

COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DO PESCADO CONGELADO¹

Afonso Lopes MORAIS²
José de Arimatéa FREITAS³

RESUMO: Com o objetivo de avaliar diferenças nos resultados obtidos pela metodologia de recuperação de células injuriadas e a metodologia oficial rotineiramente aplicada na contagem de coliformes totais e coliformes fecais, foram submetidas às respectivas metodologias 30 amostras de pescado congelado, beneficiado em indústrias localizadas no Estado do Pará. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram valores diferentes com as metodologias empregadas, sendo que aqueles obtidos com a recuperação de células injuriadas foram significativamente superiores àqueles obtidos com a metodologia oficial rotineira, a qual não apresentou nenhum resultado de contagem de coliformes fecais diferente de $< 1,0 \times 10^1$ UFC / g est.; 13,33% das amostras apresentaram-se fora do padrão microbiológico para coliformes fecais, quando submetidas à metodologia de recuperação de células injuriadas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Recuperação de Células Injuriadas, Contagem de Coliformes Totais e Fecais, Condições Higiênico-Sanitárias de Pescado.

COMPARISON OF TWO METHODS TO DETERMINE SANITARY QUALITY OF FROZEN FISH PRODUCTS

ABSTRACT: 30 frozen fish products collected from local industry plants were submitted to surveillance analyses by the methods of repair of injured cells and enumeration of total and fecal coliforms. The injured cells repair technique showed the best results with UFC data statistically superior to the official methodology, which did not present any result different from $< 1,0 \times 10^1$ UFC / g. 13,33% of the samples analysed were out of microbiologic standard by the coliform enumeration technique as compared to the injured cells repair methodology.

INDEX TERMS: Repair of Injured Cells, Coliforms and Fecal Coliforms Enumeration, Hygienic and Sanitary Characteristics of Fish Products.

¹ Aprovado para publicação em 11.12.2000

Parte da Monografia apresentada pelo primeiro autor ao I Curso de Especialização em Inspeção de Produtos de Origem Animal da FCAP.

² Médico Veterinário, Técnico do Laboratório de Apoio Animal – LAPA (Belém-PA)/MAA-DFARA

³ Médico Veterinário, Dr., Professor Adjunto da FCAP.

1 INTRODUÇÃO

Em todas as regiões do mundo, o pescado faz parte, desde há muito, da dieta alimentar e representa, em alguns países, a principal fonte de proteínas de origem animal. Atualmente, um número cada vez maior de pessoas dá preferência a esse alimento como uma alternativa saudável à carne vermelha.

Neste contexto, o Estado do Pará destaca-se como produtor e exportador de pescado, sendo que os produtos de maior significância na exportação são representados por: "wholler fish", filé e posta de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), filé e posta de dourada (*Brachyplatystoma flavicans*), camarão rosa (*Penaeus subtilis*) e pargo (*Pagrus pagrus*) eviscerado.

Imediatamente após a captura, a microbiota do pescado apresenta-se restrita ao muco superficial, guelras e trato intestinal, com virtual ausência no tecido muscular. A intensidade e a variação da contaminação dependem de inúmeros fatores, entre os quais temperatura, grau de poluição das águas e repleção das vísceras (Leitão et al, 1988, 1994); mas, após a captura, devido ao manuseio, transporte e processamento, a microbiota do pescado pode sofrer sensíveis alterações, com a eventual introdução de patógenos de habitat não restrito ao ambiente aquático.

Para testar a inocuidade do pescado, o serviço de inspeção federal (Brasil, 1992) utiliza rotineiramente a enumeração de coliformes totais e coliformes fecais, germes indicadores da qualidade higiênica dispensada no manuseio, conservação, transporte e processamento do produto,

através da técnica de contagem, expressando o resultado em unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

Para Silva & Junqueira (1995), o grupo coliformes totais compreende bastonetes Gram negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35 °C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como, também, diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como por exemplo *Serratia* e *Aeromonas*.

Segundo Franco & Landgraf (1997), a definição do grupo coliforme fecal é a mesma de coliformes totais, porém restringindo-se aos membros capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, em 24 horas a 44,5 °C-45,5 °C. A presença desses microrganismos no alimento indica, geralmente, uma contaminação direta ou indireta de origem fecal, que pode ser interpretada como indicação da presença de outros microrganismos patógenos, que determinam risco à saúde pública (International Commission on Microbiological Specification for Foods, 1985; Silva & Junqueira, 1995; Franco & Landgraf, 1997).

Sabe-se que os produtos pesqueiros são importantes disseminadores de agentes patogênicos, responsáveis por enfermidades de veiculação hídrica (Shimomura & Muller, 1982; Leitão et al, 1988). Logo, o controle de microrganismos patogênicos em pescado é uma crescente exigência do mercado, para garantia da qualidade de alimentos industrializados.

Conseqüentemente, as técnicas utilizadas para enumeração devem ser capazes de determinar inclusive células microbianas que apresentam lesões fisiológicas, estruturais ou metabólicas decorrentes de processo de beneficiamento, as quais nas técnicas rotineiras de análise microbiológica não são detectadas, mas que podem se multiplicar de modo suficiente no alimento, a ponto de apresentar no mesmo um número significativo de unidades formadoras de colônias (UFC) que o torna inaceitável para consumo (American Public Health Association, 1992; Estados Unidos, 1995).

Assim, essa falsa inocuidade do alimento significa um risco potencial quando é ingerido por crianças, idosos, debilitados ou imunodeficientes, uma vez que essa flora microbiana injuriada pode encontrar condições ideais de multiplicação no alimento e no organismo do consumidor, chegando a níveis capazes de causar, desde leves indisposições, até graves intoxicações.

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar os resultados da contagem de coliformes totais e coliformes fecais em pescado beneficiado por indústrias sob inspeção federal, com emprego de duas diferentes metodologias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 30 amostras de pescado, compreendendo seis de camarão rosa, quatro de "wholler fish" de piramutaba, cinco de filé de piramutaba, quatro de posta de piramutaba, tres de filé de dourada, cinco de posta de dourada e três de pargo, oriundas de indústrias

subordinadas ao serviço de inspeção federal, conforme o cronograma de fiscalização do respectivo serviço de inspeção junto às mesmas.

As amostras coletadas eram transportadas, em caixas isotérmicas contendo gelo, até o Laboratório de Apoio Animal (LAPA-Belém), onde eram submetidas a sorteio para as análises microbiológicas realizadas.

As amostras foram submetidas às análises microbiológicas de contagem de coliformes totais e contagem de coliformes fecais, segundo as técnicas oficiais adotadas pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (Brasil, 1992) e a técnica de recuperação de células injuriadas (American Public Health Association, 1992; International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1985).

No emprego das técnicas oficiais foi utilizado como meio de cultura seletivo o violet red bile agar (VRBA), semeando-se as diluições em profundidade e em dupla camada.

No emprego da técnica de recuperação de células injuriadas foi utilizado, como meio de cultura para recuperação, o trypticase soy agar (TSA), com semeio em profundidade, e como meio de cultura seletivo, o VRBA em uma segunda camada.

Na execução das análises microbiológicas respectivas foram empregadas como diluições de cada amostra dos produtos estudados as diluições decimais sucessivas de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .

Os resultados obtidos foram submetidos ao tratamento estatístico, empregando-se o teste "t".

3 RESULTADOS

Os resultados obtidos neste estudo estão apresentados nas Tabelas de número 1 a 6.

Na Tabela 1, observa-se que as contagens para coliformes totais em trypticase soy agar/violet red bile agar (TSA/VRBA) são superiores às contagens em violet red bile agar (VRBA), inclusive para aquelas amostras com contagens diferentes de $< 1,0 \times 10^1$ UFC/g est. em VRBA.

Quatorze amostras (70%), das quais três de filé de piramutaba, duas de "wholler fish" de piramutaba, duas de posta de dourada, duas de filé de dourada, quatro de camarão rosa e uma de pargo eviscerado, que deram resultado estimativo, $< 1,0 \times 10^1$ UFC/g est., em VRBA, para coliformes totais, quando inoculadas em TSA/VRBA demonstraram crescimento, sendo que as porcentagens máximas de recuperação, 100 %, ocorreram em posta e filé de dourada e camarão rosa (Tabela 2).

Vinte e quatro amostras (80%) demonstraram resultados consideravelmente superiores para contagem de coliformes totais, quando semeadas em TSA/VRBA. Filé de piramutaba, posta e filé de dourada e camarão rosa foram os produtos que mostraram a maior porcentagem de recuperação, 100%, enquanto que o menor índice de recuperação, 33,33%, ocorreu no pargo eviscerado (Tabela 2).

Considerando-se as médias de contagem de coliformes totais com o emprego das duas técnicas, observa-se que

a menor média obtida no semeio em TSA/VRBA foi superior, em pelo menos 155 vezes, à maior média obtida no semeio em VRBA, demonstrando que as contagens em TSA/VRBA são, portanto, superiores (Tabela 3).

Os resultados de contagem de coliformes, quando distribuídas por intervalo de classe (Tabela 4), mostram que o maior percentual em VRBA encontra-se na classe 0 – 10 UFC/g e em TSA/VRBA na classe 10^3 – 10^4 UFC/g.

Todas as amostras semeadas em VRBA para contagem de coliformes fecais não apresentaram crescimento (Tabela 5); no entanto, quatro delas (13,33 %) foram recuperadas quando semeadas em TSA/VRBA, com porcentagens de recuperação que variaram de 20% a 33% (Tabela 5 e 6) e resultados de contagem entre $2,0 \times 10^3$ UFC/g e $3,6 \times 10^4$ UFC/g (Tabela 5). Constatou-se, assim, que as mesmas superaram o padrão, 10^2 UFC/g, fixado pela Portaria 451 (Brasil, 1997), graças ao emprego da técnica de recuperação, o que não seria possível com a técnica oficial empregada (Brasil, 1992).

A análise estatística demonstrou que a técnica de recuperação de células injuriadas apresentou resultados significativos ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$), para os produtos "wholler fish" de piramutaba e pargo eviscerado, em se tratando de coliformes totais e para filé de piramutaba, camarão rosa e posta de dourada, para coliformes fecais. Os resultados não foram significativos, em termos de coliformes fecais, para os produtos posta e "wholler fish" de piramutaba, pargo eviscerado e filé de dourada.

Tabela 1 - Contagem de coliformes totais em pescado, segundo o tipo de produto e o meio empregado. Belém, 2000.

Produto	Número da amostra	Contagem em VRBA (UFC/g)	Contagem em TSA/VRBA (UFC/g)
Piramutaba em posta	1	<1,0 x 10 ¹ (0)	< 1,0 x 10 ¹ (0)
	2	<1,0 x 10 ¹ (0)	< 1,0 x 10 ¹ (0)
	3	2,0 x 10 ³ (2000)	7,4 x 10 ³ (7400)
	4	2,0 x 10 ³ (2000)	6,2 x 10 ³ (6200)
Piramutaba em "wholler fish"	5	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	6	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	7	<1,0 x 10 ¹ (0)	1,5 x 10 ³ (1500)
	8	<1,0 x 10 ¹ (0)	4,7 x 10 ³ (4700)
Piramutaba em filé	9	<1,0 x 10 ¹ (0)	6,0 x 10 ³ (6000)
	10	<1,0 x 10 ¹ (0)	4,1 x 10 ³ (4100)
	11	<1,0 x 10 ¹ (0)	3,5 x 10 ³ (3500)
	12	5,0 x 10 ² (500)	4,4 x 10 ³ (4400)
	13	1,3 x 10 ² (130)	5,5 x 10 ³ (5500)
Pargo eviscerado	14	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	15	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	16	<1,0 x 10 ¹ (0)	6,6 x 10 ³ (6600)
Camarão rosa	17	<1,0 x 10 ¹ (0)	5,6 x 10 ³ (5600)
	18	<1,0 x 10 ¹ (0)	3,4 x 10 ³ (3400)
	19	<1,0 x 10 ¹ (0)	4,3 x 10 ³ (4300)
	20	<1,0 x 10 ¹ (0)	5,3 x 10 ⁴ (53000)
	21	1,6 x 10 ² (160)	6,5 x 10 ⁴ (65000)
	22	1,1 x 10 ³ (1100)	1,5 x 10 ⁴ (15000)
Dourada em posta	23	<1,0 x 10 ¹ (0)	1,9 x 10 ³ (1900)
	24	<1,0 x 10 ¹ (0)	2,2 x 10 ³ (2200)
	25	1,1 x 10 ³ (1100)	3,6 x 10 ⁴ (36000)
	26	1,0 x 10 ³ (1000)	6,9 x 10 ³ (6900)
	27	1,0 x 10 ³ (1000)	1,1 x 10 ⁴ (11000)
Dourada em filé	28	<1,0 x 10 ¹ (0)	2,1 x 10 ³ (2100)
	29	<1,0 x 10 ¹ (0)	2,4 x 10 ³ (2400)
	30	1,1 x 10 ³ (1100)	2,5 x 10 ⁵ (250000)

Nota: Para efeito de análise estatística os resultados de <1,0x10¹ UFC/g est. foram considerados como zero.

Tabela 2 - Contagem de coliformes, segundo o produto, as percentagens e quantidades de amostras recuperadas em trypticase soy agar/violet red bile agar (TSA/VRBA). Belém, 2000.

Produto	Número de amostras analisadas	Amostras recuperadas em TSA/VRBA	%	Número de Amostras recuperadas em TSA/VRBA para amostras com leitura de $<1,0 \times 10^1$ est. em VRBA	%
Piramutaba em posta	4	2	50,00	-	-
Piramutaba em filé	5	5	100,00	3	60,00
Piramutaba em "wholler fish"	4	2	50,00	2	50,00
Dourada em posta	5	5	100,00	2	100,00
Dourada em filé	3	3	100,00	2	100,00
Camarão rosa	6	6	100,00	4	100,00
Pargo eviscerado	3	1	33,33	1	33,33

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

Tabela 3 - Médias de contagens de coliformes, segundo o produto, meio empregado e a quantidade de amostras recuperadas. Belém, 2000.

Produto	Número de amostras analisadas	Contagem (UFC/g)	
		VRBA	TSA/VRBA
Piramutaba em posta	4	1000	3400
Piramutaba em filé	5	126	4700
Piramutaba em wholler fish	4	< 10	1550
Dourada em posta	5	620	11600
Dourada em filé	3	366,6	84833,3
Camarão rosa	6	210	24383,3
Pargo eviscerado	3	< 10	2200

Tabela 4 - Classes de contagens de coliformes totais, segundo o meio empregado, percentagem e quantidade de amostras recuperadas. Belém, 2000.

Classes de contagem	Meio de cultivo VRBA		Meio de cultivo TSA/VRBA	
	Número de amostras	%	Número de amostras	%
Até — 10^1	20	66,6	6	20
10^1 — 10^2	-	-	-	-
10^2 — 10^3	5	16,6	18	60
10^3 — 10^4	5	16,6	5	16,6
10^4 — 10^5	-	-	-	-
10^5 — 10^6	-	-	1	3,3

Nota: Sinal convencional utilizado:

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento

Tabela 5 - Contagem de coliformes fecais em pescado, segundo o tipo de produto, meio empregado e os resultados obtidos. Belém, 2000.

Produto	Número da amostra	Contagem em VRBA (UFC/g)	Contagem em TSA/VRBA (UFC/g)
Piramutaba em posta	1	<1,0 x 10 ¹ (0)	< 1,0 x 10 ¹ (0)
	2	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	3	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	4	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
Piramutaba em "wholler fish"	5	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	6	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	7	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	8	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
Piramutaba em filé	9	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	10	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	11	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	12	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	13	<1,0 x 10 ¹ (0)	2,2 x 10 ³ (2200)
Pargo eviscerado	14	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	15	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	16	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
Camarão rosa	17	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	18	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	19	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	20	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	21	<1,0 x 10 ¹ (0)	1,0 x 10 ⁴ (10000)
	22	<1,0 x 10 ¹ (0)	2,1 x 10 ⁴ (21000)
Dourada em posta	23	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	24	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	25	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	26	<1,0 x 10 ¹ (0)	3,6 x 10 ⁴ (36000)
	27	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
Dourada em filé	28	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	29	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)
	30	<1,0 x 10 ¹ (0)	<1,0 x 10 ¹ (0)

Nota: Para efeitos de análise estatística os resultados de < 1,0 x 10¹ UFC/g est. foram considerados como zero.

Tabela 6 - Recuperação de coliformes fecais em trypticase soy agar (TSA), segundo o produto, quantidade e percentagem de amostras. Belém, 2000.

Produto	Número de amostras analisadas	Amostras recuperadas em TSA/VRBA	%
Piramutaba em filé	5	1	20,00
Dourada em posta	5	1	20,00
Camarão rosa	6	2	33,33

4 DISCUSSÃO

Comparando-se os resultados da contagem de coliformes totais em TSA/VRBA, com os de outros autores, conclui-se que Hoffman et al (1995) obtiveram resultados inferiores em filé de pescada branca (*Cynoscion virescens*), enquanto que Dams et al (1996), ao contrário, obtiveram valores superiores em filé e pescadinha (*Cynoscion leiarchus*) inteira, em ambos os trabalhos com a técnica do número mais provável.

As médias de contagem de coliformes totais em TSA/VRBA (Tabela 3) também foram superiores aos resultados obtidos por Ribeiro et al (1984 a, b) em pele e músculo de sardinha (*Sardinella aurita*), com a mesma técnica recomendada pelo órgão oficial (Brasil, 1992), mesmo que se considere as condições do experimento realizado por esses autores, que consistiram na análise dos produtos imediatamente após a pesca e no desembarque.

Na contagem de coliformes fecais em TSA/VRBA, 13,33% das amostras de piramutaba em filé, dourada em posta e camarão rosa (Tabela 6) apresentaram contagens superiores a 100UFC/g, o que mostra que a técnica oficial empregada rotineiramente não foi capaz de detectar a presença de coliformes fecais nas amostras analisadas; foi o que ocorreu, provavelmente, nos trabalhos de Hoffman et al (1995), Silva & Divino (1995) e Dams et al (1996), que não constataram a presença de coliformes fecais, respectivamente, em amostras de filé de pescada branca, pirarucu (*Arapaima gigas*) e em filé e pescadinha inteira, ao empregarem a técnica do número mais provável.

Do mesmo modo, os resultados obtidos por Aquino et al (1996), 73,4% de amostras de pescado com coliformes fecais, obtidos com a mesma metodologia empregada pelos autores citados acima, provavelmente teriam sido mais elevados se tivessem empregado a técnica de recuperação de células injuriadas.

Diversos autores, entre os quais Muratori (1991), Muratori et al (1994), Soares & Muratori (1993) e Araújo (1997), obtiveram diferentes percentuais de amostras, respectivamente, 20,5%, 20%, 53,3% e 55%, excedendo os padrões regulamentares para coliformes fecais, isto é, 100/g (Brasil, 1997), com o emprego da técnica do número mais provável.

Sabe-se que essa técnica é recomendada para produtos com baixa concentração de microrganismos, portanto, que sofreram ação de determinados tratamentos higiênicos (American Public Health Association of Foods, 1992; International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1985); os resultados desses autores teriam sido, provavelmente, superiores, se tivesse sido empregada por eles a metodologia de recuperação de células injuriadas.

Comparando-se os resultados obtidos neste trabalho com aqueles determinados por Speck et al (1975), Ray (1979) e Hackney et al (1979), que também empregaram a técnica de recuperação de coliformes totais e fecais em sorvete de creme de leite comercial e diversos produtos marinhos, observa-se que, no geral, esses autores obtiveram taxas de recuperação semelhantes às alcançadas no presente estudo. No entanto, quando se considera,

isoladamente, o produto camarão, observa-se que os resultados obtidos nesta pesquisa para coliformes fecais (Tabela 6) foram superiores aos determinados por Hackney et al (1979) e Ray (1979), respectivamente, 22,4% e 28,16%.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com a técnica de recuperação de células injuriadas foram superiores àqueles determinados com a metodologia oficial rotineiramente adotada. Por outro lado, a técnica de recuperação de células injuriadas permitiu detectar 13,33% de amostras excedendo o padrão microbiológico para contagem de coliformes fecais. Finalmente, a diferença entre os resultados obtidos com o emprego das duas técnicas demonstra que a técnica oficial utilizada na rotina para a enumeração de coliformes totais e coliformes fecais não é capaz de promover recuperação de células que sofreram lesões fisiológicas, estruturais ou metabólicas; conseqüentemente, o resultado obtido pode não ser significativo para questionar a qualidade higiênico-sanitária do produto e a falsa inocuidade resultante, significando, assim, um risco potencial para o consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3. ed. Washington, DC: Vanderzant & Don F. Splittsoesser, 1992. 1219p.

AQUINO, J.S.; VASCONCELOS, J.C.; INHAMUNS, A.J., et al. Estudo microbiológico de pescado congelado comercializado em Manaus – AM. *Boletim CEPPA*, Curitiba, v. 14, n.1, p. 1-10, jan./jun. 1996.

ARAÚJO, R.O. *Avaliação bacteriológica de piramutaba (Brachyplatystoma vaillantii) comercializada no município de Belém-Pará*. 1997. 23p. Monografia (Especialização) – FCAP, Belém, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. *Métodos de análise microbiológica para alimentos*. 2.ed. rev. Brasília, 1992. 133p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997, aprova regulamento técnico e princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]*, Brasília, DF, n.182, 22 set. 1997. Seção 1, p. 21005-21012.

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

ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration. *Bacteriological analytical manual*. 8. ed. Gaithersburg: AOAC International, 1995.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1997. 182p.

HACKNEY, C.B.; RAY, B.; SPECK, M.L. Repair detection procedure for enumeration of fecal coliforms and enterococci from seafoods and marine environments. *Applied and Environmental Microbiology*, v.37, n.5, p.947-953, May, 1979.

HOFFMANN, F.L.; CRUZ, C.H.G.; VINTURIM, T.M. Levantamento preliminar da qualidade higiênico-sanitária de filés de pescada branca (*Microdon ancylodon*) comercializados na cidade de São José do Rio Preto – SP. *Boletim CEPPA*, Curitiba, v.13, n.1, p.13-20, jan./jun. 1995.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microorganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico*, 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1985. v. 1.

JAY, J.M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. 3.ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

LEITÃO, M.F.F.; HAGLER, L.C.S.M.; HAGLER, A.N.; et al. *Tratado de microbiologia: microbiologia de alimentos, microbiologia sanitária, microbiologia industrial*. São Paulo: Manole, 1988. v. 1.

MURATORI, M.C.S. *Avaliação higiênico-sanitária de Curimatus ciliatus "in_natura" e salgado artesanalmente em Teresina, PI*. 1991. 116p. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal Fluminense, Niteroi, 1991.

_____; PEREIRA, M.M.G.; SOARES, L.R. Pesquisa de bactérias potencialmente patogênicas em pescado comercializado no mercado central de Teresina – PI. *Boletim CEPPA*, Curitiba, v.12, n.1, p.33-38, jan./jun. 1994.

RAY, B. Methods to detect stressed microorganisms. *Journal of Food Protection*, v.42, n.4, p.346-355, Apr., 1979.

RIBEIRO, P.; RICCETTI, R.V.; PANETTA, J.C. Aspectos bacteriológicos da sardinha (*Sardinella aurita*), após captura no litoral santista, SP, 1984. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20. 1986. Cuiabá. *Anais...* Cuiabá: SBMV, 1986. p.276.

RIBEIRO, P.; RICCETTI, R.V.; PANETTA, J.C.. Aspectos bacteriológicos da sardinha (*Sardinella aurita*), descarregada no terminal pesqueiro de Santos, SP, 1984. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20., 1986, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá: SBMV, 1986. p.277.

SHIMOMURA, K.; MÜLLER, E.E. Condições bacteriológicas da sardinha (*Sardinella aurita*) "in natura" consumida na cidade de Londrina, Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 18., 1982, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: SBMV/SOMEVESC, 1982. p.406.

SILVA, E.N.R.; DIVINO, N.F.A. *Qualidade bacteriológica do pirarucú (Arapaima Gigas) salgado comercializado em feiras livres na cidade de Belém-PA*. Belém: Universidade Federal do Pará, 1995. 20p.

_____; JUNQUEIRA, V.C.A. *Métodos de análise microbiológica de alimentos*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1995 (Manual Técnico, n. 14).

SOARES, L.R.; MURATORI, M.C. Avaliação microbiológica da "branquinha" comercializada no mercado central de Teresina – PI. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 8., 1993, Porto Alegre. *Resumos...* Porto Alegre, 1993.

SPECK, M.L.; RAY, B.; READ Jr, R.B. Repair and enumeration of injured coliforms by a plating procedure. *Applied Microbiology*, v.14, n.14, p.549-550, Apr. 1975.