

**ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO DE
MICRORGANISMOS DETERIORANTES E
PATOGENICOS ASSOCIADOS À
PRODUÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA
(*Oreochromis niloticus*)**

CLEUBE ANDRADE BOARI

2004

58485

049933

CLEUBE ANDRADE BOARI

**ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS
DETERIORANTES E PATOGÊNICOS ASSOCIADOS À PRODUÇÃO
DE FILÊS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós Graduação "Stricto Sensu" em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Profa Dra Roberta Hilsdorf Piccoli

**LAVRAS
MINAS GERAIS -
2004**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Boari, Cleube Andrade

**Isolamento, caracterização de microrganismos deteriorantes e patogênicos
associados a produção de filés de tilápia (*Oreochopis niloticus*) / Cleube Andrade
Boari. -- Lavras : UFLA, 2004.**

43 p. : il.

**Orientador: Roberta Hilsdorf Piccoli.
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.**

**1. File de tilápia. 2. Aquicultura. 3. Microorganismo deteriorante. 4.
Microorganismo patogênico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.**

**CDD-639.3758
-664.94**

CLEUBE ANDRADE BOARI

**ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS
DETERIORANTES E PATOGÊNICOS ASSOCIADOS À PRODUÇÃO
DE FILÉ DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do
Programa de Pós Graduação "Stricto Sensu" em
Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título
de "Mestre".

APROVADA em 10 de agosto de 2004

Profª Drª Priscila Vieira Rosa Logato (UFLA)

Profª Drª Maria Cristina Bressan (UFLA)

Profª Drª Rosane de Freitas Schwan (UFLA)



**Profª Drª Roberta Hilsdorf Piccoli
UFLA
(Orientadora)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004**

AGRADECIMENTOS

A Deus, farol de segurança que nos auxilia a encontrar nosso caminho.

À UFLA e a seus professores, pela oportunidade e aprendizagem.

À minha orientadora, Roberta e co-orientador, Henrique, pela amizade, estímulo, paciência, ensinamentos e sabedoria.

À minha querida família, em especial a meus pais, Cleube e Mariana, pelo apoio.

Aos amigos conquistados nessa jornada: Alessandra, Alexandre, Cristiane, Daniela Hirsch, Daniela Carneiro, Delton, Emília Cristina, Gisele, Gláucia, Jaine, Larissa, Nélio, Simone, Rejeana e Vitor, dentre vários outros.

A Dircéia, laboratório de Bacteriologia, DMV.

A Eliane por toda ajuda, indispensável na realização deste experimento.

Ao “Seu Piano”, “Seu Miguel”, Cleusa, Dona Ivone, Aleida pela agradável companhia.

A todos os estagiários e bolsistas de iniciação científica do Laboratório de Microbiologia dos Alimentos, como Carolina Valeriano, Ariana, Belami, Vinicius, Michel, Tales, Guilherme e Andre.

À Rafaela, Helena e Luciana, por todos os esclarecimentos e paciência.

A todos professores do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, pelos grandes ensinamentos transmitidos ao longo desta jornada.

À Professora Priscila Vieira Rosa Logato e aos funcionários da estação de piscicultura do Departamento de Zootecnia da UFLA.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e pelo portal Periódicos CAPES.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

3.3 Parâmetros físico-químicos da água dos tanques de criação.....	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	14
4.1 Parâmetros físico-químicos da água.....	14
4.2 <i>Staphylococcus</i> sp.....	14
4.3 <i>Pseudomonas</i> sp e <i>Aeromonas</i> sp.....	18
4.4 Enterobactérias e Enterococos.....	22
5 CONCLUSÕES.....	35
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Importância da aquicultura e do pescado.....	3
2.2 Aspectos microbiológicos do pescado e sua associação a questões de saúde pública e vida de prateleira.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1 Espécime utilizada.....	8
3.2 Amostragem e pontos de coleta.....	8
3.2.1 Água de abastecimento.....	8
3.2.2 Água dos tanques.....	8
3.2.3 Água de torneira.....	9
3.2.4 Ração.....	9
3.2.5 Microbiota superficial.....	9
3.2.6 Conteúdo do trato gastrointestinal.....	9
3.2.7 Filés frescos e congelados.....	10
3.3 Análises microbiológicas.....	10
3.2.1 Quantificação e caracterização bioquímica de Enterobactérias.....	11
3.2.2 Quantificação e caracterização bioquímica de <i>Salmonella</i> sp.....	11
3.2.3 Quantificação e caracterização bioquímica de <i>Pseudomonas</i> sp.....	11
3.2.4 Quantificação e caracterização bioquímica de <i>Aeromonas</i> sp.....	12
3.2.5 Quantificação e caracterização bioquímica de <i>Staphylococcus</i> sp.....	12
3.2.6 Quantificação e caracterização bioquímica de <i>Enterococcus</i> sp.....	13

3.3 Parâmetros físico-químicos da água dos tanques de criação.....	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	14
4.1 Parâmetros físico-químicos da água.....	14
4.2 <i>Staphylococcus</i> sp.....	14
4.3 <i>Pseudomonas</i> sp e <i>Aeromonas</i> sp.....	18
4.4 Enterobactérias e Enterococos.....	22
5 CONCLUSÕES.....	35
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMO

BOARI, Cleube Andrade. Isolamento, caracterização de microrganismos deteriorantes e patogênicos associados à produção de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). - Lavras: UFLA, 43p., 2004 (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos)*

Embora a aquicultura represente importante fonte de nutrientes de origem animal, bem como destacada atividade econômica, pouco se conhece sobre aspectos microbiológicos associados a este sistema de produção. Sendo assim, considerando-se a necessidade de maior entendimento sobre a microbiota associada à produção de pescado, em período de inverno, esta pesquisa foi levada a efeito. Vinte amostras foram coletadas, sendo assim distribuídas: água de abastecimento dos tanque de criação, água do tanque, ração, lavado superficial, conteúdo do trato gastrointestinal, filé frescos e filés congelados por 30 dias, em congelador doméstico. Análises para quantificação e caracterização bioquímica de microrganismos dos gêneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Salmonella* e outras Enterobacteriaceae foram realizadas no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos, UFLA. A microbiota variada, com prevalência de psicrotróficos (*Pseudomonas* sp e *Aeromonas* sp), obtida ao longo de todos os pontos estudados, revela a presença de gêneros e espécies de microrganismos associados à deterioração de alimentos e a questões de saúde pública. *Staphylococcus* sp foram encontrados no lavado superficial, filés frescos e congelados. *Aeromonas* sp e *Pseudomonas* sp foram isoladas em todos os pontos amostrados. *Enterococcus* sp apenas foram isolados na ração e no lavado superficial. Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp, porém outros gêneros e espécies de enterobactérias foram isolados em todos os demais pontos, com exceção dos filés congelados. Os processos de abate e filetagem foram considerados pontos críticos de controle. O congelamento dos filés provocou a redução de *Staphylococcus* sp, *Aeromonas* sp., porém, as contagens de *Pseudomonas* sp foram superiores. A microbiota associada à produção de pescado pode comprometer a vida de prateleira e segurança alimentar do produto final.

Comitê de Orientação: Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA (Orientadora), Prof. Dr. Henrique César Pereira Figueiredo – UFLA (Co-orientador)

ABSTRACT

BOARI, Cleube Andrade. **Isolation and biochemical characterization of spoilage and pathogenic bacteria associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) filet production.** Lavras: UFLA, 2004. 43p (Dissertation – Master Program in Food Sciences).

Although aquaculture represents an important activite to produce animal food to human nutrition, the microflora associated to fish fillet production is not better established. The aim of this work was the isolation and characterization of microflora associated to tilapia (*Oreochromis niloticus*) filet production. Samples of water supply, pond water, fish feed, skin (mucus), intestinal contents, water used in fileting, fresh and frozen filets were collected in a commercial aquaculture system, located in Lavras, MG, Brazil. Selective media were used to detect *Staphylococcus* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., Enterobacteriaceae and *Salmonella* spp. Randomly selected isolates (n=200) were identified using biochemical tests. *Aeromonas* spp. and *Pseudomonas* spp. were the predominant microbial group due water temperature (this research occurs during tropical winter when water temperature can vary 15°C to 25°C). *Aeromonas* spp. was not detected only in frozen filets. *Pseudomonas* spp. was detected in all points in exception of water used in fileting. *Staphylococcus* spp. was present in skin, fresh and frozen filets. *Enterococcus* spp. and Enterobacteriacee were found in pond water, fish feed and skin. *Salmonella* spp. was not detected. Several species and genus of microorganisms isolated may represent risks to public health and may reduce the shelflife of fish meat.

Guidance Committee: Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA (Advisor),
Prof. Dr. Henrique César Pereira Figueiredo – UFLA

1 INTRODUÇÃO

Nossa sociedade vem passando por grandes dilemas nestas últimas décadas e, definitivamente, um dos mais importantes é o que trata de como aumentar a oferta de alimentos a uma população crescente e demasiadamente heterogênea, respeitando-se conceitos de sustentabilidade. Como forma de resolver tal questão, assuntos como qualidade e segurança alimentar têm sido temas pertinentes em debates e pesquisas ao longo de todo o planeta.

Dentre diversos sistemas de produção animal, cujo objetivo principal é disponibilizar nutrientes de alta qualidade ao consumo humano, a aqüicultura vem ganhando espaço em muitos países, devido, principalmente, aos atributos nutricionais específicos associados ao pescado, tão desejados pelo consumidor moderno.

Neste aspecto, o Brasil desponta devido o seu grande potencial de produção, em função, principalmente, de ser detentor da maior reserva de água doce do mundo, extensa costa marítima, com aproximadamente 8.500 quilômetros, além de farta disponibilidade de terras e mão-de-obra. Porém, mesmo com tal potencialidade, classifica-se, apenas, como o 19º produtor mundial, com produção anual estimada de 843.376,5 toneladas de pescado (FAO, 2003).

Baseando-se nas evidentes previsões de crescimento, muitas políticas vêm sendo direcionadas à expansão e modernização da aqüicultura brasileira. Sendo assim, muitas pesquisas ainda devem ser realizadas, principalmente aquelas que tenham como enfoque a avaliação dos perigos que o pescado possa representar à saúde pública, pela veiculação de microrganismos patogênicos, bem como a influência de agentes saprófitas sobre a vida de prateleira deste alimento.

A microbiota presente no produto final associa-se, intimamente, a procedimentos adotados ao longo do abate e processamento da carne, bem como aqueles relacionados à higiene de utensílios e equipamentos, hábitos de higiene adotados pelos manipuladores, condições de acondicionamento, armazenamento, transporte e exposição do pescado à comercialização.

Além destes aspectos, não há como deixar de salientar a importância que o ambiente de criação e técnicas de produção animal representam à qualidade do pescado, visto que organismos aquáticos, como os peixes, refletem, de forma mais direta, as condições presentes no meio ambiente. Sendo assim, a qualidade microbiológica da água de abastecimento e água dos tanques, bem como da ração utilizada, também são importantes parâmetros a serem considerados.

A adoção de ferramentas de controle de qualidade, como as boas práticas e sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle, são importantes formas de se assegurar a qualidade higiênico-sanitária satisfatória deste tipo de alimento. Porém, o passo inicial corresponde ao conhecimento sobre a microbiota patogênica e deterioradora associada ao sistema de produção de pescado, possibilitando, dessa forma, a otimização de processos que visam à eliminação ou redução destes agentes ao longo da cadeia alimentar.

Considerando-se tais questões, esta pesquisa foi elaborada com o objetivo de isolar e caracterizar microrganismos deteriorantes e patogênicos associados à produção de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da aquicultura e do pescado

A estimativa de que a população mundial, em meados do século XXI, aproxime-se de 9 bilhões de pessoas, como relatado por Goodland (1997), é importante argumento para que se dimensionem acréscimos gradativos na oferta de alimentos. A aquicultura, dentre diversos outros sistemas de produção animal, destaca-se neste contexto por sua relevante participação no abastecimento do mercado de alimentos.

A pesca e o consumo de pescado são hábitos tão antigos quanto a própria existência do homem, datando de épocas remotas e, atualmente, representa importante fonte de nutrientes e proteínas de origem animal, além de considerável fonte de riquezas e divisas (Almeida Filho et al., 2004).

Embora grande parte do pescado consumido no mundo ainda seja resultado do extrativismo, a aquicultura em cativeiro cresce a índices consideráveis (FAO, 1997). Neste cenário, o Brasil merece destaque, pois dispõe de condições amplamente favoráveis a sua expansão, como clima, disponibilidade de terras, água, várias espécies de peixes, mão-de-obra e incentivos fiscais (Queiroz & Moura; 1996).

Porém, contraditoriamente a estes fatos, a atividade no Brasil apresenta números bastante modestos, quando comparada a de outros países produtores, enquadrando-se como 19º produtor mundial (FAO, 2003). Segundo Teixeira (1993), a baixa produtividade, oferta insuficiente, altos preços e questões de logística são alguns dos responsáveis por esta realidade.

A procura por este tipo de alimento cresce a cada dia, em função de atributos específicos tão desejados pelo consumidor moderno. Soccol et al. (2003), dentre outros autores, relatam a importância do consumo de pescado,

em função do alto valor biológico das moléculas protéicas, presença de diversos tipos de vitaminas, minerais e importantes lipídeos poliinsaturados, como os da família ômega-3. Kazutoshi Nakamura et al. (2002) citam o pescado como a principal fonte de vitamina D presente na dieta japonesa.

Neste contexto, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada uma das principais espécies de peixe, sendo mundialmente cultivada (Jory et al., 2000). As principais razões para este sucesso devem-se ao ótimo desempenho zootécnico, rusticidade, facilidade de obtenção de alevinos, adaptabilidade aos mais diversos sistemas de criação, grande aceitabilidade no mercado de lazer e alimentício, além das qualidades nutritivas e organolépticas do pescado obtido, como carne branca, textura firme e fácil filetagem (Boscolo et al., 2001; Souza, 2001; Meuer, 2002).

2.2 Aspectos microbiológicos do pescado e sua associação a questões de saúde pública e vida de prateleira

O tecido muscular de animais vivos é considerado estéril, pois dispõe de glóbulos brancos e anticorpos que são eficazes na detecção e combate a agentes infecciosos (Balasubramanian et al., 1992). No entanto, após o abate, este sistema de defesa é perdido, podendo ocorrer, dessa forma, a contaminação microbiológica da carne (Hoffmann e Romanelli, 1998).

A contaminação do pescado é, de certa forma, conhecida e influenciada por condições ambientais, como qualidade da água e ração empregada nos sistemas de produção, além das condições higiênico-sanitárias adotadas ao longo do processamento (Gonçalves, 2004; Gonzáles-Fandos et al., 2004).

Ainda neste raciocínio, Gonzáles et al. (1999) propõem que altas contagens de bactérias, principalmente da família Enterobacteriaceae, podem ser consequência de procedimentos impróprios durante manipulação.

Segundo Huss et al. (2000), o pescado pode representar importante relevância em questões de saúde pública devido aos grandes riscos de contaminação deste alimento por agentes químicos e biológicos, podendo estes chegar à mesa do consumidor.

A proporção em que este tipo de alimento participa em casos e surtos de doenças veiculadas por alimentos depende muito da forma de preparo e consumo. Segundo Lee et al. (1996), no Japão, país no qual o consumo de pescado cru corresponde à base da dieta, sua participação como veículo de agentes causadores de doenças correspondeu a 21,7% do total de casos, no período de 1981-1990. Diferentemente dessa situação, na Holanda, onde os hábitos alimentares distinguem-se daqueles encontrados em alguns países do oriente, a participação da carne de pescado em surtos e casos de doenças foi de 4%, considerando-se o período de 1983-1990 (Notermans & Van der Giessen, 1993). Dados coletados nos Estados Unidos, país que também apresenta hábitos alimentares peculiares, demonstram que o pescado enquadra-se como o terceiro mais relevante veículo de transmissão de doenças, avaliando-se o período de 1983-1993 (Lipp & Rose, 1997).

Embora diversos microrganismos patogênicos ao homem, como *Salmonella*, associem-se, preferencialmente, ao trato gastrointestinal de animais de sangue quente, muitos estudos demonstram sua ocorrência no trato intestinal de tilápias, podendo, dessa forma, estar presente no produto final (Burras, 1993).

Diversos grupos de bactérias patogênicas e saprófitas têm sido encontradas na água, como Enterobacteriaceae, *Aeromonas* sp., *Micrococcus*, *Staphylococcus* sp., podendo também estar presente tanto em peixes como no pescado (Souza, 1996a). Langoni et al. (2000), em estudos avaliando a microbiota intestinal de peixes alimentados com diferentes dietas, detectaram a presença de microbiota variada, apresentando diversos agentes com destacada

relevância para questões de saúde pública, como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella thyphimurium* e *Shigella sonnei*.

Em pesquisas sobre a microbiologia de diferentes sistemas de produção de peixe em tanques, Nedohula & Westhohh (1997) detectaram a presença de importantes microrganismos, envolvidos tanto em questões de saúde pública como na deterioração de alimentos, destacando-se, principalmente, *Aeromonas* sp., Moraxellaceae, *Bacillus* sp., Comamonadaceae, *Pleisiomonas* e *Pseudomonas*. Em sintonia com os demais autores, Sousa et al. (1996b), ao estudarem aspectos microbiológicos da carne de truta fresca, identificaram *Pseudomonas*, *Moraxella* e *Aeromonas* como os principais gêneros de microrganismos.

Além dos aspectos relacionados à saúde pública, estes agentes também podem comprometer a qualidade e vida de prateleira deste alimento. O pescado, em função de atributos específicos, apresenta alta capacidade de deterioração, sendo que grande parte das alterações na textura e *flavor* pode ser atribuída à atividade microbiana (Nickelson II et al., 2001).

Dentre estes atributos específicos estão o alto conteúdo de água (Aw) e pH próximo à neutralidade, os quais favorecem a multiplicação de microrganismos (Karmas & Harris, 1987; Gonzáles-Fandos et al., 2004).

Para Gram e Dalgaard (2002), a deterioração, resultante da multiplicação microbiana e deposição de metabólitos, como aminas, sulfetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos orgânicos, altera as características organolépticas do pescado, deixando-o inaceitável ao consumo humano.

Sendo assim, o conhecimento sobre a microbiota associada ao pescado é excelente preditor da vida de prateleira deste alimento (Gram & Huss, 1996).

Embora não se conheça a associação direta entre muitos microrganismos e sua capacidade de causar doença, sabe-se que, de forma

indireta, muitos agentes podem representar graves perigos à saúde pública (Adegoke, 1986).

Segundo Adam et al (1998), outro importante aspecto envolvendo o pescado e saúde pública corresponde à grande diversidade de microrganismos resistentes a antibióticos encontrados em sistemas aquícolas, fato constatado por outros autores, que afirmam que grande parte destas bactérias resistentes são patogênicas ao homem (Alderman & Hasting, 1998; Peterson & Dalgaard, 2003).

Como discutido por Costa (2003), a transmissão de plasmídeos contendo genes de resistência entre microrganismos pode causar sérios problemas à saúde das populações, pois quando for necessário uma terapia com antibióticos, em casos de surtos bacterianos, esta poderá não surtir o efeito esperado.

Furishita et al. (2003), ao estudarem a presença de genes de resistência à antibióticos em microrganismos isolados de sistemas aquícolas, detectaram gêneros como *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Salmonella* e outras Enterobacteriaceae, portadoras de genes de resistência à tetraciclina.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia e nos laboratórios de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos e Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária.

3.1 Espécime utilizada

Foram capturadas, ao acaso, 15 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), criadas em tanques escavados, com densidade de 2,5 peixes/m², durante os meses de agosto e setembro, sendo 10 espécimes para análise do conteúdo do trato gastrointestinal e lavado de superfície e 5 para filetagem.

Os peixes foram acondicionados em sacos plásticos estéreis e transportados vivos aos laboratórios em caixas de isopor, à temperatura ambiente, onde foram submetidos à eutanásia por choque térmico em caixas de isotérmicas com água e gelo, como recomendado por Noga (1996).

3.2 Amostragem dos pontos de coleta

3.2.1 Água de abastecimento

Foram coletadas quatro amostras de 100 mL de água de abastecimento em vidros estéreis, individualizados, acondicionadas e transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo.

3.2.2 Água dos tanques

Do mesmo tanque onde os peixes foram capturados, foram coletadas quatro amostras de 100 mL de água, em vidros estéreis, individualizados, acondicionadas e transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo.

O tanque selecionado foi fertilizado com adubo orgânico, à base de esterco de aves.

3.2.3 Água de torneira

Foram coletadas duas amostras de 100 mL de água da torneira, utilizada no abate e na higienização de bancadas e utensílios, em vidros estéreis, individualizados, acondicionadas e transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo. Em função da cloração, as amostras foram adicionadas de tiosulfato de sódio para inativação de cloro residual.

3.2.4 Ração

Foram coletadas duas amostras de 100g de ração em vidros estéreis individualizados e transportadas ao laboratório para análise.

3.2.5 Microbiota superficial

Para avaliação da microbiota associada à superfície dos peixes, lavado superficial, utilizou-se o método de rinsagem em sacos estéreis contendo solução salina estéril a 0,85% (p/v).

3.2.6 Conteúdo do trato gastrintestinal

Inicialmente, foi feita a desinfecção da superfície dos peixes, utilizando-se álcool 70%, sendo, posteriormente, realizada uma incisão na porção ventral e média. Parte do intestino, juntamente com o conteúdo intestinal, foi seccionada e pesada, sendo 10 gramas de cada *pool* assepticamente macerados e diluídos em 90 mL de solução salina estéril a 0,85% (p/v).

3.2.7 Filés frescos e congelados

Foram obtidos, assepticamente, 25 gramas de cada um dos cinco filés frescos, artesanalmente processados, que foram macerados e homogeneizados em 225 mL de solução salina estéril a 0,85% (p/v). O intervalo entre a filetagem e as análises microbiológicas foi de 30 minutos.

A fração restante de cada filé foi reembalada em filme estéril e congelada em *freezer* doméstico por 30 dias, para posterior análise. Após o período de 30 dias, procedeu-se o descongelamento dos filés, por duas horas.

A elaboração dos *pools*, obtidos através da homogeneização, em condições assépticas, de alíquotas equivalentes das amostras previamente obtidas foi assim esquematizada:

Microbiota pré-filetagem: 2 *pools* de amostras de água de abastecimento (2 amostras/*pool*); 2 *pools* de amostras de água dos tanques de engorda (2 amostras/*pool*); 1 *pool* de ração utilizada na engorda dos peixes (2 amostra/*pool*); 2 *pools* de lavado superficial (5 amostras/*pool*); 2 *pools* de conteúdo do trato gastrointestinal (5 amostras/*pool*); 1 *pool* de amostras da água utilizada no processo de abate de filetagem (2 amostras/*pool*).

Microbiota pós-filetagem: 5 amostras de filés frescos; 5 amostras de filés congelados por 30 dias.

3.3 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos e Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária, ambos na Universidade Federal de Lavras (UFLA).



3.2.1 Quantificação e caracterização bioquímica de *Enterobacteriaceae*

Aliquotas das diluições apropriadas de cada *pool* foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Entérico Hektoen, incubadas a 37°C por 48 horas. Após leitura das placas, colônias suspeitas foram isoladas e submetidas à coloração de Gram, catalase, oxidase e provas bioquímicas: Produção de ácido e gás em glucose, indol, Voges-Proskauer, vermelho de metila, nitrato, KCN, uréia, citrato de Simmons e fermentação de açúcares (rafinose, xilose, manitol, sucrose, lactose, arabinose, adonitol, salicina, dulcitol, maltose) (Bergey's Manual, 1994; Silva et al., 1997).

3.2.2 Isolamento e caracterização bioquímica de *Salmonella* sp.

Inicialmente procedeu-se o pré-enriquecimento no qual 25,0 gramas, ou mL, de cada amostra foram inoculadas em Erlenmeyers contendo 225,0 mL de água peptonada tamponada, sendo incubadas a 37°C por 18 horas. Posteriormente, realizou-se o enriquecimento da amostra utilizando-se os caldos seletivos Selenito Cistina e Rapaport & Vassiliadis, com incubação a 37°C por 24 horas. Para o plaqueamento diferencial foram utilizados os meios Rambach e Hecktoen, incubados a 37°C por 24 horas. Colônias suspeitas foram isoladas e transferidas para tubos contendo Ágar Ferro Tríplice Açúcar (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA), sendo incubados a 35°C por 24 horas e posteriormente submetidas a provas bioquímicas (Silva et al., 1997).

3.2.3 Quantificação e caracterização bioquímica de *Pseudomonas* sp

Aliquotas das diluições apropriadas de cada *pool* foram inoculadas em tubos contendo caldo asparagina, sendo incubadas a 30°C por 48 horas (teste presuntivo). Dos tubos positivos, que apresentaram fluorescência em luz ultravioleta, foram repicadas alíquotas para tubos contendo caldo acetamida com incubação à 30°C por 48 horas (teste confirmativo). Placas de ágar Cetrimida,

adicionadas de glicerol, foram estriadas à partir de tubos acetamida positivos sendo incubadas à 30°C por 48 horas. Após incubação, colônias foram isoladas e submetidas à coloração de Gram, catalase, oxidase e provas bioquímicas de fermentação de açúcares (glucose, trealose e myo-inositol), descarboxilação de aminoácidos (lisina, ornitina e arginina), crescimento a 41°C e 4°C, 6,5% NaCl, produção de H₂S em LIA e TSI, indol, motilidade, nitrato, citrato de Simmons, Voges-Proskauer, vermelho de metila e KCN (Mac Faddin, 1980; Bergey's Manual, 1994; Silva et al., 1997).

3.2.4 Quantificação e caracterização bioquímica de *Aeromonas* sp

Alíquotas das diluições adequadas de cada *pool* foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Dextrina, enriquecido com ampicilina, sendo incubadas à 28°C por 48 horas. Após incubação e leitura da placas, colônias suspeitas foram isoladas e submetidas à coloração de Gram e provas bioquímicas de catalase, oxidase, fermentação de açúcares (glucose, trealose, sacarose, arabinose, maltose, salicina e dextrina), descarboxilação de aminoácidos (lisina, ornitina e arginina), hidrólise da esculina e Voges-Proskauer (Bergey's Manual, 1994).

3.2.5 Quantificação e caracterização bioquímica de *Staphylococcus* sp

Alíquotas de 0,1 mL das diluições apropriadas de cada *pool* foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker, sendo incubadas à 37°C por 48 horas. Após incubação e leitura das placas, colônias suspeitas foram isoladas e submetidas à coloração de Gram, catalase, oxidase, coagulase, termonuclease, crescimento em 10% e 15% NaCl, fermentação de açúcares (glucose, rafinose, sucrose, maltose e galactose), utilização anaeróbica do manitol, produção de nitrato e urease (Bergey's Manual, 1994; Silva et al., 1997).

3.2.6 Quantificação e caracterização bioquímica de *Enterococcus* sp

Aliquotas das diluições apropriadas de cada *pool* foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar KF, com incubação a 35°C por 48 horas. Após incubação e leitura, colônias suspeitas foram isoladas e submetidas à coloração de Gram e provas bioquímicas de fermentação de açúcares (xilose, ramnose, sucrose, lactose, melibiose, rafinose, melezitose, adonitol, sorbitol e manitol), crescimento a 50°C, 45°C, 10°C, pH 9,6, 40% bile; produção de H₂S em LIA, Voges-Proskauer (Bergey's Manual, 1994; Silva et al., 1997).

3.3 Parâmetros físico-químicos da água dos tanques de criação

Temperatura e pH do tanque de engorda, onde se coletaram amostras de água e espécimes de peixes, foram mensurados com instrumento específico (pHmetro e termômetro) existente na Estação de Piscicultura do Departamento de Zootecnia. A mensuração ocorreu na superfície do espelho d'água dos tanques, às 8:00 horas da manhã.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Parâmetros físico-químicos da água

Os parâmetros físico-químicos desempenham papel fundamental sobre a sobrevivência e multiplicação microbiana (Adams, 2000). Em especial na aquicultura, a microbiota reflete as condições ambientais locais, como temperatura e pH da água (Nickelson II et al., 2001).

O pH da água, 7,05, neutro, é propício ao desenvolvimento de grande variedade de espécies microbianas. Porém, ocorrem interações entre os parâmetros físico-químicos, criando-se, dessa forma, condições específicas ao desenvolvimento de certos microrganismos e outros não. Neste aspecto, a temperatura da água, 23,0°C, favorece o desenvolvimento de psicrotróficos, como *Pseudomonas* e *Aeromonas*, cuja faixa de crescimento varia de 5°C a 28°C, em detrimento de mesófilos, como enterobactérias, estafilococos e enterococos, cuja temperatura ótima situa-se em torno de 37°C (Dawes & Sutherland, 1992; Moat & Foster, 1995).

Tais valores, principalmente a temperatura da água, são pontos chave na compreensão de alguns dados encontrados neste experimento, salientando-se que este ocorreu no final do período de inverno no hemisfério sul (agosto/setembro).

4.2 *Staphylococcus* sp

Contagens de microrganismos do gênero *Staphylococcus* foram obtidas no lavado superficial, filés frescos e filés congelados. Porém, não foi detectada a presença de microrganismos deste gênero em amostras de água de abastecimento, água do tanque de engorda, ração, conteúdo do trato

gastrointestinal e água utilizada no abate e filetagem do pescado. Porém, contagens consideráveis foram encontradas no lavado superficial (Figura 1).

Avaliando-se tais dados, observa-se que o muco superficial figura como importante reservatório de estafilococos, podendo representar potencial fonte de contaminação dos filés.

Na Figura 2 encontram-se esquematizadas as espécies de microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, isoladas ao longo do fluxograma de produção de filés de tilápia e suas respectivas frequências.

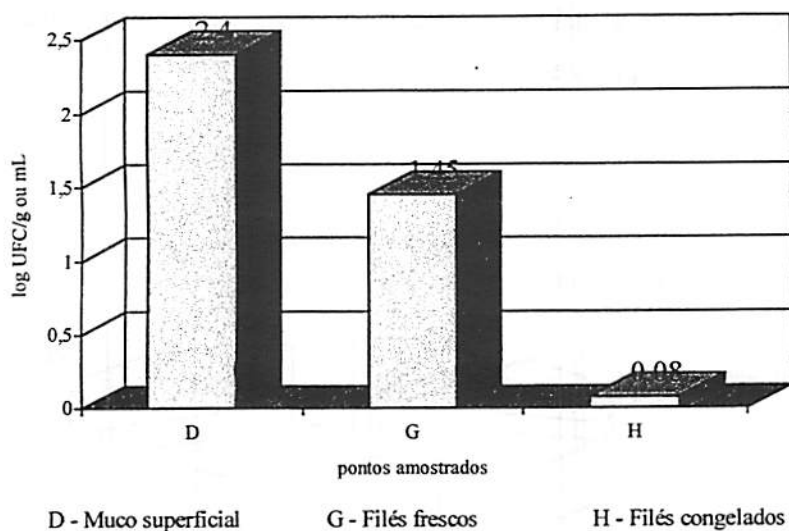


FIGURA 1 Contagens de *Staphylococcus* sp, observadas ao longo dos pontos amostrados, com valores expressos em \log_{10} UFC/g ou mL

A maior frequência encontrada foi de *S. sciuri* (33%). Esta espécie de microrganismo apresenta acentuada capacidade de colonização, habitando ambientes, como peles de animais, solo e água, dentre outros (Kloos et al., 1976; Kloos et al., 1997). Porém, nenhum estudo foi encontrado relatando sua associação a sistemas aquícolas.

Embora os fatores de virulência e, conseqüentemente, o envolvimento de muitos microrganismos em quadros de doenças veiculadas por alimentos ainda não sejam bem esclarecidos, admite-se que muitos deles estejam relacionados à transmissão de genes de resistência a antibióticos (Adams et al., 1998; Costa, 2003). Diversos estudos, como o realizado por Wu et al. (1998) e Lencastre (1999), apontam *S. sciuri* como importante carreador de genes de resistência a meticilina, representando, dessa forma, inquestionável perigo à saúde das populações.

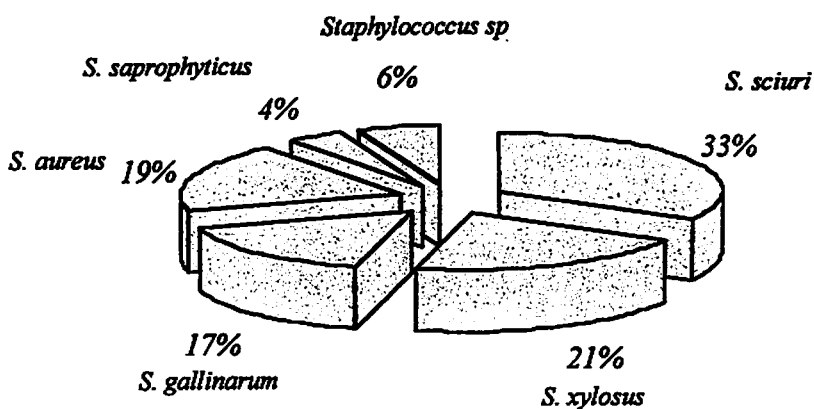


FIGURA 2 Espécies de microrganismos do gênero *Staphylococcus* encontradas ao longo do fluxograma de produção de filés de tilápia e suas respectivas frequências

Staphylococcus xylosum apresentou a segunda maior frequência de isolamento (21%), não tendo sido encontrado nenhum trabalho associando-o a doenças veiculadas por alimentos. Ao contrário disso, pesquisas realizadas por diversos autores, como Barrière et al. (2001), demonstram sua importância em processos fermentativos na indústria de alimentos.

A presença de *S. aureus* (19%) esteve associada aos filés frescos, indicando que a manipulação, durante abate e filetagem; pode ser fonte de contaminação por este microrganismo, pois, considerável porcentagem da população humana é portadora assintomática deste agente (Wieneke et al., 1993). Autores como Viera et al. (1998) e Vieira et al. (2004) atribuem a presença desta bactéria a condições inadequadas de higiene e contaminação cruzada ao longo do processamento do pescado.

Do total de *S. aureus* detectado, 33% destes desenvolveram colônias atípicas em ágar Baird-Parker (ausência de halo, resultante da ação de lipases e proteases sobre a emulsão de gema de ovo) e, tal fato pode levar este tipo de microrganismo em desconsideração durante análises laboratoriais, subestimando-se, dessa forma, a população total associada ao alimento (Boari et al., 2002).

Embora tenha sido encontrada considerável frequência de *S. aureus* coagulase positiva, grande parte das espécies de estafilococos isoladas em peixes são coagulase negativos, como descrito por Varvarigos (2001). E, segundo este mesmo autor, desde 1997, várias espécies têm sido isoladas em lesões cutâneas de peixes, em aquiculturas da Grécia, como *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylosum*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. cohnii*, *S. chromogenes*.

A ausência de microrganismos do gênero *Staphylococcus* em amostras de água de abastecimento, água do tanque de engorda e água de torneira, provavelmente, deve-se à temperatura do período estudado, inferior à faixa

adequada à sobrevivência e multiplicação deste agente. Embora não tenham sido encontrados dados na literatura, sua prevalência no muco superficial pode ter sido favorecida por algum componente que minimizou os efeitos deletérios da temperatura.

4.3 *Pseudomonas* sp e *Aeromonas* sp

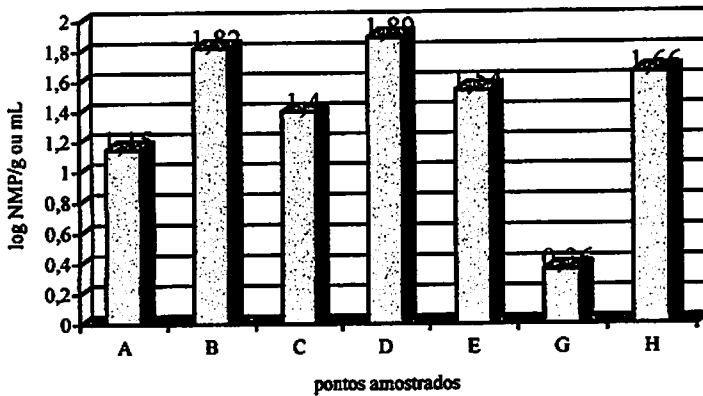
Pseudomonas sp foram encontradas em todos os pontos pesquisados, com exceção da água utilizada nos processos de abate e filetagem, como demonstrado na Figura 3.

As espécies de *Pseudomonas* isoladas (Figura 4), com destaque a *P. putrefasciens* (26%), *P. aeruginosa* (21%), ainda não são diretamente associadas a doenças veiculadas por alimentos, porém, são consideradas importantes agentes deterioradores de carnes e pescado (Tryfinopoulo et al, 2002).

Com exceção dos filés congelados, todas as demais amostras, desde a água de abastecimento aos filés frescos, apresentaram contagens relevantes de microrganismos do gênero *Aeromonas* (Figura 5). Tais dados vêm reforçar a idéia da ubiquidade desta bactéria em sistemas aquícolas, como também já proposto por vários autores (Alderman & Hastings, 1998).

Dos 69 microrganismos aleatoriamente isolados em ágar dextrina ampilina, 13 (20%) foram caracterizados como *Aeromonas* sp., 5 isolados (6%), como bactérias pertencentes ao gênero *Plesiomonas* sp. e 51 isolados (72%) não passaram pelos testes bioquímicos de triagem (catalase e oxidase positivas), característicos de microrganismos do gênero *Aeromonas* (Joseph & Carnaham, 1994).

Informações sobre gêneros e espécies isoladas encontram-se na Figura 6.



- A - Água de abastecimento dos tanques
- B - Água dos tanques
- C - Ração
- D - Muco superficial
- E - Conteúdo do trato gastrointestinal
- F - Água de torneira (abate e filetagem)
- G - Filés frescos
- H - Filés congelados por 30 dias

FIGURA 3 Contagens de *Pseudomonas*, observadas ao longo dos pontos amostrados, com valores expressos em \log_{10} UFC/g ou mL

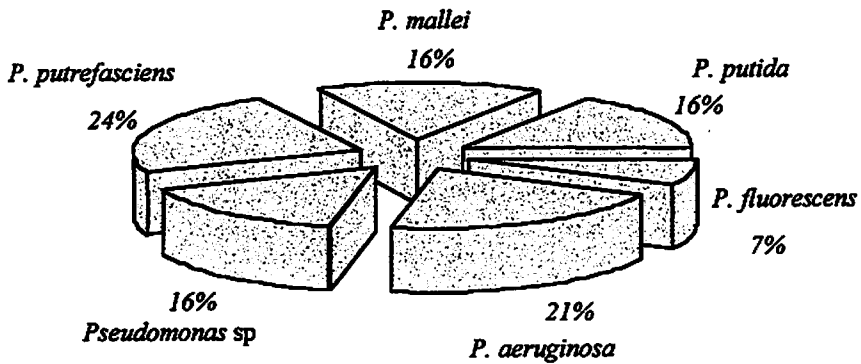
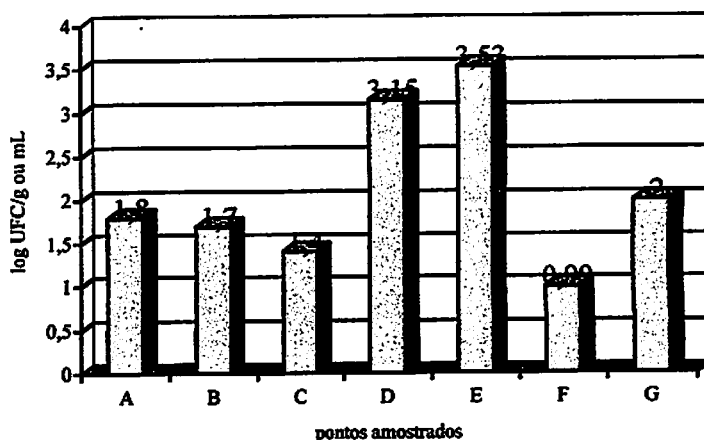


FIGURA 4 Espécies do gênero *Pseudomonas* encontradas ao longo do fluxograma de produção de filés de tilápia e suas respectivas frequências

As freqüências de *Aeromonas* sp (20%) e *Plesiomonas* (6%) são muito semelhantes aos valores encontrados por Nedoluha & Westhoff (1997) em sistemas aquícolas, sendo, respectivamente, de 19% e 5%. Ainda, segundo os autores supracitados, a prevalência de *Aeromonas* no conteúdo do trato gastrointestinal deve-se à capacidade que estes microrganismos apresentam em sobreviver e multiplicar-se em temperaturas inferiores, como aquelas encontradas no período de inverno, condições nas quais este experimento foi conduzido, bem como sua grande capacidade de produção de exoenzimas, como lipases e proteases, o que aumenta sua capacidade de competição e colonização do trato gastrointestinal.



A - Água de abastecimento dos tanques
 B - Água dos tanques
 C - Ração
 D - Muco superficial

E - Conteúdo do trato gastrointestinal
 F - Água torneira (abate e filetagem)
 G - Filés frescos

FIGURA 5 Contagens de *Aeromonas* observadas ao longo dos pontos amostrados, com valores expressos em log₁₀ UFC/g ou mL

Aeromonas hydrophila, que apresentou a maior frequência de isolamento (12%), é uma espécie móvel, possível causadora de diarreia em seres humanos. Além disto, é considerada como um dos grandes responsáveis pela deterioração de pescado (Huss, 1997). As demais espécies de *Aeromonas* isoladas são consideradas como importantes deterioradores de alimentos.

Plesiomonas shigelloides (8%) tem sido associada à ocorrência de gastroenterites em seres humanos, sendo os peixes considerados reservatório deste agente (Nickelson II, McCarthy e Finne, 2001).

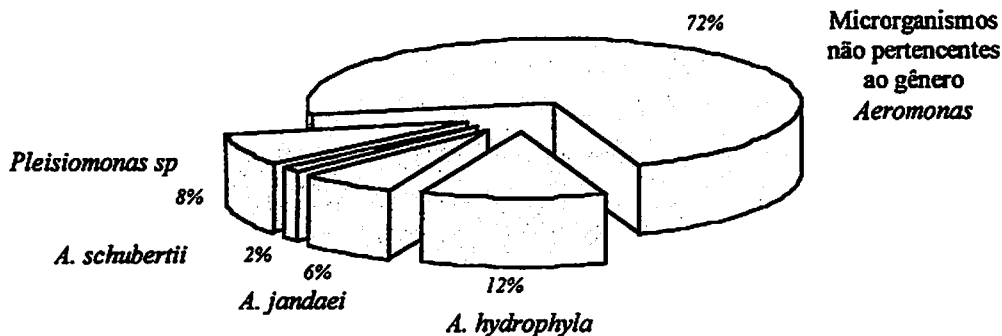


FIGURA 6 Espécies de microrganismos do gênero *Aeromonas* encontrados ao longo do fluxograma de produção de filés de tilápia e suas respectivas frequências



Nedoluha e Westhoff (1997), ao estudarem o efeito de três diferentes tipos de sistemas aquícolas sobre o número e gêneros de microrganismos, isolados em peles, brânquias, conteúdo trato gastrointestinal e água das lagoas identificaram *Aeromonas* como gênero predominante em brânquias e trato gastrintestinal. No tegumento foi o segundo mais importante, destacando-se, neste, *Pseudomonas* sp, principalmente as produtoras de pigmentos fluorescentes, como *P. putida* e *P. fluorescens*. Dados semelhantes indicando a prevalência de *Aeromonas* e *Pseudomonas* também foram encontrados por Souza e Silva-Souza (2001) ao avaliarem a microbiota associada a peixes e à água do Rio Congonhas, no estado do Paraná.

Maiores estudos sobre a prevalência de *Aeromonas* e *Pseudomonas* em sistemas aquícolas, bem como fontes de contaminação, são importantes para que estratégias de controle destes agentes sejam traçadas.

4.4 Enterobactérias e Enterococos

Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp em nenhuma das amostras analisadas, porém, são crescentes as evidências de que certas espécies participam da microbiota indígena em aquículturas tropicais, visto a possibilidade de disseminação de tal patógeno, principalmente por animais silvestres (Beveridge, 1988; Burras, 1993).

As contagens de Enterobactérias e enterococos, avaliadas ao longo do fluxograma de produção de pescado, encontram-se nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

Como descrito pelo ICMSF (1998), a contagem global de enterobactérias no conteúdo do trato gastrointestinal de peixes varia entre 10^2 - 10^8 UFC/g. Porém, neste experimento, a diluição inicial para quantificação de enterobactérias em ágar Hektoen foi de 1000 vezes, não havendo crescimento

em placas, fornecendo condições para afirmar que a contagem de enterobactérias no trato gastrointestinal foi inferior à 10^3 UFC/g.

A temperatura da água nos meses de inverno, à qual os peixes ficaram expostos, com valores inferiores aos requeridos por microrganismos mesófilos, pode ter sido fator determinante para estas baixas contagens de enterobactérias encontradas. Isto porque a temperatura do trato gastrointestinal reflete aquela encontrada no ambiente aquático, devido à natureza heterotérmica destes animais. Em associação a tal fato, esta temperatura favorece o desenvolvimento de outros microrganismos, como psicrotróficos, dentre os quais destacam-se *Pseudomonas* sp, os quais terão maior possibilidade de colonizar o trato gastrointestinal, inibindo o desenvolvimento de enterobactérias.

Semelhante ao que ocorreu à enterobactérias, também não houve crescimento de *Enterococcus* nas alíquotas de conteúdo do trato gastrointestinal semeadas em ágar KF.

Santana (2002), ao simular o comportamento da microbiota associada à água de tanques e ao trato gastrointestinal de tilápias, empregando diferentes temperaturas de incubação, descrevem a prevalência de *Aeromonas* sp. em detrimento de enterococos e enterobactérias, em temperatura de incubação de 25°C. Porém, a 37°C, houve prevalência de enterobactérias e outros mesófilos. Tais dados são importantes para se compreender a importância do fator temperatura na prevalência de determinados gêneros de microrganismos no meio ambiente.

Como citado por Souza et al (2003), há uma resposta fisiológica em peixes em função de alterações de fotoperíodo e temperatura, como resultado do ajuste do metabolismo a condições de estresse, sendo a redução na ingestão de alimentos a mudança mais evidente. Sendo assim, tal fato pode explicar o baixo número de enterobactérias e enterococos presentes nas amostras de conteúdo do trato gastrointestinal. Ocorrendo redução no consumo de ração, haverá,

conseqüentemente, redução de substrato disponível à multiplicação microbiana. Esta observação fica evidente quando menciona-se o baixo volume de conteúdo do trato gastrointestinal visualmente observado durante as coletas.

A presença de enterobactérias e enterococos em amostras de água de abastecimento, água dos tanques, ração e muco superficial é indício de contaminação do ambiente aquático por matéria fecal. Sendo assim, tais fontes de contaminação devem ser estudadas e controladas. Grande parte das enterobactérias e enterococos encontrados, apresentados na Tabela 2 e Figura 9, respectivamente, são patogênicas ao homem e, embora não tenham sido detectadas nos filés frescos ou congelados, em abundância, sua presença no sistema aquícola já é motivo para que estratégias de controle da qualidade microbiológica sejam traçadas.

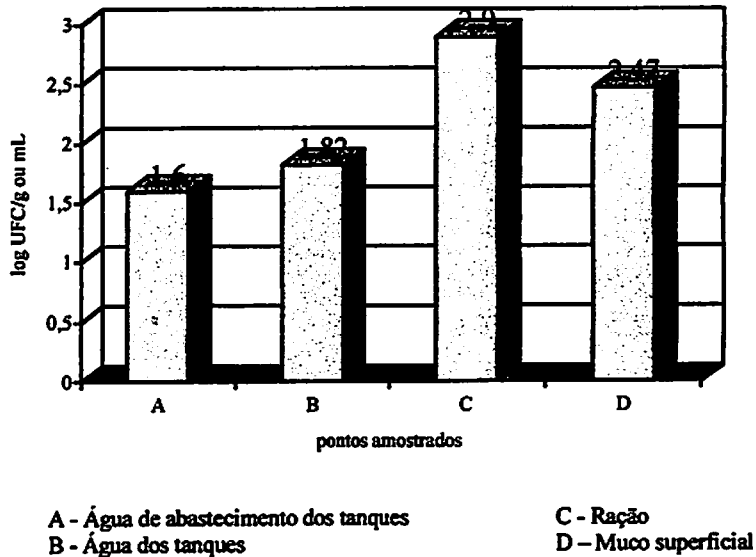
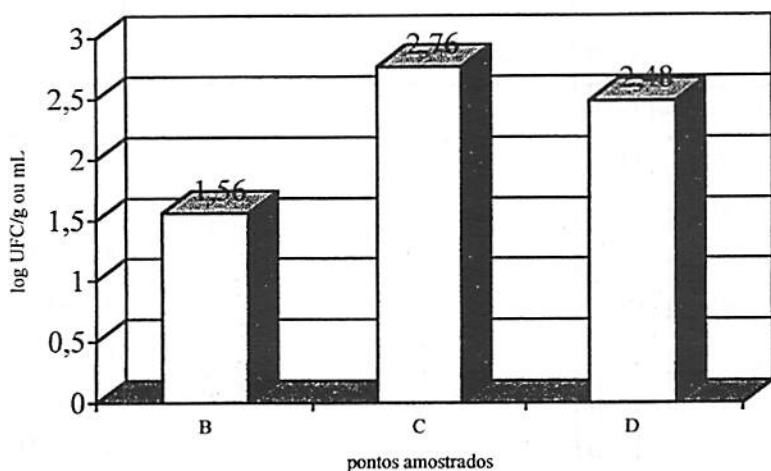


FIGURA 7 Contagens de Enterobacteriaceae observadas ao longo dos pontos amostrados, com valores expressos em \log_{10} UFC/g ou mL



B - Água dos tanques C - Ração D - Muco superficial

FIGURA 8 Contagens de *Enterococcus* observadas ao longo dos pontos amostrados, com valores expressos em \log_{10} UFC/g ou mL

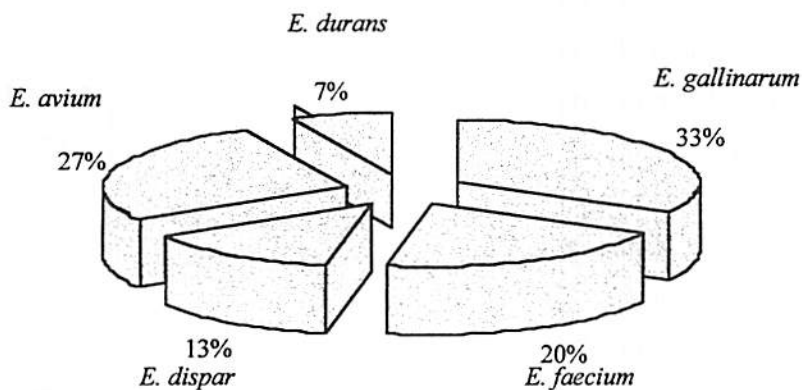


FIGURA 9 Espécies de microrganismos do gênero *Enterococcus* encontrados ao longo do fluxograma de produção de filés de tilápia e suas respectivas frequências.

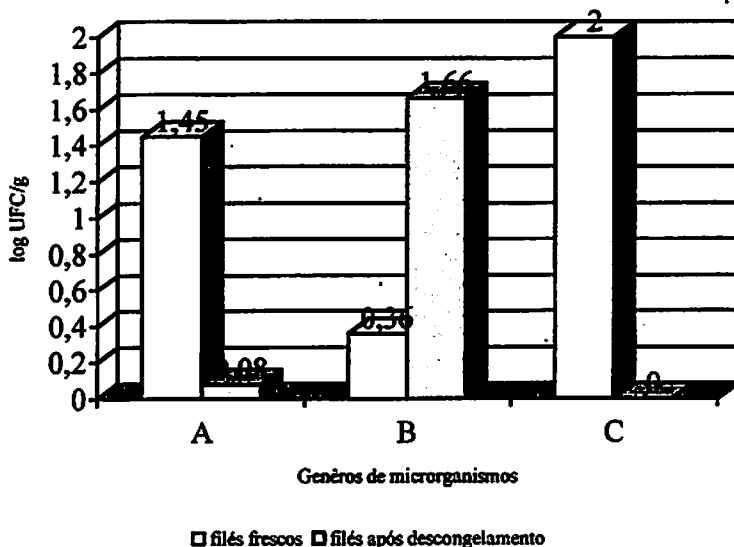
TABELA 2 Distribuição de Enterobacteriaceae por gênero e ou espécie e respectivas frequências

Gênero/ espécie	Frequência
<i>Escherichia coli</i>	15,0% (7)
<i>Erwinia sp</i>	8,5% (4)
<i>Proteus sp.</i>	8,5% (4)
<i>Xenorhabdus sp.</i>	8,5% (4)
<i>Enterobacter sp.</i>	6,4% (3)
<i>Buttiauxella agrestis</i>	6,4 % (3)
<i>Enterobacter asburiae</i>	4,3% (2)
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	4,3% (2)
<i>Providencia sp.</i>	4,3% (2)
<i>Klebsiella planticola</i>	4,3% (2)
<i>Kluyvera ascorbata</i>	4,3% (2)
<i>Leminorella richardii</i>	4,3% (2)
<i>Yersinia sp.</i>	4,3% (2)
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	2,1% (1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,1% (1)
<i>Escherichia coli inativa</i>	2,1% (1)
<i>Klebsiella sp.</i>	2,1% (1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2,1% (1)
<i>Proteus myxofaciens</i>	2,1% (1)
<i>Proteus penneri</i>	2,1% (1)
<i>Providencia alcalifaciens</i>	2,1% (1)
	Total: 100%(47)

O efeito do congelamento, por 30 dias, sobre os filés frescos, reduziu as contagens de *Staphylococcus* sp., *Aeromonas* sp. e Enterobacteriaceae. Microrganismos do gênero *Enterococcus* e *Streptococcus* não foram detectados, nem nos filés frescos, nem nos filés congelados. Porém, o número de *Pseudomonas* sp. foi superior nos filés após o descongelamento, indicando a capacidade deste microrganismo em se multiplicar em baixas temperaturas. As contagens, em filés frescos e congelados, são apresentadas no Figura 10.

Tais dados, tanto sobre *Aeromonas* quanto *Pseudomonas* sp, já foram relatados na literatura. Gram et al. (1990) e Gram et al. (1996) descrevem *Aeromonas* móveis como os principais agentes envolvidos na deterioração de pescado, quando mantidos à temperatura ambiente e *Pseudomonas* sp, como principal agente associado ao pescado congelado, em condições aeróbicas. Sendo assim, mesmo sob condições controladas de armazenamento, altas contagens destes agentes neste tipo de alimento podem comprometer sua vida de prateleira.

Além do congelamento, estabelecendo-se valores médios para contagens microbianas pré-filetagem (água de abastecimento, água dos tanques, água torneira, conteúdo do trato gastrointestinal, lavado superficial e ração) e pós-filetagem (filés frescos e filés congelados), fica clara a importância dos procedimentos de abate, *toillet* e na redução das carga microbiana associada ao fluxograma de produção de pescado, como demonstrado na Tabela 3.



A - *Staphylococcus* sp

B - *Pseudomonas* sp

C - *Aeromonas* sp

FIGURA 10 Contagens microbianas em filés frescos e filés congelados, expressas em \log_{10} UFC/g

TABELA 3 Contagens microbianas pré e pós procedimentos de filetagem pescado, expressas em \log_{10} UFC/g ou mL e \log_{10} NMP de *Pseudomonas* sp /g ou mL

Gêneros / família	Microbiota pré-filetagem	Microbiota pós-filetagem
<i>Staphylococcus</i>	2,4	0,765
<i>Enterococcus</i>	1,133	sem crescimento em placas
<i>Aeromonas</i>	2,095	1,0
<i>Pseudomonas</i>	1,3	1,01
<i>Salmonella</i>	ausente	ausente
Enterobacteriaceae	1,465	sem crescimento em placas

Sistemas de produção aquícolas merecem grande atenção, quando se trata da qualidade higiênico-sanitária e segurança alimentar do produto final, visto a grande facilidade de contaminação do ambiente de produção animal e dificuldades de descontaminação. Portanto, conhecimentos sobre microbiologia do pescado, monitoramento adequado de pontos de contaminação, estabelecimento de medidas que se assegurem a qualidade do pescado, como adoção de ferramentas de controle de qualidade, são atitudes imprescindíveis para que se previna ou impeça a chegada de perigos à mesa do consumidor (Silva-Junior, 1999; Tanazelli e Santos, 2000; Evangelista-Barreto, 2001; Vieira et al., 2004).

A seguir, seguem discriminados (Tabela 4 a Tabela 11), os gêneros e espécies de microrganismos isolados, em cada ponto amostrado e suas respectivas freqüências de isolamento.

TABELA 4 Microrganismos isolados na água de abastecimento

	Espécie	Freqüência
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>	100% (1)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. putrefaciens</i>	16,8% (1)
	<i>P. aeruginosa</i>	33,0% (2)
	<i>P. fluorescens</i>	16,8% (1)
	<i>P. mallei</i>	16,8% (1)
	<i>Pseudomonas</i> sp	16,8% (1)

Continuação Tabela 4

Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter</i> sp	20,0% (1)
	<i>Enterobacter asburiae</i>	20,0% (1)
	<i>Proteus myxofaciens</i>	20,0% (1)
	<i>Proteus Penneri</i>	20,0% (1)
	<i>Escherichia coli</i>	20,0% (1)

TABELA 5 Microrganismos isolados na água utilizada na filetagem

	Espécie	Frequência
<i>Aeromonas</i>	<i>A hydrophila</i>	100,0% (1)
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli inativa</i>	20,0% (1)
	<i>Proteus</i> sp	40,0% (2)
	<i>Klebsiella planticola</i>	20,0% (1)
	<i>Xenarhabdus</i> sp	20,0% (1)

TABELA 6 Microrganismos isolados na água do tanque

	Espécie	Frequência
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>	100% (2)
<i>Pleisiomonas</i>	<i>Pleisiomonas</i> sp	100% (3)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. putrefaciens</i>	67% (4)
	<i>Pseudomonas</i> sp	33% (2)

Continuação Tabela 6

<i>Enterococcus</i>	<i>E. gallinarum</i>	17,0% (1)
	<i>E. faecium</i>	34,0% (2)
	<i>E. dispar</i>	17,0% (1)
	<i>E. avium</i>	34,0% (2)
Enterobacteriaceae	<i>Providencia alcalifaciens</i>	16,0% (1)
	<i>Escherichia coli</i>	16,0% (1)
	<i>Erwinia</i> sp	34,0% (2)
	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	34,0% (2)

TABELA 7 Microrganismos isolados na ração

	Espécie	Freqüência
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>	100,0% (2)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	20,0% (1)
	<i>P. mallei</i>	40,0% (2)
	<i>Pseudomonas</i> sp	40,0% (2)
<i>Enterococcus</i>	<i>E. gallinarum</i>	20,0% (1)
	<i>E. faecium</i>	40,0% (2)
	<i>E. dispar</i>	20,0% (1)
	<i>E. avium</i>	20,0% (1)
Enterobacteriaceae	<i>Proteus</i> sp	17,0% (1)
	<i>Escherichia coli</i>	33,0% (2)
	<i>Enterobacter</i> sp	17,0% (1)
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	33,0% (2)

TABELA 8 Microrganismos isolados no muco superficial

Espécie	Frequência
<i>Staphylococcus S. scituri</i>	40,0% (12)
<i>S. xylosus</i>	33,3% (10)
<i>S. gallinarum</i>	3,3% (1)
<i>S. saprophyticus</i>	3,3% (1)
<i>S. aureus</i>	10% (3)
<i>Staphylococcus sp</i>	10% (3)
<i>Aeromonas A hydrophila</i>	50,0% (1)
<i>A. jandaei</i>	50,0% (1)
<i>Plesiomonas sp.</i>	100,0% (1)
<i>Pseudomonas F. putrefasciens</i>	16,6% (1)
<i>F. putida</i>	16,6% (1)
<i>F. aeruginosa</i>	16,6% (1)
<i>P. mallei</i>	34,0% (2)
<i>Pseudomonas sp</i>	16,6% (1)
<i>Enterococcus E. avium</i>	40,0% (4)
<i>E. durans</i>	10,0% (1)
<i>E. faecium</i>	20,0% (2)
<i>E. gallinarum</i>	30,0% (3)
Enterobacteriaceae	
<i>Yersinia sp</i>	16,7% (1)
<i>Providencia sp</i>	16,7% (1)
<i>Escherichia coli</i>	16,7% (1)
<i>Xenorhabdus sp</i>	34,0% (2)
<i>Proteus vulgaris</i>	16,7% (1)

TABELA 9 Microrganismos isolados no conteúdo do trato gastrointestinal

	Espécie	Frequência
<i>Aeromonas</i>	<i>A hydrophila</i>	33,3% (1)
	<i>A schubertii</i>	33,3% (1)
	<i>A jandaei</i>	33,0% (1)
<i>Pleisiomonas</i>	<i>Pleisiomonas</i> sp	100,0% (1)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	16,7% (1)
	<i>P. mallei</i>	16,7% (1)
	<i>P. putrefasciens</i>	33,3% (2)
	<i>Pseudomonas</i> sp	33,3% (2)
Enterobacteriaceae*	<i>Ewinia</i> sp	28,5% (2)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	14,3% (1)
	<i>Xenorhabdus</i> sp	14,3% (1)
	<i>Yersinia</i> sp	14,3% (1)
	<i>Edwardsiella hoshinae</i>	14,3% (1)
	<i>Klebsiella planticola</i>	14,3% (1)

* Isoladas nos procedimentos para pesquisa de *Salmonella* sp

TABELA 10 Microrganismos isolados nos filés frescos

	Espécie	Frequência
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. sciuri</i>	16,8% (2)
	<i>S. gallinarum</i>	42,0% (5)
	<i>S. aureus</i>	42,0% (5)
<i>Aeromonas</i>	<i>A. jandaei</i>	50,0% (1)
	<i>A hydrophila</i>	50,0% (1)

Continuação Tabela 10

<i>Pseudomonas</i>	<i>P. putrefasciens</i>	12,5% (1)
	<i>P. aeruginosa</i>	25,0% (2)
	<i>P. fluorescens</i>	12,5% (1)
	<i>P. mallei</i>	12,5% (1)
	<i>P. putida</i>	37,5% (3)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter asburiae</i>	7,2% (1)
	<i>Buttiauxella agrestis</i>	21,4% (3)
	<i>Kluyvera ascorbata</i>	14,2% (2)
	<i>Klebsiella sp</i>	7,2% (1)
	<i>Escherichia coli</i>	14,2% (2)
	<i>Enterobacter sp</i>	7,1% (1)
	<i>Leminorella richardii</i>	14,2% (2)
	<i>Providencia sp</i>	7,2% (1)
	<i>Erwinia sp</i>	7,2% (1)

TABELA 11 Microrganismos isolados nos filés após 30 dias de congelamento

	Espécie	Frequência
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	16,7% (1)
	<i>S. gallinarum</i>	33,3% (2)
	<i>S. sciuri</i>	33,3% (2)
	<i>S. aureus</i>	16,7% (1)
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. putrefasciens</i>	12,5% (1)
	<i>P. aeruginosa</i>	50,0% (4)
	<i>P. fluorescens</i>	12,5% (1)
	<i>P. mallei</i>	12,5% (1)
	<i>P. putida</i>	12,5% (1)

5 CONCLUSÕES

Durante o período estudado, inverno, houve prevalência de microrganismos psicrotróficos, como *Aeromonas* sp e *Pseudomonas* sp, em detrimento de mesófilos, como *Staphylococcus* sp, *Enterococcus* sp e Enterobacteriaceae.

Staphylococcus sp. foram detectados no muco, filés frescos e congelados. Grande parte das espécies isoladas é de coagulase negativa. *S. aureus* estiveram presentes em amostras de filé fresco.

Pseudomonas sp. estiveram associadas a todos os pontos amostrados, com exceção da amostra de água utilizada nos processos de abate e filetagem. Embora as espécies isoladas não tenham associação com doenças veiculadas por alimentos, são importantes deterioradores. *Aeromonas* sp. apenas não foram encontradas nos filés congelados, sendo *Aeromonas hydrophyla* a espécie predominante.

Enterococcus sp. foram encontrados na água dos tanques, ração e muco. Enterobacteriaceae foram isoladas na água de abastecimento, água dos tanques, ração e muco. Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp.

Abate, evisceração, *toilet* das carcaças, filetagem e congelamento associam-se à redução da microbiota ao longo do fluxograma de produção de pescado, quando levam-se em consideração as contagens pré e pós estes processos.

A grande variedade de gêneros e espécies de microrganismos, patogênicos e deterioradores, associados ao fluxograma de produção de pescado, pode comprometer a qualidade higiênico-sanitária do produto final, associando-se à redução da vida de prateleira, além de questões de segurança alimentar e saúde pública.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É relevante ressaltar que, os poucos trabalhos encontrados, que apresentaram alguma relação com os objetivos desta pesquisa, ocorreram em diferentes realidades, como clima e localização, não sendo possível traçar analogias, visto a considerável influência destes fatores sobre a microbiota associada à produção de pescado.

Mais pesquisas são necessárias para que se estabeleça a microbiota associada à produção de pescado e sua influência sobre a qualidade higiênico-sanitária do produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C.A.; AUSTIN, B.; MEADEN, P.G.; MCINTOSH, D. Molecular characterization of plasmid-mediated oxytetracycline resistance in *Aeromonas salmonicida*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p. 4194-4201, 1998.
- ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Food Microbiology**. Guildorf, UK. Royal Society fo Chemistry, 2° ed, p. 142-148, 2000.
- ADEGOKE, G.O. Comparative characteristics of *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus lentus* and *Staphylococcus gallinarum* isolated from healthy and sick hosts. **Veterinary Microbiology**, 11, 185-189, 1986.
- ALDERMAN, D.J. AND HASTINGS, T.S. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer health risks. **Int. J. Food Sci. Technol**, 33, p. 139-155, 1998.
- ALMEIDA FILHO, E.S.; VALENTE, A.M.; STUSSI, J.S.P. *Vibrio vulnificus* em pescado, uma revisão. **Rev. Higiene Alimentar**, Vol.18, nº116/117. Pag 23-28, 2004.
- BALASUBRAMANIAN, S.; RAJAN, M.R.; RAJ, S.P. Microbial of fish grown in a sewage-fed pond. **Bioresource Technology**, v. 40, p. 63-66, 1992.
- BARRIÈRE, C.; BRÜCKNER, R.; TALON, R.. Characterization of the Single Superoxide Dismutase of *Staphylococcus xylosus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, nº. 9, p. 4096-4104, 2001.
- HOLT, J.G. (ed). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9° ed. Williams & Wilkins Co. , Baltimore, 1994.
- BEVERIDGE, M.C.M. Problems caused by birds at inland waters and freshwater fish farms. In R. Welcome, preventions and control of bird predation in aquaculture and fisheries. **FAO. Rome Fisheries Technical Report Pap. 51**, p. 34-73, 1988.

BOARI, C.A.; PICCOLI-VALLE, R.H.; NASCIMENTO, A.R.; ALCÂNTARA, E.M.C. Ocorrência de cepas de estafilococos coagulase positiva formadoras de colônias atípicas em ágar Baird-Parker em queijos maturados. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, v.20. p. 345-353. 2002.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; SOARES, C.M. Farinhas de Peixe, Carne e Ossos, Vísceras e Crisálida como Atractantes em Dietas para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Viçosa. *Rev. Bras. Zootec*, v.30 nº5 Sept./Oct, 2001.

BURRAS, N. Microbial safety of procedure from wastewater-fed aquaculture. In RVC Pullin, H. Rosenthal, J.L.MacLean (Eds.), *Environment and aquaculture in developing countries*; Proceedings of the 31 st ICLARM conference (pp. 285-295). Manila, Philippines: International Centre for Living and Aquatic Resources, 1993.

COSTA, A.B. Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica. Tese doutorado apresentada a ESALQ/USP, 68p., março/2003.

DAWES, I.W.; SUTHERLAND, I.W. *Microbial physiology*. Oxford. Blackwell Scientific Publications. vol.4, 2º ed, 289p., 1992.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Investigação sobre possíveis portadores de *Staphylococcus aureus* em duas indústrias de pesca. 92f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

FAO. Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. FAO, 57p., 1997.

FAO. Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular 886, Rev.1, Rome: FAO, 163, 2003.

FURISHITA, M.; SHIBA, T.; MAEDA, T.; YAHATA, M.; KANEOKA, A.; TAKASHI, Y.; TORII, K.; HASEGAWA, T.; OHTA, M. Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. *App and Environmental Microbiology*, p. 5336-5342, 2003.

GOODLAND R. Environmental sustainability in agriculture: diet matters. *Ecological Economics*, v.23, p. 189-200, 1997.

GONÇALVES, P.M.R. O pescado e as características do seu meio ambiente. *Rev. Higiene Alimentar*, v.18, nº116/117, p.29-32, 2004.

GONZÁLEZ, C.; LÓPEZ, T.; GARCÍA, M.L.; PRIETO, M.; OTERO, A. Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmon trutta*), wild pike (*Esox lucius*) and aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Food Prot.*, v.62, p. 1270–1277, 1999.

GONZÁLEZ-FANDOS, E; GARCÍA-LINARES, M.C.; VILLARINO-RODRÍGUEZ, A.; GARCÍA-ARIAS, M.T.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M.C.. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method, *Food Microbiology*, v. 21, issue 2, p.193-201, 2004.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbial spoiled of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, v.33, p. 121-137, 1996.

GRAM, L.; WEDELL-NEEGAARD, C.; HUSS, H.H. The bacteriology of fresh and spoiling Lake Vitorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal of Food Microbiology*, v.10, p. 303-316, 1990.

GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoiled bacteria – problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, v.13, p. 262-266, 2002.

HOFFMANN, F. L.; ROMANELLI, P.F. Análise microbiológica da carne de jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). *Ciênc. Tecnol. Ali.*, v.18, nº.3, p.258-264, 1998.

HUSS, H.H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca. FAO. Documento técnico sobre as pescas, nº 334. Roma: FAO, 176p., 1997.

HUSS, H.H.; REILLY, A.; EMBAREK, P.K.B. Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control*, v.11, p.149-156, 2000.

ICMSF. *Micro-organismos de los Alimentos 1. Técnicas de Análisis Microbiológico*. Zaragoza. Editora Acribia. vol 1, 431p., 1998.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. *Panorama Acuicola*, v.5, n.5, p.50-53, 2000.

JOSEPH, S.W. AND CARNAHAN, A. The isolation, identification, and systematics of the motile *Aeromonas* species. *Annu. Rev. Fish Dis*, v.4, pp. 315-343, 1994.

KARMAS, E.; HARRIS, R.S. **Nutrition evaluation of food processing**, 3rd edition. Van Nostand Reinhold CO, New York. 1987.

KAZUTOSHI NAKAMURA, M.D.; MITSUE NASHIMOTO, B.A.; YOKO OKUDA, M.D.; TOMOKO OTA, A.S.; MASAHARU YAMAMOTO, M.D. Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition*, v.18, p. 415-416, 2002.

KLOOS, W. E., D. N. BALLARD, J. A. WEBSTER, R. J. HUBNER, A. TOMASZ, I. COUTO, G. SLOAN, H. P. DEHART, F. FIEDLER, K. SCHUBERT, H. DE LENCASTRE, I. S. SANCHES, H. E. HEATH, P. A. LEBLANC, AND A. LJUNGH. Ribotype delineation and description of *Staphylococcus sciuri* subspecies and their potential as reservoirs of methicillin resistance and staphylolytic enzyme genes. *Int. J. Syst. Bacteriol*, v.47, p. 313-323, 1997.

LANGONI, H.; NAPOLITANO, G.F.; PEZATTO, L.E.; BARROS, M.M.; CANTELMO, O.A. Avaliação da microbiota intestinal de peixes alimentados com duas diferentes dietas. Pirassununga, *Boletim Técnico do CEPTA*, v.3, p. 37-45, 2000.

LENCASTRE, H. Detection of an archaic clone of *Staphylococcus aureus* with low level resistance to methicillin in a pediatric hospital in Portugal and in international samples: relics of a formerly widely disseminated strain? *J. Clin. Microbiol.*, v.37, p.1913-1920, 1999.

LEE, W.C.; SAKAI, T.; LEE, M.J.; HAMAKAWA, M.; LEE, S.M.; LEE, J.M. Review. Na epidemiological study of food poisoning in Korea and Japan. *International Journal of Food Microbiology*, v.29, p.141-148, 1996.

LIPP, E.K.; ROSE, J.B. The role of seafood in food-borne diseases in the US of America. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v.16, n°2, p. 620-640, 1997.

MEURER, F. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de alguns alimentos protéicos para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), e efeito do processamento da ração durante a reversão sexual. Maringá:

Universidade Estadual de Maringá, 2002. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Estadual de Maringá, 2002. 57p.

NEDOHULA, P.C.; WESTHOFF, D. Microbiology os striped bass grown in three aquaculture systems. **Food Microbiology**, v.14, p.255-264, 1997.

NICKELSON II, R.; MCCARTHY, S.; FINNE, G. Fish, crustaceans and precooked seafoods. In: **Compendium of methods for the microbiological examinations of foods**. APHA, 4 ed., cap.48, p. 497-505, 2001.

NOGA, E.J. **Fish disease: diagnostic and treatment**. St. Louis: Mpsby, 367p., 1996.

NOTERMANS, S.; VAN DE GIESSEN, A. food-borne diseases in the 1980s and 1990s. **Food Control**, v.4, nº3, p.122-124, 1993.

PETERSEN, A.; DALSGAARD, A. Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand. **Aquaculture**, v. 219, issue 1-4, p.71-82, 2003.

QUEIROZ, J.F.; MOURA, E.V. Aquacultura e recursos pesqueiros: alternativa para o desenvolvimento sócio-econômico do Rio Grande do Norte. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.13, n.2, p.195-224, 1996.

SANTANA, M.C.R. Frecuencia de aislamiento de *Aeromonas hydrophyla* a partir del tracto intestinal de *Oreochromis aureus* (tilápia) en cultivo y del agua en que habitam. In: 1º Congresso Iberoamericano Virtual de Acultura. CIVA. Disponível em: <www.civa2002.org/947-957>acesso em: 2004.

SILVA-JUNIOR, E.A. Controle higiênico-sanitário de alimentos e a legislação atual. **Hig. Alimentar**, v. 13, nº 60, p. 8-9, 1999.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo. Livraria Varela, 2ªed, 317p., 2001.

SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M.. Seafood as functional food. **Brazilian Archieves of Biology and Tecnology**, v. 46, n3,p. 443-454, 2003.

SOUSA, J. A.; EIRAS, J. C.; ALEXANDRINO, A. C.; ISHIKAWA, C. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; EIRAS, A. C. Preliminary bacteriological evaluation of semi-intensively farmed fish (*Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus scrofa* and *Colossoma macropomum*) in São Paulo State, Brazil. **Revista UNIMAR**, v.18, p. 299-309, 1996a.

SOUSA, J.A.; ROMALDE, J.L.; LEDO, A.; EIRAS, J.C.; BARJA, J.L.; TORANZO, A.E. Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notifiable diseases. **J. Fish Dis**, v.19, p. 83-89, 1996b.

SOUZA, J.A.; SILVA-SOUZA, A.T. Bacterial Community Associated with Fish and Water from Congonhas River, Sertaneja, Paraná, Brazil. **Braz. Arch. Biol.technol**, v.44, nº4 2001.

SOUZA, V.L.; U., E.C.; MARTINS, M.I.E.G. Avaliação do crescimento e do custo da alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. **R. Bras. Zootec.**, v.32, nº1, p.19-28, 2003.

TEIXEIRA, C.G. Produtos alimentícios da atividade pesqueira. mentícios da atividade pesqueira. **Higiene Alimentar**, v. 7, p.24-6, 1993.

TOMAZZELI, I.B.; SANTOS, I.R. Pesquisa sobre o a eficiência do ácido peracético, álcool iodado e clorhexidina na desinfecção das mãos. **Hig. Alimentar**, v. 11, nº 71, p. 48-54, 2000.

TRYFINOPOULOU, P.; TSAKALIDOU, E.; NYCHAS, G.J.E. Characterization of *Pseudomonas* spp. associated with spoilage of gilt-heat sea bream stored under various conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, nº1, p. 65-72, 2002.

VARVARIGOS, P. Gram positive cocco-bacteria (*Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*) causing systemic disease in intensively farmed fish. Brief review. **Veterinary Services to Aquaculture and Distribution of Fish Health Products**. Disponível em: <www.vetcare.gr/Gram_positive_cocci.htm>. 2001. acesso em:18/07/2004.

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

VIEIRA, R.H.S.F.; TAVARES, L.A., GAMBAR, R.C.; PEREIRA, M.L.S. *Staphylococcus aureus* em camarões frescos e superfícies de bancadas da feira livre do mercado de Mucuripe, Fortaleza, CE: registo de pontos críticos e medidas de controle. **Hig. Alimentar**, v. 12, n. 55, p. 47-50, 1998.

WIENEKE, A.A.; ROBERTS, D.; GILBERT, R.J. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-1990. Cambridge. **Epidemiology and Infection**, v. 110, p. 519-531, 1993.

WU, S., H. DE LENCASTRE, AND A. TOMASZ. Genetic organization of the *mecA* region in methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus sciuri*. **J. Bacteriol.** v.18, p.236-242, 1998.