

Staphylococcus* coagulase-positiva e enterobactérias em camarão *Litopenaeus vannamei* comercializado *in natura

Coagulase-positive staphylococci and enterobacteria in fresh shrimp *Litopenaeus vannamei*

RIALA6/1414

Renata Albuquerque COSTA^{1*}, Bruno Átila Batista MOREIRA¹, Fátima Cristiane Teles de CARVALHO², Francisca Gleire Rodrigues MENEZES¹, Camila Magalhães SILVA¹, Regine Helena Silva dos Fernandes VIEIRA²

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará (UFC), Avenida Abolição 3207. CEP 60165-081. Fortaleza-CE. Fone: (85) 3366-7027. E-mail: renata.albuq@gmail.com

² Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) - UFC.

Recebido: 15.07.2011 - Aceito para publicação: 05.10.2011

RESUMO

A qualidade microbiológica de camarões (*Litopenaeus vannamei*) comercializados *in natura* em Fortaleza (CE) foi investigada por meio de quantificação de *Staphylococcus* coagulase-positiva (Sph CP), coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) e também pela detecção de *Salmonella* e isolamento de *Escherichia coli*. Das 24 amostras adquiridas no comércio varejista, quatro (16,7%) apresentaram índices de Sph CP acima de $10^3/g$. Não foi detectada *Salmonella* nas amostras analisadas. O número de amostras positivas para CT, CTT e *E. coli* foi, respectivamente, de 23 (95,8%), 13 (54,2%) e 6 (25%). De acordo com a legislação vigente no Brasil, as quatro amostras com contagens de Sph CP $> 10^3/g$ são consideradas impróprias para o consumo. Ademais, chama-se a atenção para a ocorrência de *E. coli* em 25% das amostras analisadas, uma vez que essa bactéria é indicadora de contaminação fecal.

Palavras-chave. estafilococos, coliformes, *Salmonella*, camarão.

ABSTRACT

The microbiological quality of fresh shrimp (*Litopenaeus vannamei*) commercialized in Fortaleza (CE) was investigated by quantifying the coagulase-positive staphylococci (CP Sph), total coliform (TC) and thermotolerant coliform (TTC). Besides, detection of *Salmonella* and *Escherichia coli* isolation techniques were carried out. Twenty-four samples purchased at retail were analyzed. Four (16.7%) samples showed CP Sph counts above of $10^3/g$. No *Salmonella* was isolated from the analyzed samples. The rates of positive samples for TC, TTC and *E. coli* were 95.8%, 54.2% and 25.0%, respectively. According to the Brazilian legislation in force, those four Sph CP-positive samples with counts $> 10^3/g$ should be considered unsuitable for human consumption. The other fact that called attention was the *E. coli* isolation from 25% of analyzed samples, which is an indicative of fecal contamination.

Keywords. Staphylococci, coliforms, *Salmonella*, shrimp.

INTRODUÇÃO

Os crustáceos são reconhecidos por possuírem alta perecibilidade, podendo representar riscos à saúde do consumidor quando sua qualidade química e microbiológica está comprometida. A fim de garantir as condições apropriadas para o consumo humano, o camarão deve ser submetido a tratamentos adequados relacionados à sua manutenção em baixas temperaturas e aos cuidados higiênico-sanitários rigorosos durante a sua manipulação em todas as etapas da cadeia produtiva¹.

Dentre os micro-organismos utilizados como indicadores de qualidade sanitária de camarão “in natura”, citam-se as bactérias pertencentes ao grupo dos *Staphylococcus* coagulase-positiva (Sph CP) e ao gênero *Salmonella*².

Os estafilococos são encontrados com relativa frequência na microbiota normal do corpo humano e estão associados aos casos de intoxicações alimentares que decorrem da ingestão de enterotoxinas pré-formadas³. As espécies *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* e *S. hyicus* são consideradas CP e patógenos em potencial⁴. De acordo com Simon e Sanjeev⁵, os alimentos de origem marinha, por possuírem constituição química caracterizada pelo elevado teor de proteínas, podem ser colonizados por *S. aureus*.

As bactérias do gênero *Salmonella* são classificadas como patógenos entéricos responsáveis por surtos associados ao consumo de organismos aquáticos, que podem provocar febre, vômito e diarreia⁶. Considerando que o habitat desses micro-organismos é o intestino de animais homeotermos, a sua presença em camarão tem relação estreita com contaminação de origem fecal⁷.

Além dos micro-organismos preconizados pela legislação brasileira como padrões indicativos de qualidade, o grupo coliforme também se destaca como indicador de contaminação fecal em pescados. Pertencentes a esse grupo, os gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Escherichia* são originários do trato intestinal de animais endotérmicos, mas podem ocorrer no solo e em vegetais⁸. *E. coli* pode ser diferenciada dos demais coliformes por produzir β -glucuronidase e possuir como habitat primário o intestino de mamíferos e aves⁹.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*), comercializados “in natura”

em Fortaleza (CE), a partir da enumeração de Sph CP e coliformes, além da pesquisa de *Salmonella* e identificação de *E. coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram adquiridas 12 amostras de camarão “in natura” em dois estabelecimentos do comércio varejista de Fortaleza (CE), perfazendo um total de 24 amostras analisadas, no período de abril a novembro de 2008. Cada amostra foi constituída por dez espécimes inteiros, com tamanho comercial médio (11-14 cm de comprimento e 30-34 g de peso) e comercializados frescos em embalagens plásticas, portanto, sem contato direto com o gelo. O transporte até o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LABOMAR-UFC) foi feito em sacos de polietileno esterilizados acondicionados em recipiente isotérmico. O intervalo entre a aquisição das amostras e o início das análises bacteriológicas não excedeu a duas horas.

Preparação das amostras

Para realização das quantificações de *Staphylococcus* coagulase-positiva e coliformes, foram feitas diluições decimais seriadas (10^{-1} a 10^{-4}) na proporção de 1:9. A diluição de 10^{-1} foi obtida a partir da homogeneização de 25 g de cada amostra em 225 mL de salina a 0,85%. Desse homogenato, foi tomado um mililitro e diluído em 9 mL de salina a 0,85%, obtendo-se a diluição de 10^{-2} , a partir da qual seguiram-se as demais até a 10^{-4} .

Quantificação de *Staphylococcus* coagulase-positivo

Para a enumeração de *Staphylococcus* coagulase-positiva (Sph CP), utilizou-se a técnica de semeadura em superfície em Ágar Baird-Paker (BP - Difco) enriquecido com solução de gema de ovo a 50% e telurito de potássio a 1%, conforme detalhamento em Bennett e Lancette¹⁰. Colônias crescidas no meio BP com características típicas de Sph CP (negras e com halo) foram isoladas em caldo Infusão Cérebro Coração (BHI- Difco) e submetidas às provas de catalase e coagulase. O cálculo de CPP foi feito pela multiplicação das contagens de colônias de Sph CP pela diluição correspondente, sendo expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama.

Quantificação de Coliformes

A quantificação de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) foi realizada de acordo com

Tabela 1. Quantificação de *Staphylococcus* coagulase-positiva (Sph CP) e coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) em amostras de camarão *Litopenaeus vannamei* comercializado “in natura” em Fortaleza-CE

Amostras	Ponto 1			Ponto 2		
	Sph CP (UFC/g)	CT (NMP/g)	CTT (NMT/g)	Sph CP (UFC/g)	CT (NMP/g)	CTT (NMT/g)
1	< 10	930	43	63 x 10 ³	430	93
2	43 x 10 ⁴	210	< 3,0	< 10	10 x 10 ³	10 x 10 ³
3	< 10	15 x 10 ²	15 x 10 ²	< 10	10 x 10 ²	10 x 10 ²
4	< 10	240	23	22 x 10 ⁴	430	3,6
5	< 10	150	150	< 10	930	930
6	< 10	43	43	< 10	240	93
7	< 10	43	< 3,0	< 10	< 3,0	< 3,0
8	< 10	150	< 3,0	44 x 10 ²	10 x 10 ²	< 3,0
9	< 10	150	< 3,0	< 10	11 x 10 ²	< 3,0
10	< 10	43	3,6	< 10	43	< 3,0
11	< 10	43	< 3,0	< 10	430	7,4
12	< 10	23	< 3,0	< 10	430	< 3,0
Número de amostras acima dos limites propostos pela legislação vigente (2001)						
	1	-	-	3	-	-

*UFC= Unidades Formadoras de Colônia; Sph: *Staphylococcus*; CP= Coagulase-Positiva; NMP= Número Mais Provável; CT= Coliformes Totais; CTT= Coliformes Termotolerantes; -= limite não estabelecido pela legislação vigente no Brasil.

técnica de fermentação em tubos múltiplos¹¹. Para as provas de confirmação e detecção de CT e CTT foram utilizados os meios de Caldo Bile Verde Brilhante e Caldo EC, com incubação a 35 °C e 45 °C por 48 horas, respectivamente. O cálculo do Número Mais Provável (NMP) de CT e CTT foi feito a partir das recomendações de Blodgett¹² e expresso em NMP/g.

Isolamento e Identificação Fenotípica de *Escherichia coli*

Aliquotas dos tubos positivos no Caldo EC foram semeadas em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB-Difco), com incubação a 35 °C por 24 horas. Após o período de incubação, colônias com centro negro e brilho verde metálico foram isoladas em Agar Tripton Soja (TSA-Difco) e submetidas à caracterização bioquímica e morfotintorial. Das 24 amostras de camarão analisadas, foram isoladas 72 cepas para identificação fenotípica a partir das provas de produção de indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer (detecção de acetilmetilcarbinol), utilização de citrato, motilidade, produção de H₂S e fermentação de lactose¹¹. Para caracterização morfotintorial, todas as cepas foram submetidas à coloração de Gram¹³.

Detecção de *Salmonella*

Para determinação de presença/ausência de *Salmonella*, foram tomados, assepticamente, 25 g de cada amostra e inoculados em Caldo Lactosado por 24 horas a 35 °C. Após o período de incubação, seguiram-se o enriquecimento seletivo em Caldo Tetracionato (Difco) e Rappaport (Difco) e plaqueamento seletivo em Ágar Hektoen (Difco) e MacConkey (Difco)¹⁴. As colônias com características morfológicas compatíveis com *Salmonella* foram submetidas a triagens em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI-Difco), Ágar Lisina Ferro (LIA-Difco) e Ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM-Difco), além de caracterização sorológica com antissoró somático polivalente (poli O:H).

RESULTADOS

Das 24 amostras de camarão analisadas, quatro (16,7%) apresentaram índices de Sph CP acima do preconizado pela legislação supracitada². Quando comparados os locais de amostragem, o ponto 2 foi o que mais exibiu amostras (n=3) com níveis de Sph CP superiores a 1.000 UFC/g (Tabela 1).

Com relação à estimativa de coliformes, 23 (95,8%) amostras apresentaram variação de 23 a 10 x 10³ nos valores de NMP de CT/g. Foi verificada uma oscilação no NMP de CTT/g de 3,6 a 10 x 10³ em 13 (54,2%) amostras (Tabela 1). Quando comparados os pontos 1 e 2, ambos apresentaram resultados semelhantes no que se refere ao número de amostras contaminadas por enterobactérias (Tabela 1).

Na presente pesquisa, foi detectado CTT em 13 amostras (54,2%) e *E. coli* em 6 (25%) unidades amostrais analisadas. Em nenhuma unidade amostral foi detectada *Salmonella*.

Dos 72 isolados do meio EMB, apenas 14 foram confirmados como *E. coli* em 6 das 13 amostras que apresentaram índices de NMP de CTT/g > 3.

DISCUSSÃO

Os padrões microbiológicos sanitários de alimentos são regulados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na Resolução RDC N° 12 de 2 de janeiro de 2001². De acordo com essa resolução, crustáceos *in natura* resfriados ou congelados e não consumidos crus devem possuir um limite máximo de 10³ Sph CP/g e ausência de *Salmonella* spp. em 25 g para serem considerados próprios para o consumo humano.

Nascimento et al.¹⁵ pesquisaram a qualidade bacteriológica de 30 amostras de camarões frescos comercializados em São Luís (MA) e obtiveram resultados com ordem de grandeza superior ao do presente estudo, no que concerne ao número de amostras com cargas de *Staphylococcus* em desconformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos. Os autores relataram que 40% das amostras analisadas possuíam índices de Sph CP acima de 10^3 UFC/g e relacionaram esse dado às condições inadequadas de manipulação e de tempo/temperatura de exposição do produto.

Ainda nesse contexto, a detecção de Sph CP em camarões comercializados *in natura* no Brasil já foi reportada por Ayulo et al.¹⁶ e Vieira et al.¹⁷, que relataram, entre outras conclusões, um possível despreparo por parte dos manipuladores de alimentos como uma das principais causas da ocorrência desse grupo bacteriano no crustáceo avaliado. Do mesmo modo, Dams et al.¹⁸ afirmam que a melhoria da qualidade do pescado depende, dentre outros fatores, de práticas adequadas de higiene por parte dos manipuladores, além da manutenção de utensílios limpos e sanitizados.

Apesar do elevado número de amostras (n=20) com contagens baixas de Sph CP, chama-se a atenção para a possibilidade de cepas enterotoxigênicas em unidades amostrais com índices aquém do permitido pela legislação. Cunha Neto et al.¹⁹ isolaram Sph CP enterotoxigênico de uma amostra de camarão *in natura* que apresentou contagem de 400 UFC/g da supracitada bactéria. De acordo com os autores, alimentos manipulados são potencialmente capazes de causar intoxicação por *Staphylococcus* e os manipuladores constituem um importante veículo de contaminação por esse gênero bacteriano.

Mesmo não havendo limites para carga de coliformes em pescado *in natura* não consumidos crus, é sabido que a presença desse grupo bacteriano em alimentos pode ser indicativa de contaminação de origem fecal²⁰. Álvares et al.²¹ em pesquisa sobre a qualidade microbiológica de pescado comercializado em São Paulo revelaram dados concordantes com os do presente estudo. Os autores detectaram uma contaminação por CT variando de 3,6 a >1.100 NMP/g e destacaram que apesar de não haver índices de CT estabelecidos pela legislação brasileira, a ocorrência dessas bactérias em alimento merece destaque, uma vez que não deixa de estar relacionada à qualidade higiênico-sanitária do produto.

Reis et al.²² quantificaram coliformes em camarões dulcícolas e encontraram índices de CT semelhantes aos

do presente estudo (<3 e >1.100 NMP/g), entretanto, os valores de CTT foram inferiores (<3 e 460 NMP/g). Por outro lado, Kirschnik e Viegas²³ obtiveram índices de NMP de CT/g inferiores aos da presente pesquisa, além de não terem detectado CTT quando do estudo das condições bacteriológicas do camarão *in natura* *Macrobrachium rosenbergii* acondicionado em gelo.

Citam-se diferentes fontes potenciais de contaminação fecal em pescados, que incluem alteração da qualidade bacteriológica do local de captura²⁴, acondicionamento inadequado nos barcos pesqueiros²⁵, manipulação inadequada²⁶, utensílios e equipamentos²⁷ e estocagem em contato direto com gelo contaminado²⁸.

Parente et al.²⁹ investigaram a ocorrência de bactérias entéricas no camarão *L. vannamei* cultivado em duas fazendas do Ceará. Os autores verificaram CTT em camarões de ambas as fazendas, detectando uma oscilação de <3 a 29×10^3 NMP/g. Considerando que a espécie *L. vannamei* é exótica no Brasil e que a sua oferta no comércio varejista pode advir da produção local de fazendas de carcinicultura, a presença de coliformes em peneídeos cultivados reflete o ambiente de onde ele provém.

Kumar et al.³⁰, em pesquisa sobre a prevalência de *E. coli* em alimentos de origem marinha na Índia, relataram a ocorrência de CTT e *E. coli* em 100% e 15% das amostras de camarões comercializados *in natura*, respectivamente. De acordo com os autores, a *E. coli* faz parte da microbiota do trato intestinal de animais homeotermos e a sua presença em pescados marinhos é indicativa de contaminação fecal.

O número baixo de isolados confirmados como *E. coli* (n=14; 19,4%) pode ser decorrente do método empregado para quantificação desse grupo bacteriano. Raghubeer e Matches³¹ demonstraram que *E. coli* O157:H7 pode não se multiplicar em temperaturas normalmente utilizadas em procedimentos de enumeração de *E. coli* e outros coliformes fecais. Ainda, segundo os autores, o sorotipo O157:H7 multiplica-se bem na faixa de temperatura característica de coliformes não fecais, sendo possível que esta *E. coli* patogênica não seja detectada na triagem usual de CTT.

A ausência de *Salmonella* nas amostras analisadas é indicativa de qualidade bacteriológica satisfatória e classifica as unidades amostrais como próprias para o consumo². Phan et al.³² reportaram contaminação por *Salmonella* em 24,5% de amostras de camarão obtidas no comércio varejista do Vietnã, com predominância dos sorovars *S. Weltevreden*, *S. Tennessee* e *S. Dessau*.

Wan Norhana et al.³³ afirmaram que geralmente a prevalência de *Salmonella* é mais acentuada em camarões frescos oriundos do varejo do que aqueles obtidos em plantas de processamento, posto que o controle da temperatura e da contaminação cruzada tende a ser mais rigoroso na indústria.

Considerando os padrões vigentes no Brasil (Sph CP e *Salmonella*), apenas quatro amostras de camarão podem ser consideradas impróprias para o consumo. Entretanto, a ocorrência de coliformes e o isolamento de *E. coli* sustentam a conclusão de que um percentual das amostras foi exposto a alguma fonte de contaminação fecal e tiveram, portanto, sua qualidade bacteriológica comprometida. Para ser considerada segura, sob o ponto de vista microbiológico, a comercialização de pescado *in natura* deve obedecer a rigorosas práticas higiênico-sanitárias, que contemplam o treinamento constante dos manipuladores de alimento sobre os riscos de veiculação de patógenos, além do controle da temperatura durante todas as fases da cadeia produtiva.

REFERÊNCIAS

1. Moura AFP, Mayer MM del B, Landgraf M, Tenuta Filho A. Qualidade química e microbiológica de camarão-rosa comercializado em São Paulo. *Rev Bras Cienc Farm*. 2003;39:203-8.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, nº7-E. p.45-53.
3. Seo YH, Jang JH, Moon KD. Occurrence and characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from minimally processed vegetables and sprouts in Korea. *Food Sci Biotechnol*. 2010;19:313-9.
4. Foster G, Ross HM, Hutson RA, Collins MD. *Staphylococcus lutrae* sp. nov., a new coagulase-positive species isolated from otters. *Int J Syst Bacteriol*. 1997;47:724-6.
5. Simon SS, Sanjeev S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control*. 2007;18:1565-8.
6. Brands DA, Inman AE, Gerba CP, Maré CJ, Billington SJ, Saif LA, et al. Prevalence of *Salmonella* spp. in oysters in the United States. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71:893-7.
7. Shabarinath S, Kumar HS, Khushiramani R, Karunasagar I, Karunasagar I. Detection and characterization of *Salmonella* associated with tropical seafood. *Int J Food Microbiol*. 2007;114:227-33.
8. Vieira RHSE, Tôres RCO. Estimativa da população de coliformes totais e fecais (termotolerantes) e *Escherichia coli* através do Número Mais Provável (NMP). In: Vieira RHSE, organizador. Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática. São Paulo: Varela; 2004.p.219-26.
9. Tryland I, Fiksdal L. Enzyme characteristics of β -D-galactosidase- and β -D-glucuronidase-positive bacteria and their interference in rapid methods for detection of waterborne coliforms and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64:1018-23.
10. Bennett RW, Lancette GA. *Staphylococcus aureus*. In: Bacteriological Analytical Manual. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2001. [acesso 2008 Dez 10]. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071429.htm].
11. Feng P, Weagent SD. Diarrheagenic *Escherichia coli*. In: Bacteriological Analytical Manual. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2011. [acesso 2011 Jul 15]. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070080.htm].
12. Blodgett R. Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. In: Bacteriological Analytical Manual. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2010. [acesso 2011 Jul 15]. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm109656.htm].
13. Soares JB, Cassimiro ARS, Albuquerque LMB. Microbiologia básica. Fortaleza: EUFC; 1991.
14. Andrews WA, Hammack TS. *Salmonella*. In: Bacteriological Analytical Manual. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2011. [acesso 2011 Jul 15]. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070149.htm].
15. Nascimento AR, Jesus JR, Pereira MSS. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbias mesófilas em camarão fresco, sururu e carne moída comercializados em São Luís (MA). *Cad Pesq*. 1999;10:9-18.
16. Ayulo AM, Machado RA, Scussel VM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int J Food Microbiol*. 1994;24:171-8.
17. Vieira RHSE, Rebouças RH, Albuquerque WF. *Staphylococcus* coagulase positiva em camarão sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, comercializado na feira-livre de pescado do Mucuripe – Fortaleza (CE). *Bol Técn Cient CEPENE*. 2006;14:11-22.
18. Dams RI, Teixeira E, Beirão LH. Práticas de higiene e sanificação em indústria de pescado congelado. *Bol CEPPA*. 1997;15:159-66.
19. Cunha Neto A, Silva CGM, Satmford TLM. Estafilococos enterotoxigênicos em alimentos “in natura” e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2002;22:263-71.
20. Costa RA, Vieira GHF, Albuquerque IA, Alves LAO, Mourão JA, Vieira RHSE, et al. Enterobactérias em pescado oriundo da Lagoa da Fazenda, Sobral, CE. *Hig Aliment*. 2009;23:102-5.
21. Álvares PP, Martins L, Borghoff T, Silva WA, Abreu TQ, Gonçalves FB. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. *Hig Aliment*. 2008;22:88-93.

22. Reis JA, Hoffmann P, Marcos LM, Taddei FG, Gonçalves TMV, Hoffman FL. Estudo higiênico-sanitário dos camarões dulcíolas *Macrobrachium amazonicum* e *M. jelskii*. *Hig Aliment*. 2004;18:58-67.
23. Kirschnik PG, Viegas EMM. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2004;24:407-12.
24. Vieira RHSE. Microbiota natural do pescado fresco. In: Vieira RHSE, organizador. *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática*. São Paulo: Varela; 2004.p.45-57.
25. Vieira RHSE, Saker-Sampaio S. Emprego de gelo nos barcos de pesca. In: Vieira RHSE, organizador. *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática*. São Paulo: Varela; 2004.p.37-43.
26. Oliveira ACG, Seixas ASS, Sousa CP, Souza CWO. Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2006;22:1111-4.
27. Keeratipibul S, Oupaichit T, Techaruwichit P. Contamination profiles of *Escherichia coli* and enterococci in steamed chicken meat products. *J Food Prot*. 2009;72:1821-9.
28. Vieira RHSE, Souza OV, Patel TR. Bacteriological quality of ice used in Mucuripe Market, Fortaleza, Brazil. *Food Control*. 1997;8:83-5
29. Parente LS, Costa RA, Vieira GHF, Reis EMF, Hofer E, Fonteles AA, et al. Bactérias entéricas presentes em amostras de água e camarão marinho *Litopenaeus vannamei* oriundos de fazendas de cultivo no Estado do Ceará, Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2011; 48:46-53.
30. Kumar HS, Parvathi A, Karunasagar I, Karunasagar I. Prevalence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* in tropical seafood. *World J Microbiol Biotechnol*. 2005;21:619-23.
31. Raghubeer EV, Matches JR. Temperature range for growth of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and selected coliforms in *E. coli* medium. *J Clin Microbiol*. 1990;28:803-5.
32. Phan TT, Khai LT, Ogasawara N, Tam NT, Okatani AT, Akiba M, et al. Contamination of *Salmonella* in retail meats and shrimps in the Mekong Delta, Vietnam. *J Food Prot*. 2005;68:1077-80.
33. Wan Norhana MN, Poole SE, Deeth HC, Dykes GA. Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. *Food Control* 2010;21:343-61.