

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Ciências Biológicas – Bacharelado



Trabalho Acadêmico

Bactérias patogênicas e deteriorantes em
Rhamdia quelen (Jundiá) comercializados em
Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Suzane Olachea Allend

Pelotas, 2013

SUZANE OLACHEA ALLEND

**BACTÉRIAS PATOGÊNICAS E DETERIORANTES EM *Rhamdia quelen* (JUNDIÁ)
COMERCIALIZADOS EM PELOTAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial á obtenção do título de bacharel.

Orientadora: Prof^a Dr^a Gladis Aver Ribeiro

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

A422b Allend, Suzane Olachea
Bactérias patogênicas e deteriorantes em *Rhamdia quelen*
(jundiá) comercializados em Pelotas, Rio Grande do Sul,
Brasil / Suzane Olachea Allend. – 40f. ; il – Trabalho de
conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas).
Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia.
Pelotas, 2014. – Orientador Gladis Aver Ribeiro.

1.Biologia. 2.*Rhamdia quelen*. 3.Jundiá. 4.DTAs.
5.Antimicrobianos. 6.Resistência. I.Ribeiro, Gladis Aver.
II.Título.

CDD: 597.176

Banca examinadora

Prof.^a Dr^a Gladis Aver Ribeiro

Msc. Rosana Serpa

Prof.^a Dr^a Kelly Lameiro

Prof.^a Dr^a Daiane Drawanz Hartwig

Dedicado à minha mãe

Agradecimentos

Primeiramente a Deus pela vida.

A minha mãe mulher batalhadora guerreira que apesar de todas as dificuldades nunca deixou de incentivar seus filhos. O amor e o carinho sempre estiveram presentes em minha vida. Mãe sei o quanto deves estar orgulhosa de mim, apesar de todos os obstáculos encontrados no caminho eu consegui, e tu és a responsável por tudo isso, com tuas palavras de apoio principalmente nas horas difíceis me fizeste superar tudo. Te amo.

Ao meu amado por aguentar tantas vezes braba, estressada, irritada, chorando por provas e trabalhos, sabendo conduzir todos esses momentos com sutileza e delicadeza para me ajudar. Por todo o apoio, conselhos dados durante esses cinco anos de graduação. Em fim poderás dizer que sou Bióloga, “que a Bióloga já vai começar”, “começou a Bióloga com esses nomes estranhos”, “começou a senhora bactéria”! Sim agora podes dizer “tenho uma Bióloga em casa”! Te amo e obrigada por tudo.

A minha orientadora, queria dizer que tudo que aprendi, compartilhei no Laboratório vão ficar para sempre no meu coração, serão lembranças ótimas, maravilhosas que não irei esquecer. Principalmente aqueles momentos compartilhados na bancada, onde apesar do pouco tempo devido outras atividades eram fantásticos. Onde demonstravas que amas o que faz, momentos de recordações da tua graduação, entre outros fatos. Contigo aprendi o amor pela profissão, que apesar de não ser Bióloga de formação é Bióloga de coração. Aprendi a compartilhar conhecimento, a trabalhar em grupo. Fui promovida a chefe do lab. Uma honra. Vou seguir uma nova jornada, mas tenho certeza que minhas metas foram alcançadas com tua ajuda! E mesmo inconsciente não me esqueço das nossas “mimosas” bactérias, e sabes o quanto te amo!

As colegas e amigas (Flávia, Louise, Carol, Ticinha, Mayara, Luana, Daiane, Aline, Roberta) o meu muito obrigada, por todos os momentos compartilhados durante a graduação, tanto os bons quanto os ruins. Das aprovações as reprovações, das jantas aos amigos secretos. Cada momento com vocês foi muito significativo pra mim.

A colega e amiga Liliane Nachtigall Martins por ser meu apoio técnico durante a realização deste trabalho, pelos conselhos, incentivos e conversas. Sabes que és muito importante na minha vida e que nossa amizade não para por aqui. Minha Best Friends...

As colegas de Laboratório, em especial a Juliana e a Lisiane que foram meu grande incentivo. Me ajudaram nos momentos de dúvidas, me deram idéias, trabalho.... A Nájela, Pedrita, Kamila, Cristiane e Juliana...com vocês ri muito, ajudei quando necessário. Aproveitem cada segundo, pois passa tudo muito rápido e depois fica o aprendizado e a saudade.

Aos técnicos do laboratório de preparo, por toda ajuda prestada!

Resumo

ALLEND, Suzane Olachea. **Bactérias patogênicas e deteriorantes em *Rhamdia quelen* (Jundiá) comercializado em Pelotas, no Rio Grande do Sul, Brasil.** 2013. 40 f. Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) possui ampla distribuição na América do Sul e Central. Possui uma carne de boa aceitação pelos consumidores, por apresentar sabor agradável e ausência de “espinhos” intramusculares. Por ser um alimento altamente perecível, necessita de cuidados durante a manipulação, podendo ocorrer contaminação por micro-organismos. Pode ser acometido tanto por micro-organismos deteriorantes, entre eles *Pseudomonas* spp., quanto por micro-organismos patogênicos como: *Salmonella* spp., *Escherichia coli* enteropatogênica e *Staphylococcus* coagulase positiva, os quais são causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). A investigação de DTAs representa um importante elemento de epidemiologia e saúde pública, uma vez que inúmeros patógenos podem ser transmitidos por alimentos quando os cuidados na manipulação dos mesmos não são obedecidos. Este trabalho está baseado na metodologia descrita por Silva et al., (1997), e tem como objetivo pesquisar e identificar bactérias patogênicas e deteriorantes em jundiás comercializados em Pelotas e verificar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados. As amostras de peixe foram obtidas de quatro peixarias, sendo seis amostras de cada estabelecimento, em um total de vinte e quatro amostras, onde cinco apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva, cinco por *Salmonella* spp., seis por *Escherichia coli* e nenhuma por *Pseudomonas* spp. Quanto ao perfil de sensibilidade aos antibacterianos, os isolados de *Salmonella* spp. apresentaram sensibilidade à maioria dos antibacterianos testados (80%), enquanto os isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva foram resistentes ao ácido nalidíxico (60%) e a sulfazotrim (20%). Já *Escherichia coli* apresentou perfil de resistência a ampicilina (33%) e ácido nalidíxico (83%). Baseado nestes dados, destaca-se a importância dos cuidados higiênicos sanitários durante a manipulação dos alimentos, uma vez que a presença destes micro-organismos indica contaminação microbiana de origem fecal, que pode ter ocorrido durante a manipulação, conferido um risco potencial a saúde pública, já que estes agentes estão envolvidos em toxinfecção alimentar.

Palavras-chave: Jundiá. DTAs. Antimicrobianos. Resistência.

Abstract

ALLEND, Suzane Olachea. **Bactérias patogênicas e deteriorantes em *Rhamdia quelen* (Jundiá) comercializado em Pelotas, no Rio Grande do Sul, Brasil.** 2013. 40 f. Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The catfish (*Rhamdia quelen*) has wide distribution in South and Central America. It has a good meat consumer acceptance, by presenting pleasant taste and no intramuscular "thorns". Being a highly perishable food, requires care in handling, contamination may occur by various micro-organisms. It is affected both by spoilage micro-organisms, including *Pseudomonas* spp., and by pathogenic microorganisms such as *Salmonella* spp., Enteropathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus* coagulase positive, which causes foodborne illness. The investigation of DTAs is an important element of epidemiology and public health, since many pathogens can be transmitted by food when care in handling them are not observed. This work is based on the methodology described by Silva et al., 1997 and aims to research and identify pathogenic and spoilage bacteria in catfish sold in Pelotas and check the profile of antimicrobial susceptibility of isolates. The fish samples were collected from four fishmongers, six samples from each category, for a total of twenty-four samples, where five were contaminated by *Staphylococcus* coagulase positive, five by *Salmonella* spp., six by *Escherichia coli* and none for *Pseudomonas* spp. The susceptibility profile of the isolates was tested, and *Salmonella* spp show sensitivity to most antibiotics tested (80%), while *Staphylococcus* coagulase positive isolates showed resistance to nalidixic acid (60%) and sulphazotrim (20%). *E. coli* showed resistance ampicillin (33%) and nalidixic acid (83%). These results highlight the importance of sanitary hygienic precautions when handling the food, since the presence of these micro-organisms indicates microbial contamination of fecal origin, which may have occurred during handling, given a potential risk to public health, as these agents are involved in food borne diseases.

Keywords: Jundiá. Food borne diseases. Antimicrobials. Resistance.

Lista de Figuras

Figura 1	Frequência de micro-organismos isolados de jundiá de quatro peixarias de Pelotas.....	25
Figura 2	Frequência de micro-organismos isolados de vinte e quatro amostras de jundiá.....	26
Figura 3	Perfil de sensibilidade dos isolados de jundiá frente aos antibacterianos.....	31

Lista de tabelas

Tabela 1	Resultados referentes ao número de micro-organismos isolados de amostras de peixe <i>Rhamdia quelen</i> (jundiá) no período de março a outubro de 2013 em quatro peixarias no município de Pelotas, RS, Brasil.....	24
Tabela 2	Valores obtidos de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva de cinco amostras de peixe (jundiá), comercializado na cidade de Pelotas.....	29
Tabela 3	Sensibilidade antibacteriana dos isolados de <i>Salmonella</i> spp. obtidos a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.....	31
Tabela 4	Sensibilidade antibacteriana dos isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva obtidos a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.....	32
Tabela 5	Sensibilidade antibacteriana dos isolados de <i>Escherichia coli</i> obtidas a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.....	32

Sumário

1. Introdução.....	11
2. Objetivos.....	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3 Revisão de literatura.....	14
3.1 Pescado.....	14
3.2 Contaminações microbianas em alimentos.....	14
3.3 Agentes de deterioração em alimentos.....	15
3.3.1 <i>Pseudomonas</i> spp.....	16
3.4 Micro-organismos patogênicos em alimentos.....	17
3.4.1 <i>Escherichia coli</i>	17
3.4.2 <i>Salmonella</i> spp.....	18
3.4.3 <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	19
3.5 Sensibilidade antimicrobiana.....	19
4. Metodologia.....	21
4.1 Obtenção das amostras.....	21
4.2 Isolamento e identificação bacteriana.....	21
4.2.1 Isolamento e identificação de <i>Escherichia coli</i>	21
4.2.2 Isolamento e identificação de <i>Salmonella</i> spp.....	22
4.2.3 Isolamento e identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	22
4.2.4 Isolamento e identificação de <i>Pseudomonas</i> spp.....	23
4.3 Testes de sensibilidade a antibacterianos.....	23
5. Resultados e discussão.....	24
5.1 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva pelo Número Mais Provável....	28
5.2 Antibacterianos.....	30
6 Conclusão.....	36
Referências.....	37

1 Introdução

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe comum nos rios brasileiros, e que possui ampla distribuição na América do Sul e Central. É um peixe com ocorrência tanto em lagos e reservatórios como em rios (SCHULZ; LEUCHTENBERGER, 2006). Possui uma carne com boa aceitação pelos consumidores, por apresentar sabor agradável e ausência de “espinhos” intramusculares (LOPES et al., 2006).

Como todo pescado, o jundiá é um alimento altamente perecível, e necessita de cuidados durante a manipulação. A contaminação pode ocorrer por vários micro-organismos que podem ser adquiridos no ambiente aquático ou durante as etapas de captura, transporte e distribuição (SALGADO et al., 2006). Esta contaminação pode diminuir ainda mais o prazo de comercialização do pescado, que já é encurtado pela composição biológica e pelo processo de degradação enzimática, diminuindo o tempo de comercialização e distribuição, especialmente quando transportado por longas distâncias (SALGADO et al., 2006). Além disso, a qualidade sanitária da água de onde os animais são capturados e armazenados também é importante para a obtenção de um produto final de qualidade microbiológica adequada (JAY, 2005).

Por apresentar atividade de água elevada (quantidade de água disponível no alimento), composição química, teor de gorduras insaturadas com facilidade para oxidar e, sobretudo, o pH próximo da neutralidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008), o pescado é acometido por micro-organismos deteriorantes, entre eles *Pseudomonas* spp. (FORSYTHE, 2002). Além disso, outros micro-organismos podem ocorrer no pescado, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* enteropatogênica e *Staphylococcus* coagulase positiva. Estes organismos são causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), que podem ser infecciosas ou ainda intoxicantes (FORSYTHE, 2002). A investigação de DTAs representa um importante elemento de epidemiologia e saúde pública (SILVA; BERGAMINI; OLIVEIRA, 2010), uma vez que inúmeras doenças podem ser transmitidas por alimentos quando a prevenção adequada não é realizada (RODRIGUES et al., 2010).

Ainda, o consumo de alimentos contaminados com micro-organismos resistentes à maior parte dos antimicrobianos usados no tratamento tem sido motivo de preocupação por parte dos cientistas (DIAS et al., 2010).

Deste modo, trabalhos que relatem a ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas em determinados alimentos, bem como o perfil de sensibilidade destes isolados é de grande valia para o monitoramento da veiculação destes patógenos em alimentos frequentemente consumidos pela população.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Investigar a presença de bactérias patogênicas e deteriorantes em jundiá (*Rhamdia quelen*) comercializado em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Isolar e identificar *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Pseudomonas* spp. em jundiá (*Rhamdia quelen*) comercializados em Pelotas.
- Fazer contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva.
- Testar o perfil de sensibilidade dos isolados frente a antibacterianos.

3 Revisão de literatura

3.1 Pescado

O consumo mundial de peixes sofreu mudanças nos últimos 40 anos. Estimativas mostram uma ligeira ampliação no consumo. No Brasil, a ingestão de pescado é inferior a da média de ingestão mundial se comparada ao Japão, Estados Unidos e Angola. Isto pode ser explicado não apenas pela falta de hábito dos brasileiros em consumir peixe, mas também por dificuldade de distribuição e comercialização, pouca variedade de pescado ou ainda subprodutos do mesmo, ausência de produtos de fácil preparo e alto custo (NETTO et al., 2010).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO* (2013), a quantidade de peixe consumida mundialmente foi de mais de 75% em 2006, em torno de 16,7 kg por pessoa, e até 2030 este consumo deve passar para 20 kg por ano. Os outros 25% são utilizados, na maioria das vezes, para o processo de produção de farinha e óleo de peixe. No Brasil, segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (2010), o consumo nacional *per capita* em 2005 que era de 6,66kg, aumentou para 9,75 kg em 2010.

Ministério da Saúde (2008) recomendar a ingestão de peixe fresco no mínimo duas vezes por semana, e é tido, segundo a FAO (2013), como uma excelente fonte de proteína animal e de outros nutrientes essenciais, colaborando para a segurança nutricional alimentar em diversas regiões.

3.2 Contaminações microbianas em alimentos

É extremamente difícil definir exatamente quando, na história da humanidade, o homem tomou conhecimento da existência de micro-organismos e da sua importância para os alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

De acordo com Rodrigues et al. (2010), as DTAs são uma síndrome ocasionada pelo consumo de alimentos e/ou água que contém agentes nocivos patogênicos (biológicos, físicos e químicos) em número suficiente para comprometer a saúde do consumidor, individualmente ou em grupo.

As doenças causadas por micro-organismos veiculados por alimentos são preocupantes para a saúde pública mundial. Ultimamente, os casos de DTAs vêm

umentando em diversas partes do mundo. Essas ameaças advêm de razões variadas, compreendendo adaptação microbiana às modificações nos sistemas de fabricação de alimentos, alterações nas práticas agropecuárias, na tecnologia de alimentos, no comércio internacional, no estilo de vida, nas demandas dos consumidores, transformações demográficas e na conduta humana (RODRIGUES et al., 2010). Segundo o Ministério da Saúde (2008), a cada três pessoas da população de países desenvolvidos, uma é acometida por DTAs por ano, e provavelmente esse quadro seja ainda pior em países em desenvolvimento.

De acordo com a ANVISA (2007), em países desenvolvidos, as doenças veiculadas por alimentos são um sério problema de saúde pública e preocupam as autoridades. No Brasil, as DTAs são frequentes, mas apenas em casos graves a pessoa afetada busca o serviço médico ou a vigilância sanitária para notificar o caso. Entre 1999 e 2005, foram registrados 4.092 surtos com 78.172 pessoas atingidas, onde 47 envolveram para óbito.

Boas práticas de higiene e limpeza devem ser adotadas nos processos de armazenamento e manipulação dos alimentos, em toda a cadeia produtiva, de modo que ocorra a prevenção e o controle do risco de ocorrência de DTAs. Ainda, além dos setores de produção e armazenamento, nos setores de alimentação e comercialização, bem como no domicílio do consumidor, devem ser adotadas medidas adequadas, tendo em vista boas condições sanitárias. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

3.3 Agentes de deterioração em alimentos

A degradação de alimentos envolve qualquer alteração que torna o alimento inaceitável para o consumo humano. Ela pode ocorrer devido a diversos fatores, dentre eles, a atividade de bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Os micro-organismos causadores de deterioração não causam toxinfecção alimentar, porém esses alimentos não apresentam as características desejadas pelo consumidor, sendo esse um fato de interesse à qualidade e não à segurança dos alimentos (FORSYTHE, 2002).

Durante a coleta, o processamento e à manipulação, os alimentos podem ser contaminados com uma grande quantidade de micro-organismos. Em consequência, durante a distribuição e o armazenamento inadequados do alimento,

os micro-organismos conseguem se desenvolver e causar deterioração (FORSYTHE, 2002).

De acordo com Jay (2005), as bactérias deteriorantes do peixe apresentam problema para desenvolver-se em camadas viscosas e em tegumentos externos. A região mais susceptível do peixe é a das brânquias. Os primeiros sinais de deterioração organoléptica podem ser observados quando as brânquias começam a apresentar odores desagradáveis. Isto se deve a ação de enzimas proteolíticas que podem ser oriundas do próprio peixe, de procedência bacteriana ou ambas.

Na carne de peixe, a deterioração é mais rápida do que em outros produtos cárneos, não só pela autólise, mas também pelo pH próximo da neutralidade, o que facilita o desenvolvimento bacteriano. O crescimento destes micro-organismos, junto com os processos de deterioração, colabora para acelerar as alterações do pescado durante o armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Ainda segundo Jay (2005), os peixes frescos resfriados são constantemente deteriorados por bactérias, já os peixes salgados e secos apresentam uma disposição maior a serem deteriorados por fungos. A biota bacteriana da degradação do peixe consiste de bastonetes gram-negativos não-esporulados, como *Pseudomonas* spp.

3.3.1 *Pseudomonas* spp.

Pseudomonas spp. são causadoras de deterioração em produtos lácteos, carnes vermelhas, e carnes brancas (frango e peixe) durante o armazenamento a frio. Esses alimentos têm atividade de água elevada (quantidade de água disponível no alimento) e pH neutro, além de serem armazenados sem atmosfera modificada, ou seja, com níveis normais de oxigênio (FORSYTHE, 2002). A degradação ocasiona odores desagradáveis, causados por algumas linhagens de *Pseudomonas* spp., em decorrência da produção de éteres voláteis e compostos sulfídricos voláteis. Estas bactérias podem ser detectadas em peixe fresco pelo desenvolvimento de uma camada limosa na pele, nas brânquias e nos intestinos (FORSYTHE, 2002).

De acordo com Strohl, Rouse e Fisher (2004), *Pseudomonas* spp. colonizam seres humanos saudáveis sem provocar doença, porém é um patógeno oportunista e um agente importante de infecções hospitalares. Além disso, pode causar

infecções pulmonares, septicemia, infecções em feridas, em queimaduras, infecções de ouvido, e infecções sistêmicas (SPICER, 2002).

3.4 Micro-organismos patogênicos em alimentos

Segundo o Ministério da Saúde (2013), a qualidade sanitária de um alimento pode ser afetada por fatores de natureza química, física e biológica em números suficientes e com capacidade para sustentar-se no andamento da cadeia alimentar e acarretar agravo à saúde. Os riscos de natureza biológica por serem os mais evidentes devido à dispersão no ambiente, determinam com mais frequência surtos de DTAs.

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde OPAS-OMS (2009) no Brasil, nos anos de 1999 até 2008, 6.062 surtos de DTAs foram registrados com 117.330 pessoas acometidas. Os surtos foram comunicados especialmente pelo Rio Grande do Sul e São Paulo.

O Rio Grande do Sul foi um dos estados pioneiros em implantar a vigilância em DTAs, havendo uma série histórica de acompanhamento de surtos desde o ano de 1980. No período de 1999 a 2007, 1.777 surtos de DTAs foram informados segundo dados da Vigilância Epidemiológica (VE) do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) da Secretaria Estadual da Saúde (SES) do Rio Grande do Sul (OPAS-OMS, 2009). Dados disponíveis de surtos assinalam como causadores mais comuns os de procedência bacteriana e entre eles, *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

3.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli foi conhecida como patógeno de origem alimentar em 1871, por meio de queijos importados comercializados em 14 estados americanos, causando cerca de 400 casos de gastroenterites devido à contaminação por uma linhagem enteroinvasiva. Foram citados, ao menos, cinco surtos originados de alimentos em outros países, antes de 1971, sendo o primeiro na Inglaterra em 1947 (JAY, 2005). Como patógeno humano, evidências indicam que foi reconhecida como agente de diarreia em crianças já nos anos de 1700 (JAY, 2005). Hoje se sabe que podem causar meningite neonatal, infecções do trato urinário, em feridas, intraperitoneais, da corrente sanguínea ou dos pulmões, gastroenterite ou disenteria (SPICER, 2002).

Segundo Franco e Landgraf (2008), é a espécie predominante entre os vários micro-organismos anaeróbios facultativos que fazem parte da microbiota intestinal do homem e de animais. Pertence à família Enterobacteriaceae e dentre suas principais características enfatiza-se a de serem bacilos Gram-negativos, não-esporulados, com capacidade de fermentar glicose e produzir ácido e gás.

A presença de *E.coli* em um alimento precisa ser investigada segundo dois parâmetros. O primeiro é que esta bactéria é componente da microbiota intestinal, e sua presença no alimento sugere contaminação microbiana de origem fecal, o que indica que está em condições higiênicas inadequadas para o consumo. O outro parâmetro é quanto à diversidade de linhagens patogênicas ao homem e animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008), indicando a provável fonte de contaminação.

3.4.2 *Salmonella* spp.

Em 1880, foi relatado o primeiro caso de salmonelose em humanos, quando os casos de infecção por *Salmonella typhi* predominavam. Tem-se apontado um aumento rápido de *Salmonellas* spp. não específicas de humanos e animais, desde 1940, particularmente *Salmonella typhimurium* e, atualmente o sorovar mais isolado em casos de infecções alimentares em humanos é *Salmonella enteritidis* (CARDOSO; TESSARI, 2008).

Salmonella spp. é considerada um dos micro-organismos mais frequentemente envolvidos em casos e surtos de doenças alimentares em vários países, incluindo o Brasil. Na Inglaterra e países ao redor, 90% dos casos são ocasionados por esta bactéria. Em um amplo estudo realizado com 1,5 milhão de cepas de *Salmonella* spp., isoladas de amostras de humanos e não-humanos, dentre os anos de 1934 e 1975, em 109 países, constataram que os sorotipos mais comuns eram *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. infantis* e *S. heidelberg*. No Brasil, uma análise recentemente concluída indicou que *S. typhimurium*, *S. agona*, *S. anatum* e *S. oranienburg* são os sorotipos mais frequentemente encontrados no homem, alimentos e ambientes (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Em alimentos, a pesquisa de *Salmonella* spp. é extremamente importante, pois ela não faz parte da microbiota do pescado, e quando é encontrada nesse alimentos pode ser atribuído a contaminação durante a manipulação, por contato com águas contaminadas e higiene inadequada (NETTO et al., 2010). De acordo com Silva, Bergamini e Oliveira (2010), *Salmonella* spp. é apontada como um dos

principais micro-organismos potencialmente patogênicos envolvidos em DTAs. Além das DTAs, *Salmonella* spp. é causadora de gastroenterite, septicemia e febre tifóide ou entérica sistêmica (SPICER, 2002).

3.4.3 *Staphylococcus* coagulase positiva

Este micro-organismo foi descrito pela primeira vez em 1879. O *S. aureus* possui um grande número de fatores de patogenicidade (FORSYTHE, 2002). É um dos micro-organismos mais virulentos do gênero, e um dos agentes mais comuns de infecções bacterianas e intoxicações alimentares. Quase todos os isolados secretam coagulase, uma enzima que age aglutinando o plasma sanguíneo (STROHL; ROUSE; FISHER, 2004). Que uma vez positivo para coagulase podem corresponder a cepas de estafilococos produtoras de enterotoxinas e, deste modo, representar riscos ao consumidor (BOARI et al., 2003).

De acordo com Strohl, Rouse e Fisher (2004), 20 a 40% das pessoas saudáveis são portadoras de *S.aureus* em algum momento de sua vida. Eles estão presentes com mais frequência na pele, nas membranas da mucosa das narinas e em outras membranas mucosas. Os portadores atuam como fonte de infecção para eles mesmos e para outros indivíduos, seja por contato direto ou através da manipulação de alimentos, podendo resultar em intoxicação alimentar.

Mas ainda que os manipuladores de alimentos sejam, normalmente, as fundamentais fontes de contaminação dos alimentos, nos casos de surtos, os equipamentos e as superfícies de contato também atuam como fontes das contaminações por *S. aureus*. As intoxicações alimentares são devidas ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos por alguma linhagem bacteriana, normalmente, porque o alimento não foi armazenado adequadamente (FORSYTHE, 2002).

3.5 Sensibilidade à Antimicrobianos

De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS (2013), os antimicrobianos são fármacos empregados no tratamento de infecções ocasionadas por bactérias, fungos, parasitas e vírus. A descoberta dos antimicrobianos foi um dos mais importantes descoberta na história da humanidade. Porém, com o uso abusivo dos antibióticos na medicina humana e na criação de animais, nos últimos anos,

houve um aumento na frequência de isolados de micro-organismos resistentes a esses compostos.

A resistência de bactérias a antimicrobianos é um fenômeno que tende a crescer muito, tanto pelo uso dessas drogas de forma descontrolada em hospitais ou no meio agropecuário, ou ainda pela utilização de drogas de amplo espectro para combater infecções de forma empírica e impulsiva, quando escolhas de menor espectro seriam suficientes (MEIRELES, 2008).

Em seu estudo, Dias et al. (2010), constataram múltipla resistência de cepas de *E. coli* a diferentes antimicrobianos. Estes resultados levaram os autores a concluir que a ingestão de pescados e alimentos em geral, que estão contaminados por essa bactéria representam um risco à saúde pública e um agravo preocupante em relação ao estabelecimento de infecções alimentares ou invasão no trato intestinal do homem.

Ainda, a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva nas mãos dos manipuladores de alimentos, associada ao elevado percentual de cepas com resistência múltipla, representa sério risco à saúde do consumidor (MARTINS et al., 2009). Também a resistência adquirida por *Salmonella* spp. pelo uso impróprio de antimicrobianos, não só seleciona isolados bacterianos resistentes, mas também afeta a saúde das pessoas envolvidas, gerando disseminação de linhagens resistentes (CARVALHO et al., 2009).

Segundo Figueiredo et al. (2007), os dados mostrados apontam taxas elevadas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a diversos antibacterianos, problemas no uso de novas alternativas para tratamento combinado e a necessidade de cautela individualizada do perfil de resistência. Esses dados devem servir de subsídio para auxiliar na adoção de políticas concretas de uso coerente dos antimicrobianos e de redução da dispersão das cepas resistentes.

De acordo com Costa et al. (2008), em seu trabalho sobre sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de jundiá, os antimicrobianos testados representavam os principais princípios ativos dos fármacos mais utilizados na profilaxia e terapêutica de infecções na aquicultura.

Barreto et al. (2012) em pesquisa sobre a avaliação das condições higiênicas sanitárias do pescado, mostram que *Escherichia coli* apresentou mais sensibilidade a dois antimicrobianos.

4. Metodologia

4.1 Obtenção das amostras

As amostras foram obtidas de quatro peixarias de diferentes localizações na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, no período de março a outubro de 2013. Foram coletadas seis amostras de cada peixaria, até o total de vinte e quatro amostras, sendo as peixarias denominadas de estabelecimento I (Mercado Público), estabelecimento II (Supermercado), estabelecimento III (Balsa) e estabelecimento IV (Colônia de pescadores Z3).

4.2 Isolamento e identificação bacteriana

As amostras foram mantidas em embalagem original e em condições de refrigeração em caixa térmica com gelo, e conduzidas até o Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, para as análises microbiológicas. A metodologia usada para todas as análises de isolamento e identificação de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Pseudomonas* spp. foi baseada em Silva; Junqueira e Silveira (1997).

4.2.1 Isolamento e Identificação de *Escherichia coli*

Para a pesquisa de *E. coli*, foram pesados 25 g de peixe e homogeneizado com 225 mL de Caldo *Tryptic Soy Broth* (TSB, Himedia®) e incubado a 36 °C por 24h. Após este período, foram transferidas alíquotas do homogeneizado de TSB com o auxílio de uma alça de inoculação e semeado, pela técnica de esgotamento, em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno Levine (EMB Levine, Acumedia®), e incubadas à 36 °C por 24-48 h. Após o período de incubação, as colônias características (secas com brilho metálico) foram selecionadas e semeadas em tubos de Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI, Acumedia®) para armazenamento até o momento dos testes bioquímicos. As provas bioquímicas realizadas foram: *Methyl Red* e *Voges-Proskauer* (MR-VP, Isofar®); Ágar Citrato de Simmons (Himedia®);

Motilidade, Indol e produção de Ácido Sulfídrico (SIM, Merck®) (KONNEMAN et al., 2001).

4.2.2 Isolamento e Identificação de *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. foram pesados 25 g de peixe e homogeneizado com 225 mL de Caldo Lactosado (Lactose, Synth®; Peptona e Extrato de carne, Himedia®), e após a homogeneização e ajuste do pH para 6,8, a amostra foi incubada a 36 °C por 24 h. Após este período, 0,1 mL e 1 mL do material incubado foi transferido para tubos contendo os meios de enriquecimento seletivo Rapaport (RP, Acumedia®) e Tetracionato (TT, Acumedia®), respectivamente, e novamente incubados a 36 °C por 24 h. Passado este período, uma alçada de cada um destes meios foi semeada pelo método de esgotamento em placas de Ágar Hektoen-Enteric (HE, Acumedia®) e Ágar Xilose Lisina Desoxilato (XLD, Himedia®), e incubadas a 36 °C por 24 h. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. (negras ou com o centro negro), foram submetidas a testes bioquímicos segundo Konneman et al. (2001) em meios Ágar Lisina Ferro (LIA, Vetec®), Ágar Tríplice Ferro (TSI, Himedia®) e Caldo de Uréia (Vetec®) para obtenção de resultados presuntivos. Os isolados presuntivamente positivos para *Salmonella* spp., foram submetidos à confirmação sorológica utilizando soros anti-salmonela polivalente somático (Probac®).

4.2.3 Isolamento e Identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

Para a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva foram pesados 25 g de peixe e homogeneizado com 225 mL de água peptonada a 0,1%, foram realizados diluições decimais até 10^{-4} , e cada diluição foi inoculado em 3 tubos contendo 10 mL de TSB (Himedia®) enriquecido com 10% NaCl (Synth®) e incubados a 36 °C por 48h. Os tubos positivos (turbos) foram semeados por esgotamento utilizando a alça de platina em placas de Ágar Baird-Parker (BP, Isofar®) e em seguida incubadas a 36 °C por 48 h. Foram selecionadas colônias típicas para este micro-organismo: circulares, pretas, lisas, convexas, com bordas perfeitas e rodeadas por uma zona opaca ou halo transparente além da zona opaca. Quando confirmadas, as colônias típicas foram semeadas em Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI, acumedia®) e incubadas a 36 °C por 24 h, para realização de coloração de Gram e da prova de coagulase livre. O teste de coagulase foi feito por meio da transferência do inóculo, pelo

método de dispersão, para um tubo contendo 2 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI, acumedia®) e incubados a 36 °C por 24 h. Foram descartados 1,8 mL do inóculo e adicionado 0,2 mL de coágulo-plasma (Laborclin®), onde, com movimentos rotativos, fez-se a mistura do inóculo com o plasma, sem agitar, de modo que não interfira na coagulação. Este material foi incubado novamente a 36°C, e a cada hora, por um período de 6 h, o tubo foi observado para identificação da formação de coágulo, indicando uma reação positiva.

4.2.4 Isolamento e Identificação de *Pseudomonas* spp.

Para isolamento e identificação de *Pseudomonas* spp. foi realizada a homogeneização de 25 g da amostra com 225 mL de água peptonada a 0,1%. Após, foi retirado com o uso de alça de inoculação um pouco do homogeneizado e semeado em placas contendo Ágar *Pseudomonas* (Himedia®), incubado a 36 °C por 24 h. O aparecimento de colônias suspeitas permite a realização de provas bioquímicas como: motilidade e produção de Ácido Sulfídrico (SIM, Merck®); maltose (Merck®); manitol; Ágar Lisina Ferro (LIA, Vetec®); Uréia (Vetec®) e Esculina (Himedia®), para a confirmação do gênero bacteriano.

4.3 Teste de sensibilidade a antibacterianos

Foi utilizado o teste de antibiograma por difusão em disco, pela técnica de Kirby e Bauer descrito por Konneman et al. (2001). Para a realização deste teste é preparado um inóculo de acordo com a escala 0,5 de MacFarland, o que corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC. mL⁻¹, a partir de cultivos recentes das cepas que serão testadas. Com auxílio de *swab* estéril, o inóculo foi semeado em placa de Ágar Mueller Hinton (MH, Merck®) e a seguir foram adicionados, com pinça estéril, os discos de antibacterianos como: Ampicilina 10 µg, Gentamicina 10 µg, Sulfazotrim 25 µg, Cloranfenicol 30 µg, Estreptomicina 10 µg, Nitrofurantoina 30 µg, Tetraciclina 30 µg, Norfloxacin 10 µg, e Ácido Nalidíxico 30 µg (Laborclin®). As placas foram incubadas a 36 °C por 24 h e após, com o auxílio de régua milimetrada, foi medido o tamanho do halo de inibição de cada disco e a partir do acompanhamento em uma tabela da CLSI (2007), a bactéria foi classificada como sensível, intermediário ou resistente ao antibacteriano testado.

5 Resultados e Discussão

Durante o período de sete meses de estudo, foram analisadas, ao todo, vinte e quatro amostras de jundiá, provenientes de quatro diferentes localidades (Mercado público, Supermercado, Balsa e Colônia de pescadores Z3). Os resultados referentes aos micro-organismos encontrados nestas amostras estão demonstrados na tab. 1.

Tabela1 – Número de micro-organismos isolados de vinte e quatro amostras de peixe *Rhamdia quelen* (jundiá) no período de março a outubro de 2013 em quatro peixarias no município de Pelotas, RS, Brasil.

Peixarias	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.
(I)	–	–	–	–
(II)	3	1	–	–
(III)	2	1	2	–
(IV)	-	3	4	–

– ausência de micro-organismo;

(I) Mercado público; (II) Supermercado; (III) Balsa; (IV) colônia de pescadores Z3

A partir dos resultados obtidos podemos observar que as amostras de jundiá de três peixarias analisadas apresentaram contaminação bacteriana. A frequência dos micro-organismos encontrados em cada uma das peixarias encontra-se na Fig.1.

Das amostras obtidas do mercado público (I) nenhuma apresentou contaminação por qualquer um dos micro-organismos buscados. Das seis amostras testadas do supermercado (II), três (50%) apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva e uma (17%) por *Salmonella* spp.. *Escherichia coli* ou *Pseudomonas* spp não foram isoladas. Na peixaria da balsa (III), das seis amostras analisadas, duas (33%) apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva, uma (17%) por *Salmonella* spp., duas (33%) por *Escherichia coli* e nenhuma (0%) por *Pseudomonas* spp. Na peixaria da colônia de pescadores Z3 (IV), das seis

amostras testadas nenhuma (0%) apresentou contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva ou *Pseudomonas* spp., três (50%) apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. e quatro (67%) apresentaram contaminação por *Escherichia coli*. Assim, das vinte e quatro amostras analisadas cinco (21%) estavam contaminadas com *Staphylococcus* spp., cinco (21%) com *Salmonella* spp., seis (25%) com *Escherichia coli* e nenhuma (0%) por *Pseudomonas* spp. (Fig. 2).

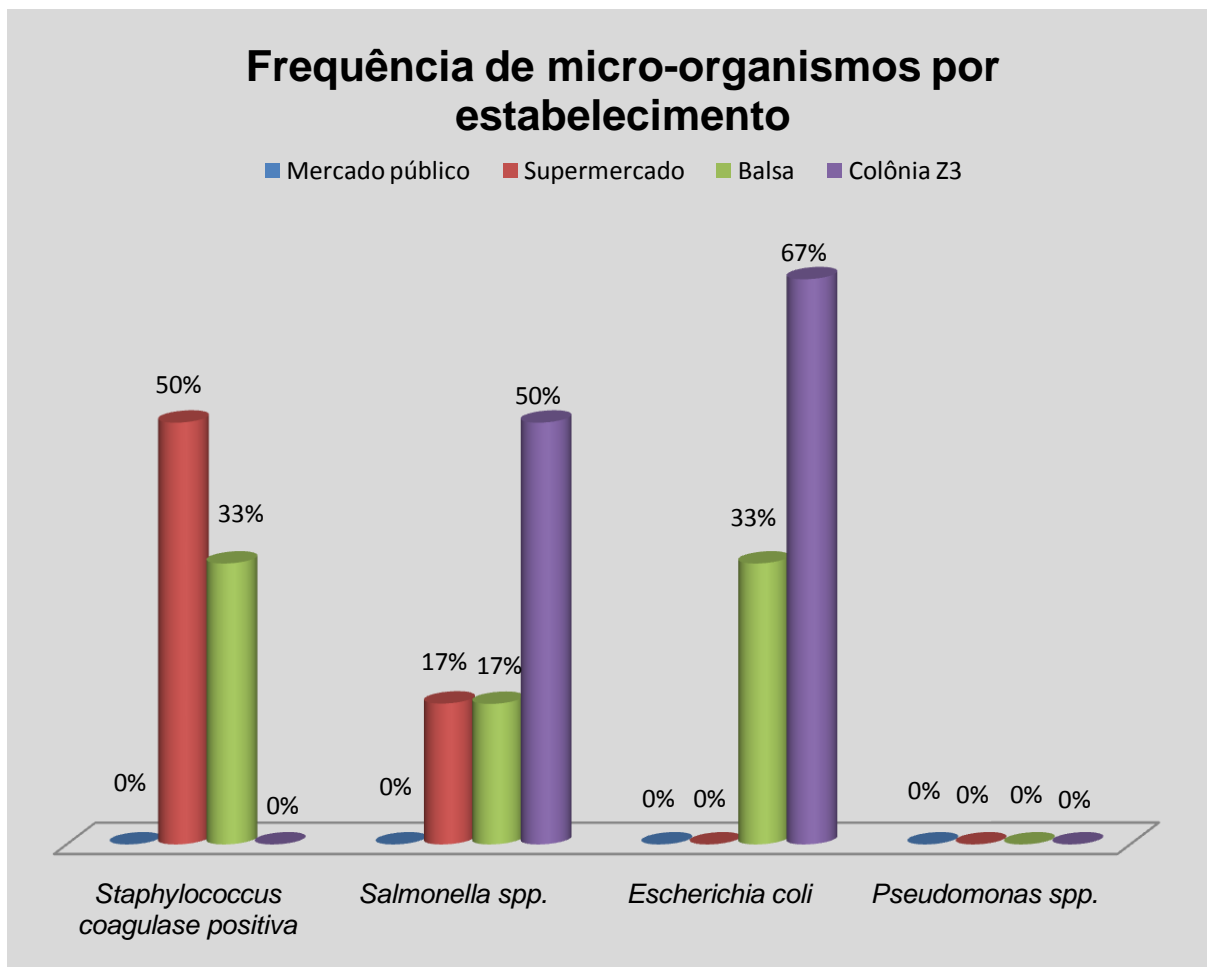


Figura 1- Frequência de micro-organismos isolados de jundiá de quatro peixarias de Pelotas

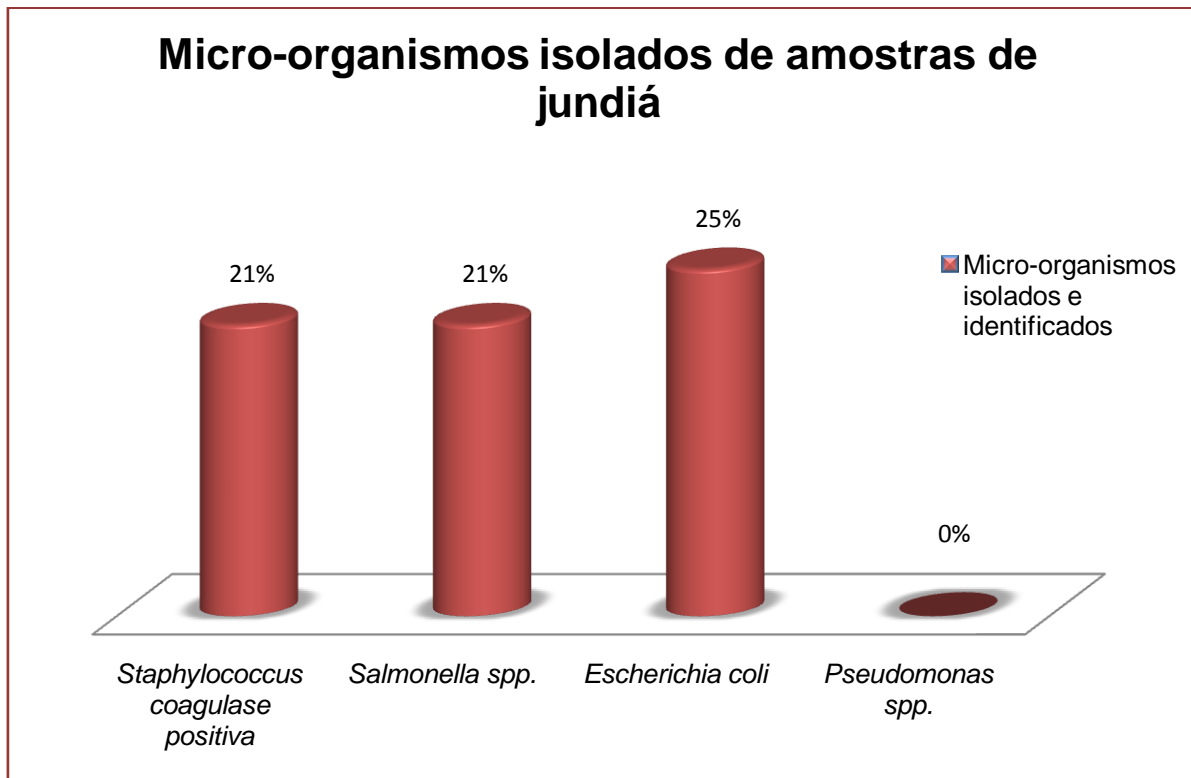


Figura 2- Frequência de micro-organismos isolados de vinte e quatro amostras de jundiá.

O pescado, juntamente com a carne suína, representam cerca de 14% das amostras contaminadas segundo Welker et al. (2010), pesquisando alimentos envolvidos em surtos de DTAs.

Chang (2008), em seu trabalho sobre surtos de DTA na cidade de Recife, encontrou como agentes mais frequentemente envolvidos *Escherichia coli* (33,4%), seguido por *Staphylococcus aureus* (27,8%) e *Salmonella spp.* (16,7%).

Assim como Muratori; Pereira e Soares (1994) que constataram em seu estudo também com pescado, presença de *Escherichia coli* (20%), de *Salmonella spp.* (6,6%) e de *Staphylococcus aureus* (3,3%), sendo semelhante aos resultados obtidos em nosso estudo, onde *Escherichia coli* foi a bactéria mais frequente nas amostras de jundiá, e *Salmonella spp.* e *Staphylococcus coagulase positiva* apresentaram valores superiores aos encontrados pelos referidos autores.

Welker et al. (2010) em sua pesquisa sobre análise de micro-organismos envolvido em surtos de DTAs no Rio Grande do Sul, mencionam que os principais micro-organismos identificados nas amostras foram: *Escherichia coli* (41%), *Salmonella spp.* (25%) e *Staphylococcus coagulase positiva* (21%). Estes resultados são muito próximos dos obtidos neste trabalho, e demonstram a importância dos cuidados higiênico sanitários e da manipulação do alimento, pois uma vez encontrados no

mesmo, sugerem que este apresenta contaminação microbiana de origem fecal adquirida possivelmente durante a manipulação. A higienização adequada, correta manipulação e armazenamento, evita riscos de infecção e/ou intoxicação alimentar.

Marchi et al. (2011) relataram em seu estudo sobre surtos de DTAs em Santa Catarina nos anos de 1995 a 2007, que os micro-organismos mais envolvidos foram *Salmonella* spp. (54%), seguido por *Staphylococcus aureus* (13%) e outros agentes (6,5%). Na região de Ribeirão Preto, em um estudo com alimentos e agentes envolvidos em toxinfecções nos anos de 2005 a 2008, Silva; Bergamini e Oliveira (2010) encontraram amostras contaminadas por *Staphylococcus aureus* (11,2%) e também por *Salmonella* spp. (1,7%). Estes trabalhos demonstram valores inferiores aos encontrados em nosso estudo, quanto à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva onde se observou contaminação em 21% das amostras, porém apresentou valores diferenciados em relação à *Salmonella* spp. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva sugere contaminação devido à manipulação inadequada do peixe, uma vez que este micro-organismo pode compor a microbiota da pele de indivíduos sadios.

Netto et al. (2010) em análises microbiológicas de jundiá (*Rhamdia quelen*), observaram ausência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de pescado e ainda destacam que todas as amostras apresentam valores abaixo do permitido pela legislação. Entretanto, em nosso trabalho, foi constatada presença de *Salmonella* spp., o que compromete o consumo deste alimento, pois segundo a Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA, está previsto ausência total deste micro-organismo em 25 g de alimento, devido este ser apontado como um dos principais micro-organismos potencialmente patogênicos envolvidos em DTAs, além de serem causadores de gastroenterite, septicemia e febre tifóide ou entérica.

As bactérias que possuem valores estabelecidos pela legislação, na maioria das vezes, não causam alterações no pescado, pois estas são ditas patogênicas ao homem e não deterioradoras de alimentos (VIEIRA, 2004), impedindo que o consumidor considere o alimento como impróprio. Os deteriorantes, por outro lado, causam mudanças na aparência do pescado, tornando o alimento inaceitável pelo consumidor, causando perdas econômicas diretas. Mas *Pseudomonas* spp., embora não cause gastroenterite, está associada a patogenias, inclusive infecção hospitalar.

A presença de *Pseudomonas* spp. agente deteriorante em alimentos, não é prevista pela legislação brasileira, entretanto sua detecção em água e alimentos é

importante por este micro-organismos ser atuante no processo de deterioração (MAIA et al., 2009). Brum (1971) já relatava o predomínio de *Pseudomonas* spp. isoladas de tainha e peixe rei, porém as características organolépticas não haviam sido alteradas, julgando ele o pescado ainda próprio para o consumo.

Maia et al. (2009) encontraram elevada frequência de *Pseudomonas aeruginosa* em isolados de pescado e frango, assumindo uma grande importância pelas condições sanitárias, o qual pode levar a deterioração, além de comprometer o produto, e instituir um risco aos consumidores uma vez que a deterioração pode ocorrer devido as atividades de bactérias ou fungos. O desenvolvimento de bactérias potencialmente patogênicas no pescado, além de ser uma provável causa de infecção e intoxicação alimentar, poderá facilitar o desenvolvimento de bactérias deteriorantes.

Pacheco et al. (2004) em estudo com pescado de água doce, obtiveram *Pseudomonas* spp. em 5% das amostras de tilápia congelada, possivelmente por condições de higiene e armazenamento inadequados. Enquanto Shama et al. (2000) isolaram 4% de *Pseudomonas* spp. de lesões externas de jundiá cultivados em sistemas semi-intensivo, o isolamento deste micro-organismo provavelmente esteja ligado a presença de lesões no pescado. No presente trabalho, não foi isolada nenhuma bactéria pertencente ao gênero *Pseudomonas*. Esse fato provavelmente se dá pela obtenção de amostras frescas de peixe (jundiá), recém chegadas nas peixarias analisadas.

Carbonera (2007) em sua pesquisa com pescado observou resultados inferiores a 10^5 UFC. g^{-1} de *Pseudomonas* spp. em tilápia *in natura*, filés resfriados e congelados. Porém, como não é prevista pela legislação brasileira a análise deste micro-organismo, não se sabe o valor limite para este alimento, mas se ressalta a importância deste micro-organismo no processo de deterioração. Ainda, *Pseudomonas* é apontada como o gênero bacteriano de maior incidência nesses alimentos e são indicadores da extensão da deterioração.

5.1 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva pelo Número Mais Provável (NMP)

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva apresentou valores que variaram de $2,3 \times 10^2$ NMP. g^{-1} a $2,3 \times 10^4$ NMP. g^{-1} conforme tab. 2. Segundo a Resolução da ANVISA – RDC Nº 12, de 12 de Janeiro de 2001 (Publicada no D.O.U. – Poder Executivo, 10 de Janeiro de 2001), os Padrões Microbiológicos Sanitários

para Alimentos como Pescado “*in natura*” possuem uma tolerância de 5×10^2 NMP.g⁻¹. Os resultados adquiridos na análise do pescado (jundiá) indicam que este se encontra em condições sanitárias insatisfatórias, ou seja, apresenta valores acima do estabelecido. Das cinco amostras isoladas quatro (80%) apresentam-se com valores superiores ao tolerado para pescado “*in natura*” e apenas uma amostra (20%) encontra-se dentro dos padrões estabelecidos.

Staphylococcus coagulase positiva apresentou resultados acima dos valores permitidos pela legislação, um fato preocupante já que estes são os micro-organismos mais virulentos do gênero, e agentes mais comuns de infecções bacterianas e intoxicações alimentares. Na Tab.2 encontram-se os valores obtidos pelo Número Mais Provável (NMP) das cinco amostras de peixe jundiá que apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva.

Tabela 2- Valores obtidos de *Staphylococcus* coagulase positiva de cinco amostras de peixe (jundiá), comercializado na cidade de Pelotas.

Amostra/Peixaria	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (NMP.g ⁻¹)
A5 (II)	$2,3 \times 10^2$
A11 (II)	$2,3 \times 10^3$
A12 (II)	$2,3 \times 10^3$
A13 (III)	$2,3 \times 10^4$
A14 (III)	$2,3 \times 10^4$

A (amostra); II (supermercado); III (Balsa) NMP (número mais provável)

Ribeiro et al. (2009) obtiveram em pescado defumado valor de $1,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ de *Staphylococcus* coagulase positiva, tornando-o impróprio para o consumo de acordo com a RDC nº12 da ANVISA. Estes resultados corroboram com os resultados encontrados neste estudo com pescado fresco, que obteve uma variação de $2,3 \times 10^3$ a $2,3 \times 10^4$ NMP. g⁻¹, o que o torna impróprio para o consumo humano.

Hoffmann, Cruz e Vinturim (1995) em levantamento da qualidade higiênico sanitária de filé de pescada branca, comprovaram que as amostras situavam-se fora dos padrões aceitáveis, sendo consideradas potencialmente capazes de acarretar intoxicação alimentar e por isso o pescado foi considerado inadequado para o

consumo. Assim como em nosso trabalho, onde encontramos 80% das amostras fora dos padrões estabelecidos. Este micro-organismo presente com mais frequência na pele, nas mucosas das narinas, faz com que os manipuladores de alimentos tenham um papel fundamental, por servirem de portadores atuando como fonte de infecção endógeno quanto exógeno, através do contato direto ou da manipulação de alimentos, podendo resultar em intoxicação alimentar.

Barreto et al. (2012) encontraram quantidades elevadas de bactérias mesófilas como a *Escherichia coli* para o pescado fresco, variando de $4,66 \times 10^6$ a $6,84 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ sendo inadequado para ingestão. Considerando que *Staphylococcus* também é mesófila e, da mesma forma que *Escherichia coli*, a contaminação por esta está relacionada a condições higiênico sanitárias inadequadas.

5.2 Antibacterianos

Foram testados cinco isolados de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva e seis isolados de *Escherichia coli* provenientes de pescado (jundiá) frente aos antibacterianos de uso clínico. O perfil de sensibilidade dos isolados frente aos antibacterianos encontra-se na Fig. 3. As tabelas 3, 4 e 5 mostram o perfil de sensibilidade dos isolados de *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli*, respectivamente. *Salmonella* spp. apresentou sensibilidade a maioria dos antibacterianos testados, exceto um (20%) isolado que foi intermediário ao Cloranfenicol de acordo com a (tab.3). *Staphylococcus* coagulase positiva mostrou-se sensível aos antibacterianos testados, porém apresentou isolados com perfil de resistência ao Ácido Nalidíxico (60%) e a Sulfazotrim (20%), e uma cepa intermediária a Tetraciclina (20%) e duas ao Ácido Nalidíxico (40%) como demonstrado na (tab.4). Já *Escherichia coli* foi sensível à maioria dos antibacterianos, entretanto apresentou resistência a Ampicilina (33%) e ao Ácido Nalidíxico (83%) e demonstrou perfil intermediário a estreptomicina (17%). Os isolados de *Escherichia coli* (6), *Salmonella* spp. (5). e *Staphylococcus* coagulase positiva (5) testados, apresentaram resistência ao Sulfazotrim (6,3%), a Ampicilina (12,5%) e ao Ácido Nalidíxico (50%), e foram intermediários ao Ácido Nalidíxico (12,5%), Cloranfenicol, Tetraciclina e Estreptomicina (6,3%).

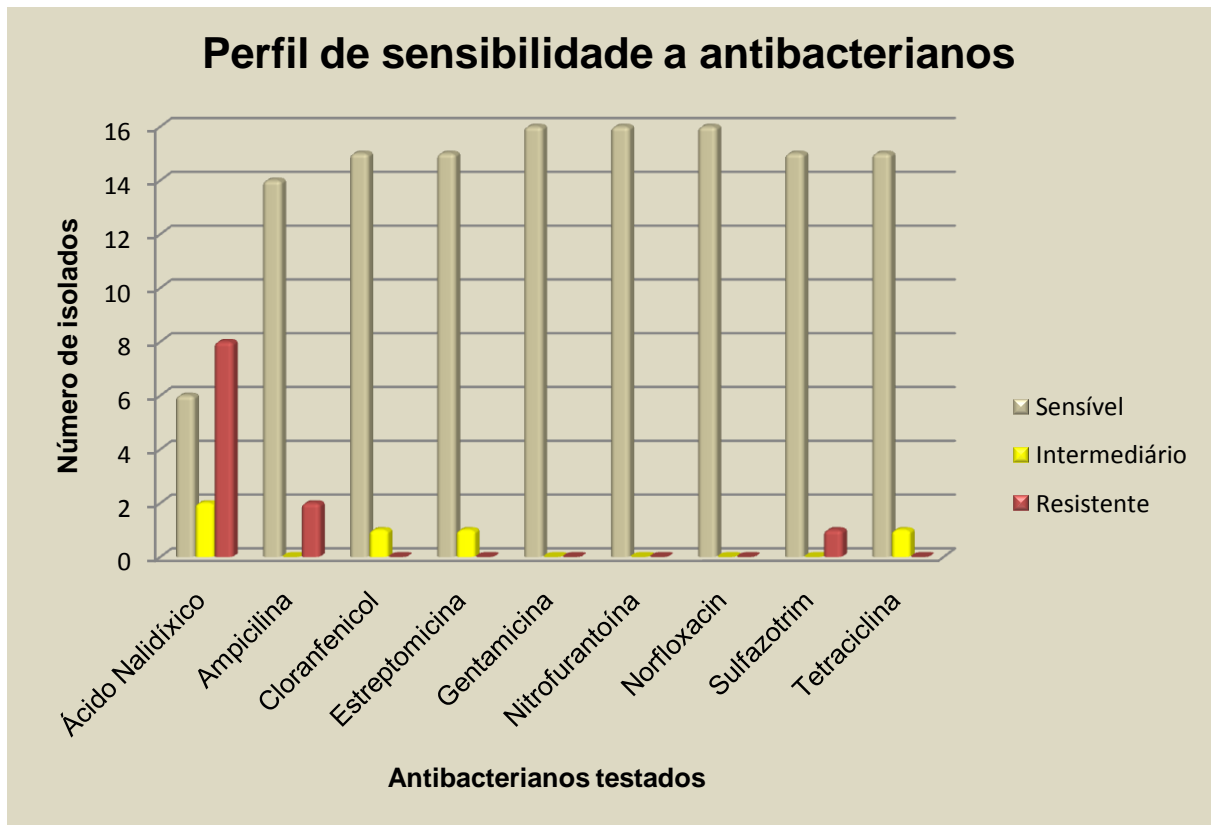


Figura 3 – Perfil de sensibilidade dos isolados bacterianos de jundiá frente aos antibacterianos.

Tabela 3- Sensibilidade antibacteriana dos isolados de *Salmonella* spp. obtidos a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.

Antibacterianos	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Ácido Nalidíxico	100	-	-
Ampicilina	100	-	-
Cloranfenicol	80	20	-
Estreptomicina	100	-	-
Gentamicina	100	-	-
Nitrofurantoína	100	-	-
Norfloxacin	100	-	-
Sulfazotrim	100	-	-
Tetraciclina	100	-	-

Tabela 4- Sensibilidade antibacteriana dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva obtidos a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.

Antibacterianos	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Ácido Nalidíxico	-	40	60
Ampicilina	100	-	-
Cloranfenicol	100	-	-
Estreptomicina	100	-	-
Gentamicina	100	-	-
Nitrofurantoína	100	-	-
Norfloxacin	100	-	-
Sulfazotrim	80	-	20
Tetraciclina	80	20	-

Tabela 5- Sensibilidade antibacteriana dos isolados de *Escherichia coli* obtidas a partir de amostras de jundiá comercializados em quatro peixarias de Pelotas.

Antibacterianos	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Ácido Nalidíxico	17	-	83
Ampicilina	67	-	33
Cloranfenicol	100	-	-
Estreptomicina	83	17	-
Gentamicina	100	-	-
Nitrofurantoína	100	-	-
Norfloxacin	100	-	-
Sulfazotrim	100	-	-
Tetraciclina	100	-	-

Figueiredo (2008), estudando suscetibilidade a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* spp., verificou que 1% foi resistente a ampicilina, cloranfenicol e nitrofurantoina, 2% ao ácido nalidíxico e 4% a tetraciclina. Ainda Coelho et al., (2012) identificaram cinco cepas de *Salmonella* sp. e destas, 33,3% foram resistentes a tetraciclina, Cloranfenicol e sulfazotrim. No presente estudo, os isolados de *Salmonella* spp. apresentaram-se sensíveis ao cloranfenicol.

Soria e Bueno (2011), buscando o perfil de sensibilidade a antimicrobianos de *Salmonella typhimurium* isolada de ovo, encontraram 44,7% sensíveis a ampicilina, 95,7% ao ácido nalidíxico, 100% para norfloxacina, 4,3% para tetraciclina, 93,6% ao Cloranfenicol, 0% para estreptomicina, 100% para gentamicina. Assim como neste estudo, os isolados de *Salmonella* spp. apresentaram-se 100% sensíveis a gentamicina e norfloxacina. Souza et al. (2010), em pesquisa sobre resistência de *Salmonella Typhi* a antimicrobianos, apontaram que o maior percentual de resistência adveio da nitrofurantoina (15,9%), seguida por Cloranfenicol, ácido nalidíxico e tetraciclina com 2,28%. Ainda foi observada resistência intermediária a nitrofurantoina e tetraciclina (2,28%).

Em relação ao perfil de sensibilidade de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves, Cortez et al. (2006) observaram que nenhuma das amostras apresentou 100% de resistência ou de sensibilidade aos antimicrobianos utilizados. Estes dados divergem deste estudo, pois a maioria dos isolados foram sensíveis aos antibióticos testados.

Kuchenbecker (2009) observou que os isolados de *S. aureus* apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, como penicilina, e todos os isolados foram sensíveis a gentamicina. Ainda constatou perfis de resistência variados nos isolados de *Staphylococcus aureus*. Há concordância entre estes resultados e os encontrados em nosso estudo, pois *Staphylococcus coagulase positiva* também foi resistente a pelo menos um (ácido nalidíxico) dos antibacterianos usados e todos os isolados apresentaram sensibilidade a gentamicina.

Costa et al. (2008), constataram que a gentamicina foi o antimicrobiano com maior percentual de sensibilidade nos isolados de jundiá, e ainda é citado que a maior parte dos isolados foram resistentes a mais de um antimicrobiano analisado. Dos isolados de jundiá (*Rhamdia quelen*), todos (100%) apresentaram sensibilidade a gentamicina, 96% ao sulfazotrim, 92% ao clorofenicol, 84% ao ácido nalidíxico, 60% a nitrofurantoina, 43% a ampicilina. Neste estudo, foi observada a resistência dos isolados, entretanto *Staphylococcus coagulase positiva* não foi sensível ácido nalidíxico, e apresentou resistência ao sulfazotrim.

Saénz et al. (2001) detectaram que 88% de *Escherichia coli* isolados de fezes de frangos apresentaram resistência ao ácido nalidíxico. Os dados Corroboram com o resultado encontrado neste estudo, onde foi possível observar que 83% dos isolados de *Escherichia coli* também apresentaram resistência ao mesmo antibacteriano. As quinolonas são os antibióticos mais antigos, em particular o ácido

nalidíxico, muito usado no tratamento de infecções do sistema urinário. Tem uso limitado e um rápido desenvolvimento de resistência bacteriana (BAPTISTA, 2013). Em controvérsia, Barreto et al. (2012) mostram que o grupo de antimicrobianos que apresentou mais sensibilidade frente a *Escherichia coli* foi a ampicilina e o ácido nalidíxico (87,5%) em sua pesquisa sobre a avaliação das condições higiênic-sanitárias do pescado.

Na resistência antimicrobiana observada por Dias et al., (2009) foi possível observar que 2,27% das cepas de *Escherichia coli* apresentaram-se resistentes a ampicilina e 50% a penicilina, nenhuma cepa foi resistente a norfloxacina e gentamicina. Os resultados são compatíveis com o resultado encontrado nesta pesquisa onde *Escherichia coli* foi resistente a ampicilina e todas foram sensíveis a norfloxacina e gentamicina. Nos isolados bacterianos, o perfil de multiresistência detectado é preocupante em relação à saúde coletiva, tendo em vista que estas bactérias apresentam um potencial patogênico, podendo dificultar o tratamento de infecções e/ou toxinfecções alimentares (PRAXEDES et al., 2012).

Dias et al., (2009) avaliando a sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões, constataram múltipla resistência a diferentes antimicrobianos. Em nosso estudo foi observado cepas resistentes a diferentes antibacterianos, *Staphylococcus coagulase positiva* (ácido nalidíxico e sulfazotrim) e *Escherichia coli* (ácido nalidíxico e ampicilina).

A ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos potencialmente patogênicos e apresentando perfis variados de resistência aos antibacterianos, pode conferir risco e agravo a saúde pública, principalmente pelo estabelecimento de toxinfecções alimentares ou ainda pela colonização do trato intestinal dos indivíduos. A presença de bactérias indicadoras de contaminação de origem fecal e também de *Staphylococcus coagulase positiva* reiteram a importância do monitoramento constante e da aplicação de boas práticas de manipulação e armazenamento, com o objetivo de diminuir a ocorrência de DTAs, aumentando a segurança para o consumidor.

Baseado nestes dados destaca-se a importância dos cuidados higiênicos sanitários durante a manipulação dos alimentos, uma vez que a presença destes micro-organismos indica contaminação microbiana de origem fecal que pode ter ocorrido durante a manipulação, conferido um risco potencial a saúde pública, já que estes agentes estão envolvidos em toxinfecção alimentar.

E ainda enfatiza-se a importância de estudos sobre o perfil de sensibilidade dos micro-organismos, como instrumento auxiliar na escolha do antibacteriano adequado para o tratamento de doenças bacterianas.

6 Conclusões

- Foram isolados *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli* das amostras de jundiá.

- Das vinte e quatro amostras, nove estavam impróprias para o consumo humano, conforme a ANVISA.

- A contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva encontrava-se acima do permitido pela ANVISA, em quatro das cinco amostras testadas.

- Foi observada a ocorrência de *Salmonella* spp., o que torna as amostras impróprias para o consumo.

- *Salmonella* spp. obteve um único isolado com perfil de sensibilidade intermediário ao cloranfenicol, sendo todos os demais isolados sensíveis a todos os antibacterianos testados.

- *Staphylococcus* coagulase positiva apresentou resistência ao ácido nalidíxico em três das seis cepas testadas, e uma delas foi resistente ao sulfazotrim. Todas as demais cepas foram sensíveis aos antibacterianos.

- *Escherichia coli* apresentou somente uma cepa sensível ao ácido nalidíxico, sendo as outras cinco resistentes. Duas foram resistentes a ampicilina. Uma cepa apresentou sensibilidade intermediária a estreptomicina e as demais foram sensíveis aos antibacterianos.

Referências

- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Vigilância Sanitária: Alimentos, Medicamentos, Produtos e Serviços de Interesse à saúde. Guia Didático. 2007. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/288865804745965e9e2ade3fbc4c6735/guia_didatico.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 16 jan 2013.
- BAPTISTA, M.G.F.M. **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. 2013. 51p. Tese (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.
- BARRETO, N.S.E.; MOURA, F.C.M.; TEIXEIRA, J.A.; ASSIM, D.A.; MIRANDA, P.C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas, Bahia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.3, p.86-95, 2012.
- BRUM, Marco Antonio. Estudo da flora bacteriana das espécies *Mugil brasiliensis* (tainha) e *Odontheistes* sp. (peixe rei) consumidas na cidade de Porto Alegre. **Revista Centro Ciências Rurais**, v.1, n.1, p.79-102, 1971.
- BOARI, C. A.; PICCOLI-VALLE, R. H.; NASCIMENTO, A. R.; MARQUES, S. C.; ALCANTARA, E. M. C. Ocorrência de cepas de estafilococos coagulase positiva formadoras de colônias atípicas em Ágar Baird Parker. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n. 104/105, p. 28-29, 2003.
- CARBONERA, Nádia. **Análise de perigos e pontos críticos de controle associado à detecção de *Pseudomonas* sp. no processamento da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2007. 120p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Divulgação técnica Salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, n.1, p.11-13, 2008.
- CARVALHO, F. C. T.; BARRETO, N. S. E.; REIS, C. M. F.; HOFER, E.; VIEIRA, R. H. S.F. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella spp.* isoladas de fazenda de carciniculturas no Estado do Ceará. **Revista Ciência Agrônômica**, v.40, n.4, p.549-556, 2009.
- CHANG, Kátia. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos, Recife, 2005**. 2008. 77f. Monografia (Especialista em saúde coletiva) - Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.
- CLSI (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17 [ISBN 1-56238-625-5], 2007. Disponível em: <<http://www.microbiolab-bg.com/CLSI.pdf> > Acesso em: 20 jun. 2013.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C.F.B.; IKUNO, A.A.; BURGER, K.P.; VIDAL-MARTINS, A.M.C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.157-163, 2006.

COSTA, M.M.; PEIXOTO, R.M.; BOIJINK, C.L.; CASTAGNA, L.; MEURER, F.; VARGAS, A.C. Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.10, p.477-480, 2008.

DIAS, M.T.; SANTOS, P.C.R.F.; OLIVEIRA, L.A.T.; MARIN, V.A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.2, p.319-324, 2010.

FIGUEIREDO, E.A.P.; RAMOS, H.; MACIEL, M.A.V.; VILAR, M.C.M.; LOUREIRO, N.G.; PEREIRA, R.G. *Pseudomonas aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.19, n.4, p.421-427, 2007.

FIGUEIREDO, F.V. **Susceptibilidade a antimicrobianos e resistência plasmidial de cepas de *Salmonella* spp isoladas de dois estuários do estado do ceará, Brasil**. 2008. 68p. Tese (Doutorado em aquicultura) - Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho-Unesp, São Paulo.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/012/i0765pt/i0765pt09.pdf>> Acesso em: 18 jan 2013.

FRANCO, Bernadette D. G.M.; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

HOFFMANN, F.L.; CRUZ, C.H.G.; VINTURIM, T.M. Levantamento preliminar da qualidade higiênico-sanitária de feles de pescada branca (*Microdonancylodon*) comercializados na cidade de São José do Rio Preto (SP). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos** [da] Universidade Federal do Paraná, v. 13, n.1, p.13-20, jan./jun. 1995.

JAY, James M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; JUNIOR, W.C.W. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1466p.

KUCHENBECKER, Beatriz Sonntag. **Capacidade enterotoxigênica e perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* isolados de produtos de origem animais inspecionados no Brasil**. 2009. 105p. Tese (Doutor em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOPES, P.R.S.; POUHEY, J.L.O.F.; ENKE, D.B.S.; MARTINS, C.R.; TIMM, G. Desempenho de alevinos de jundiá *Rhamdia quelen* alimentados com diferentes níveis de energia na dieta. **Biodiversidade Pampeana** (Uruguaiana, RS), v.4, p.32-37, 2006.

MAIA, A.A.; CANTISANI, M.L.; ESPOSTO, E.M.; SILVA, W.C.P.; RODRIGUES, E.C.P.; RODRIGUES, D.P.; LÁZARO, N.S. Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frangos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.1, p.114-119, 2009.

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

MARTINS, S.C.S.; MARTINS, C.M.; ALBUQUERQUE, L.M.B.; FONTELES, T.V.; REGO, S.L.; JUNIOR, G.S.F. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos** [da] Universidade Federal do Paraná, v.27, n.1, p.43-52, jan./jun. 2009.

MEIRELES, Marlise Aparecida de Oliveira Martins. **Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: aspectos socioeconômicos e comportamentais e seu impacto clínico e ecológico**. 2008. 47f. Monografia (especialista em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura, 2010. Disponível em: http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf> Acesso em: 16 jan 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia para a população Brasileira, Promovendo a alimentação saudável, 2008. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2008.pdf> Acesso em: 18 jan2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf> Acesso em: 10 jan 2013.

MURATORI, Maria Christina Sanches; PEREIRA, Maria Marlucia Gomes; SOARES, Ludmar Ribeiro. Pesquisa de bactérias potencialmente patogênicas em pescado comercializado no mercado central de Teresina-PI. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos** [da] Universidade Federal do Paraná, v.12, n.1, p.33-38, jan./jun. 1994.

NETTO, J.P.C. BOSCOLO, W.R. FEIDEN, A. MALUF, M.L.F. FREITAS, J.M.A. SIMÕES, M.R. Formulação, análises microbiológicas, composição centesimal e aceitabilidade de empanados de jundiá (*Rhamdia quelen*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.2, p.181-187, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Resistência a drogas-microorganismos e antimicrobiana. Disponível em:
<<http://www.who.int/drugresistance/es/index.html>> Acesso em: 20 jan 2013.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças-OPAS/OMS, 2009. 320p.

PACHECO, T.A.; LEITE, R.G.M.; ALMEIDA, A.C; FIORINI, J.E. Análise de coliformes e bactérias mesofílicas em pescado de água doce. **Higiene Alimentar**, v.18, n.116/117, p.68-72, 2004.

RIBEIRO, A. L. M.S.; OLIVEIRA, G. M.; 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 Ciência e Veterinária**, v.16, n. 3, p.109-112, 2009.

RODRIGUES, Eliane et al. **Manual de boas práticas de fabricação**. (Programa Rio Rural. Manual Técnico; 26) Niterói: programa Rio Rural, 2010. 23p.

SALGADO, R.L.; COSTA, J.C.B.; JÚNIOR, C.A.C.; FERNÁNDEZ, M.; FREITAS, M.Q.; MANO, S.B. Efeitos da embalagem em atmosfera modificada sobre as alterações microbiológicas, químicas e sensoriais de pargo (*Pagrus pagrus*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.13, n.2, p.94-97, 2006.

SCHULZ, U.H.; LEUCHTENBERGER, C. Activity patterns of south American silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Brazilian Journal of Biology** (São Leopoldo, RS), n.66 (2 a), p.565-574, 2006.

SHAMA, S.; BRANDÃO, D.A.; VARGAS, A.C.; COSTA, M.M.; PEDROZO, A.F. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiá (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p.293-298, 2000.

SILVA, E.P.; BERGAMINI, A.M.M.; OLIVEIRA, M.A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil - 2005 a 2008. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.7, n.77, p.4-10, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.315p.

SORIA, M.A.; BUENO, D.J. Sensibilidade a diferentes antimicrobianos de *Salmonella typhimurium* isoladas de ovo de consumo humano. 2011. Disponível em:
<<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/sensibilidade-diferentes-antimicrobianos-salmonella-t670/165-p0.htm>> Acesso em: 23 nov. 2013.

SOUZA, C.O.; RAMOS, F.L.P.; MOTA, C.M.; SANTOS, L.V.S.; LOPES, M.L.
Resistência antimicrobiana de *Salmonella typhi* identificadas no estado do Pará, Brasil.
Revista Pan-Amazônica de Saúde, v.1, n.2, p.61-65, 2010.

SPICER, W.J.; **Bacteriologia, Micologia e Parasitologia clínicas um texto ilustrado em cores**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 224p.

STROHL, William A.; ROUSE, Harriet.; FISHER, Bruce. **Microbiologia ilustrada**.
Porto Alegre: Artmed, 2004. 531p.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C.; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; SOEIRO, M.L.T.;
RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de
doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do
Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n.1, p.44-48, 2010.

VIEIRA, Regine Helena Silva dos Fernandes. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004. 380p.