** [Characterization microbiological, sensory and chemical hake yellow (*Cynoscion acoupa*) landed in Cedral-MA, and microbiology of the ice used in their conservation.] 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

## RESUMO

O pescado é considerado um alimento altamente perecível, devido à rapidez com que ocorre o processo autolítico. Desta forma, exige cuidados importantes no que se refere à captura, transporte e processamento até ao consumidor final. Assim, o estudo avaliou as características microbiológicas, químicas e sensoriais da pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada em Cedral - MA. Para tal, foram colhidas 42 amostras de 14 lotes. Adquiriu-se também 11 amostras de gelo das fábricas para a quantificação de bactérias psicrófilas e Determinação do Número Mais Provável de Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C. As amostras de peixes foram submetidas à pesquisa de *Salmonella* spp, *Aeromonas* spp, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo e bactérias aeróbias mesófilas; Determinação do Número Mais Provável de Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C, verificação dos parâmetros químicos, Bases Voláteis Totais e Trimetilamina, e características sensoriais conforme critérios determinados pela legislação da Portaria nº 185 do Ministério da Agricultura. Mediante o somatório de todos os atributos, eram considerados de primeira qualidade, os que obtiverem valores de pontuação entre 37 e 52; de segunda qualidade, os que obtiverem entre 18 e 36 pontos; e de terceira e última qualidade, os que obtiverem menos de 17 pontos. Os resultados mostraram que 42 (100%) das amostras de pescada amarela eram de primeira qualidade. Os resultados variaram de 3,0 a 93 NMP/g para Coliformes a 35°C e sete (16,66%) amostras apresentaram intervalos de 11 a 23 NMP/g para Coliformes a 45°C sem isolamento de *Escherichia coli*. Quanto aos mesófilos obteve-se contagens entre  $8 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^5$  de UFC/g. Não foram isolados *Salmonella* spp e nem *Vibrio parahaemolyticus*. Detectou-se *Staphylococcus* spp em 13 (30,95%) das amostras. *Aeromonas hydrophila* foi detectada em 19 (45,29%) amostras. Quanto aos parâmetros químicos obtiveram-se valores de Bases Voláteis Totais (BVT) entre 21,61 e 27,91 e de 0,71 a 2,02 para a Trimetilamina (TMA). Quanto às amostras de gelo em todas as fábricas haviam amostras contaminadas por coliformes e psicrófilos. Os achados indicam um pescado com baixas contagens microbiológicas, bom estado de frescor e químico, porém com riscos de veicular infecção por *Aeromonas*. Quanto ao gelo este é impróprio para a conservação do pescado.

**Palavras - chaves:** pescado, conservação, microbiologia.

LOPES, I. S., COSTA, F. N. **Characterization microbiological, sensory and chemical hake yellow (*Cynoscion acoupa*) landed in Cedral-MA, and microbiology of the ice used in their conservation.** [Caracterização microbiológica, sensorial, e química da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada em Cedral-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação.] 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

## **ABSTRACT**

The fish is considered a highly perishable food because of the rapidity with which the autolytic process occurs. Thus, it requires care practices with regard to the capture, transport and processing to the final consumer. Thus, the study assessed the microbiological, chemical and sensory hake yellow (*Cynoscion acoupa*) landed in Cedral - MA. To do this, samples were taken 42, 14 batches. It also acquired 11 samples of ice factories for the quantification of psychrotrophic bacteria and Determination of Most Probable Number of coliforms at 35°C and 45°C. Coliforms The fish samples were tested for *Salmonella* spp, *Aeromonas* spp, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positive and mesophilic aerobic bacteria; Determination of Most Probable Number of coliforms at 35°C and Coliforms at 45°C, check of chemical parameters, Trimethylamine and total volatile bases, and sensory characteristics according to criteria determined by the law of Ordinance N°185 of the Ministry of Agriculture. By the sum of all attributes, were considered of first quality, who obtain values scoring between 37 and 52, second grade, those who obtain between 18 and 36 points, and the third and final quality, obtaining less than 17 points. The results showed that 42 (100%) of yellow hake samples were first class. The results ranged from 3.0 to 93 MPN/g for coliforms at 35°C and seven (16.66%) samples ranges from 11 to 23 MPN/g for coliforms at 45°C without isolation of *Escherichia coli*. As for the mesophilic counts was obtained from  $8 \times 10^2$  to  $1.5 \times 10^5$  CFU / g. *Salmonella* was not isolated nor *Vibrio parahaemolyticus*. *Staphylococcus* spp was detected in 13 (30.95%) samples. *Aeromonas hydrophila* was detected in 19 (45.29%) samples. As for chemical parameters were obtained values of total volatile bases (TVB) between 21.61 and 27.91 and 0.71 to 2.02 for Trimethylamine (TMA). As for the ice samples at all locations had samples contaminated with coliforms and psychrotrophic. The findings indicate a fish with low microbial counts, good freshness and chemical, but with risk of conveying infection by *Aeromonas*. As the ice is unsafe for the conservation of fish.

**Key - words:** fish, conservation, microbiology.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
	3.1 Produção de Pescado e sua importância na alimentação humana.....	21
	3.2 Pescada amarela ( <i>Cynoscion acoupa</i> ).....	23
	3.3 Característica do peixe fresco e sua perecibilidade.....	25
	3.4 Microrganismos patogênicos veiculados por pescado.....	27
	3.4.1 <i>Salmonella</i> spp.....	29
	3.4.2 Coliformes a 35°C e Coliformes a 45° .....	31
	3.4.3 Infecção por <i>Vibrio sp</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	33
	3.4. 4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
	3.4.5 <i>Aeromonas</i> spp.....	37
	3.5 Qualidade do pescado e as boas práticas de manipulação.....	39
	3.6 O papel do gelo na conservação do pescado.....	40
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>43</b>
	4.1 Área de estudo.....	43
	4.2 Avaliação das condições de higiene, transporte e armazenamento das amostras.....	44
	4.3 Obtenção das amostras.....	44
	4.4 Análises microbiológicas das amostras.....	45
	4.4.1 Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C e <i>Escherichia coli</i> em gelo.....	45
	4.4.2 Contagem de Psicotróficos em gelo.....	45
	4. 4. 3 Preparo das amostras de pescada amarela.....	46
	4.4. 4 Determinação de Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C .....	46
	4.4.5 Isolamento de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	47
	4.4.5.1 Enriquecimento.....	47
	4.4.5.2 Plaqueamento diferencial e isolamento.....	47
	4.4.6 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	48

4.4.7 Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....	49
4.4.8 Pesquisa de <i>Aeromonas spp.</i> .....	49
4.4.9 Quantificação de <i>Staphylococcus spp</i> e pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	52
4.4.10 Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos.....	52
4.5 Avaliação sensorial.....	53
4.6 Análise química do Peixe fresco.....	53
4.6.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA).....	53
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>74</b>
<b>APENDICE.....</b>	<b>94</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>96</b>

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Número Mais Provável de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e Quantificação em UFC/mL de Psicrotróficos nas amostras de gelo, provenientes das fábricas localizadas em Cedral – MA, 2012.....	57
2. Determinação do Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C e percentual de contaminação da pescada-amarela em Cedral - MA, 2012.....	61
3. Contagem de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de pescada amarela desembarcadas em Cedral, MA, 2012.....	62
4. Unidade Formadora de Colônias (UFC/g) de <i>Staphylococcus</i> sp e pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo em amostras de pescada amarela, desembarcada em Cedral - MA, 2012.....	66
5. Parâmetros indicadores da qualidade sensorial de pescada amarela ( <i>Cynoscion acoupa</i> ) desembarcada e m Cedral - MA, 2012.....	68
6. Valores de BVT e TMA em amostras de pescada amarela provenientes do desembarque no Município de Cedral,MA, 2012.....	71

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Localização do Município de Cedral.....	43
2. Espécie <i>C. acoupa</i> .....	44
3. Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas (adaptado de CARNAHAN et al., 1991).....	51
4. Esquema da determinação das Bases Voláteis e Trimetilamina	55
5. Funcionário manipulando o gelo.....	58
6. Percentual de amostras contaminadas por <i>Aeromonas</i> spp em amostras de pescada amarela provenientes de Cedral-Ma.....	64
7. Evisceração do processo após desembarque em piso de madeira (A), e ao lado a evisceração em piso de cimento (B). Contaminação do mar (C) e presença de urubus próximos ao rancho (D).....	67
8. Brânquias de coloração avermelhadas de pescada amarela.....	69
9. Olho da pescada amarela com bom aspecto.....	69
10. Aspecto característico da pescada amarela.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGPI	Ácido graxos poli-insaturados
APHA	American Public Health Association
ATP	Trifosfato de Adenosina
APA	Água Peptonada Alcalina
BHI	Brain Heart Infusion
BP	Baird Parker
BVT	Bases Voláteis Totais
CDC	Center for Disease Control and Prevention
C	Citrato
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
DHA	Ácido docosaexaenoico
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EPA	Environmental Protection Agency
EC	<i>Escherichia coli</i>
EagEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EFSA	European Food Safety Authority
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigenica
EMB	Eosina Azul de Metileno
FAO	Food and Agriculture Organization

HE	Enterico de Hektoen
H <sub>2</sub> S	Gás Sulfídrico
I	Indol
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
LIA	Lysine Iron Agar
LT	Termo-lábil
LST	Caldo Lauril Sulfato Triptose
LPS	Lipopolissacarídeo
MV	Vermelho de Metila
NaCl	Cloreto de Sódio
NH <sub>3</sub>	Amônia
NMP	Número Mais Provável
OF	Oxidação e Fermentação
PCA	Agar Padrão para Contagem
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SS	<i>Salmonella Shigella</i>
SHU	Síndrome Hemolítico-Urêmica
SIM	Sulfide, Indole and Motility
SPP	Sistema de Produção Pesqueira
ST	Termoestável
TCBS	Tiosulfato Citrato Bile Sacarose
TDH	Thermostable Direct Hemolysin
TMA	Trimetilamina

TMAO	Óxido de trimetilamina
TSA	Agar Tryptcase de Soya
TSB	Caldo Trypticase de Soja
TSI	Triple Sugar Iron
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
$\omega$ -3	Ômega-3
XLD	Xilose Lisina Desoxicolato
VBB	Verde Brilhante Bile 2%
VP	Voges-Proskauer

## 1 INTRODUÇÃO

Os alimentos são a fonte de energia dos seres humanos e como a população mundial aumenta a cada ano, a indústria alimentícia possui um futuro cada vez mais promissor. Simultaneamente a este crescimento, aumenta também a exigência das pessoas por alimentos saudáveis e com boas condições de consumo (TOMASI et al., 2007). Pois em um processo tão complexo quanto à produção e consumo de alimentos, fatores como a probabilidade e a severidade da ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) devem ser consideradas (LAMMEERING et al., 2001).

O peixe possui grande importância na alimentação humana, pois é considerado um produto altamente proteico e com características peculiares, como por exemplo, a presença do ácido graxo ômega-3. Entretanto, a sua qualidade deve ser mantida, em virtude deste alimento ser perecível e proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento de importantes microrganismos patogênicos nocivos à saúde dos consumidores.

O pescado é perecível devido ao seu rápido processo autolítico em relação à carne de outros animais, exigindo cuidados importantes durante a captura, estocagem e processamento até o momento de sua comercialização. Logo após a captura, o peixe deve ser lavado, eviscerado e resfriado com aplicação do gelo de ótima qualidade, a fim de preservar as características de frescor inerentes ao pescado, aumentando assim a vida de prateleira deste produto.

Segundo Franco & Landgraf (2005), a suscetibilidade do pescado à deterioração está relacionada à sua atividade de água elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, ao pH próximo da neutralidade. Segundo Alves et al. (2002), a velocidade dessa deterioração é influenciada por fatores como: espécie do pescado, grau de exaustão sofrida na captura, natureza e extensão da contaminação microbiana e temperatura.

A ausência de boas práticas de manipulação dos pescadores e empresários na cadeia produtiva do pescado é um fator determinante para a

baixa qualidade do produto brasileiro, que chega ao consumidor com uma carga microbiana elevada (ALMEIDA FILHO et al., 2002). Os microrganismos representam grande importância, quando presentes no pescado, pois são determinantes na deterioração deste alimento, provocando assim, a possível rejeição pelo consumidor. Portanto, a adoção de medidas corretas na cadeia produtiva do pescado, como a conservação adequada através do tratamento pelo frio e a manutenção de práticas higiênicas, podem diminuir o risco de transmissão de agentes causadores de doenças, bem como possibilitar a obtenção de um produto de boa qualidade, no final da cadeia produtiva do pescado.

Na região nordeste, o Maranhão destaca-se como um dos maiores produtores de pescado. Em 2010, a pesca extrativa marinha no Estado produziu 43.780,1 toneladas de pescado, considerando assim, como o segundo maior produtor desta região (BRASIL, 2010). Em razão dos seus abundantes recursos hídricos regionais, a pesca constitui a atividade econômica mais importante, base de sustentação alimentar e de renda (SILVA, 2010).

Os recursos pesqueiros de maior importância econômica no Estado são a Pescada Amarela (*Cynoscion acoupa*), Pescada Branca (*Cynoscion leiarchus*) e a Gurijuba (*Hexanematichthys parkeri*), essas espécies de peixes têm valores comerciais diferenciados nas várias regiões (ALMEIDA et al., 2007). No estado do Maranhão dentre elas, a pescada amarela contribui para o volume de produção. Somente em 2010, a produção extrativa marinha dessa espécie foi de 20.879 toneladas, destacando-se como a terceira espécie mais capturada no país (BRASIL, 2010). Sendo Cedral um importante produtor de pescada amarela, em que a produção desta espécie compreende um sistema de grande abrangência, distribuída em todo o litoral do Estado. O município possui uma frota pesqueira em torno de 1300 embarcações. Deste total, o Sistema de Produção Pesqueira (SPP) Pescada amarela detém cerca de 600 embarcações. As embarcações são de madeira com propulsão à vela ou motor de até 18 HP, sem uso de instrumental eletrônico para comunicação ou localização de cardumes (ALMEIDA et al., 2009).

Diante das considerações apresentadas e baseando-se também no fato de que não há relatos na literatura sobre a qualidade da pescada amarela desembarcada no litoral maranhense e face ao grande consumo desta espécie pela população, é que se propôs a realização desta pesquisa, com os objetivos que se seguem.

## 2. OBJETIVOS

### ❖ Gelo:

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

### ❖ Pescada amarela:

- Determinar o NMP de Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C ;
- Pesquisar *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonela* spp e *Aeromonas* spp;
- Quantificar *Staphylococcus* spp e pesquisar *Staphylococcus* coagulase positivo;
- Realizar a contagem de bactérias heterotróficas mesófilas;
- Caracterizar os aspectos sensoriais e químicos (Bases voláteis totais e Trimetilamina).

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Produção de Pescado e sua importância na alimentação humana**

Os seis principais produtores de pescado do mundo, em 2009, foram a China (15.195.766 toneladas), o Peru (6.920.129 toneladas), a Indonésia (5.102.355 toneladas), Estados Unidos (4.230.380 toneladas), Índia (4.053.241 toneladas) e Japão (3.952.622 toneladas), sendo que o Brasil ocupou uma posição de vigésimo terceiro lugar no ranking mundial de produção de pescados por pesca extrativa, com uma produção de 825.164 toneladas (BRASIL, 2010). O país destaca-se pela maior velocidade de crescimento da atividade aquícola no mundo (ALBINATI, 2007). Isso se deve em virtude do país possuir uma vasta costa marítima de 8.400 km e 5.500.000 hectares em reservatórios de águas doces (12% disponível no planeta) (BRASIL, 2005). Aliada a este fato, também há clima extremamente favorável, mão-de-obra abundante e crescente demanda por pescado no mercado interno que têm contribuído para o avanço desta atividade (CREPALDI et al., 2006).

Em 2010, a produção de pescado nacional foi de 1.264.765 toneladas, registrando-se um incremento de 2% em relação a 2009, quando foram produzidas 1.240.813 toneladas. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção de pescado nacional, e responsável por 536.455 toneladas (42,4% do total de pescado), seguida, sucessivamente, pela aquicultura continental com 394.340 toneladas (31,2%), pesca extrativa continental 248.911 toneladas (19,7%) e aquicultura marinha com 85.057 toneladas (6,7%). Na análise da produção pesqueira marinha por espécie, observou-se que o grupo dos peixes representou 86,8% da produção total, seguidos pelos crustáceos com 10,6%, e moluscos com 2,6% (BRASIL, 2010).

Uma grande parte do pescado que chega à mesa do brasileiro é fruto do trabalho dos pescadores profissionais artesanais. São eles os responsáveis por 60% da pesca nacional, resultando em uma produção de mais 500 mil toneladas por ano (BRASIL, 2011). A pesca artesanal corresponde à atividade

de pesca comumente empregada utilizando pouca tecnologia, através de redes de diversos tipos, caracterizando-se por uma atividade de subsistência.

O setor da pesca desempenha um papel fundamental na alimentação humana, não só pela forma de subsistência de pequena escala de pescadores que dependem diretamente da pesca, rendas e serviços, mas também para os consumidores que usufruem de uma excelente fonte de proteína animal a preços acessíveis (FAO, 2010).

Os pescados são conhecidos pelo alto valor nutricional, dentre seus constituintes destacam-se o elevado teor proteico, sais minerais (cálcio, fósforo e ferro), e a gordura que é considerada uma das maiores fontes de ácidos graxos da família ômega-3 ( $\omega$ -3). Estes componentes destacam-se pela sua elevada importância fisiológica e nutricional (GODOY et al., 2010). Os ácidos graxos da série ômega-3 apresentam efeitos redutores sobre os teores de triglicérides e colesterol sanguíneo, com consequente diminuição dos riscos sobre doenças cardiovasculares (MALAVOTA et al., 2009; OGAWA & MAIA, 1999).

O ácido eicosapentaenoico (EPA), e ácido docosaenoico (DHA), fazem parte da estrutura dos fosfolipídeos que são componentes importantes das membranas e da matriz estrutural de todas as células. Além de seu papel estrutural, esses lipídeos podem também modular a função celular ao atuarem como mediadores intracelulares da transdução de sinais e como moduladores das interações entre células (CARMO & CORREIA, 2009). Com isso, o consumo de peixe vem sendo bastante indicado por médicos, nutricionistas e até mesmo pela mídia por causa das inúmeras vantagens que este alimento oferece (FERRETTI et al., 1994).

Em muitos países, principalmente da Europa e da Ásia, é a proteína de origem animal, mais consumida. O teor proteico das diferentes espécies de peixes varia de 15% a 20%, sendo que seu valor calórico varia conforme o teor de gordura, registrando os seguintes índices: peixes magros, com menos de 1% de gordura: bacalhau (0,14%), carpa (0,5%), pescada (0,6%), truta (0,7%), linguado (0,8%) e outros; peixes com teores médios de gorduras de 7% a 8%: salmão, arenque, cavala, congrio e outros; e peixes com mais de 15% de

gordura: atum, enguia e outros (OGAWA & MAIA, 1999; GERMANO & GERMANO, 2001).

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com o intuito de caracterizar o perfil nutricional de pescados. Entre estes, menciona-se o de Tonial et al. (2010) que caracterizaram o perfil nutricional do salmão *in natura* (*Salmo salar* L.) e encontraram um teor de proteína de 17,89% e de lipídios totais de 10,82%, verificando um maior percentual em ácidos graxos insaturados, com predominância para os poli-insaturados (AGPI). O que ressalta o valor nutricional deste alimento. Apesar dos valores nutricionais atribuídos, é de fundamental importância que o pescado *in natura* não seja veiculador de agentes causadores de doenças alimentares (ALVES et al., 2011).

Em países em desenvolvimento, em consequência da mão de obra barata, o processamento de tratamento do pescado ainda está focado em métodos menos sofisticados de transformação, como a filetagem, salga, enlatamento, secagem e de fermentação. Ressalta-se que o congelamento representa o principal método de transformação de peixe, e foi responsável por uma quota de 49,8 % do total de peixes processados para consumo humano em 2008 (FAO, 2010). Considera-se também, que as formas de consumo são influenciadas por fatores tais como grau de escolaridade, costumes e quantidade de renda que cada consumidor possui.

Atualmente tem-se aumentado a tendência em consumir peixes crus, sendo cada vez maior a oferta por pratos orientais (*suschi* e *sashimis*) em estabelecimentos especializados (SATO et al., 2005). Entretanto, já foram relatados casos de intoxicação alimentar em função do consumo desses alimentos.

### **3.2 Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*)**

A pescada amarela, *Cynoscion acoupa*, é uma espécie demersal, pertencente à família *Sciaenidae*, que ocorre em águas rasas tropicais e subtropicais da costa atlântica da América do Sul, apresentando tolerância para as águas salobras (MOURÃO et al., 2009) e habita áreas do lodo, areia ou

cascalho, entre 1 a 35 metros, sendo a maior espécie do gênero no Brasil, podendo alcançar 110 cm de comprimento (CARVALHO-FILHO,1999; FISHBASE, 2011). A captura ocorre em toda época do ano, sendo que sua produção aumenta no período de safra que varia por região.

As capturas são realizadas com rede de emalhe de 15 a 20 cm entre nós opostos. O tamanho da rede depende do tamanho do barco, mas pode ser superior a 3 km de comprimento e 5 m de altura; as redes são colocadas na coluna d'água e em contato com o fundo, em ambientes costeiros e sobre a plataforma continental até 30 m de profundidade (ISSAC-NAHUM, 2006).

A *C. acoupa* possui grande valor comercial na região Norte do Brasil e é o principal pescado consumido nas cidades do litoral maranhense com elevada apreciação comercial devido à qualidade da carne (ALMEIDA et al., 2009). Pesquisa realizada por Silva et al. (2012) sobre o perfil de consumidores de pescado em mercados da cidade de São Luís - MA, verificaram que 16 (32%) dos consumidores entrevistados tem preferência pela pescada amarela quando comparada a outras espécies de peixes de água salgada.

A importância desta espécie no Estado deve-se ao fato de ser considerada como um peixe nobre, bastante saboroso, constituindo de grande massa de carne, sendo empregado assim, sobre as mais diversas formas de iguarias, em especial na forma cozida.

Souza et al. (2010) ao realizarem a caracterização física, química e nutricional de três espécies de peixes Amazônicos: Pescada Amarela (*Cynoscion acoupa*), Bagre (*Arius passany*) e Mapará (*Hypophthalmus edentatus*) consideraram a espécie pescada amarela com os melhores índices da avaliação da qualidade nutricional, pois apresentou alto teor de proteínas e baixo teor de lipídeos, sendo que os principais ácidos graxos presentes foram o palmítico (C16:0) e o ácido docosahexaenóico (DHA)(C22:6), este último encontrado em maior proporção. Comprovando, desta forma, a importância desta espécie e servindo de estímulo ao seu maior consumo pelos maranhenses, e pela população de modo geral. Figueirêdo et al. (2010) verificaram em sua pesquisa, que a carne da pescada amarela contém baixos

teores de lipídeos e de colesterol, sendo recomendada seu consumo em dietas para pessoas com problemas de restrições de colesterol.

Esta espécie, também se destaca pelo valor atribuído à sua bexiga natatória, um subproduto, conhecido por “grude” onde é retirada e vendida em média no valor de R\$ 100,00 por Kg na região de Cedral, sendo bastante valorizada tanto no mercado nacional como no internacional, gerando, assim, um lucro a mais nesta atividade. Conforme Issac et al. (1998), o grude é utilizado na indústria, como espumante, emulsificante, dispersante e gelificante.

### **3.3 Característica do peixe fresco e sua perecibilidade**

O RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal), no parágrafo 1º do artigo 439 define como fresco o pescado disponibilizado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação, a não ser a ação do gelo. Descreve ainda que, o pescado fresco próprio para consumo é considerado como aquele que possui: ventre roliço, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; carne limpa, consistência elástica, de cor própria à espécie; vísceras íntegras, perfeitamente diferenciadas; ânus fechado; cheiro específico, lembrando o das plantas marinhas; escamas brilhantes, bem aderentes à pele e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos realizados; guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural, próprio ou suave; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas.

O processo de deterioração do pescado inicia-se logo após a sua morte, por mudanças nas propriedades físicas e químicas dos músculos, por degradação de ATP (Trifosfato de Adenosina), produção de compostos voláteis e outras substâncias (GASPAR & SILVA, 2009). O *rigor mortis* ocorre no músculo de peixe paralelamente à redução da quantidade de ATP presente no músculo, ou seja, está condicionado à degradação de 95% do ATP no músculo e também à degradação do glicogênio a ácido láctico (BATISTA et al., 2004).

O *rigor mortis* é o resultado de reações bioquímicas complexas no músculo similares às da carne. Quando acaba o oxigênio do músculo, o metabolismo torna-se anaeróbio, sendo a principal fonte de energia, a degradação do glicogênio muscular. Esse glicogênio é esgotado em menos de 24 horas. Ocorre a queda do pH muscular devido o acúmulo de ácido láctico procedente da glicólise e à hidrólise do ATP. As proteínas musculares miofibrilares actina e miosina permanecem dissociadas, formando-se em complexos de actomiosina, associado à alteração do estado coloidal das proteínas que provocam a contração das miofibrilas com o correspondente encurtamento muscular. Em geral, o pH desce de 6,9 a 7 até 6,2 a 6,3 em pescados magros, podendo atingir valores de aproximadamente 5,5 a 5,7 em pescados de carne escura, como alguns tunídeos, cavala, etc (PEREDA, 2005).

A rápida queda do valor do pH, influenciada pelo teor de ácido láctico formado pela decomposição do glicogênio, depende diretamente das condições de captura e da temperatura de armazenamento do peixe (ARAUJO et al., 2010).

A quantidade de substâncias nitrogenadas disponíveis nos músculos na forma de aminoácidos livres e peptídeos simples exercem papel importante no aparecimento de outros compostos de degradação (GASPAR & SILVA, 2009). A produção de bases nitrogenadas voláteis, particularmente a Trimetilamina (TMA) resulta da redução do Óxido de Trimetilamina (TMAO) que está presente na maioria dos peixes marinhos e ausentes nos de água doce, e a Amônia (NH<sub>3</sub>) (e ácidos graxos voláteis) que resultam da disseminação oxidativa de componentes não proteicos do músculo dos peixes, que constitui um excelente substrato para as bactérias (OGAWA & MAIA, 1999).

Considerando as características próprias do pescado, é extremamente importante conservá-lo em condições de higiene e em temperatura próxima a 0°C, para manutenção de suas qualidades sensoriais (como, odor, textura e cor) e microbiológicas por um período maior de tempo (ALVARES et al., 2008; ALVES et al., 2011).

A perecibilidade do pescado fresco pode ser explicada pela ação de enzimas autolíticas, próprias deste alimento, e pela relação menos ácida de sua carne, que favorece o crescimento microbiano. Além disso, a gordura da maioria dos peixes mostra maior susceptibilidade à deterioração pela rancidez, principalmente, devido à elevada insaturação de seus lipídeos (PEREIRA, 2009). Essa perecibilidade pode ser avaliada através da análise sensorial, tornando-se uma ferramenta importante para verificar modificações dos parâmetros de qualidade do peixe em relação ao seu tempo de vida útil.

Os microrganismos psicrótrópicos são os principais participantes da deterioração do pescado (BORDIGNON et al., 2010). Observa-se que contagens elevadas desse grupo de bactérias em alimentos 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).

No processamento do pescado são essenciais condições sanitárias adequadas para que o alimento ingerido seja seguro (ALVARES et al., 2008). Condições estas, que na grande maioria, são precárias em portos de desembarque do nosso País, contribuindo de forma negativa para a pouca qualidade do produto produzido no Brasil.

### **3.4 Microrganismos patogênicos veiculados por pescado**

A ocorrência de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) tem sido foco de discussões nos últimos anos, devido à preocupação mundial com estratégias que permitam seu controle e, conseqüentemente, garantam a colocação de produtos seguros no mercado consumidor (SHINOHARA et al., 2008). As DTAs manifestam-se de diversas formas, desde ligeiras indisposições até situações mais graves que podem carecer de cuidados hospitalares ou mesmo causar a morte (MARCHI et al., 2011).

Anualmente ocorrem 38,6 milhões de casos de doenças gastrintestinais causadas por patógenos conhecidos e 13,6 milhões (36%) deste total são atribuídas as DTAs (CDC, 2009). No entanto, o perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos no Brasil ainda é pouco conhecido e

carente, apenas alguns estados e/ ou municípios dispõem de estatísticas e dados sobre os agentes causadores de DTAs mais comuns, alimentos mais frequentemente envolvidos e fatores contribuintes (AMSON et al., 2006).

Do ponto de vista microbiológico, peixes e derivados são um grupo alimentício de risco. Entre as bactérias associadas ao consumo destes, destacam-se *Clostridium botulinum* tipo E, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus* spp, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae* , e em especial, a espécie *Vibrio parahaemolyticus* (NOVOTNY et al., 2004). A presença desses microrganismos no pescado decorre, na maior parte, devido a sua longa cadeia produtiva em que o alimento percorre até a mesa do consumidor. Conforme Lorenzon et al. (2010), os pescados têm sido associados a doenças humanas e são veículo de transmissão de microrganismos patogênicos e intoxicações, constituindo um problema de saúde pública .

Leitão et al. (1988) mencionam que as bactérias estão presentes na superfície corporal, nas guelras e nas vísceras do pescado, sendo a sua musculatura estéril, porém, a falta de manutenção da temperatura adequada para a conservação do mesmo poderá promover a invasão de bactérias viscerais psicrófilas para a musculatura, ocasionando assim a contaminação de toda a carcaça.

De acordo com Pimentel & Panetta (2003), a contaminação microbiana no pescado decorre, pela presença de microrganismos deteriorantes; de indicadores de higiene ou de processamento; indicadores de manipulação inadequada; de indicadores de contaminação fecal e de microrganismos patogênicos potencialmente capazes de provocar toxinfecções alimentares.

Os pescados apresentam condições intrínsecas que propiciam a multiplicação microbiana, podendo reduzir a vida útil do produto, que passará a representar risco à saúde pública. A elevada atividade de água, a composição química, o teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e o pH próximo da neutralidade da carne de peixe são os fatores determinantes no crescimento microbiano (OLIVEIRA et al., 2008). Sabe-se que a microbiota dos pescados é

influenciada pelo meio no qual vivem, variando se marinho ou de água doce (SANTOS et al., 2008).

Ghasemi et al. (2010) afirmam ainda que, a contaminação dos peixes por bactérias são influenciadas por muitos fatores tais como a poluição da água do mar, a temperatura, o método de captura, métodos de preservação e práticas de atuação. Desta forma, o pescado pode assumir um papel importante como veiculador de uma enorme quantidade de microrganismos patogênicos para o ser humano.

### **3.4.1 *Salmonella* spp.**

O gênero *Salmonella* é constituído por 2.532 sorovares (POPOFF et al., 2003), estimando-se que todas as espécies são patogênicas para o homem (BARROS, 2009). Pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum*, que são imóveis (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

As salmonelas multiplicam-se em temperaturas entre 7°C e 49,5°C, sendo que 37°C é a temperatura ótima para desenvolvimento. Em 4 horas, o alimento contaminado apresenta-se com inúmeras células infectantes. A temperatura de destruição do agente depende de inúmeros fatores, mas está, fundamentalmente, ligada ao substrato, além do sorovar contaminante. Abaixo de 7°C, para a maioria dos sorotipos, não há multiplicação (GERMANO & GERMANO, 2003).

A transmissão dá-se mediante um ciclo de infecção entre o homem e os animais pelas fezes, água e alimentos, particularmente os de origem animal, bem como aqueles submetidos à irrigação, com águas contaminadas por esgotos, ou diretamente com matéria fecal utilizada como fertilizante, nos casos de variedades de produtos de origem vegetal (GERMANO & GERMANO, 2003).

A *Salmonella* provoca uma infecção do epitélio intestinal denominanda por salmonelose (FREITAS et al., 2010). A salmonelose é de distribuição cosmopolita, acometendo todas as faixas etárias, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, constituindo-se importante problema de saúde pública. As formas clínicas são representadas por gastroenterite aguda (a mais comum) e febres entéricas (febre tifóide e paratifóide) (LOUREIRO et al., 2010).

As infecções entéricas desenvolvem um quadro de infecção-gastrointestinal, tendo como sintomas dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito, sendo raros, os casos clínicos fatais. Os sintomas aparecem de 12 a 36 horas, podendo durar até 72 horas. Trata-se da manifestação mais comum de infecção por *Salmonella*, não necessitando de tratamento com antibióticos. Os alimentos mais incriminados são carne bovina, aves, suíno e ovos crus (SHINOHARA et al., 2008).

Na União Europeia foi relatado um total de 5.550 surtos de origem alimentar, atingindo 48,964 casos humanos, 4.356 internações e causando 46 mortes. A maioria dos surtos notificados foi causada por *Salmonella*, vírus e toxinas bacterianas (EFSA, 2011). Somente na Croácia, a *Salmonella* spp é responsável pela maioria das doenças de origem alimentar (MULIC et al., 2004).

Alguns trabalhos foram realizados para identificação de *Salmonella* em pescados. Silva et al. (2002) ao avaliaram a qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió - AL, detectaram a presença de *Salmonella* em 80% dos moluscos (sururu e massunim) e 20% nas amostras de peixes (pescada, serra, tainha, cavala, merluza, dourado, bagre e carapeba) analisados.

Dams et al. (1996) ao avaliarem a qualidade sanitária de pescadinha (*Cynoscion striatus*) conseguiram isolar *Salmonella* spp. em 40% do pescado inteiro “*in natura*”. Lima & Reis (2002) ao pesquisarem a incidência de *Salmonella* spp em amostras de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) de rio comercializados no município de Cuiabá-MT, isolaram o agente em sete (35%) das amostras avaliadas. Fernandez & Barbosa (2010) verificaram ausência

dessa bactéria em 30 (100%) amostras de sardinhas descabeçadas e evisceradas oriundas de peixarias do bairro da Pavuna-RJ.

Guimarães et al. (2001) relataram um surto de infecção alimentar veiculado por um refeição preparada para funcionários de um hospital em Salvador- BA, no ano de 1997. Na refeição foram servidos: carne de sol, bolinho de peixe, arroz, feijão, aipim, sauté, melancia e suco de maracujá. Nesse relato foi feito um inquérito epidemiológico com a participação de 53 pessoas, sendo que destas, 47 apresentaram um quadro severo da doença.

Segundo estes autores os surtos de salmoneloses humanas podem ter um custo bastante elevado, pois devem ser computados os custos médicos e as perdas de produtividade, de modo que a legislação proíbe a existência do microrganismo em 25g ou mL de alimento (BRASIL, 2001).

### **3.4.2 Coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C**

O grupo de Coliformes a 45°C compreende os indicadores de contaminação fecal, e está relacionada à presença da bactéria *Escherichia coli* que indica condições higiênicas do produto avaliado e possível presença de enteropatogênicos. A *Escherichia coli* é uma bactéria termotolerante encontrada apenas no trato intestinal humano e de animais de sangue quente ou não (ABREU et al., 2011). Atualmente, existem cinco grupos de *E. coli* que são patogênicas para o homem e animais: *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); *E. coli* enteroagregativa (EAgEC); *E. coli* enterotoxigenica (ETEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Estas últimas são conhecidas por serem produtoras de toxinas (VILA et al., 2009; TAKEDA, 2011).

As toxinas produzidas por ETEC são termolábeis (LT) e / ou termoestáveis (ST). A ETEC é uma causa freqüente de diarreia tanto em seres humanos como animais, sendo estimados 600 milhões de casos de diarreia humana e 800.000 mortes em todo o mundo, principalmente em crianças com idade inferior a 5 anos, é comumente envolvida na diarreia do viajante (SOUSA, 2006). Este tipo de *E. coli* enterotoxigênica causa inibição da

reabsorção de sódio. O intestino fica repleto de fluidos, resultando em diarreia líquida por vários dias (ABREU et al., 2011).

EHEC causa doença no intestino grosso podendo provocar uma diarreia simples e, em seguida, evoluir para fezes com ulcerações da parede intestinal. A doença pode evoluir, em alguns indivíduos infectados, para um quadro mais grave da doença (e potencialmente fatal), denominada de Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU). Esta envolve uma tríade de: anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiência renal. A transmissão da doença de EHEC em seres humanos ocorre através da ingestão de carne contaminada ou alimentos contaminados com fezes, onde a infecção pode ocorrer pela ingestão de pequena dose de apenas 10-100 microrganismos (SOUSA, 2006).

Os Coliformes a 45°C não se multiplicam e nem se mantêm viáveis na água ambiental por longos intervalos de tempo, devido às baixas concentrações de nutrientes e de temperatura adversa, portanto, a sua presença indica uma fonte de contaminação recente (CARDOSO et al., 2001). A enumeração de Coliformes a 45°C caracteriza as condições higiênico-sanitárias dos alimentos (BARROS et al., 2005).

A ocorrência desse grupo de microrganismos no pescado pode indicar captura realizada em ambientes com poluição fecal. Falhas ocorridas durante a captura, manipulação, armazenamento, transporte e beneficiamento, também podem contribuir para a ocorrência de Coliformes a 45° e *E. coli* em pescado (FARIAS & FREITAS, 2008).

Nespolo (2009) ao verificar as características microbiológicas de salmão (*Salmo salar*) comercializado em algumas cidades da região nordeste de São Paulo, constatou que 80,64% das amostras não apresentaram o grupo de Coliformes a 45°C, indicando que a maioria das amostras apresentava qualidade sanitária satisfatória.

No entanto, Silva et al. (2002) ao avaliarem a qualidade microbiológica de 60 amostras de pescado comercializado em Maceió (40 de moluscos e 20 de diferentes tipos de peixes), relatam que 51 (85%) apresentaram Coliformes a 45°C com valores acima dos padrões permitidos pela legislação vigente e que em 36 (60%) amostras foi identificada *E. coli*. Segundo Lopez-Sabater et

al. (1996), os gêneros da família *Enterobacteriaceae* incluindo os Coliformes a 35°C, não fazem parte da microbiota normal do peixe fresco, pois não foram detectadas antes do 3º dia de estocagem a temperatura de 0°C e 24 horas a 8°C.

### 3.4.3 Infecção por *Vibrio sp* e *Vibrio parahaemolyticus*

As bactérias do gênero *Vibrio* se destacam, por esse ser o principal gênero envolvido em surtos de toxinfecção alimentar com pescado (MOURA FILHO et al., 2007). Este microrganismo foi isolado pela primeira vez no ano de 1950 na cidade de Osaka, Japão, durante um surto de gastroenterite veiculada por um alimento japonês *shirasu*, constituído por sardinha fervida em salmoura, parcialmente desidratada. Neste surto ocorreram 20 óbitos entre 272 casos (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

O *Vibrio* é um gênero da família *Vibrionaceae*, definida como bactérias Gram negativas na forma de bastonetes retos e curvos, móveis com flagelos peritríqueos e não esporogênicas. São anaeróbias facultativas, apresentando metabolismo respiratório e fermentativo. A maioria das espécies é oxidase positiva, reduz nitrato a nitrito e utiliza a glicose como única fonte de carbono e energia (SILVA et al., 2007).

Entre as várias espécies de *Vibrio* spp que habitam ambientes marinhos e estuarinos, o *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus* estão comumente envolvidos em casos de doenças gastrintestinais, e às vezes, em casos de septicemia. Infecções podem surgir devido ao consumo de mariscos crus, mal cozidos ou mal processados, ou por outros mariscos contendo níveis significativos de bactérias (PANICKER et al., 2004). *V. vulnificus* é um potente patógeno humano, e é responsável por mais de 95% de todas as mortes relacionadas com marisco (JONES & OLIVER, 2009).

*V. cholerae* é o agente patogênico causador da cólera, e são sorologicamente classificados por antígeno "O" em dois biotipos: clássica e El Tor. Sendo que cada biotipo apresenta três diferentes sorotipos, a saber, Ogawa, Inaba e Hikojima (SHINODA et al., 2010; TAKEDA, 2011). Os sorotipos

de *Vibrio cholerae* O1 e O139 oferecem risco a saúde pública principalmente nos países em desenvolvimento de status sócio-econômico baixo (SHINODA et al., 2010; CHARLES & RYAN, 2011) pois são causadores de epidemias, embora cepas de não-O1/não-O139 sorovares também estejam implicados na diarreia esporádica como agentes causadores de intoxicação alimentar (SHINODA et al., 2010) que desenvolve um quadro de extrema gastroenterite com grandes quantidades de diarreia levando à desidratação (MORRIS, 2003).

O *Vibrio parahaemolyticus* é o patógeno veiculado por alimentos marinhos que mais causa problemas de saúde pública no mundo (SU & LIU, 2007; NESPOLO, 2009). É uma bactéria halofílica, que tem seu crescimento afetado por fatores como salinidade e temperatura (KAYSNER & DePAOLA, 2001). A maior parte dos surtos tem sido causado pelo consumo de moluscos marinhos crus (ostras e mexilhões) e crustáceos cozidos (camarões, caranguejos e lagostas) (GERMANO & GERMANO, 2003). *V. parahaemolyticus* é freqüentemente isolado ao longo do ano em climas tropicais e durante os meses de verão em climas frios ou temperados, (NOVOTNY et al., 2004), envolvendo geralmente, regiões onde o hábito de consumir peixes crus é frequente através de pratos típicos conhecidos como *suschi* e *sashimi*, a exemplo, do Japão.

A virulência das cepas patogênicas de *V. parahaemolyticus* associadas a quadros de gastroenterites está relacionada à produção de uma hemolisina termoestável, *Thermostable direct Hemolysin* (TDH) (NISHIBUCHI et al., 1992; KAYSNER & DePAOLA, 2001), que exerce uma variedade de atividades biológicas tais como a atividade hemolítica, citotoxicidade, cardiotoxicidade e enterotoxicidade (HONDA & IIDA 1993; NISHIBUCHI & KAPER, 1995).

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos no intuito de detectar a presença de *V. parahaemolyticus* em alimentos, principalmente de origem marinha. Pesquisa realizada por Moura Filho et al. (2007), em sashimis de atum comercializados na região metropolitana do Recife - PE verificaram ausência do *Vibrio parahaemolyticus* nas amostras estudadas. Dams et al., (1996) avaliaram a qualidade microbiológica da pescadinha (*Cynoscion striatus*) inteira e de filés, nos principais pontos críticos de controle de uma

indústria de pescado congelado, e os resultados mostraram ausência tanto do *Vibrio parahaemolyticus* como do *Vibrio cholerae* nas amostras analisadas.

Pereira et al. (2004) pesquisando ostras (*Crassostrea rizophorae*) *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural, isolaram 141 cepas de *Vibrio parahaemolyticus*. Matté et al. (2007) verificaram a distribuição de espécies de víbrios potencialmente patogênicas em pescado, bem como fatores de virulência em isolados de *Vibrio metschnikovii*. Das 25 amostras de peixes e mariscos avaliados, foram observadas nove (36%) amostras positivas para *V. metschnikovii*, dois (8%) para *V. cholerae* não-O1/não-O139, quatro (16%) para *V. parahaemolyticus*, dois (8%) para *V. mimicus*, dois (8%) para *V. alginolyticus* e três (12%) para *V. vulnificus*.

Sobrinho et al. (2011) detectaram *V. parahaemolyticus* em 100% das 74 amostras de ostras comercializadas por vendedores em quiosques de praias, restaurantes e supermercados e em 89,3% das amostras de ostras comercializadas em cidades da China (CHEN et al., 2010). Rodrigues & Carvalho Filho (2011) encontraram *V. parahaemolyticus* em 85,7% das 84 amostras de ostras analisadas em todas as etapas de processamento (cultivo até o consumo final), o que comprova grande ocorrência deste agente em ostras.

#### **3.4.4 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria de forma esférica, não esporulada, imóvel que, quando observada ao microscópio, encontra-se aos pares, em cadeias curtas ou como aglomerados em cachos de uva. São anaeróbias facultativas, Gram positivas e catalase positiva. Os estafilococos são ubíquos no ambiente e podem ser encontrados: no ar, poeira, esgoto, água, superfícies ambientais, nos seres humanos e nos animais (HENNEKINNE et al., 2010). A presença de *S. aureus* pode indicar falha no processamento e manuseio impróprio do pescado, pois a bactéria pode estar presente nas fossas nasais, na garganta, nos cabelos e na pele do ser humano (SANTOS et al., 2008).

Este microrganismo pode se multiplicar em muitos tipos de alimentos e produzir enterotoxinas que causam intoxicação alimentar. Existem até o momento 21 tipos de enterotoxinas estafilocócicas (SE) produzidas por este microrganismo (SCHLIEVERT & CASE, 2007; HENNEKINNE et al., 2010), são: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J (BALABAN & RASOOLY ,2000), K (ORWIN et al.,2001), L, M, N,O (JARRAUD et al., 2001), P (OMOE et al.,2005), Q (ORWIN et al.,2001), R (OMOE et al.,2003) e U (LETERTRE et al., 2003).

As toxinas são proteínas de baixo peso molecular, resistentes à cocção e às enzimas proteolíticas. A ingestão de uma dose menor que 1mg pode provocar os sintomas da intoxicação e essa quantidade é atingida quando a população de *S. aureus* alcança valores maiores de 10<sup>6</sup> Unidades Formadoras de Colônia (UFC/g) de alimento (SILVA et al., 2007). As proteínas estafilocócica são conhecidas por serem pirogênicas e estão associadas a significativas doenças humanas que incluem intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico. Estas toxinas são, na maior parte, produzida por *Staphylococcus aureus*, embora outras espécies também possam ser enterotoxigênicas (PINCHUK et al., 2010). A intoxicação estafilocócica caracteriza-se por náusea, vômito, dor abdominal e diarreia com curto período de incubação, de 30 minutos a oito horas (WEI & CHIOU, 2002).

As bactérias podem ser inativadas através de tratamento térmico do alimento, mas as enterotoxinas são muito resistentes ao calor (YVES et al., 2003). Surtos de toxinfecções alimentares, relacionados à manipulação inadequada de produtos pesqueiros, vêm aumentando a cada ano, no mundo inteiro.

Duarte et al. (2010) estudando a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positivo em pescado, no nordeste, isolaram *Staphylococcus* coagulase positivo em três (2,1%) das 143 amostras analisadas. Pesquisa de Albuquerque et al. (2006) avaliando gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira de Mururie- CE, detectaram *Staphylococcus aureus* no gelo, de duas barracas (ditas A e B), na quantidade de quatro (14,3%) e sete (19,4%), respectivamente. Das 20 amostras das bancadas, 50% da barraca B e 10 % da barraca A, apresentaram contaminação por com *S. aureus*. Este

esteve presente nas mãos, cavidade nasal e oral de 100% dos vendedores, demonstrando assim, a importância da possível transmissão deste agente por estes manipuladores.

Cunha et al. (2006) pesquisando *Staphylococcus* coagulase negativo de alimentos detectaram genes produtores de toxinas. Um total de 88 amostras de alimentos, (entre queijos, leite, lanches e outros) foram analisados e 22,7% foram positivas para cepas de *Staphylococcus* coagulase negativas. A espécie de *S. epidermidis* predominou entre os isolados (40%). Isolados adicionais incluídos *S. xylosus* (20%), *S. warneri* (20%), *S. saccharolyticus* (15%), e *S. hominis* (5%). Quatro isolados foram positivos para os genes de enterotoxinas, sendo detectado por reação em cadeia da polimerase.

Em decorrência da grande patogenicidade deste agente em provocar a intoxicação em humanos, é que se devem adotar medidas higiênicas sanitárias importantes durante o manuseio e processamento dos alimentos, assim como o treinamento de todos os envolvidos na cadeia de produção.

### **3.4.5 *Aeromonas* spp**

O gênero *Aeromonas* engloba as bactérias que estão associadas aos ambientes aquáticos como águas doces, salgadas, tratadas, estuários e esgotos domésticos onde são reconhecidas sua patogenicidade desde 1984. (ISONHOOD & DRAKE, 2002; KIRKAN et al., 2003). Pertencem à microbiota autóctone de peixes e anfíbios (ASHIRU et al., 2011). Além dos ambientes aquáticos as bactérias deste gênero podem ser encontradas no solo, fezes de animais aquáticos, terrestres e fezes humanas. Foram encontradas em alimentos como pescados, vegetais, leite e alimentos processados (VIVEKANADHAN et al., 2002; RADU et al., 2003; EPA, 2006).

Estas bactérias são classificadas em dois grupos: psicrófila, não móvel, e mesófila, móvel. Este último compreende o grupo de maior gravidade pelos diferentes sorotipos que contém (SACHAN et al., 2012).

As *Aeromonas* fazem parte de populações microbianas associadas com reciclagem de compostos orgânicos e têm grande importância para a saúde

pública, uma vez que vivem em ambiente aquático, estando, assim, em constante contato com o homem (COELHO et al., 2010). No aspecto de saúde pública, as *Aeromonas* demonstram uma grande importância, sendo necessário um maior conhecimento a respeito de sua presença e distribuição, pois que eventual ocorrência poderá fornecer subsídios importantes para estudos epidemiológicos, envolvendo alimentos tais como: o pescado, hortaliças, etc., responsáveis por surtos de toxinfecções de origem alimentar, possibilitando também o controle e a recuperação dos ecossistemas (MARTINS, 2005).

Atualmente, as *Aeromonas* são consideradas não só como patógenos causadores de doenças importantes de peixes e outras espécies, mas também como agentes etiológicos responsáveis por várias complicações infecciosas em pessoas imunocomprometidas (JANDA & ABBOTT, 2010) e como microrganismo deteriorante, pela sua natureza psicrotrófica (VIVEKANANDHAN et al., 2005).

*Aeromonas* são responsáveis por uma gama de doenças intestinais e extra-intestinais e síndromes, que variam de doenças relativamente brandas tais como gastroenterite aguda, artrites a condições de risco a vida, incluindo septicemia, fascíte necrosante, mionecrose, endocardites e osteomielites (JANDA & ABBOTT, 1996; RODRIGUES et al., 2010). A patogênese do gênero *Aeromonas* é multifatorial, tendo sido associada a diferentes fatores de virulência: enterotoxinas, proteases, proteínas externas de membrana, presença de lipopolissacarídeo (LPS), S-camada, cápsulas e flagelos (VILCHES et al., 2009). A enterotoxina citotóxica, também conhecida como “aerolisinas” com atividade enterotóxica, citotóxica e hemolítica, tem sido descrita como o mais poderoso fator de virulência associado com doenças gastrintestinais mediadas por *Aeromonas* (MARTINS et al., 2002).

A maioria (> 85%) dos casos de gastroenterite é atribuída a três espécies de *Aeromonas*: *A. veronii* biovar *sóbria*, *A. caviae* e *A. hydrophila*. Esta última é móvel, catalase positiva, oxidase positiva, fermentadora de glicose, tem crescimento ótimo à temperatura de 28°C. A maioria das cepas de *A. hydrophila* produz enterotoxinas, hemolisinas e citotoxinas, que são

responsáveis pela adesão e colonização da mucosa epitelial, provocando o acúmulo de fluido que conduzem aos quadros de diarreias em humanos (DASKALOV, 2006).

Alguns trabalhos envolvendo o isolamento de *Aeromonas* em pescados já foram realizados. Hirsch et al. (2006) isolaram espécies de *Aeromonas* de peixes e ambientes aquáticos, onde obtiveram 75 isolados diferenciados em nove espécies de *Aeromonas*: *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. veronii veronii*, *A. schubertii*, *A. media*. Do total isolado, oito amostras foram provenientes da superfície corpórea de peixes, 14 da água de abastecimento e 53 da água de tanque.

Vivekanandhan et al. (2005), em pesquisa sobre a prevalência de *Aeromonas hydrophila* em peixes e camarões do mercado de frutos do mar de Coimbatore (Sul da Índia) verificaram que dos 536 peixes analisados, 180 (33,58%) estavam contaminados com *A. hydrophila*. Os autores atribuíram este nível de incidência nos mercados indianos à possível falta de saneamento e fatores como tempo e temperatura de conservação inadequada.

### **3.5 Qualidade do pescado e as boas práticas de manipulação**

A qualidade nos alimentos diz respeito à ausência de defeitos, ao conjunto de propriedades de um produto em conformidade com as características para as quais foi criada e à totalidade das características de um produto relacionada com sua habilidade em atender as necessidades explícitas e implícitas dos alimentos (SILVA & CORREIA, 2009). A qualidade de um produto alimentício não depende apenas da matéria-prima utilizada, podendo ser comprometida por uma série de fatores, relacionados principalmente à manipulação e conservação do mesmo (FIGUEIREDO, 2000).

A qualidade do peixe fresco, além da quantidade insuficiente de gelo, pode ser influenciada por hábitos não higiênicos dos manipuladores, como manipular o alimento quando apresentarem lesões e ou sintomas de enfermidades que possam comprometer a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (RDC 216, 2004). Como o pescado é um alimento altamente

perecível, para garantir a sua qualidade são necessários vários cuidados especiais que devem ser observados e controlados em toda a sua manipulação, desde a despesca até a comercialização (RODRIGUES et al., 2010).

O controle da qualidade do pescado inicia-se com a inspeção sanitária da matéria-prima, estendendo-se aos entrepostos e sistema de transporte, atingindo por último as indústrias processadoras (MARQUES et al., 1995). Essa qualidade pode ser verificada através da avaliação sensorial, microbiológica e química. A análise microbiológica consiste em avaliar os microrganismos existentes no próprio pescado, além dos que são adquiridos na captura, armazenamento, transporte e consumo podendo muitas vezes conter bactérias prejudiciais para a saúde humana, caso estejam fora dos limites estabelecidos (FERNANDES, 2000).

A RDC nº 216, de setembro de 2004, define as Boas Práticas de Fabricação como procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. No Brasil, não há denominação específica relacionada às Boas Práticas para barcos pesqueiros artesanais, porém, geralmente, o pescador manipula o pescado a bordo da seguinte forma: realizando a lavagem, separação por espécie e tamanho, fazendo uso de gelo e utilizando equipamentos como caixas e pás para transferir o produto (MACHADO et al., 2010).

Aplicar as boas práticas de manipulação é essencial, em todas as etapas da cadeia de comercialização, diminuindo a perda da qualidade e deterioração da musculatura do pescado (FREIRE et al., 2011).

### **3.6 O papel do gelo na conservação do pescado**

A conservação tem por objetivo preservar os alimentos ao longo do tempo, evitando a deterioração para uso futuro (CAMARGO, 2007). A principal medida de conservação do pescado, no início da cadeia produtiva, constitui-se no resfriamento através do gelo.

Segundo Frazier & Westhoff (1988), o gelo retarda a ação de deterioradores de alimentos, pois cada microrganismo apresenta uma temperatura ótima mínima para seu crescimento, abaixo da qual ele não terá condições para se multiplicar.

O gelo pode apresentar-se sob a forma de blocos, britada ou ainda na forma de escamas, sendo esta, a mais utilizada para se evitar lesões na superfície da pele do peixe o que poderá promover a contaminação da carne pela entrada de microrganismos, além de diminuir seu valor de mercado (ONTARIO, 2008). O gelo pode ser finamente triturado, para um melhor contato com o pescado e para evitar que qualquer pedaço grande possa causar dilaceramento de seus tecidos, gerando prejuízos. Deve-se utilizar na proporção de 1:1 (gelo: peixe), variando da espécie e tamanho do pescado (VIEIRA, 2004).

Contudo, o gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser um importante veículo de contaminação microbiana, sendo que no Brasil já foi observada a baixa qualidade do gelo utilizado na refrigeração, apresentando grandes quantidades de microrganismos (PIMENTEL, 2001). Cuidados importantíssimos devem ser adotados, também, durante o armazenamento do gelo, pois em seu estado líquido, poderá carrear impurezas que estiverem presentes no seu local de armazenamento. Desta forma, o gelo empregado na conservação do pescado deverá ser de ótima qualidade em relação ao seu aspecto microbiológico, pois afetará diretamente a qualidade do alimento.

Vieira (2004) relata que se o gelo empregado na conservação do pescado for preparado a partir de água contaminada, será evidente a contaminação do mesmo durante o resfriamento. Segundo Germano et al. (2001), a maioria dos microrganismos que contaminam o pescado está relacionada com a qualidade da água utilizada para elaboração do gelo usado na conservação e/ou com os procedimentos pós captura. Giampietro & Resende-Lago (2009) ao verificarem a qualidade de 30 amostras de gelo utilizado na conservação do pescado fresco, constataram que 29 (96,7%) amostras analisadas apresentaram-se contaminadas por Coliformes a 35°C e 22 (73,3%) por Coliformes a 45°C.

Falcão et al. (2002) ao avaliarem 60 amostras de gelo coletadas em seis pontos diferentes de venda na cidade de Araraquara, SP, verificaram 50 isolados de *E. coli* de diferentes sorotipos, bem como, a presença de *Y. enterocolitica* e *Salmonella Enteritidis*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

A pesquisa foi realizada no Município de Cedral (Figura 1), principal produtor de *C. acoupa* no estado do Maranhão com grande expressividade da pesca com malhão. O município de Cedral está localizado a 2°02'28" de latitude Sul e a 44°31'36" de longitude Oeste, a 31,5 milhas (em linha reta) de São Luís. Em 2010, a população do município era de 10.297 habitantes, conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010).

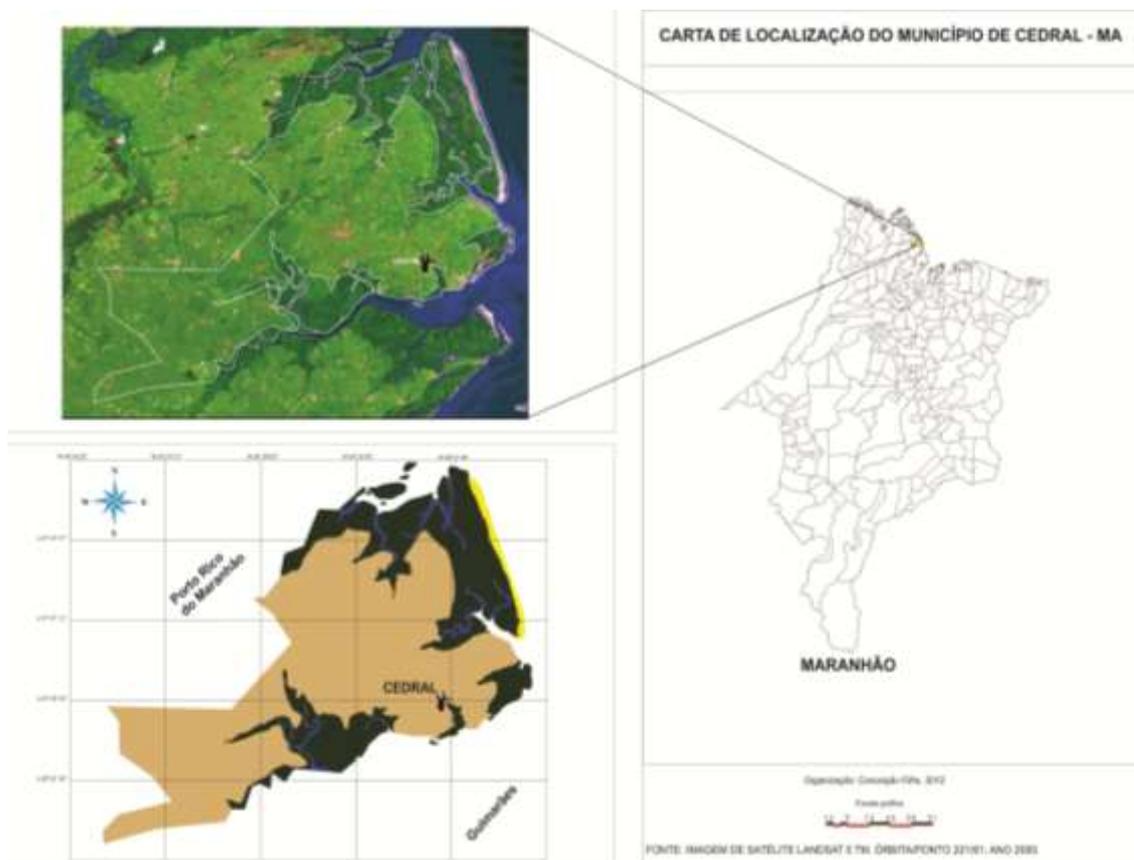


Figura 1. Localização do Município de Cedral - MA

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

Foram aplicados questionários aos pescadores do município. O questionário (Apêndice) é composto de perguntas abertas e fechadas, referente à captura, manipulação, higiene e armazenamento da pescada amarela.

## 4.3 Obtenção das amostras

Foram coletados 14 lotes de pescada amarela no período de março a dezembro de 2011, obtendo-se três unidades de peixes frescos (Figura 2) por lote, totalizando 42 unidades amostrais provenientes do desembarque em Cedral.



Figura 2. Espécie *C. acoupa*

Paralelamente, foram colhidas 11 amostras de gelo provenientes das Fábricas locais do município de Cedral onde o gelo é utilizado no resfriamento dos peixes pelos pescadores.

As amostras de pescada e gelo foram colocadas, individualmente, em sacos plásticos estéreis, e acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo blocos de gelo e transportadas para Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram analisadas.

#### **4.4 Análises microbiológicas das amostras**

##### **4.4.1 Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em gelo (BRASIL, 2003)**

Para a determinação presuntiva de Coliformes a 35°C inoculou-se 10 mL da amostra do gelo descongelado em uma série de 3 tubos contendo Caldo Lauril Triptose (LST) em concentração dupla. Em seguida, inoculou-se 1 mL da amostra na segunda série de 3 tubos contendo Caldo Lauril Triptose (LST), de concentração simples e volumes de 0,1 mL em uma terceira série contendo o mesmo meio. A série de tubos foi incubada em estufa bacteriológica à temperatura de 35°C por 24 a 48h, considerando-se como positivo, os tubos que apresentaram com turvação e com produção de gás.

Para a prova confirmativa, uma alíquota de cada tubo positivo foi inoculado em caldo Verde Brilhante Bile 2% lactose (VBBL) e incubados a 35°C por 24 a 48h. Os tubos com produção de gás foram considerados positivos para a presença de Coliformes a 35°.

Para determinação do número mais provável de Coliformes a 45°C, alíquotas dos tubos positivos, no meio anterior, foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 45,5°C por 24 h, em banho-maria. Posteriormente, o número de tubos de EC com produção de gás, foi considerado confirmativo para a presença de Coliformes a 45°, e determinado o NMP conforme a tabela de Hoskins (BRASIL, 2001). Para a pesquisa de *Escherichia coli* nas amostras de gelo seguiu-se a mesma metodologia adotada para o pescado.

##### **4.4.2 Contagem de Psicotróficos em gelo (SILVA et al, 2007, com adaptações)**

A contagem foi feita através do método de plaqueamento em profundidade, preparando-se inicialmente as diluições decimais. A amostra de gelo em estado líquido foi considerada como diluição  $10^{-1}$ , de onde se retirou 1 mL que foi adicionado em tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada a

0,1%, constituindo-se da diluição  $10^{-2}$ , e desta procedeu-se da mesma forma para obter-se a diluição  $10^{-3}$ . A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , retiraram-se 1 mL de cada diluição e transferiu-se para três placas de Petri estéreis. Em seguida, adicionou-se 12 a 15 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), previamente fundido e resfriado. Após homogeneização e ocorrido a solidificação do Agar em temperatura ambiente, as placas foram incubadas, invertidas, em estufa BOD em temperatura de 28°C por 48 horas. Para a referida contagem, selecionaram-se placas com 25 a 250 colônias, segundo a técnica padrão, utilizando para tal um contador de colônias.

#### **4.4.3 Preparo das amostras de pescada amarela (BRASIL, 2003)**

As amostras de peixe foram filetadas e realizados cortes pequenos, onde pesou-se 25g de cada amostra que foi homogeneizada em 225 mL de água peptonada a 0,1%, constituindo-se a diluição inicial de  $10^{-1}$ . A partir da diluição inicial ( $10^{-1}$ ), alíquota de 1 mL foi adicionada em 9mL de água peptonada, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$  e assim sucessivamente até a diluição  $10^{-3}$ .

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

Para a Determinação de Coliformes a 35°C pelo método do (NMP) inoculou-se 1mL de cada diluição em três séries de três tubos contendo LST concentração simples, os quais foram incubados a estufa bacteriológica a 35°C por 24-48h. Consideraram-se como positivos na prova presuntiva, os tubos com crescimento e produção de gás. Para a confirmação dos Coliformes a 35°C, uma alçada de cada tubo positivo foi transferida para tubos contendo caldo VBBL e incubados a 35°C (24-48h) sendo considerado como positivo os tubos com crescimento e produção de gás.

Para a Determinação de Coliformes a 45°C, alíquotas dos tubos positivos no caldo VBB foram inoculadas em tubos contendo caldo EC, os

quais foram incubados em banho-maria a 45,5°C por 24-48 h. Os tubos com produção de gás foram considerados positivos para a presença de Coliformes a 45°. O cálculo do Número Mais Provável (NMP)/g foi realizado conforme a tabela de Hoskis (BRASIL, 2001).

#### **4.4.5 Isolamento de *Vibrio parahaemolyticus* (ELLIOT, KAYSNER & TAMPLIN, 2004)**

##### **4.4.5.1 Enriquecimento**

Para o enriquecimento de *Vibrio parahaemolyticus* homogeneizou-se 25 g do músculo da pescada amarela e adicionou-se em 225 mL de Água Peptonada Alcalina (APA), e incubou-se em estufa bacteriológica de 35°C/24h.

##### **4.4.5.2 Plaqueamento diferencial e isolamento**

A partir do crescimento bacteriano em APA, coletou-se uma alçada das células que ficam concentradas na superfície do meio e esta foi inoculada (em estrias) em placas contendo Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS), sendo incubadas a 35°C/18-24h. Após o crescimento, selecionaram-se 3 colônias não fermentadoras de sacarose (caracterizadas por colônias verdes) que foram repicadas em Agar Trypticase de Soja (TSA), e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C/24h. A partir do crescimento, foi realizada a coloração pelo método de Gram e observadas às características sugestivas como: bacilos Gram-negativos e polimorfos.

Posteriormente, cada colônia foi repicada em profundidade, utilizando alça de níquel-cromo agulha, nos ágares SIM (Sulfide, Indole and Motility) e TSI (Triple Sugar Iron), simultaneamente, todos contendo 3% de cloreto de sódio e incubados em estufa bacteriológica por 24 horas a 35° C. Considerou-se sugestivo para o *Vibrio* os tubos de TSI que continham base ácida (amarelo) e bisel alcalino (vermelho), sem produção de gás e sem produção de H<sub>2</sub>S. Para o meio SIM, as colônias que se apresentaram móveis e produtoras de Indol,

revelado pelo reagente de Kovac's, foram consideradas sugestivas para o microrganismo.

As colônias positivas aos testes anteriores foram submetidas às provas adicionais de identificação bioquímicas: oxidase, hidrólise da arginina, descarboxilação da lisina e ornitina, prova do halofilismo, teste de oxidação e fermentação (O/F) da glicose, do crescimento a 42°C, Voges-Proskauer e fermentação de carboidratos (manose, lactose, manitol, trealose, arabinose e celobiose).

#### **4.4.6 Pesquisa de *Salmonella* spp (ICMSF, 1988)**

Para a pesquisa de *Salmonella* spp foi realizado o pré-enriquecimento, pesando-se 25g do músculo do peixe fresco, no qual foi adicionado de 225 mL de água peptonada a 0,1%, e homogeneizou-se por 60 segundos e incubado em estufa bacteriológica a 37°C/24 horas. Em seguida, realizou-se o enriquecimento seletivo, utilizando os caldos Rappaport-Vassiliadis e Seletino Cistina. Para tal, foram inoculadas alíquotas de 1 mL de cada amostra pré-enriquecida para dois tubos, um contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis e outro 10 mL do Caldo Caldo Seletino Cistina, adicionados de 1 mL de uma solução de novobiocina a 0,4% e incubados a 37°C/24 horas, em estufa bacteriológica.

A partir do crescimento nos meios de enriquecimento, foram transferidas alíquotas (utilizando uma alça de níquel-cromo) e semeadas em placas de Petri contendo Ágar Entérico de Hektoen (HE), Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Agar *Salmonella Shigella* (SS) para plaqueamento seletivo, as quais foram incubadas em estufa de 37°C por 24 horas. Após este período, selecionaram-se três colônias típicas de *Salmonella*, conforme o meio seletivo, para posterior identificação bioquímica.

Para as provas bioquímicas, as colônias típicas foram repicadas na superfície inclinada do Agar TSI e no Agar Lisina (LIA), e incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foi feita a leitura, sendo presumíveis de *Salmonella* as culturas que no TSI mostraram-se com bisel vermelho e base

amarela, com ou sem produção de H<sub>2</sub>S, e que no LIA apresentaram-se com base e bisel de cor púrpura.

As colônias sugestivas foram repicadas em Ágar TSA e submetidas à confirmação do gênero através de teste sorológico utilizando-se os soros polivalentes somático e flagelar. A partir de cada cultura estocada em TSA, colônias foram transferidas para um tubo de ensaio (pequeno e estéril) contendo 0,2 mL de solução fisiológica e a suspensão foi homogeneizada. Esta suspensão foi transferida para uma lâmina e adicionado uma gota do soro polivalente, realizando-se movimentos ondulares durante 2 minutos, considerando positivo para o teste a reação de soroaglutinação entre antígeno-anticorpo, caracterizada por formação de grumos.

#### **4.4.7 Pesquisa de *Escherichia coli* (BRASIL, 2003)**

Para a pesquisa de *Escherichia coli* nas amostras dos peixes, semeou-se alíquotas de cada tubo positivo no caldo EC em placas contendo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubou-se em estufa bacteriológica a 37°C por 24h. Após este período, selecionaram-se 3 colônias sugestivas (azul escura com brilho metálico) e transferiram-se para tubos de TSA inclinado e incubados em estufa bacteriológica a 35°C/24h. Em seguida, foram realizados esfregaços corados pelo método de Gram para a verificação de sua morfologia. Constatada a presença de bacilos Gram-negativos, estes foram submetidos à confirmação bioquímica, realizando-se os testes: produção de Indol (I), Vermelho de metila (MV), Voges-Proskauer (VP) e do Citrato (C), segundo a técnica descrita por Vanderzant & Splittsoesser (1992).

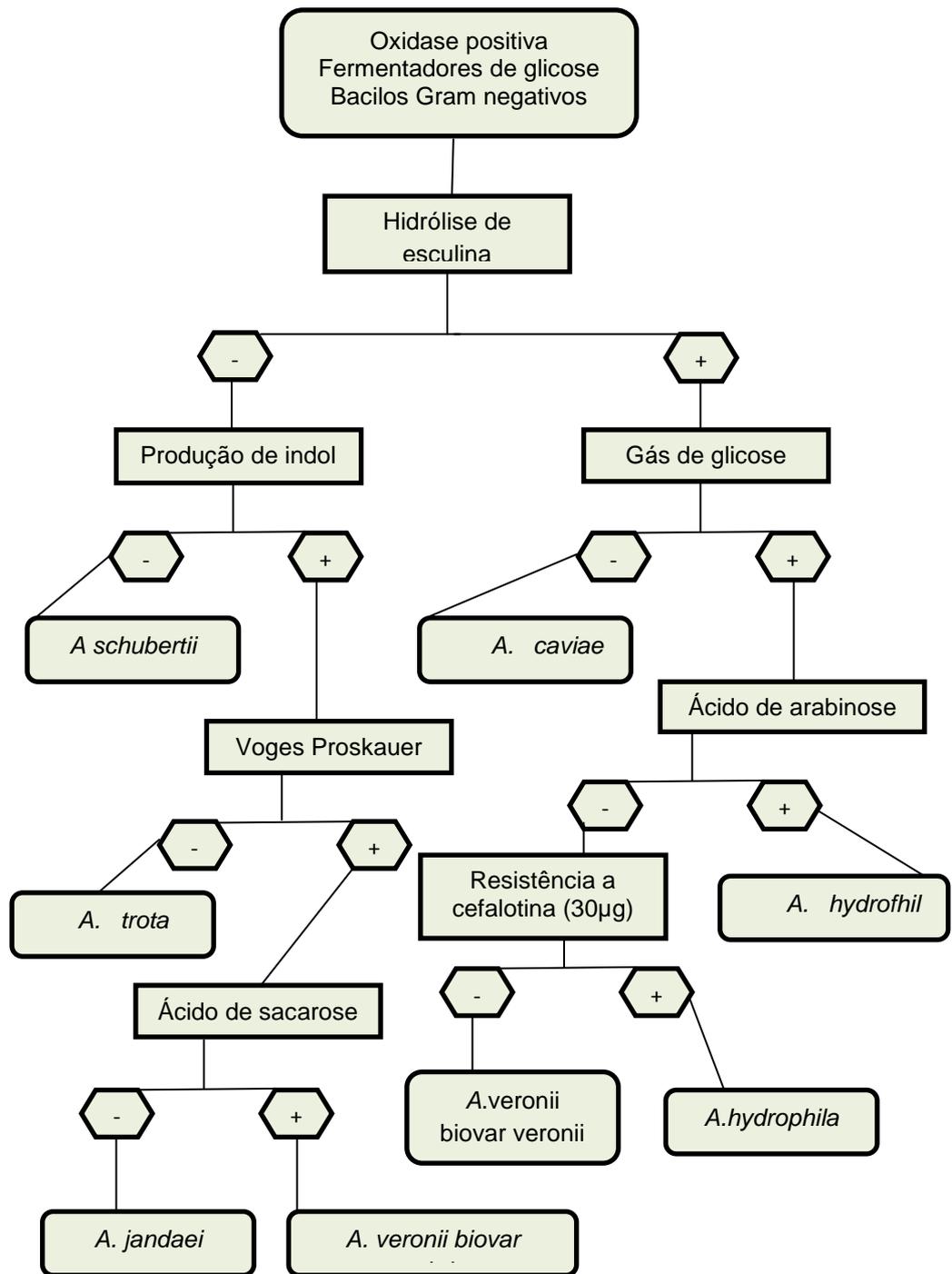
#### **4.4.8 Pesquisa de *Aeromonas spp***

Pesou-se 25 gramas da amostra em 225 mL do Caldo Trypticase Soja (TSB) adicionado de ampicilina (30 mg/L), e incubou-se a 28°C em BOD por 24 h. Após este período, foram semeadas alíquotas do crescimento bacteriano em placas contendo Ágar Vermelho de Fenol-amido-ampicilina (PALUMBO et al.,

1991; MAJEED et al., 1990) e Ágar Dextrina-ampicilina, segundo Havelaar & Vonk (1988), adicionadas de ampicilina (10mg/L) e incubadas em BOD a 28°C por 24 horas. Para isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero, foram selecionadas até três colônias típicas (cor amarela, rodeada por um halo transparente), que foram semeadas em tubos contendo Ágar TSA inclinado, os quais foram incubados a 28°C por 24 h.

Após a incubação, foi realizada coloração pelo método de Gram e selecionadas as culturas que se apresentaram na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas. As colônias foram repicadas em Ágar TSI (SAAD et al.,1995) e incubadas a 28°C por 24h, sendo consideradas positivas as culturas que apresentavam reação ácida na base e bisel. As culturas positivas foram submetidas à prova de catalase e oxidase. Para a realização do teste de oxidase, transferiu-se a cultura estocada em TSA, com auxílio de uma alça de platina e realizou-se o esfregaço na superfície das tiras de oxidase e após dois minutos, verificou-se o aparecimento da cor violeta caracterizando resultado positivo. Os cultivos positivos nessas provas foram considerados como pertencentes ao gênero *Aeromonas*.

As cepas de *Aeromonas* foram submetidas às provas bioquímicas segundo a chave de identificação Aerokey II (CARNARHAN et al.,1991) apresentada na figura 3 composta de: hidrolise da esculina, produção de indol, produção de gás a partir de glicose, Voges Proskauer, produção de ácido a partir da arabinose e da sacarose e resistência à cefalotina (30µg).



**Figura 3.** Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas (adaptado de CARNAHAN et al., 1991).

#### **4.4.9 Quantificação de *Staphylococcus* spp e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo (BRASIL, 2003)**

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 placas contendo Agar Baird-Parker (BP), adicionado de telurito de potássio e gema de ovo, e o inóculo foi distribuído em toda a placa com auxílio de alça de Drigalsky sendo as placas incubadas em estufa bacteriológica a 35°C durante 48 horas. Após este período, foi realizada a contagem do número de colônias que apresentavam 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* spp foram submetidas à prova de catalase, que consistia em transferir a colônia com a alça de níquel-cromo previamente flambada, para uma lâmina de vidro e adicionar-se uma gota de água oxigenada para observação de borbulhamento imediato como resultado de liberação de oxigênio revelada no caso de reação positiva.

As colônias positivas para catalase foram submetidas a coloração pelo método de Gram e verificada sua morfologia. Só então, foram transferidas para tubos de ensaio contendo caldo cérebro-coração (BHI) e incubadas a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas. Posteriormente foi realizada a verificação do teste de coagulase, sendo acrescentando, em um tubo de ensaio estéril, 0,5 mL do crescimento em caldo BHI e 0,5 mL de plasma de coelho, onde incubou-se em banho-maria a 37°C. A leitura foi realizada a cada duas horas, considerando-se como positivo qualquer grau de coagulação.

#### **4.4.10 Contagem de microrganismos heterotróficos aeróbios mesófilos (APHA, 2001).**

Para a quantificação de bactérias aeróbias mesófilas utilizou-se o método do plaqueamento em profundidade. Para tal, foi semeado 1 mL de cada diluição preparada em placas de Petri esterilizadas, às quais foram

adicionadas 12 a 15 mL de Ágar PCA, previamente fundido e resfriado. Após a homogeneização e solidificação do meio em temperatura ambiente, as placas foram incubadas (invertidas) em estufa bacteriológica à temperatura de 35°C por 24-48 horas. Após o período de incubação, selecionaram-se as placas contendo entre 20 e 200 colônias para a realização da contagem de bactérias. Após contagem das colônias, multiplicou-se o resultado pelo respectivo fator de diluição e tirou-se a média aritmética da amostra. O valor encontrado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g).

#### **4.5 Avaliação sensorial**

A qualidade dos atributos sensoriais da pescada amarela desembarcada no município de Cedral foi realizada conforme critérios determinados pela legislação constante na Portaria n° 185 do Ministério da Agricultura (BRASIL,1997) (Anexo). Mediante o somatório de todos os atributos, foram considerados de primeira qualidade, os que obtiverem valores de pontuação entre 37 e 52; de segunda qualidade, os que obtiverem entre 18 e 36 pontos; e de terceira e última qualidade, os que obtiverem menos de 17 pontos.

#### **4.6 Análise química do Peixe fresco**

As análises químicas de todas as amostras foram realizadas em triplicata.

##### **4.6.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA)**

Foram pesados 100g da amostra em um béquer de 100 mL e colocado em um liquidificador adicionado de um volume de 300 mL de solução de ácido tricloroacético a 5%, para sua trituração. Em seguida, o líquido foi filtrado, e retirado 5 mL do extrato para destilação, onde adicionou-se 5 mL de solução de hidróxido de sódio 2 M. O destilado foi recebido em erlenmeyer contendo 5 mL de solução de ácido clorídrico 0,01N, e adicionado do indicador, até coletar

cerca de 15 mL do destilado. Após este processo, realizou-se a primeira titulação com solução de hidróxido de sódio a 0,01N até se obter uma coloração rósea pálida. Para a determinação de TMA, adicionou-se, em seguida, 1 mL de solução de formaldeído para cada 10 mL de líquido, no Erlenmeyer e realizada a segunda titulação (BRASIL, 1981). 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 4. Esquema da determinação das Bases Voláteis Totais e Trimetilamina

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da avaliação da qualidade do gelo produzido nas três fábricas localizadas no município de Cedral estão apresentados na Tabela 1. Conforme a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro (BRASIL, 2011), a água utilizada para fabricação de gelo deve ser isenta de Coliformes em 100 mL da amostra.

Pelos dados encontrados, verificam-se que as amostras de gelo das três fábricas apresentaram contaminação por Coliformes a 35°C com variações de <3,0 a 460 NMP/mL e de <3,0 a 93 NMP/mL para o grupo de Coliformes a 45°C; observa-se que na fábrica A, duas (50%) das quatro amostras analisadas estavam em desacordo com a legislação para Coliformes a 35°C e uma (25%) para coliformes a 45°C. Na fábrica B, três (75%) das amostras estavam fora dos padrões para Coliformes a 35°C, e na fábrica C todas as amostras estavam em desacordo com a legislação vigente para Coliformes a 35°C e uma (66,66%) para Coliformes a 45°C. Sabe-se que o gelo para utilização em alimentos deve ser fabricado a partir de água potável, mantido em condição higiênico-sanitária que evite sua contaminação. Desta forma, estes resultados mostraram contaminação dos gelos indicando que os mesmos são inadequados para utilização na conservação de pescados.

No que se refere a contagem dos psicrotóxicos, observaram-se, para as amostras da fábrica A contaminação com variação entre  $2,4 \times 10^2$  a  $8,8 \times 10^4$  UFC/mL; Na fábrica B estavam contaminadas com valores variando de  $5 \times 10^2$  a  $7,3 \times 10^4$  UFC/mL; e na fábrica C, entre  $6,1 \times 10^3$  a  $1,8 \times 10^4$  UFC/mL. A presença de microrganismos deterioradores nos gelos utilizados para resfriamento do pescado, pode favorecer a sua menor durabilidade (VARGAS & QUINTAES, 2003), em decorrência destas bactérias serem dotadas de características proteolíticas e lipolíticas (LANZARIN et al., 2011).

Tabela 1 - Número Mais Provável de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e Quantificação em UFC/mL de Psicrotróficos nas amostras de gelo, provenientes das fábricas localizadas em Cedral – MA, 2012.

Fábricas de Gelo	Amostras	Coliformes a 35°C (NMP/mL)	Coliformes a 45°C (NMP/mL)	<i>E. coli</i>	Psicrotróficos (UFC/mL)
A	01	<3,0	-	-	$2,4 \times 10^2$
	02	<3,0	-	-	$3,7 \times 10^4$
	03	9,2	<3,0	-	$3,2 \times 10^3$
	04	210	23	ausência	$8,8 \times 10^4$
B	05	23	<3,0	-	$5 \times 10^2$
	06	<3,0	-	-	$7,3 \times 10^4$
	07	7,4	<3,0	-	$2,6 \times 10^3$
	08	9,2	<3,0	-	$3,2 \times 10^3$
C	09	460	93	ausência	$1,8 \times 10^4$
	10	23	<3,0	-	$6,1 \times 10^3$
	11	150	3,6	ausência	$2,1 \times 10^3$

A origem da água utilizada para a fabricação do gelo destaca-se como um fator predisponente à contaminação aqui verificada, pois duas das fábricas funcionam com água oriunda de poço artesiano (A e B), o que possivelmente, apresenta falhas de manutenção. Dorta et al. (2011) verificaram a qualidade do gelo produzido por três fábricas, todas com águas provenientes de poços artesianos, sendo enumerado Coliformes a 35°C e *E. Coli* nas amostras analisadas.

Durante a coleta das amostras foi verificado que a caixa de água da fábrica B, estava aberta, o que pode ter favorecido a contaminação por Coliformes. Siqueira et al. (2011), relatam que a maior contaminação da água de abastecimentos públicos ocorre através de caixas de água que permanecem abertas ou mal fechadas.

Essa contaminação pode ter ocorrido em decorrência das condições de infraestruturas das fábricas e inadequado manuseio do produto, já que foi possível observar o contato do gelo diretamente com as mãos dos funcionários que manipulavam sem uniformes e sem luvas, conforme ilustra a figura 5.



**Figura 5.** Funcionário manipulando o gelo

A contaminação do gelo pode ter ocorrido também durante o transporte até o comprador, que era realizado através de baldes e sacos do tipo nylon, utilizado, normalmente, para armazenamento de produtos agropecuários, em que muitas vezes, encontrava-se com sujidades. Pesquisa realizada por Vargas & Quintaes (2003) com caixas plásticas tipo monoblocos utilizadas no armazenamento e transporte de pescado em São Paulo, verificaram 100% de contaminação destas caixas por um ou mais patógenos, sendo que 50% continham o grupo de Coliformes, o que indica uma provável contaminação cruzada.

Falcão et al. (2002) ressaltam a importância da manutenção do gelo sob rigorosas condições de higiene, uma vez que, o gelo pode ser usado diretamente ou indiretamente para refrigerar alimentos como bebidas e/ou produtos oriundos da pesca.

A condição higiênica inadequada observada nas amostras de gelo das fábricas corresponde a um ponto crítico na cadeia de produção da pescada amarela, uma vez que, pode está interferindo na qualidade final deste produto. O levantamento dos Pontos Críticos de Controle é uma das etapas no processo de implantação do Plano APPCC, sendo fundamental para o estabelecimento dos requisitos para garantia da qualidade higiênico-sanitária do produto, visando à proteção da saúde da população, e principalmente, porque consiste

em uma ferramenta de busca da melhoria contínua da qualidade (RODRIGUES & CARVALHO FILHO, 2011).

Scherer et al. (2004) observaram que o uso de gelo com água clorada foi efetivo na redução da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos na carne de carpa capim armazenada inteira sob refrigeração, ampliando em aproximadamente 3 dias a vida de prateleira desta espécie. Esta pode ser uma medida a ser adotada pelos pescadores e empresários do ramo no Município em estudo.

Na Tabela 02 está representada a determinação do NMP de Coliformes a 35°C e a 45°C nas 42 amostras de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) analisadas, onde 20 (47,61%) amostras apresentaram intervalos de contagem entre 3,0 a 93 NMP/g para Coliformes a 35°C e sete (16,67%) amostras apresentaram intervalos de 3,0 a 23 NMP/g para Coliformes a 45°C sem isolamento de *Escherichia coli*. As baixas contagens de Coliformes a 45°C observadas, refletem possivelmente, um habitat de captura da pescada amarela pouco contaminado por dejetos, e também, à elevada concentração de NaCl no ambiente aquático.

Os coliformes têm pouca tolerância à salinidade das águas do mar, e sendo o sal tóxico para estes microrganismos, ocorre a eliminação de 90% da população de *E. coli* em poucas horas ou em minutos, quando esta bactéria entra em contato com águas marinhas (HAGLER & HAGLER, 1988). Outra possibilidade para o baixo isolamento de coliformes pode ser explicada pela provável presença da *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras, pois segundo Coelho et al. (2010) a *P. aeruginosa* produz uma substância denominada "Pseudocin", que tem efeito bacteriostático sobre o crescimento de *E. coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* e *Klebsiella* sp., podendo dificultar o isolamento destes, alterando assim, os resultados laboratoriais.

A presença de coliformes observada, mesmo em baixa contagem nas amostras de peixe, pode ser decorrente da contaminação dos gelos utilizados durante a conservação do pescado, pois verificou-se contagens para estes microrganismos nas amostras avaliadas. Sabe-se que o gelo pode transferir

microrganismos para o pescado, pois está em contato direto com este, sendo importante a utilização de gelo de ótima qualidade neste processo.

Outra forma de contaminação pelos coliformes pode ter ocorrido durante a lavagem da pescada amarela com água de origem desconhecida, onde não se sabe a qualidade sanitária desta água e também, durante o processo de evisceração que é realizado em piso de madeira do próprio porto, após o desembarque, material este de difícil limpeza e desinfecção, favorecendo assim, a contaminação do produto.

Silveira et al. (2011) ao avaliarem as condições higiênico-sanitária da cadeia produtiva do pescado marinho da Baixada Santista - SP, observaram contaminação por Coliformes a 45°C dos peixes analisados antes mesmo do desembarque, o que indica deficiência das práticas higiênicas por parte dos pescadores. Neste contexto, não se descarta a possibilidade deste episódio também está relacionado às contagens de coliformes verificada nas amostras da pescada amarela, uma vez que as embarcações utilizadas para a captura da pescada amarela são pequenas e constituídas de madeiras.

Vale ressaltar que a manipulação adequada, durante toda a cadeia produtiva proporciona um alimento final de boa qualidade, já que no início da cadeia (desembarque) os níveis de contaminação foram baixos. Contudo, por ser considerado um pescado fresco esta baixa contagem observada na matéria prima representa um dado preocupante, se considerarmos que esta pequena parcela de peixes contaminados, ainda passará por um extenso caminho até chegar ao consumidor. E dependendo das condições de manipulação e armazenamento, poderá ocorrer a multiplicação destes microrganismos, cuja concentração pode torna-se patogênica ao ser humano. Dias et al. (2010) constataram esta situação, pois ao verificarem a qualidade de peixe comercializado em feiras e mercados de Imperatriz, MA, identificaram alta contaminação por Coliformes a 45°C nas amostras analisadas.

Tabela 2 – Determinação do Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes a 35°C e a C. a 45°C e percentual de contaminação da pescada-amarela em Cedral - Maranhão, 2012.

NMP/g	Coliformes a 35°C		Coliformes a 45°C	
	N	%	N	%
< 3,0	22	52,38	35	83,33
3,0 a 7,4	12	28,57	4	9,52
11 a 21	4	9,52	2	4,76
23 a 29	3	7,14	1	2,39
93	1	2,39	-	-
<b>TOTAL</b>	42	100%	42	100%

Na Tabela 3, verificam-se os resultados para bactérias aeróbicas mesófilas, onde 32 (76,19%) amostras apresentaram contagem entre  $4 \times 10^4$  a  $6,4 \times 10^5$  UFC/g. A Resolução nº12, de 2 de janeiro de 2001, não estabelece padrões microbiológicos para contagem de mesófilos em alimentos. No entanto, a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1986) recomenda que os limites para mesófilos aeróbios não deve exceder valores maiores que  $10^7$  UFC/g, em peixes destinados ao consumo humano. Considerando este limite, as amostras estavam dentro dos padrões. Entretanto, a presença destes microrganismos em alimentos representa risco, pois a maioria dos patogênicos pertence a este grupo (FRANCO & LANGRAF, 2005).

Segundo Coelho et al. (2010), as bactérias mesófilas aeróbias quando presentes em grande número indicam insalubridade. A elevada contagem desse microrganismo em alimentos representa condições insatisfatórias de armazenagem e conservação do produto, desta forma, torna-se fundamental a manipulação e armazenamento de forma adequada da pescada amarela, por parte dos pescadores. Pois, as bactérias mesófilas poderão continuar seu processo de multiplicação, o que dependerá do inadequado armazenamento e temperaturas favoráveis. Ao elevar-se a concentração dessas bactérias, conseqüentemente, acelera-se o processo de deterioração da carne do pescado.

Tabela 3 - Contagem de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de pescada amarela desembarcadas em Cedral, Maranhão, 2012.

Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g)	Mesófilos	
	N	%
Ausência	10	23,81
$4 \times 10$ a $6,9 \times 10^3$	21	50
$1,9 \times 10^4$ a $6,4 \times 10^5$	11	26,19
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100%</b>

Resultado semelhante, foi detectado por Fernandez & Barbosa (2010) que ao avaliarem microbiologicamente sardinhas descabeçadas e evisceradas oriundas de peixarias do bairro da Pavuna-RJ, verificaram contagens entre  $2,0 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^5$  de bactérias mesófilas nas amostras. Muratori et al. (2004) encontraram contagens entre  $10^5$  e  $10^6$  UFC/g de bactérias mesófilas em 55,9% das amostras de branquinhas *in natura* (*Curimatus ciliatus*) na cidade de Teresina-PI, a qual consideraram alta contagem.

Constata-se que os mesófilos são relevantes para caracterizar as formas de manipulação dos alimentos, desta forma, é de grande importância que a legislação vigente estabeleça limites desses microrganismos em peixes *in natura*, a fim de que se garanta uma maior qualidade do pescado fresco.

No que se refere à presença de *Salmonella* spp. verificou-se que todas as amostras avaliadas estão de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001) que estabelece ausência deste microrganismo em 25 g do alimento estudado. Sabe-se que esta bactéria não faz parte da microbiota natural do pescado, sendo encontrada normalmente no trato intestinal do homem e de animais. Assim, sua presença decorre da alta contaminação do local onde os pescados são capturados ou da pós-captura, quando manipulado de forma inadequada. Como no presente estudo não foi verificado uma contaminação elevada do pescado pelo grupo dos coliformes, justifica-se a ausência desta bactéria nas amostras analisadas. Resultado diferente foi verificado por Duarte

et al. (2010) que ao avaliarem a presença deste patógeno em 50 amostras de peixe fresco detectaram *Salmonella* spp em 4% destes.

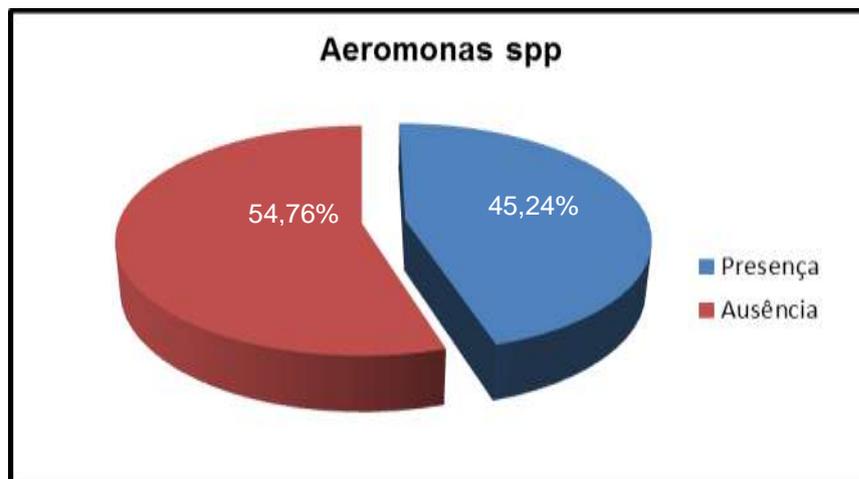
Pelos resultados obtidos verificou-se, também, ausência de *Vibrio parahaemolyticus* em 100% das amostras analisadas. Pressupõe-se que a ausência desse microrganismo deve-se ao fato do mesmo possuir exigências próprias dos *Vibrios* patogênicos. Já que sua presença independe da poluição antropogênica, mas é dependente da temperatura, salinidade e matéria orgânica (HERVIO-HEATH et al., 2002).

Malavota et al. (2009) também verificaram ausência de *Vibrio parahaemolyticus* em 100% das amostras de sushis analisadas em dois restaurantes no município do Rio de Janeiro. Já Herrera et al. (2006), em estudo sobre microrganismos patogênicos em peixes marinhos frescos comercializados na Espanha, obtiveram apenas duas (4%) amostras sugestivas de estirpes de *Vibrio parahaemolyticus*, mas resultou negativo para amplificação por PCR do gene de virulência TDH relacionados, determinando 100% de negatividade para esta bactéria nas amostras.

A ausência do *V. parahemolyticus* nas amostras torna-se favorável ao consumidor, já que este agente quando presente nos alimentos de origem marinha reflete grande preocupação devido à sua patogenicidade para o homem relacionado aos seus fatores de virulência.

Quanto às bactérias do gênero *Aeromonas* spp, 19 (45,24%) das amostras avaliadas estavam contaminadas por este microrganismo, conforme dados da figura 6, sendo todas confirmadas como *A. hydrophila*. Muito embora o habitat dessa bactéria seja ambientes aquáticos, a detecção de *A. hydrophila* pode ter ocorrido pela possível contaminação cruzada, uma vez que, as amostras tiveram contato com algumas superfícies, tais como as das próprias embarcações e canoa utilizadas no transporte dos exemplares até o porto.

Pesquisa de Vargas & Quintaes (2003) confirmam esta possibilidade, pois ao avaliarem o potencial perigo microbiológico resultante do uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescado em São Paulo, constataram a presença de *A. hydrophila* em um (6,35%) dos monoblocos avaliados.



**Figura 6.** Percentual de amostras contaminadas por *Aeromonas* spp em amostras de pescada amarela provenientes de Cedral-MA, 2012.

Outra hipótese possível refere-se à presença de pescadores portadores deste agente, tendo em vista, que espécies de *Aeromonas* podem está associada com uma variedade de infecções da pele e de tecidos moles, variando de leve problemas tópicos, tais como lesões pustulosas para infecções mais graves (JANDA; ABBOTT, 2010). *A. hydrophila* têm a capacidade de causar septicemia e lesões na pele em pessoas que estão com defesas comprometidas (PARK et al., 2011). Considerando-se também, que a atividade de pesca, permite um contato constante dos pescadores com água de diversas origens, o que pode estar contaminada com este agente.

A contagem de psicotróficos verificada nas amostras de gelo pode também ter favorecido a contaminação do pescado por *Aeromonas*, ao considerarmos que *A. hydrophila* é uma bactéria psicotrófica, e que é bastante sensível às concentrações de NaCl (Cloreto de Sódio) (DASKALOV, 2006).

A presença deste gênero já foi relatada por alguns pesquisadores como Rodrigues et al. (2010) que ao verificarem a ocorrência de *Aeromonas* spp em tilápias cultivadas em três diferentes pisciculturas no Estado do Rio de Janeiro, detectaram a presença do gênero em 68,1% das 70 amostras analisadas.

Suhet et al. (2011) isolaram *Aeromonas* de Tilápias do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) em criação intensiva, sendo verificado que *A.*

*hydrophila* foi a espécie dominante, variando de 32 a 35% nas amostras da água (lagoa e dos tanques-rede) e superfície dos peixes. Estes autores também verificaram a atividade hemolítica destes isolados, e constaram que 74% dos isolados da água e 56% dos isolados da superfície dos peixes, apresentaram atividade hemolítica. Illanchezian et al. (2010) isolaram 73 cepas de *A. hydrophila* em amostras de peixes e camarão, produzido em 5 diferentes mercados de peixe em Chennai, Tamil Nadu- Índia, onde 86,3% exibiram atividade hemolítica.

Isto reforça a importância deste patógeno como agente causador de doenças em seres humanos, e torna-se imperativo a importância da realização de novas pesquisas que caracterizem a patogenicidade de cepas de *Aeromonas* isoladas a partir de pescados, assim também, que se estabeleçam limites para essa bactéria em pescados.

Para a contagem de *Staphylococcus* sp verificou-se que 13 (30,95%) amostras avaliadas apresentaram contagens entre  $2 \times 10^3$  e  $3,1 \times 10^5$  UFC/g enquanto 29 (69,05%) amostras não apresentaram contaminação, conforme dados da Tabela 4. Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo. A prova de coagulase serve para identificar os grupos de *Staphylococcus* patogênicos e produtores de toxinas para o homem. No entanto, a produção de enterotoxinas por *Staphylococcus* coagulase negativo como *S. capitis*, *S. cohnii* subsp *cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. schleiferi*, *S. warneri*, *S. xylosus* e *S. chromogenes* foi observada em vários estudos realizados sob condições de laboratório (BORGES et al., 2008).

O grupo de bactérias *Staphylococcus* coagulase positivo, quando isolado de alimentos, não deve ser ignorado quanto à sua capacidade toxigênica, necessitando de maior estudo e atenção para melhor caracterização desse grupo de microrganismos em alimentos (CUNHA et al., 2006). Pois estes mesmos autores, verificaram a capacidade toxigênica de linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativo através da técnica de PCR (“Polymerase Chain Reaction”) e identificaram genes responsáveis pela produção de enterotoxinas.

Considerando que os seres humanos podem albergar *Staphylococcus* sp na pele e mucosa, medidas preventivas devem estar relacionadas à higiene pessoal na manipulação, ao adequado preparo e armazenamento de alimentos (AMSON et al, 2006).

Tabela 4. Unidade Formadora de Colônias (UFC/g) de *Staphylococcus* sp e pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positivo em amostras de pescada amarela, em Cedral - MA, 2012.

U.A*	<i>Staphylococcus</i> sp	Prova de coagulase	U.A	<i>Staphylococcus</i> sp	Prova de coagulase
01	9,7 X 10 <sup>3</sup>	negativa	22	-	-
02	1,3 X 10 <sup>4</sup>	negativa	23	8,2X10 <sup>4</sup>	negativa
03	-	-	24	9,8X10 <sup>4</sup>	negativa
04	2,3X10 <sup>4</sup>	negativa	25	-	-
05	1,3X10 <sup>4</sup>	negativa	26	-	-
06	8,2X10 <sup>3</sup>	negativa	27	3,1x10 <sup>5</sup>	negativa
07	-	-	28	-	-
08	-	-	29	2,8x10 <sup>4</sup>	negativa
09	-	-	30	-	-
10	-	-	31	-	-
11	-	-	32	-	-
12	-	-	33	-	-
13	2,0X10 <sup>5</sup>	negativa	34	-	-
14	1,8X10 <sup>5</sup>	negativa	35	-	-
15	-	-	36	-	-
16	-	-	37	-	-
17	3,1X10 <sup>5</sup>	negativa	38	-	-
18	-	-	39	2x10 <sup>3</sup>	negativa
19	-	-	40	-	-
20	-	-	41	-	-
21	-	-	42	-	-

\*U.A= Unidade amostral (-) = ausência

Foram verificadas falhas quanto ao processo de manipulação do pescado após chegada ao porto de desembarque conforme pode ser observado nas figuras 6A e 6B. A higienização da área de manipulação é importante por ser um ponto crítico para a contaminação de alimentos

(STEVENS & HOLAH,1993). Os resultados insatisfatórios obtidos pela pesquisa acredita-se que foram favorecidos pelas precárias estruturas dos portos de desembarque, onde há lixo, carregado pelo mar (Figura 6C), presença de animais (Figura 6D) podendo ter contribuído também para a contaminação do pescado.



**Figura 7.** Evisceração do pescado após desembarque em madeira (A), e ao lado a evisceração em piso de cimento (B). Contaminação do mar (C) e presença de urubus próximos ao rancho (D).

A qualidade da pescada amarela deve ser priorizada, pois além do fato de ser um alimento perecível, tem-se que considerar o alto valor aquisitivo desta espécie que chega a ser comercializada com valores entre R\$ 15,00 a R\$ 22,00 por kg.

Vale salientar que a contaminação inicialmente observada da pescada amarela, após desembarque, poderá vir a ser responsável pela baixa qualidade e conseqüente diminuição da vida de prateleira do produto. Além disso, o consumo do peixe contaminado pode ser um perigo para a saúde humana,

especialmente para populações suscetíveis como crianças, idosos e imunodeprimidos (HERRERA et al., 2006).

Quanto à qualidade sensorial da pescada amarela, observa-se na Tabela 5, que as 42 (100%) amostras analisadas foram avaliadas como de primeira qualidade pelos parâmetros estabelecidos, com pontos atribuídos para cada lote entre intervalos de 41,6 a 54. Isto se justifica pelo fato da qualidade microbiológica ter apresentado baixas contagens, uma vez que a elevada concentração de bactérias determina a deterioração do pescado, resultando em alterações de cor, odor, sabor, textura da carne e etc. (DIAS et al., 2010). As figuras 8, 9 e 10, ilustram a qualidade sensorial das amostras analisadas.

Tabela 5. Parâmetros indicadores da qualidade sensorial de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada em Cedral - MA, 2012.

LOTES	Parâmetros sensoriais/ Média						
	Gueiras	Olhos	Pele	Odor	Textura	Danos físicos	Total
1	6,3	5,3	7	8,6	7,8	8	43
2	4,3	4,5	7,8	8	8	9	41,6
3	6,2	9	8,6	8	8,2	7	47
4	5,7	8,8	9	9	9	9	50,5
5	9	9	9	9	9	9	54
6	8,3	8,5	9	9	9	9	52,9
7	9	9	9	9	9	9	54
8	9	9	9	9	8,7	9	44,6
9	7,06	8,8	9	9	9	9	51,8
10	8,6	9	9	9	8,6	9	53,2
11	9	9	9	8	9	9	53
12	9	9	9	9	9	9	54
13	8,6	8,6	9	9	9	9	53,2
14	8,6	8,8	9	9	9	9	53,4

A qualidade sensorial apresentada também pode está relacionada, com o tempo que ocorre entre a captura e transporte da pescada até o porto de origem, num intervalo considerado curto, onde não ultrapassa três dias. Aliado a isto, há também a forma de conservação das mesmas, que acontece sob

resfriamento em caixas isotérmicas, como foi observada e citada pelos pescadores durante a realização da pesquisa. A temperatura adequada é um ponto extremamente importante na conservação do pescado (ALVES et al., 2011), pois ajuda a preservar as suas características de frescor.

O estado de frescor do pescado é determinante na qualidade do produto final, e conseqüentemente, na sua vida de prateleira. Constitui também, um importante critério de avaliação de aceitabilidade pelo consumidor. Teixeira et al. (2009) ressaltam que a análise sensorial é uma ferramenta importante na avaliação da qualidade do pescado fresco, sendo largamente empregada pelos serviços de inspeção sanitária.

A avaliação sensorial sempre teve papel fundamental na análise da qualidade e frescor da indústria pesqueira (ABBAS et al., 2008). Nesta pesquisa este tipo de avaliação mostrou-se eficiente para determinar a qualidade do produto em estudo.



**Figura 8.** Brânquias de coloração avermelhadas de pescada amarela



**Figura 9.** Olho da pescada amarela com bom aspecto



**Figura 10.** Aspecto característico da pele da pescada amarela

Para Moura et al. (2003) na análise de BVT 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.

Desta forma, na análise dos parâmetros químicos observados na Tabela 6, evidenciam valores de Bases Voláteis Totais (BVT) para a pescada amarela entre 21,61 e 27,91. No que se refere a Trimetilamina (TMA), encontraram-se valores de 0,71 a 2,02. A legislação brasileira estabelece, para o pescado, um teor de BVT ou igual a 30 mg N/100 g e que, acima deste teor o alimento é impróprio para o consumo, e para TMA de 4 mg N/100g. Neste contexto, as amostras avaliadas estavam dentro dos padrões dos limites aceitáveis tanto para BVT, como para TMA.

No entanto, a determinação de BVT em pescado, embora seja utilizada na avaliação do frescor, é causa de controvérsia entre os pesquisadores, principalmente em relação aos limites de aceitação do produto (TEODORO et al., 2007). Huss (1988) cita que os valores de N-BVT devem ser utilizados somente para avaliar o grau de deterioração nas últimas etapas de conservação. Esta afirmação tem sido válida para pescado procedente de mar e, também para pescado de rios e que são manejados inadequadamente.

Ogawa & Maia (1999) afirmam que o teor de BVT para peixes de excelente estado de frescor varia de 5 a 10mg/100g de carne, em estado de frescor razoável variam de 15 a 25mg/100g, no início da putrefação estão na faixa de 30 a 40mg/100g e em adiantado estado de decomposição estão acima de 50mg/100g.

O pescado pode ser alterado por ação enzimática e bacteriana com produção de vários compostos nitrogenados. A mensuração destes compostos se dá pela determinação das bases voláteis que aumentam em função da deterioração do produto (FURLAN et al., 2007). Contudo, considerando que a pescada amarela apresentou baixa contaminação microbiológica, e boa caracterização sensorial, acredita-se que estes valores encontrados para BVT

e TMA, evidenciam a um bom estado de frescor para esta espécie. Diante disso, propõem-se elaborar pesquisas que determinem valores de BVT e TMA específicos para cada espécie.

Tabela 6 - Valores de BVT e TMA em amostras de pescada amarela, provenientes do Município de Cedral - MA, 2012.

	<b>BVT mg/100g<sup>-1</sup>*</b>	<b>TMA mg/100g<sup>-1</sup>*</b>
<b>Lote 01</b>	23,47 ± 0,81	1,33 ± 0,11
<b>Lote 02</b>	26,05 ± 3,21	1,40 ± 0,61
<b>Lote 03</b>	23,04 ± 2,23	0,71 ± 0,00
<b>Lote 04</b>	24,69 ± 1,50	0,75 ± 0,21
<b>Lote 05</b>	21,61 ± 0,90	0,86 ± 0,18
<b>Lote 06</b>	25,40 ± 1,27	0,94 ± 0,03
<b>Lote 07</b>	25,47 ± 1,07	0,99 ± 0,24
<b>Lote 08</b>	25,76 ± 1,23	0,79 ± 0,13
<b>Lote 09</b>	26,19 ± 0,35	2,02 ± 0,21
<b>Lote 10</b>	26,19 ± 1,39	1,78 ± 0,03
<b>Lote 11</b>	25,97 ± 1,61	1,70 ± 0,27
<b>Lote 12</b>	22,61 ± 1,13	1,82 ± 0,16
<b>Lote 13</b>	27,91 ± 3,20	0,94 ± 0,15
<b>Lote 14</b>	25,83 ± 0,54	1,01 ± 0,13

\*(Valores da média entre as amostras e ± desvio padrão)

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, também contribui para as precárias condições químicas que estes produtos são comercializados (FREIRE et al., 2011).

A cadeia produtiva do pescado requer cuidados importantíssimos durante toda sua manipulação, por parte de todos os envolvidos, começando pela captura até sua comercialização pelos comerciantes do produto.

## 6 CONCLUSÕES

- ❖ As amostras de gelo apresentaram baixa qualidade microbiológica e, portanto, impróprias para utilização na conservação da pescada amarela;
- ❖ A pescada amarela apresentou-se dentro dos padrões microbiológicos para *Salmonella* e para contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo;
- ❖ A pescada amarela apresentou baixo nível de contaminação pelas bactérias mesófilas e coliformes, e ausência de *V. parahaemolyticus*;
- ❖ A pescada amarela pode apresentar riscos de veicular infecção por *A. hydrophila*;
- ❖ A pescada amarela apresentou parâmetros de BVT, TMA e sensoriais dentro dos padrões permitidos pela legislação, sugerindo que este produto terá uma vida de prateleira adequada.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

- ❖ Os postos de desembarque devem ser inspecionados por órgãos de fiscalização para que se verifique a qualidade do pescado produzido na região de Cedral;
- ❖ Necessita-se de maior investimento em infraestrutura do porto de Cedral, tendo visto, o grande potencial desse município;
- ❖ Os pescadores devem ser orientados quanto à manipulação correta dos pescados para que se garanta uma maior qualidade do pescado desembarcado no município;
- ❖ A legislação brasileira deve passar por modificações no intuito de que se estabeleçam limites para bactérias que tem importância para à saúde pública.
- ❖ Deve-se realizar estudos mais aprofundados voltados para determinação de limites de BVT e TMA específicos para cada espécie de pescado, em especial para peixes de origem marinha.

## 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. 416-142, 2008.

ABREU, E. S.; MEDEIROS, F. S.; SANTOS, D. A. Análise microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos do município de Santo André. **Revista Univap**, São José dos Campos-SP, v. 17, n. 30, dez.2011.

ALBINATI, R. C. B. Aqüicultura: cadeia produtiva e a inserção do Médico Veterinário e do Zootecnista. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília/DF. Ano XII, nº40, 2007.

ALBUQUERQUE, W. F.; VIEIRA, R. H. S.F.; VIEIRA, G. H. F. Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p. 299-303, 2006.

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

ALMEIDA, Z. S.; CAVALCANTE, A. N.; SANTOS, N. B.; NAHUM, V. J. Contribuição para gestão do sistema de produção pesqueira pescada-amarela *Cynoscion acoupa* (Pisces: *Sciaenidae*) (Lacepède, 1802) na costa do Maranhão, Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrologia**, v.22, p.25-38, 2009.

ALMEIDA, Z. S.; COELHO, G. K.; MORAIS, G. C.; NAHUM, V. J. I. Inventário e Diagnóstico das espécies ícticas comerciais marinhas e estuarinas maranhense. In: SILVA, A. C.; FORTES, J. L. O. (Orgs.). **Diversidade Biológica, Uso e Conservação de Recursos Naturais no Maranhão. Projetos e Ações em Biologia e Química**, vol. II. São Luís: UEMA, 2007. p. 13 – 66.

ÁLVARES, P. P.; MARTINS, L.; BORGHOFF, T.; SILVA, W. A.; ABREU, T. Q.; GONÇALVES, F. B. Análises das características higiênico-sanitárias e

microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.22, n.161, p.88-93, Maio, 2008.

ALVES, C. L.; CARVALHO, F. L. N.; GUERRA, C. G.; ARAÚJO, W. M. C. Comercialização de pescado no Distrito Federal: avaliação das condições. **Higiene Alimentar**, v.16, n.102/103, p.41-49, nov./dez., 2002.

ALVES, I. M.; FERNANDEZ, A. T.; MACIEL, D. W. Avaliação das Boas Práticas de Manipulação do pescado em três estabelecimentos varejistas da cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Higiene Alimentar**, v.25, n.194/195, p.92-97, março/abril, 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Committee on microbiological methods for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676p.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná- Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, nov./dez., 2006.

ARAUJO, D. A. F. V., SOARES, K. M. P.; GOIS, V.A. Características gerais, processos de deterioração e conservação do pescado. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 9, Ed. 114, 2010.

ASHIRU, A. W.; Ua-BOI-EGBENI, P. O.; OGUNTOWO, J. E.; IDIKA, C. N. Isolation and antibiotic profile of *Aeromonas* species from Tilapia fish (*Tilapia nilotica*) and Calfish (*Clarias betrachus*). **Pakistan Journal of Nutrition**, v.10, n.10, p.982-986, 2011.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. *Staphylococcal* enterotoxins. **International Journal Food Microbiology**, v.61, p. 1–10, 2000.

BARROS, B. C. V. Avaliação da qualidade sanitária do pescado salgado seco comercializado nas feiras livres de Belém- PA. (**Monografia**) - Universidade castelo Branco. Curso de Especialização em Veterinária. 2009.

BARROS, L. M. O. ; THEOPHILO, G. N. D. ; COSTA, R. G. ; RODRIGUES, D. P.; VIEIRA, R. H. S. F. Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae*

comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.3, p. 285-289, 2005.

BATISTA, G. M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCAO, P. T. Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, p. 573-581, 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, 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, ago. 2008.

BRASIL. 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 e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185 de 13 de maio de 1997. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Brasília – DF, 1997.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. RDC No 12, de 2 de janeiro de 2001**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF.

\_\_\_\_\_. 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. Seção I, p.14.

\_\_\_\_\_.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 12/04/2012.

\_\_\_\_\_.Ministério da Pesca e Aquicultura, 2011. **Pesca artesanal**. <Disponível em:  
[http://www.mpa.gov.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=19&Itemid=248](http://www.mpa.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=248), acesso em:11/04/2012>

\_\_\_\_\_.Ministério do Estado 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, DF.

\_\_\_\_\_.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Relatório da Secretaria de Aquicultura e Pesca**. Brasília, DF, 2005. 105 p.

CAMARGO, A. C. **Conservação de Alimentos**. Disponível em:<[http://www.cena.usp.br/irradiacao/cons\\_alim.html](http://www.cena.usp.br/irradiacao/cons_alim.html).>Acessado em: 16 de novembro de 2007.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I. 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, mar. 2001.

CARMO, M. C. N. S.; CORREIA, M. I. T. D. A Importância dos Ácidos Graxos Ômega-3 no Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n.3, p. 279-287,2009.

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: costa brasileira**. São Paulo: Melro,1999.320p.

CENTER FOR DISEASES CONTROL (US). 2009. **Food Safety**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/briefing/fncidod/eid/voln05/mead.htm>>. Acesso em: 23 mar. 2010.

CHARLES, R.C.; RYAN, E.T. Cholera in the 21st century. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 24, p.472–477, 2011.

CHEN, Y.; LIU, X. M.; YAN, J. W. ; LI, X. G. ; MEI, L. L.; MA, Q. F.; MA, Y. Foodborne Pathogens in Retail Oysters in South China. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 23, p. 32-36, 2010.

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.

CREAPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. A. C.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. A situação da Aqüicultura e da pesca no Brasil e no Mundo. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n.3/4, p.81-85, 2006.

CUNHA, M. L. R. S.; PERESI, E.; CALSOLARI, R. A. O.; ARAÚJO JÚNIOR, J.P. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative *Staphylococci* isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n.1, p.70-74, 2006.

DAMS, R. I. BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E. Avaliação da qualidade microbiológica da pescadinha (*Cynoscion striatus*) inteira e em filés nos principais pontos críticos de controle de uma indústria de pescado congelado. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 14, n. 2, p. 151-162, jul./dez.1996.

DASKALOV, H. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. **Food Control** , v.17 , p.474–483,Jun, 2006.

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

DORTA, V. F.; MURATORI, M. C. S.; ALMEIDA, C. K. S.; SILVA, R. M.; CARDOSO FILHO, F. C. Condições higiênico-sanitárias do gelo utilizado para conservação do pescado nos mercados de Teresina - PI. **Higiene Alimentar**, v. 25, n.196/197, p.124-128, 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**, v. 77, n.4, p. 711-713, 2010.

EFSA. European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in 2009. **EFSA Journal** 2011, v. 9, n.3, p. 378, 2011.

ELLIOT, E. L.; KAYSNER, A. C.; TAMPLIN, M. L. *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: **Bacteriological Analytical Manual Online**, Chapter 9, 9<sup>th</sup> ed. US FDA Center Food Safety and Applied Nutrition, 2004. Disponível em: < <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html>>. Acesso em: 10/06/2011.

EPA. United States Environmental Protection Agency. **Aeromonas: Human Health Criteria Document**. Washigton, 2006.

FALCÃO, J. P.; DIAS, A. M. G.; CORREA, E. F.; FALCÃO, D. P. Microbiological quality of ice used to refrigerate foods. **Food Microbiology**, Netherlands, v.19, n.4, p.269-276, 2002.

FAO, Food And Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture**, 2010. 197p.

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.

FERNANDES, E. S. QUALIPESC – Sistema inteligente para auxílio na avaliação da qualidade de pescados. Florianópolis, 2000. 81f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

FERNANDEZ, A. T.; BARBOSA, F. A. C, V. Avaliação microbiológica de sardinhas descabeçadas e evisceradas oriundas de feiras-livres e peixarias do bairro da Pavuna-RJ. **Higiene Alimentar**, v.24, n.186/187, p.121-125, 2010.

FERRETI, R.; DUARTE, R.A.; TERRA, N.L.; MORIGUCHI, Y. Aterosclerose e ácidos graxos ômega-3. **Acta Médica**, Porto Alegre, v.15, p. 557-574, 1994.

FIGUEIRÊDO, P. N. V.; MORAIS, S. M.; MARTINS, J.A. M; CAVALCANTE, L. B.; DIAS, P. M. D.; COSTA, I. R.S.; MACHADO, L. K. A. Teores de lipídios totais e colesterol em cinco espécies de peixes capturados na região do Oiapoque – Amapá. **Ciência Animal**, v. 20, n.1, p. 35-42, 2010.

FIGUEIREDO, R. M. Guia prático para evitar DVA – Doenças Veiculadas por Alimentos e recomendações para manipulação segura dos alimentos, **Coleção Higiene dos Alimentos**. 2 ed. Vol. 2. Editora Manole, São Paulo, 2000. 198 p.

FISH BASE- **A global information system on fishes**. Disponível em: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=1169&AT=pescada+amarela>. Acesso em: 04/09/2011.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu; 2005.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food Microbiology**. 4.ed. New York: Mc Graw-Hill, 1988.681 p.

FREITAS, C.G.; SANTANA, A.P.; SILVA, P.H.; GONCALVES, V.S.; BARROS, M. A.; TORRES, F.A., MURATA, L.S.; PERECMANIS, S. PCR multiplex for detection of *Salmonella enteritidis*, *Typhi* and *Typhimurium* and occurrence in poultry meat. **International Journal Food Microbiology**, 139, p. 15–22, 2010.

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**, v.1, n.2, p.17-28, 2011.

FURLAN, E. F.; GALVÃO, J. A. SALAN, E. O.; YOKOYAMA, V. A.; OETTERER. Estabilidade físico-química e mercado do mexilhão (*Perna perna*) cultivado em Ubatuba - SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.3, p. 516-523, 2007.

GASPAR, A.; SILVA, T. J. P. Validade comercial e aceitabilidade da carne de tartaruga-da-amazônia (*P. expansa*). **Acta Amazônica**, v.39, n.3, p. 669-674, 2009.

GERMANO, P. M.L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**, 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. São Paulo: Varela. 2003. 629p.

GHASEMI, M.S.A.; AZADNIA, P.; RAHNAMA, M. H. Bacterial counts in two species (*Scomberomorus 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.

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.

GODOY, L. C.; FRANCO, M. L. R. S.; FRANCO, N. P.; SILVA, A. F.; ASSIS, M. F.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaças de peixe defumadas: aplicação na merenda escolar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30 (Supl.1), p. 86-89, maio 2010.

GUIMARÃES, A.G. et al. Detecção de *Salmonella spp.* em alimentos e manipuladores envolvidos em um surto de infecção alimentar. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v. 2, n.1, p. 1- 4, 2001.

HAGLER, A. N.; HAGLER, L. C. S. Indicadores microbiológicos de qualidade sanitária. In: Roitmam Isaac, Travassos, Luiz R., Azevedo, João Lúcio (Eds) **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Manole, v.1, cap.3, p. 88-96, 1988.

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

HENNEKINNE, J. A. ; OSTYN, A.; GUILLIER, F.; HERBIN, S.; Anne-Laure PRUFER , A. L.; DRAGACCI, S. How Should *Staphylococcal* Food Poisoning Outbreaks Be Characterized? **Toxins** 2010, 2, 2106-2116.

HERRERA, F. C.; SANTOS, J. A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M. L. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions of marine fish in Spain. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 3, p. 527-536, 2006.

HERVIO-HEATH, D.; COLWELL, R. R. ; DERRIEN, A.; ROBERT-PILLOT, A. ; FOURNIER, J. M. ;POMMEPUY,M. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. **Journal of applied microbiology**, v. 92, n.26, p.1123-1135, 2002.

HIRSCH, D.; JÚNIOR, D. J. P.; LOGATO, P. V. R.; PICCOLI ,R. H.; FIGUEIREDO, H.C. P. Identificação e Resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1211-1217, nov./dez., 2006.

HONDA, T., IIDA, T. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct hemolysin and related hemolysins. **Reviews in Medical Microbiology**, v.4, p.106-113,1993.

HUSS, H.H. **Fresh fish: quality and quality changes**. Rome: FAO: DANIDA, 1988. 132p. (FAO Fisheries Series, n. 29).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sinopse do Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=21&dados=0>. Acesso em: 10/03/2011.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1986. Microorganisms in Foods. **2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**, 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Microorganisms in food. I- Their significance and methods of enumeration**. 2 ed. Toronto: University Press, 1988. 436 p.

ILLANCHEZIAN, S.; JAYARAMAN, S.; MANOHARAN, M.S.; VALSALAM, S. Virulence and Cytotoxicity of Seafood Borne *Aeromonas hydrophila*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 978-983, 2010.

ISAAC-NAHUM, V. J. Exploração e manejo dos recursos pesqueiros do litoral amazônico: um desafio para o futuro. **Ciência e Cultura**, v.58, n.3, p. 33-36, 2006.

ISAAC, V.J.; ARAÚJO, A. R.; SANTANA, J. V. **A pesca no Estado do Amapá: alternativas para seu desenvolvimento sustentável**. Macapá: SEMA/GEA-BID. 132p, 1998.

ISONHOOD, J. H.; DRAKE, M. *Aeromonas* species in foods. **Journal of food protection**, v.65, n.3, p.575-82, 2002.

JANDA, J. M., & ABBOTT, S. L. Human pathogens, p. 151–173. In B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling, and S. Joseph (ed.), *The genus Aeromonas*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, 1996.

JANDA, J. M., & ABBOTT, S. L. **Clinical Microbiology Reviews**. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and infection, v. 23, n.1, p.35, 2010.

JARRAUD, S.; PEYRAT, M.A.; Lim, A.; TRISTAN, A.; BES, M.; MOUGEL, C.; ETIENNE, J.; VANDENESCH, F.; BONNEVILLE, M.; LINA, G. egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Immunology**, v. 166, p. 669–677, 2001.

JONES, M.K., OLIVER, J.D. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. **Infection & Immunity**, v. 77, p.1723-1733, 2009.

KAYSNER, C.A. & DePAOLA, A. *Vibrio*. In **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th edn ed. Downes, F.P. and Ito, K. pp. 405-420. Washington, DC: APHA. 2001.

KIRKAN, S.; GOKSOY, E. Ö.; KAYA, O. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Turkey hatchery farms. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v.B50, p.339-342, 2003.

LAMMERDING, A. M.; FAZIL, A. M.; PAOLI, G. M. Microbial Food Safety Risk Assessment. In: ITO, K. F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4 ed. Ann Arbor: Sheridan Books, v.532, p.cap.29, p.267-281, 2001.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTER, D. O.; MELLO, C. A.; CORRÊA, G. S.S.; IGNÁCIO, C. M. S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotróficos 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.

LEITÃO, M.F.F.; HAGLER, L.C. S. M.; HAGLER, A. N.; MENEZES, T. J. B. 1988. **Tratado de microbiologia**. Editora Manole, p. 1186.

LETERTRE, C.; PERELLE, S.; DILASSER, F.; FACH, P. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p. 38–43, 2003.

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

LÓPEZ-SABATER, E. I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J.; HÉRNANDEZ-HERRERO, M.; ROIG-SAGUÉS, A.X; MORA-VENTURA, M. A. T. Sensory quality and histamine formation during controlled decomposition of tuna (*Thunnus thynnus*). **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 2, p. 167-174, 1996.

LORENZON, C. S.; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A.P.; PINTO, F.R.; SHOLTEN, 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.; LEMOS NETO, M. J.; TOMITA, R.Y. Fatores que afetam a qualidade do pescado na pesca artesanal de Municípios da Costa Sul 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. Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal. **Journal of Applied bacteriology**, Oxford, v.67, p.165-170, 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 Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 89-94, maio/ago. 2009.

MARCHI, D. M.; BAGGIO, N.; TEO, C. R. P. A.; BUSATO, M. A. Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Município de Chapecó, Estado de Santa Catarina, Brasil, no período de 1995 a 2007. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 20, n.3, p.401-407, jul-set, 2011.

MARQUES, M.C.; SÃO CLEMENTE, S.C.; BARROS, S.G.; LUCENA, F.P. Utilização do frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematóides anisakídeos em *Trichiurus lepturus* (L). **Higiene Alimentar**, v. 9, n.39, p.23-8, 1995.

MARTINS, A. G. L. A. Efeitos da emissão dos efluentes domésticos na proliferação de *Aeromonas* sp. em águas de superfície e pescado do estuário do rio Bacanga, São Luís-ma.2005.107p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará-CE,2005.

MARTINS, L.M., MARQUEZ, R.F., YANO, T. Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.32, p. 237-242, 2002.

MATTE´, M.H.; BALDASSI, L.; BARBOSA, M.L.; MALUCELLI, M. I.C.; NITRINI, S. M.O.O.; MATTE´, G.R. Virulence factors of *Vibrio metschnikovii* strains isolated from fish in Brazil. **Food Control**, v.18, p.747–751, 2007.

MORRIS, J.G. Cholera and other types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, p. 272-280, 2003.

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, p. 203-208, 2003.

MOURA FILHO, L. G. M.; MENDES, E. S.; SILVA, R. P. P.; GOES, L. M. N. B.; VIEIRA, K.P. B. A.; MENDES, P. P. Enumeração e pesquisa de *Vibrio* spp. e coliformes totais e termotolerantes em sashimis de atum e vegetais comercializados na região metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 85-90, 2007.

MOURÃO, K. R. M. FRÉDOU, F.L.; ESPÍRITOSANTO, R. V.; ALMEIDA, M. C.; SILVA, B. B.; FRÉDOU, T.; ISAAC, V. Sistema de Reprodução Pesqueira Pescada Amarela - *Cynoscion acoupa* Lacèpede (1802): Um estudo de caso no litoral nordeste do Pará -Brasil. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v.35, n.3, p. 497 - 511, 2009.

MULIC, R; GILJANOVIC, S.; ROPAC, D; KATALINIC, V. Some epidemiologic characteristics of foodborne intoxications in Croatia during the 1992–2001 period. **Acta Medica Croatica**, v.58, p. 421-427, 2004.

MURATORI, M. C. S.; COSTA, A. P. R.; VIANA, C. M.; PODESTA JÚNIOR, R. L. Qualidade sanitária do pescado “in natura”. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n.116-117, p. 50-54, 2004.

NESPOLO, N. M. Características microbiológicas de salmão (*Salmo salar*) comercializado em algumas cidades da região nordeste do Estado de São Paulo, 2009. 67f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Unesp (Universidade Estadual Paulista), 2009.

NISHIBUCHI, M., FASANO, A.; RUSSELL, R. G.; KAPER, J. B. Enterotoxigenicity of *Vibrio parahaemolyticus* with and without genes encoding thermostable direct hemolysin. **Infection and Immunity**, v.60, p. 3539–3545, 1992.

NISHIBUCHI, M.; KAPER, J. B. Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by a marine bacterium. **Infection and Immunity**, v. 63, p.2093–2099, 1995.

NOVOTNY, L.; DVORSKA, L.; LORENCOVA, A.; BERAN, V.; PAVLIK, I. Fish: a potencial source of bacterial pathogens for human beings. **Veterináři Medicína, Repùblica Tcheca**, v. 49, n. 9, p. 343-358, set. 2004

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual da Pesca**: ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela, 1999. 464p.

OLIVEIRA, N. M. S.; OLIVEIRA, W. R. M.; L. C.; NASCIMENTO, J. M. S. F.; SILVA, E. Vicente; FIORINI, J. E.; BRESSAN, M. C. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p. 83-89, 2008.

OMOE, K.; HU, D. L.; TAKAHASHI-OMOE, H.; NAKANE, A.; SHINAGAWA, K. Identification and characterization of a new *Staphylococcal* enterotoxin-related putative toxin encoded by two kinds of plasmids. **Infection and Immunity**, v.71, p.6088-94, 2003.

OMOE, K.; IMANISHI, K.; HU, D. L.; KATO, H.; FUGANE, Y.; ABE, Y.; HAMAOKA, S.; WATANABE, Y.; NAKANE, A.; UCHIYAMA, T.; SHINAGAWA, K. Characterization of novel *Staphylococcal* enterotoxin-like toxin type P. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 5540-6, 2005.

ONTARIO, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs; 1 Stone Road West, Guelph, Ontario N1G 4Y2 April 15, 2008. Disponível em: <[www.omafra.gov.on.ca/english/infores/foodsafe/onboatpor.htm](http://www.omafra.gov.on.ca/english/infores/foodsafe/onboatpor.htm)>

ORWIN, P.M.; LEUNG, D.Y.; DONAHUE, H.L.; NOVICK, R.P.; SCHLIEVERT, P.M. Biochemical and Biological Properties of *Staphylococcal* Enterotoxin K. **Infection and Immunity**. 2001, 69, 360–366.

PALUMBO, S. A.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; PHILLIPS, J.G. Model for anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. **Journal of Food Protection**. Amsterdam, v.55, n.4, p.260-265, 1991.

PANICKER, G.; CALL, D. R.; KRUG, M. J.; & BEJ, A. K. Detection of Pathogenic *Vibrio* spp. in Shellfish by Using Multiplex PCR and DNA Microarrays. **Applied And Environmental Microbiology**, v 70, n°12, p. 7436–7444, Dec. 2004.

PARK, S.Y; NAM, H. M.; PARK, K.; PARK, S. D. *Aeromonas hydrophila* Sepsis Mimicking *Vibrio vulnificus* Infection. **Annals of Dermatology**, v.23, suppl 1, p.S25–S29, 2011.

PEREDA, J. A. O. **Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal**, volume II, 1ª ed. São Paulo: Editora Artmed, 2005, 279p.

PEREIRA, A. C. S. Qualidade do gelo utilizado na conservação dos pescados e sua importância para a qualidade do pescado. 2009. 40 p. **Monografia** (Especialização latu sensu em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal)- Universidade Castelo Branco, São Paulo, 2009. 150p.

PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rizophorae*) coletadas *in natura* em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 591-595, out.-dez. 2004.

PIMENTEL, L.P.S. Características físico-químicas e microbiológicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da Grande São Paulo, Brasil. 2001. 72f. **Dissertação** (Mestrado em Prática de Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

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

PINCHUK, I. V.; BESWICK, E. J.; REYES, V. E. *Staphylococcal Enterotoxins*. **Toxins** 2010, 2, 2177-2197.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, J.; GHEESLING, L.L. Supplement 2001(no. 45) to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v.154, p.173-174, 2003.

RADU, S.; AHMAD, N.; LING, F. H.; REEZAL, A. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, p. 261-266, 2003.

RESOLUÇÃO-RDC N° 216, DE 15 DE SETEMBRO DE 2004.<Disponível em: [http://www.abima.com.br/dload/13\\_20\\_resol\\_216\\_04\\_leg\\_alim\\_nac.pdf](http://www.abima.com.br/dload/13_20_resol_216_04_leg_alim_nac.pdf)>Acesso em: 14/04/2012.

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 Tilápias cultivadas em três diferentes pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, v. 24, n°186/187, julho/agosto, p. 116-120, 2010.

RODRIGUES, L. A. P.; CARVALHO FILHO, C. D. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* nas Etapas de Beneficiamento de Ostras (*Crassostrea rhizophorae*), cultivadas na Baía de Todos os Santos - BA, e Determinação dos Pontos Críticos de Controle. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.13, n.2, p.77-83, 2011.

SAAD, S. M. I.; IARIA, S. T.; FURLANETTO, S. M. P. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, 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.

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 vaillantii*) congelada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.6, p.1538-1545, 2008.

SATO, N. H.; USUI, K.; KOBAYASHI, T.; IMADA, C.; WATANABE, E. Quality assurance of raw fish based on HACCP concept. **Food Control**, Guildford, v.16, n. 4, p. 301-307, 2005.

SCHERER, R.; DANIEL, A. P.; AUGUST, 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**, v. 24, n.4, p. 680-684, 2004.

SCHLIEVERT, P. M.; CASE, L.C. Molecular analysis of *Staphylococcal* superantigens. **Methods in Molecular Biology**, v. 391, p.113–126, 2007.

SHINODA, S.; IWASAKI, M.; SONODA, T.; FURUMAI, Y.; MIYAKE-NAKAYAMA, C.; KATAYAMA, S. I. Ecological study of *Vibrio cholerae* in Aquatic environments, Okayama. **Biocontrol Science**, v.15, n.3, p.117-121, 2010.

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

SILVA, I. A.; LIMA, M. F. V.; BRANDÃO, V. M.; DIAS, I. C. L.; LACERDA, L. M. Perfil de consumidores do pescado comercializado em mercados do município de São Luís, Maranhão, Brasil. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 19, n. 01, jan. / abr. 2012.

SILVA, L. A.; CORREIA, A. F. K. Manual de Boas Práticas de Fabricação para Indústria Fracionadora de Alimentos. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v.16, n. 32, p. 39-57, 2009.

SILVA, M. C. D.; NORMANDE, A. C. L.; FERREIRA, M. V.; RAMALHO, L. S. Avaliação da qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió, Al. **Higiene Alimentar**, v.16, n.96, maio-2002.

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, R. M. L. Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da região da baixada ocidental maranhense. Tese (**Doutorado**) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2010.

SILVEIRA, N. F. A.; NEIVA, C. R. P.; LEMOS NETO, M. J.; PEREZ, A. C. A.; MANTOVANI, D. M. B.; MORGANO, M.; CASTRO, M. F. P. M.; OKAZAKI, M. M. Caracterização higiênico-sanitária da cadeia produtiva do pescado marinho da Baixada Santista-SP. **Higiene Alimentar - Edição Temática**, v. 25, n.2, p.169-171, 2011.

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

SOBRINHO, P. S. C.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D.G.M.; LANDGRAF, M. Occurrence and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in retail oysters in Sao Paulo State, Brazil. **Food Microbiology**, v.28, p. 137-140,2011.

SOUSA, C. P. *Escherichia coli* as a specialized bacterial pathogen. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.26, n.2, p. 341-352, 2006.

SOUZA, H. A. L.; BENTES, Á. S.; SIMÕES, M. G.; FONTELLES, M. J. P. Caracterização física e nutricional de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil , v. 4, n. 2: p. 141-152, 2010.

STEVENS, R. A.; HOLAH, J. T. The effect of wiping and spray-wash temperature on bacterial retention on abraded domestic sink surface. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, n.1, p.91-94,1993.

SU, Y. C.; LIU, C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. **Food Microbiology**, London, v.24, n.6, p. 549-558, 2007.

SUHET, M. I.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; AMARAL, L. A. Atividade hemolítica e resistência a antimicrobianos por espécies de *Aeromonas* isoladas de criação intensiva de Tilápias do Nilo (*Oreochromis Niloticus*). **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.27, n.1, p.036-044,2011.

TAKEDA, B. Y. *Vibrio parahaemolyticus*, enterotoxigenic *Escherichia coli*, enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Vibrio cholera*. **Proceedings of the Japan Academy**, v. 87, n.1, p.1-12, 2011.

TEIXEIRA, M. S.; BORGES, A.; FRANCO, R. M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FREITAS, M. Q. Método de índice de qualidade (QIM): desenvolvimento de um protocolo sensorial para corvina (*Micropogonias furnieri*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 83-88, maio/ago. 2009.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 158-161, 2007.

TOMASI, M; FERNANDES, A. R. M.; 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.

TONIAL, I. B.; OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; SOUZA, N. E. ; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.1, p. 93-98, jan./mar. 2010.

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

VARGAS, D. S. T.; QUINTAES, K. D. Potencial perigo microbiológico resultante do uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescados em São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p. 517-522, 2003.

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

VILA, J.; ALVAREZ-MARTINEZ, M. J.; BUESA, J.; CASTILHO, J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 27, n.7, p. 406–411, 2009.

VILCHES, S.; JIMENEZ, N.; TOMAS, 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, 2009.

VIVEKANANDHAN, G.; HATHA, A. A. M.; LAKHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish and prawns from the seafood market of Coimbatore, South India. **Food Microbiology**. v.22, n.1 p.133-137, 2005.

VIVEKANADHAN, G.; SAVITHAMANI, K.; HATHA, A.A.M.; LAKSHMANAPERUMASLDAMY, P. Antibioyic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. **International Journal Food Microbiology**, v.76, p. 165-168, 2002.

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

YVES, L. L.; BARON F, GAUTIER M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, p.63-76, 2003.

## APÊNDICE

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA  
MESTRADO EM CIENCIA ANIMAL

QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO

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

## **ANEXO**

**TABELA DE CLASSIFICAÇÃO POR ATRIBUTOS SENSORIAIS**

<b>REQUISITO</b>	<b>1ª QUALIDADE 7 A 9 PONTOS POR ATRIBUTO</b>	<b>2ª QUALIDADE 4 A 6 PONTOS POR ATRIBUTO</b>	<b>3ª QUALIDADE 0 A 3 PONTOS POR ATRIBUTO</b>
<b>Gueirras</b>	- COR VERMELHO VIVO E UNIFORME; - MUCOSIDADE SUAVE E TRANSPARENTE; - SERRILHAMENTO UNIFORME NAS EXTREMIDADES;	- COR VERMELHA PÁLIDO NÃO UNIFORME; - MUCOSIDADE DE MÉDIA DENSIDADE DE COR CLARA; - SERRILHAMENTO DESUNIFORME NAS EXTREMIDADES;	- COR CASTANHA, CASTANHO ESCURO, CASTANHO CLARO OU MARROM COM TONALIDADES DESUNIFORMES; - MUCOSIDADE Densa DE COR OPACA; - SERRILHAMENTO DESUNIFORME OU NÃO APRESENTA SERRILHAMENTO;
<b>Olhos</b>	- SUPERFÍCIE SALIENTE; - COR BRILHANTE; - Córnea BRILHANTE;	- SUPERFÍCIE POUCO SALIENTE; - COR SEM BRILHO; - Córnea LEVEMENTE NEBULOSA;	- SUPERFÍCIE PLANA OU CONCAVA; - COR SEM BRILHO; - CORNEA OPACA;
<b>Pele</b>	- COR CARACTERÍSTICA DA ESPÉCIE; - BRILHO METÁLICO E ÚMIDO;	- COR CARACTERÍSTICA DA ESPÉCIE; - BRILHO METÁLICO E PRESENÇA DE MUÇO;	- COLORAÇÃO DESUNIFORME COM PRESENÇA DE DESPIGMENTAÇÃO; - SEM BRILHO E PERDA DE UMIDADE;
<b>Odor</b>	- LEVEMENTE AREIA MOLHADA;	- PRÓPRIO DE PEIXE;	- LEVEMENTE AMONÍACAL LEVEMENTE AZEDO;
<b>Textura</b>	- FIRME E ELÁSTICA; - RESISTÊNCIA DO DESLOCAMENTO DA COLUNA VERTEBRAL; - LINHAS DAS FIBRAS MUSCULARES PERCEPTÍVEIS AO TOQUE DOS DEDOS;	- FIRME, PORÉM NÃO ELÁSTICA; - MÉDIA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DA COLUNA VERTEBRAL; - LINHAS DAS FIBRAS MUSCULARES LEVEMENTE PERCEPTÍVEIS AO TOQUE DOS DEDOS;	- MOLE, PASTOSA - NÃO APRESENTA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DA COLUNA VERTEBRAL; - LINHAS DAS FIBRAS MUSCULARES NÃO PERCEPTÍVEIS AO TOQUE DOS DEDOS;
<b>Danos Físicos</b>	- NÃO APRESENTA DEFORMAÇÕES OU MUTILAÇÕES	- LESÕES LEVES CARACTERÍSTICAS DO APETRECHO DE CAPTURA - SEM MUTILAÇÕES OU DEFORMAÇÕES	- LESÕES MÉDIAS E MUTILAÇÕES
<b>TOTAL</b>	<b>54 - 37</b>	<b>36 - 18</b>	<b>17 - 0</b>

FONTES: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL- DIPOA, DIVISÃO DE INSPEÇÃO DE PESCADO E DERIVADOS – DIPES.