



PRESENÇA E ISOLAMENTO DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. PROVENIENTES DE FILÉS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COMERCIALIZADOS NO MERCADO MODELO NERIVAL ARAÚJO, CURRAIS NOVOS/RN.

Leandro Ícaro Santos Dantas¹, Francisco Angelo Gurgel da Rocha, Joyce Azevedo Bezerra de Souza³, Magnólia Fernandes Florêncio de Araújo³, Roberto Pereira da Silva⁴

¹ Técnico em Alimentos, membro do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais e Condimentares - NUPLAC (IFRN) e aluno do Curso Superior de Farmácia – UFRN. Email: leandroicarosantos@hotmail.com

² Biólogo, Doutorando em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA/UFRN). Líder do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais e Condimentares – NUPLAC e Professor de Biologia e Microbiologia de Alimentos do IFRN, *Campus* Currais Novos. E-mail: angelo.gurgel@ifrn.edu.br

³ Aluna do Curso Técnico em Alimentos, Modalidade Integrado e membros do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais e Condimentares – NUPLAC/IFRN, *Campus* Currais Novos. E-mails: joyce_azevedo@hotmail.com;

³ Bióloga, Doutora em Ciências. Professora Adjunta III do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Centro de Biociências da UFRN. E-mail: mag@cb.ufrn.br

⁴ Enfermeiro, Especialista em Saúde Coletiva, aluno do Curso de Licenciatura em Química e membro do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais e Condimentares – NUPLAC do IFRN, *Campus* Currais Novos. Email: robertopsilva2010@gmail.com.

Resumo: O consumo de pescado vem aumentando a cada dia e influenciando a piscicultura de água doce. Atualmente o Brasil já é o 25º produtor de pescados mundial. O Rio Grande do Norte entre os estados do Nordeste é o maior exportador em toneladas. O peixe é uma excelente fonte de aminoácidos essenciais e proteínas de alto valor biológico. Entre as espécies mais cultivadas no país destacam-se as tilápias (*Oreochromis niloticus*), representando 39% de todo o pescado cultivado no País. Dentre as qualidades relatadas pelos consumidores da carne de tilápia estão o alto nível protéico, a fácil digestibilidade, a baixa taxa de gordura e ainda a benéfica presença dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3. A atividade bacteriana se caracteriza como um dos principais mecanismos de deterioração do pescado, por estes possuírem Aa elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, sobretudo, o pH próximo da neutralidade. No município de Currais Novos/RN o principal local de venda de peixes e filés de Tilápia é o Mercado Modelo Nerival Araújo. O presente trabalho trata-se de uma pesquisa descritiva, com coleta em campo e análise laboratorial no qual foram coletadas no Mercado Central três amostras de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para se realizar análises microbiológicas para o isolamento e confirmação bioquímica de cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* para o estoque e uso em aulas práticas de microbiologia de alimentos do curso Técnico em Alimentos. Procedeu-se análises microbiológicas seguindo os padrões da IN 62 do MAPA e segundo o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. A partir das análises isolaram-se todas as cepas desejadas, devidamente confirmadas por provas bioquímicas e que posteriormente foram depositadas na Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/Biologia Molecular do IFRN *Campus* Currais Novos.

Palavras-chave: bacterioteca, contaminação, laboratório, pescado

1. INTRODUÇÃO

A produção nacional de pescado cresce influenciada pela expansão da piscicultura de água doce. A pesca no Brasil a cada ano vem se fortalecendo e recebendo ainda mais incentivos do governo federal, sendo geradora de divisas internacionais, por serem os produtos pesqueiros integrantes da pauta de exportações. (ROCHA, 2010). O Brasil é atualmente o 25º produtor mundial de pescado. Somente nas seis maiores barragens do país o potencial produtivo é de 17 mil toneladas/ano (FRITSCH, 2004). Na atualidade, o Nordeste é o maior produtor brasileiro de pescado, alcançando uma produção de 411 mil toneladas/ano. Dentre os estados da região, o Rio



Grande do Norte, desponta como o maior produtor em toneladas exportadas (VIDAL e PINHO, 2010).

Os pescados desde os tempos mais remotos se caracterizam como uma fonte alimentar para a humanidade, sendo a pesca uma atividade promotora de benefícios econômicos e sociais para as populações (LIRA *et al*, 2001). O peixe é uma excelente fonte de proteínas de alto valor biológico e de aminoácidos essenciais, sendo especialmente rico em lisina, um aminoácido limitante em cereais como arroz, milho e farinha de trigo (FILHO *et al*, 2002).

As espécies mais cultivadas no país são as tilápias (*Oreochromis niloticus*) e as carpas (*Cyprinus carpio*), seguidas dos tambaquis (*Colossoma macropomum*) e curimatãs (*Prochilodus spp.*) (BRASIL, 2007). Estima-se que a criação de tilápia gira em torno de 132 mil toneladas/ano, despontando como o carro chefe da produção aquícola e representando 39% do total de pescado cultivado (ROCHA, 2010).

O potencial produtivo da tilápia para pequenos criadores se deve ao fato desta espécie ser resistente ao manuseio e transporte, de arraçoamento fácil e econômico, crescimento rápido e resistente a baixas concentrações de oxigênio dissolvido, além de apresentar carne de sabor apreciado e com poucas espinhas (RODRIGUES, 2008). Dentre algumas das qualidades que constroem a boa reputação entre os consumidores da carne de tilápia estão o alto nível protéico, a fácil digestibilidade, a baixa taxa de gordura e ainda a benéfica presença dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (FILHO *et al.*, 2002).

Contudo, dentro desse meio de produção, a ação de enzimas autolíticas, a autooxidação lipídica e a atividade bacteriana se caracterizam como os principais processos que levam a deterioração do pescado (DELBEM; GARBELINI e LARA, 2010). Quanto ao aspecto microbiológico, o peixe é um dos alimentos, mais susceptíveis a proliferação microbiana, devido à atividade de água elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, sobretudo, o pH próximo da neutralidade (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Segundo Ribeiro *et al* (2009) os produtos pesqueiros podem atuar como veiculadores de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens*, entre outros organismos mesófilos. A contaminação por estes, evidencia falhas nos processos de captura, processamento e armazenagem do pescado, causando alterações na qualidade e no frescor dos peixes (DELBEM; GARBELINI e LARA, 2010). Os pescados por outro lado podem de fato ser contaminados por organismos patogênicos ainda no seu habitat natural, tendo em vista a problemática da contaminação ambiental, pelo lançamento de dejetos humanos (GERMANO; GERMANO e OLIVEIRA, 1998). A contaminação da água de cultivo seja ela estuarina, lacustre ou marinha por esgotos e por fezes de animais de sangue quente, assim como, o processamento higiênico-sanitário deficiente são fatores importantes que estão relacionados à maioria das doenças de origem microbiana veiculadas por alimentos (VIEIRA, 2003).

Escherichia coli e *Salmonella* são bacilos gram-negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. A *E.coli*, pertencente ao grupo dos coliformes termotolerantes e é uma espécie microbiana que faz parte da flora intestinal de animais de sangue quente, são fermentadores de lactose, produzindo ácido e gás carbônico. A presença destes microrganismos indica contaminação fecal e risco potencial a saúde humana, indicando contaminação por fezes na água ou no ambiente de produção dos alimentos. A *Salmonella* é um microrganismo encontrado naturalmente no trato gastrointestinal de animais, principalmente aves e porcos, sendo anaeróbio facultativo, produtor de gás e capaz de utilizar citrato como única fonte de carbono. Atualmente é uma das bactérias mais citadas no tocante à contaminação de seres humanos por origem alimentar (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Durante muito tempo as contaminações por *Salmonella* estavam ligadas a um sorotipo em especial a *S. typhi*, causadora da Febre Tifóide, que levou ao óbito milhares de pessoas no século XIX. No Brasil o sorotipo com maior número de ocorrências de contaminação é *S. typhimurium*, responsável por enterocolites graves (VIEIRA, 2003).



Staphylococcus aureus são cocos Gram positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*, sendo anaeróbios facultativos. Em seu principal reservatório, o homem, pode ser encontrado nas fossas nasais, de onde se propaga direta ou indiretamente para a pele e ferimentos; tem potencial para causar intoxicação no consumidor mediante ingestão de alimentos que apresentem a enterotoxina estafilocócica (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

A caracterização e o isolamento das espécies microbianas estudadas, a partir dos filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), além de ser de grande valia para a manutenção do estoque da Bacterioteca, poderá se caracterizar como importante ponto de partida para diversas outras atividades didáticas, devido ao fato das cepas isoladas serem provenientes de um alimento com alta aceitação nos hábitos alimentares da população como um todo.

O presente trabalho objetivou isolar e identificar *S. aureus*, *E.coli* e *Salmonella sp.*, espécies microbianas patogênicas de interesse na indústria de alimentos. As cepas identificadas foram selecionadas para estoque e posterior uso em aulas práticas do Curso Técnico de Nível Médio Integrado em Alimentos no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Biologia Molecular do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte – Câmpus Currais Novos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Área Estudada

O município de Currais Novos situa-se na mesorregião Central Potiguar e na microrregião Seridó Oriental, com clima quente e semi-árido, regime de chuvas entre os meses de fevereiro a julho e banhado pelo rio Totoró, principal afluente do município (BRASIL, 2005). Na cidade, o Mercado Modelo Nerival Araújo, é o estabelecimento onde acontece, diariamente, as vendas de produtos alimentícios, expostos em estandes, oriundos das imediações da cidade e de outros municípios. Por questões culturais da cidade este local caracteriza-se como o ponto de venda preferencial da população que acredita estar adquirindo um produto de qualidade.

Coleta das amostras

Foi coletado um total de três amostras de filé de tilápia (com pele) no Mercado Central de Currais Novos/RN, cuja embalagem original consistia em bandejas de poliestireno envolvidas em sacos plásticos comuns, fechados artesanalmente. O material foi envolvido em sacos plásticos estéreis e acondicionado em caixas isotérmicas. Após a coleta o material foi encaminhado para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos/ Biologia Molecular do IFRN Câmpus Currais Novos, onde foi analisado.

Análises microbiológicas

Foram realizados o isolamento e confirmação bioquímica de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*, conforme a metodologia descrita por SILVA *et al* (2007) e a Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Isolamento e caracterização de *Staphylococcus aureus*

Enriquecimento e plaqueamento direto

Uma alíquota, de 25 gramas da amostra, foi suspensa em 225 mL de salina peptonada, transferiu-se posteriormente 0,1 mL para duplicatas de placas estéreis contendo cerca de 20 mL de Ágar Manitol Salgado. As placas foram incubadas a $35\pm 2^\circ\text{C}/24-48\text{h}$. Foram consideradas típicas de *S. aureus* as colônias circulares, pequenas, convexas, que apresentaram coloração amarela, derivada da produção de ácido resultante da metabolização do manitol presente do meio. As colônias típicas foram submetidas à confirmação bioquímica.

Confirmação bioquímica

Para a confirmação realizou-se a prova de coagulase, transferindo 0,3 mL de plasma de coelho para um tubo de ensaio contendo caldo BHI inoculado com a colônia típica para *S. aureus*, incubando-se a $35\pm 2^\circ\text{C}$. Após 6 horas verificou-se a presença de coágulos em todo o caldo, considerando a prova positiva para *Staphylococcus aureus*. As colônias coagulase



positivas foram mantidas no banho maria por 15 minutos para que houvesse a morte dos *S. aureus*, restando só as toxinas. Os tubos contendo o BHI foram submetidos, posteriormente, à prova de termonuclease, em placas de petri contendo 20 mL de ágar DNase – Verde de Metila, no qual foram perfurados poços com 4mm de diâmetros, preenchidos com as culturas em BHI e incubando-se a $35\pm 2^\circ\text{C}$. Após 4 horas, verificou-se o aparecimento de zonas de clarificação ao redor dos poços, decorrentes da presença das toxinas do *S. aureus* que são termorresistentes.

Isolamento e caracterização de *Escherichia coli*

Teste presuntivos e confirmatórios

Uma alíquota de 25 gramas da amostra foi suspensa em solução salina peptonada, com transferência, posterior, de 1 mL para tubos de ensaio em triplicata, contendo cada 9 mL de Caldo LST e tubo Duhran invertido. O período de incubação foi de $24/48\pm 2$ h a $35\pm 2^\circ\text{C}$. A partir dos tubos com produção de gás (mínimo de 1/10 do volume do tubo Duhran) foram transferidas alçadas para tubos de ensaio associados a tubos Duhran, contendo 10 mL de Caldo EC, incubadas em banho-maria a $44,5\pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24/48 horas. A partir dos tubos de EC com produção de gás foram retiradas alçadas e estriadas placas de petri contendo cerca de 15 mL de Agar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB). As placas foram incubadas em posição invertida a $35\pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 h. As colônias pequenas, circulares, convexas, negras e com brilho verde metálico, foram consideradas típicas e submetidas à testes posteriores para confirmação bioquímica.

Confirmação bioquímica

Três colônias típicas de cada placa foram inoculadas para as provas bioquímicas de Indol, VM, VP e Citrato (IMViC) e motilidade em meio SIM. Foram consideradas positivas as colônias com perfil + + - - + (biotipo 1) ou - + - - + (Biotipo 2).

Isolamento e caracterização de *Salmonella sp.*

Pré-enriquecimento

Foi transferida uma porção de 25g da amostra para um frasco Erlenmeyer contendo 225 mL de Caldo de pré-enriquecimento (solução de água peptonada), homogeneizando-se por agitação circular durante dois minutos e deixando em repouso por mais trinta minutos. A alíquota de 10 mL foi transferida para um tubo de ensaio, incubado em estufa bacteriológica a $35\pm 2^\circ\text{C}/24$ h.

Enriquecimento seletivo

A partir da alíquota incubada por 24h, agitou-se por rotação suave o frasco, transferindo-se, posteriormente, 0,1 mL para tubo de ensaio contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis (RV) e 1mL para um outro, contendo 10mL de Caldo Tetracionato (TT). No primeiro caso, incubou-se o tubo em banho-maria a $42\pm 2^\circ\text{C}$ por 24h e, no segundo caso, em estufa bacteriológica a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 24h.

Plaqueamento diferencial

Procederam-se estrias por esgotamento, em placas contendo Ágar Bismuto-Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), para cada um dos caldos do enriquecimento seletivo, RV e TT. As placas foram incubadas em posição invertida a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 24h. Decorrido o tempo de incubação, foram selecionadas as seguintes colônias, típicas e atípicas, submetidas à posterior confirmação:

Ágar XLD: Colônias cor de rosa escuro, com centro negro e uma zona avermelhada levemente transparente ao redor. No caso de cepas H_2S fortemente positivas, colônias com centro preto grande e brilhante, ou mesmo inteiramente pretas. No caso de cepas H_2S negativas, colônias cor de rosa com centro rosa mais escuro, porém não preto.

Ágar BS: Colônias castanhas, cinzas ou pretas, com ou sem brilho metálico e meio ao redor com gradativo escurecimento para tons castanhos. No caso de colônias atípicas, verdes com pouco ou nenhum escurecimento ao redor.

Confirmação Bioquímica e Sorológica



As colônias típicas e/ou atípicas selecionadas na etapa de plaqueamento diferencial foram submetidas às provas bioquímicas de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), crescimento em Ágar Lisina- Ferro, Teste de Voges-Proskauer, Vermelho de Metila, Utilização de Citrato, Produção de Indol, Redução de Enxofre (Produção de H₂S), Motilidade e Teste da Urease.

Aquelas que apresentaram perfil bioquímico condizente com o registrado em Silva *et al* (2007), foram submetidas aos imunoenaios de Detecção dos Antígenos Flagelares (poli H) e Detecção dos antígenos somáticos (poli O), considerando como resultados positivos as reações de aglutinação que ocorreram com as colônias na presença dos soros. As colônias que apresentaram resultados positivos foram descritas como pertencentes ao gênero *Salmonella*.

Estoque em Bacterioteca

As cepas devidamente isoladas e caracterizadas foram depositadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de Ágar Nutriente, em camada inclinada para uso em aulas práticas e, para estoque, foram depositadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de Ágar Nutriente, em camada alta e recobertas com óleo mineral estéril. Todos os tubos foram identificados com etiquetas contendo o nome científico da bactéria, data de estoque, manipulador e procedência da cepa. Ambas as cepas encontram-se conservadas sob refrigeração a 10 °C.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após as análises estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das análises

Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>
1	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
2	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
3	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE

Conforme observa-se na Tabela 1 foi detectada a presença dos microrganismos *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* em todas as amostra testadas. Segundo Paula *et al.* (2010) o peixe e seus derivados como os filés exigem cuidados especiais no seu processamento para venda e comercialização, visto que se trata de um produto altamente perecível e suscetível a proliferação microbiana. Contudo, durante os procedimentos de coleta, foi possível verificar a ausência das condições requeridas para a obtenção de um produto microbiologicamente adequado ao consumo humano. Sob tais parâmetros higiênico-sanitárias deficientes, torna-se favorecida a presença e proliferação de microbiota deteriorante e/ou patogênica.

A comercialização de peixes e as etapas de processamento do filé como escamação, evisceração e filetagem, ocorrem todas em um mesmo ambiente, não existindo separação física entre as áreas de estoque, processamento e comercialização.

A filetagem ocorre em local totalmente inadequado, os filés são depositados em saco plástico de material reciclado, sem refrigeração e exposto a pragas urbanas, não existe no processamento medidas higiênico-sanitárias condizentes com as resoluções RDC 216 (2004) e RDC 275 (2002) da ANVISA, pelo contrário, todo o processo realiza-se sobre uma mesa de madeira e com o uso de facas com cabos de mesmo material, não recomendado pelos órgãos de fiscalização. Todos estes fatores aceleram as reações enzimáticas de deterioração, assim como, propiciam temperatura e condições ótimas para o desenvolvimento e proliferação de microrganismos patogênicos como os isolados previamente.

A presença de *S.aureus* indica deficiência na higiene dos manipuladores, uma vez que seu *habitat* são as fossas nasais de humanos. Sua presença nos filés pode ser explicada, portanto, pela contaminação através da manipulação do material sem adequada higienização das mãos dos responsáveis pelo processamento e embalagem. Durante a coleta, não foi observado o uso de



luvas pelos comerciantes. Adicionalmente, observou-se nos mesmos, o uso de adereços (pulseiras, anéis), potenciais veiculadores de contaminação. A ausência de refrigeração favorece a proliferação microbiana. No caso do *S. aureus*, tais condições também favorece a produção de toxina estafilocócia. Segundo Franco & Landgraf (2008), tais substâncias em concentrações em torno de 0,015µg são capazes de produzir intoxicações em humanos. Por serem termorresistentes, podem permanecer ativas mesmo após o cozimento do peixe.

O acúmulo de sujidades e o acesso de vetores urbanos são facilitados pelas condições físicas do mercado, tanto externa, quanto interna. A estrutura física do Mercado Modelo consiste de galpão, com aberturas na altura do teto, este de telhas de fibra, as paredes possuem frestas para ventilação e iluminação interna diurna, pisos em cimento. O interior do Mercado é dividido em corredores com estandes de vendas individuais separados por paredes para cada comerciante, estes estandes são revestidos com azulejos em péssimas condições, pias de lavagem geral e bancada de exposição. Toda estrutura externa e parte da interna do mercado estão totalmente inadequadas segundo as resoluções RDC 216 (2004) e RDC 275 (2002) da ANVISA.

A detecção de *E.coli* indica contaminação de origem fecal, que no caso pode ser advinda das massas de água das quais as tilápias se originam. Os peixes na maioria dos casos são provenientes de reservatórios utilizados para várias finalidades, existindo no entorno destes, povoados e sítios, o que pode permitir a contaminação da água dos reservatórios por dejetos humanos e animais, influenciando na contaminação dos peixes por patógenos entéricos como *E.coli* e *Salmonella* sp.

A contaminação das amostras analisadas por *Salmonella* sp. é um indício forte de contaminação cruzada. Identificou-se que no estande de venda ao lado existia a comercialização de carcaças e miúdos de frango, conhecidas fontes de *Salmonella*. Segundo a Portaria nº 451 (1997) da Secretária de Vigilância Sanitária, SVS, *Salmonella* deve estar ausente em 25 g de produtos cárneos diferentemente dos resultados encontrados, mesmo sem a quantificação da população deste microrganismo a simples presença dele torna o alimento inadequado ao consumo humano. Segundo Nunes (2006) a contaminação por *Salmonella* sp. ocorre de forma cruzada entre a matéria-prima animal crua e hortaliças, alimentos cozidos e através das mãos, importantes veiculadores de microrganismos quando não higienizadas adequadamente.

4. CONCLUSÕES

Em todas as amostras analisadas detectou-se a presença de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*, todas as cepas foram isoladas e confirmadas bioquimicamente para o armazenamento na Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/Biologia Molecular e posterior uso em aulas práticas de microbiologia no IFRN Campus Currais Novos. Condizente com os resultados obtidos observou-se *In loco* condições inadequadas na comercialização do pescado, em desacordo com as orientações das RDC nº 216 (2004) e RDC nº 275 (2002) da ANVISA. Tais observações dão consistência aos resultados e evidenciam a necessidade de se realizar análises para quantificação destes microrganismos. Adicionalmente, a presença de *Salmonella* sp. no material analisado já o caracteriza como insalubre ao consumo humano.

Recomendamos o desenvolvimento de trabalhos que visem à capacitação dos comerciantes na área de Boas Práticas de Manipulação e Comercialização de Alimentos, para torná-los qualificados a oferecer um produto com qualidade sanitária adequada à saúde da população.

REFERÊNCIAS

ANVISA, M. S.; **Resolução RDC Nº 216**; Regulamento Técnico de Boas Prática para Serviços de Alimentação. 2004.



ANVISA, M. S.; **Resolução RDC Nº 275**; Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados Aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO; **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62**, DE 26 DE AGOSTO DE 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Setor Pesqueiro**: www.setorpesqueiro.com.br/ministerio.shtm. 2002. (acesso em 4 de Set. de 2011).

BRASIL. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. **Projeto de Fontes de Abastecimento por Água Subterrânea no Estado do Rio Grande do Norte**: Diagnóstico do Município de Currais Novos. Recife, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Estatística da Pesca 2007 Brasil**: grandes regiões e unidades da Federação. Brasília, DF, 2007.

DELBEM, A. C. B.; GARBELINI, J. S.; LARA, J. A. F.; **Avaliação Microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscan*) Obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e Conservado em Gelo**. 5º Simpósio Sobre Recursos Naturais e Socioeconômicos do Pantanal. Corumbá/MS, 2010.

FILHO, E.S.A. et al. Características microbiológicas de "pintado" (*Pseudoplatystona fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre, no município de Cuiabá. **Revista Higiene alimentar**, v.16, n.99, p.84-88, ago 2002

FOOD. Pescado. In: **Revista Food Ingredients**. n.25, p.39, 2003

FRANCO, B. D. G. de; LANDGRAFF, M.; **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRITSCH, J. A **Hora e a vez do Peixe**. Disponível em: <[HTTP://www.higienealimentar.com.br](http://www.higienealimentar.com.br)>. 2004. (acesso em 4 de Set. de 2011).

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

HOLUB, D.J.; HOLUB, B.J. **ÔMEGA-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease**. Mol Cell Biochem. 2004; 263 (1-2): 217-25

LEBOFFE, M. J.; PIERCE, B. E.; **A Photographic Atlas for the microbiology laboratory**. 3 ed. Colorado: Morton Publishing Company, 2005

LIRA, G.M. et al. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió- Al. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n.84, p.67-74, maio 2001.



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

NUNES, F. de F. V; **Limite Mínimo de Detecção de Métodos de Análise de *Salmonella spp.* para Alimentos:** Uma Contribuição Metodológica. Dissertação de Mestrado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Recife/PE. 2006

RIBEIRO, A. L. M. S. dos; OLIVEIRA, G. M. de; FERREIRA, V.M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado importado no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, V. 16, p. 109-112, 2009.

RODRIGUES, T. P.; **Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do nilo (*oreochromis niloticus*) cultivada; eviscerada e estocada em gelo.** Dissertação de Doutorado apresentado ao Doutorado em Medicina Veterinária – Universidade Federal Fluminense, Centro de Ciências Médicas. Niterói/RJ, 2008.

ROCHA, D. C. C.; **Aquicultura: Produção de Pescado Aumenta 25% Nos Últimos Oito Anos.** Disponível em: <[HTTP://www.zootecniabrasil.com.br](http://www.zootecniabrasil.com.br)>, 2010. (Acesso em 4 de Set de 2011).

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 3 ed. São Paulo. Varela, 2007.

SVS, M. S.; **Portaria N° 451;** Regulamento Técnico e Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. 1997.

VIDAL, M. de F.; PINHO, H. J.; Informe Rural ETENE, **Produção e Venda de Produtos da Aquicultura no Nordeste** – Banco do Nordeste. Ano 4 – N° 11; 2010.

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