

ESTUDO DA FLORA BACTERIANA DAS ESPÉCIES MUGIL BRASILIENSIS (TAÍNHA) E ODONTHESTES s.p. (PEIXE- REI) CONSUMIDAS NA CIDADE DE PÓRTO ALEGRE (*)

Marco Antonio Brum (**)

1. INTRODUÇÃO

A carne de peixe é alimento do mais alto valor nutritivo por seu conteúdo em proteínas e vitaminas; o Brasil possui ao longo de suas costas, um rico manancial pesqueiro ainda não explorado, cuja exploração vem sendo recentemente equacionada pelos governos dos Estados costeiros de modo a permitir sua exploração dentro dos princípios tecnológicos mais avançados.

Por sua constituição, o pescado é um produto perecível a curto prazo, seja por ação dos sistemas enzimáticos liberados após a morte dos espécimes (autólise), seja por deterioração bacteriana, sendo esta última o fator primordial no estabelecimento do tempo útil de aproveitamento deste alimento.

Nêste trabalho, nos propomos a estudar a flora bacteriana encontrada no pescado de origem marinha, com o objetivo de fornecer dados de importância para a tecnologia de conservação e processamento deste produto, o que vem de encontro as necessidades do ESTADO.

A carne do peixe, por ocasião da captura, é estéril; DYER et al (1), são de opinião que a deterioração do pescado se inicia a partir das guelras e do limo da superfície, passando então ao tecido muscular, principalmente do fôro peritoneal, de onde atingem tôda a massa muscular e vísceras, utilizando para o seu crescimento, substâncias nutritivas originadas do ataque aos tecidos do próprio peixe. Existe uma concordância entre diversos autores, em que as bactérias do trato intestinal sômente têm acesso a massa muscular nos últimos estágios da putrefação.

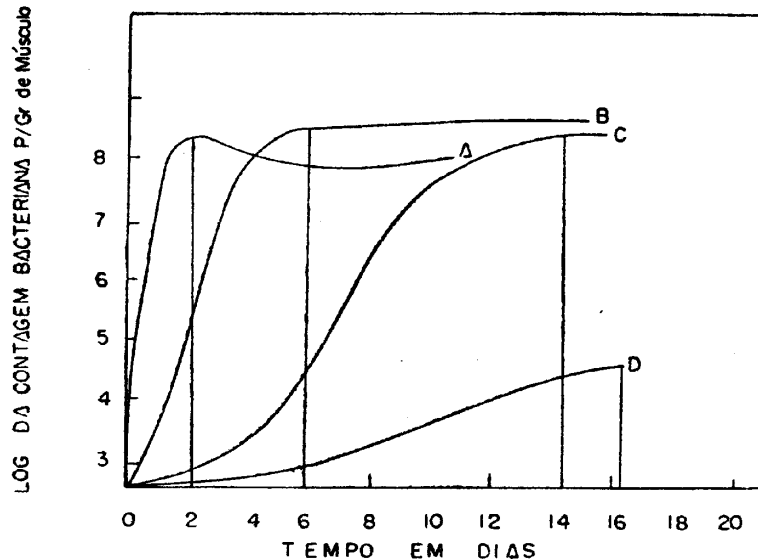
(*) O presente trabalho foi realizado na Seção de Microbiologia do Instituto de Tecnologia Alimentar da U.F.R.G.S., com auxílio financeiro de FAPERGS, durante a realização do "Curso de Especialização em Microbiologia de Alimentos", sob a orientação do Professor ISAAC JEFFMAN.

(**) Prof. Assistente do Departamento de Tecnologia Alimentar da UFSM.

Estas bactérias são saprófitas dos peixes e têm seu habitat na água do mar plancton marinho, porém sua incidência varia de acordo com a temperatura das águas e estações do ano; LISTON (2) relatou a incidência de germes que liquefazem a gelatina, no início e no fim do ano. Ainda SHEWAN (3) e GEORGALA (4 e 5) relatam diferenças na incidência de *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Corynebacterium* s.p., provavelmente relacionados com a variação de temperatura das águas, na época da captura.

Estudos de SHEWAN e LISTON (6) demonstraram o efeito da temperatura sobre a multiplicação das bactérias próprias do pescado verificando variações apreciáveis conforme indicam os gráficos elaborados pelo autor e que são reproduzidos abaixo; estão representadas 4 curvas, sendo a curva A, o crescimento dos germes a 25°C, a curva B, o crescimento a 7°C, a curva C, o crescimento a 0°C e a curva D, o crescimento a 4°C. Neste trabalho, ficou evidenciada, a capacidade de proliferação destes germes, mesmo a baixas temperaturas, sendo o ótimo de temperatura situado entre 7°C e 20°C, mas desenvolvendo-se ainda mesmo a 0°C.

Comportamento dos gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter* conforme a temperatura de acondicionamento reproduzido do trabalho de SHEWAN, citado em FISH AS FOOD, vol. 1, 1961.



Das espécies bacterianas isoladas em diversos estudos, encontram-se os gêneros: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacter* e *Micrococcus*, germes que sobrevivem e proliferam a baixas temperaturas (7) sendo também tolerantes a concentrações elevadas de NaCl (8⁸), espécies do gênero *Micrococcus* podendo suportar concentrações de até 30% de Cloreto de Sódio.

Trabalhos de realização recente dão maior ênfase na deterioração de produtos cárneos, inclusive o peixe, ao gênero *Pseudomonas*, enquanto que outros anteriores, assinalavam às espécies da família *Achromobacteriaceae* a maior incidência. Isto se deve, como lembra AYRES (9) a maneira diferente de encarar o gênero *Pseudomonas* na 7.^a ed. do *Bergey's Manual*, em que grande número de espécies não produtoras de pigmentos são enquadradas neste gênero na base de seu restante comportamento bioquímico, limitando desta forma o número de *Achromobacter* encontrados.

Além desta flora saprófita, o peixe pode conter germes patogênicos para o homem, tais como *C. Botulinum* Tipo E (10), *Enterobacteriaceae* e a espécie *Erysipelothrix insidiosa*. Em nosso estado o único surto de botulismo ocorreu em 1958, e foi devido ao consumo de peixe; no entanto, a espécie isolada produzia toxina tipo A (11) desde então não se registrando outras ocorrências.

KLAUDER, J. V., RICHTER, L. L. e HARKINS, M. J. em seus trabalhos relatam a presença do *Erysipelothrix Insidiosa* em peixes manuseados pelo homem (12).

Em relação as enterobactérias, sabe-se que sua presença está condicionada à poluição das águas de rios e estuários; no peixe de alto mar não tem sido isoladas. FLOYD (13) em estudos extensivos de espécies aparentadas das consumidas no Rio Grande do Sul e capturadas nas águas do Rio Nilo, obteve resultados sugestivos como o demonstram os quadros abaixo:

SHIGUELLA E SALMONELLA ISOLADOS DO PEIXE

GERMES	NÚMERO DE ISOLAMENTOS	% TOTAL ISOLAMENTOS
SHIGUELLA		
Dysenteriae 1	1	2,1
Dysenteriae 2	9	19,1
Dysenteriae 3.7	10	21,3
Flexneri 2a	2	4,3
Flexneri 3	1	2,1
Flexneri 5	1	2,1
Flexneri 6	1	2,1
Boydii 2	1	2,1
Boydii 5	1	2,1
Sonnei	7	14,9
	34	72,2
SALMONELLA		
Typhi	7	14,9
Parathyphy A	2	4,3
Parathyphy B	2	4,3
Parathyphy C	1	2,1
Ness-Ziona	1	2,1
	12	27,7
TOTAL	47	99,9

INCIDÊNCIA DE OUTROS GERMES ENTÉRICOS EM AMOSTRAS DE PESCADO

Germes	% de amostras
E. Coli	100,0
Proteus	91,5
Alkaligenes	81,4
Paracolons	66,3

FLOYD cita outros trabalhos relacionados com a presença de enterobactérias em peixes: GIBBONS (14) encontrou uma amostra de *S. THYPHY* analisando 43 amostras de peixe no Canadá; EDWARDS, BRUNNER e MORAN (15) observaram o gênero *Salmonella* como implicado diretamente em surtos de toxi-infecções, nos quais o alimento vetor era o peixe.

No Japão, recentemente, foram constatados casos de toxi-infecções por pseudomonadáceas (7). Estes germes foram os únicos isolados dos alimentos em questão (conservas de peixe cru): além do mais, os sôros dos pacientes apresentaram sôro aglutinações positivas, usando-se as amostras isoladas como antígeno. Também, a inoculação dos mesmos em voluntários, reproduziu a mesma sintomatologia.

Tendo como base todo êstes fatos discutidos utilizamos a fração muscular para a determinação da flora patogênica e saprófita, presente em peixes das espécies *Mugil brasiliensis* (tainha) e *Odonthestes* sp (Peixe rei) que representam as mais consumidas na cidade de Pôrto Alegre.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Entre os materiais necessários, utilizamos aqueles de uso corrente em laboratório de microbiologia, como:

- estufa a 30°C
- Estufas a 180°C para esterilização do material
- autoclave: pipetas de 1 ml; placas de Petry
- tubos para meio de cultura; alças de platina
- tubos com água destilada para diluição.
- cápsulas esterilizadas; balança analítica, liquidificador
- espátula de metal; tesoura; pinças, etc.

COLETA DA AMOSTRA:

A coleta da amostra foi realizada, em bancas de vendas de pescado, no Mercado Municipal, sendo estas amostras recolhidas em recipientes de aço inoxidável, previamente esterilizados e assim conduzidos até o laboratório para o processamento dos exames.

Verificamos primeiramente os caracteres organoléuticos, observando-se as seguintes normas: aspecto dos olhos, exame da superfície, resistência à descamação, consistência, odor, brilho da pele e exame das guelras.

Realizada a primeira etapa, passamos de imediato a retirada e preparo da amostra para o exame bacteriológico. Inicialmente, promoveu-se a limpeza da superfície do local de coleta, com algodão e água destilada, em seguida a retirada das escamas e flambagem da pele.

Após a retirada da pele, destacamos a fração muscular destinada ao exame bacteriológico, a amostra foi pesada e transferida para o liquidificador, fazendo-se ao mesmo tempo a homogeneização, e desta maneira estabelecendo-se a diluição 10^{-1} com água destilada.

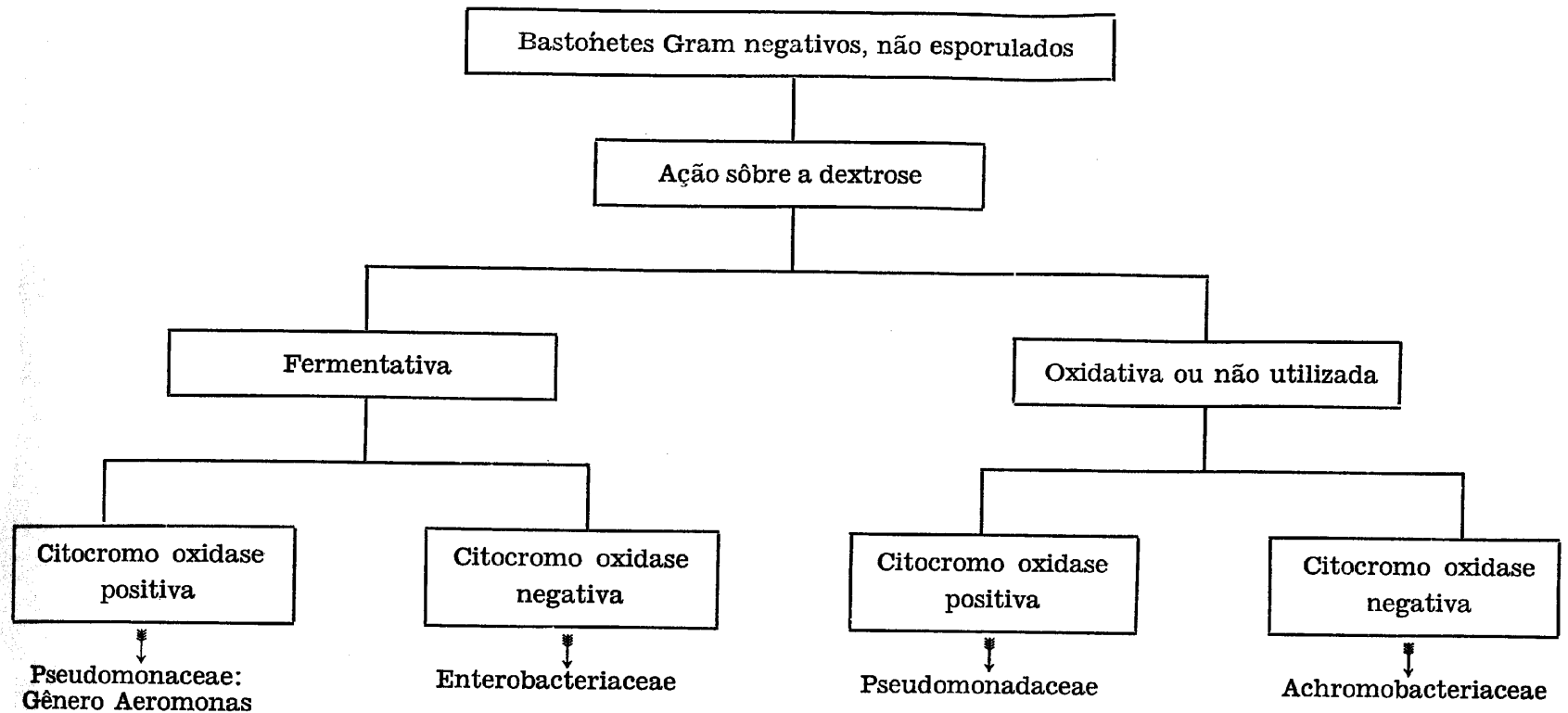
Esta primeira diluição serviu para:

- 1.º) — Contagem do número total de germes, pelo método das diluições sucessivas, em agar gelose nutritiva, para o qual, em nossos trabalhos utilizamos a amostra na diluição 10^{-5} .
- 2.º) — Semeadura em meios seletivos para:
 - a) Enterobacteriáceas (GN-SS-Agar Desoxicolato).
 - b) Meios seletivos para cocos Gram positivo (Manitol NaCl 7,5%).

Nas placas de gelose nutritiva, procurou-se ainda identificar o crescimento da flora predominante e outros germes que por ventura fossem inibidos nos meios seletivos.

Os bastonetes Gram positivos isolados, foram submetidos a cultivos em meios especiais, para a verificação da sua atividade bioquímica necessária para enquadrá-los nos gêneros da classificação adotada pelo Bergey's Manual (8). Entre os meios, encontram-se os de Glicose, Manita, Maltose, Lactose. SIM, Simmons, Uréia e esporadicamente MR e VP, que foram selecionados de acôrdo com os esquemas utilizados no Curso de Especialização em Microbiologia de Alimentos (15) a ser publicado, a semelhança do proposto por (9) e que expomos nos quadros números 1, 2 e 3.

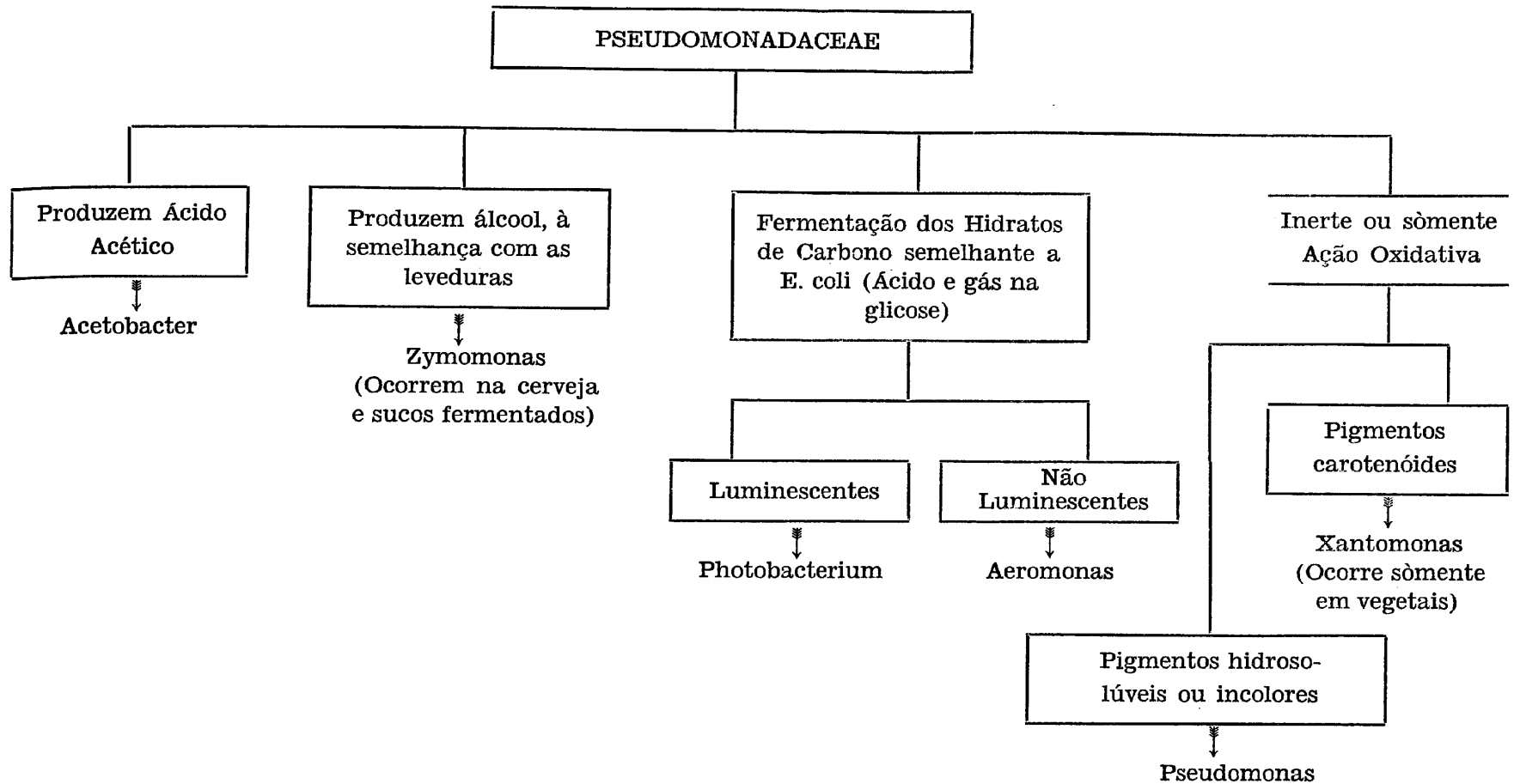
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS
 INSTITUTO DE TECNOLOGIA ALIMENTAR — Prof. ISAAC JEFFMAN



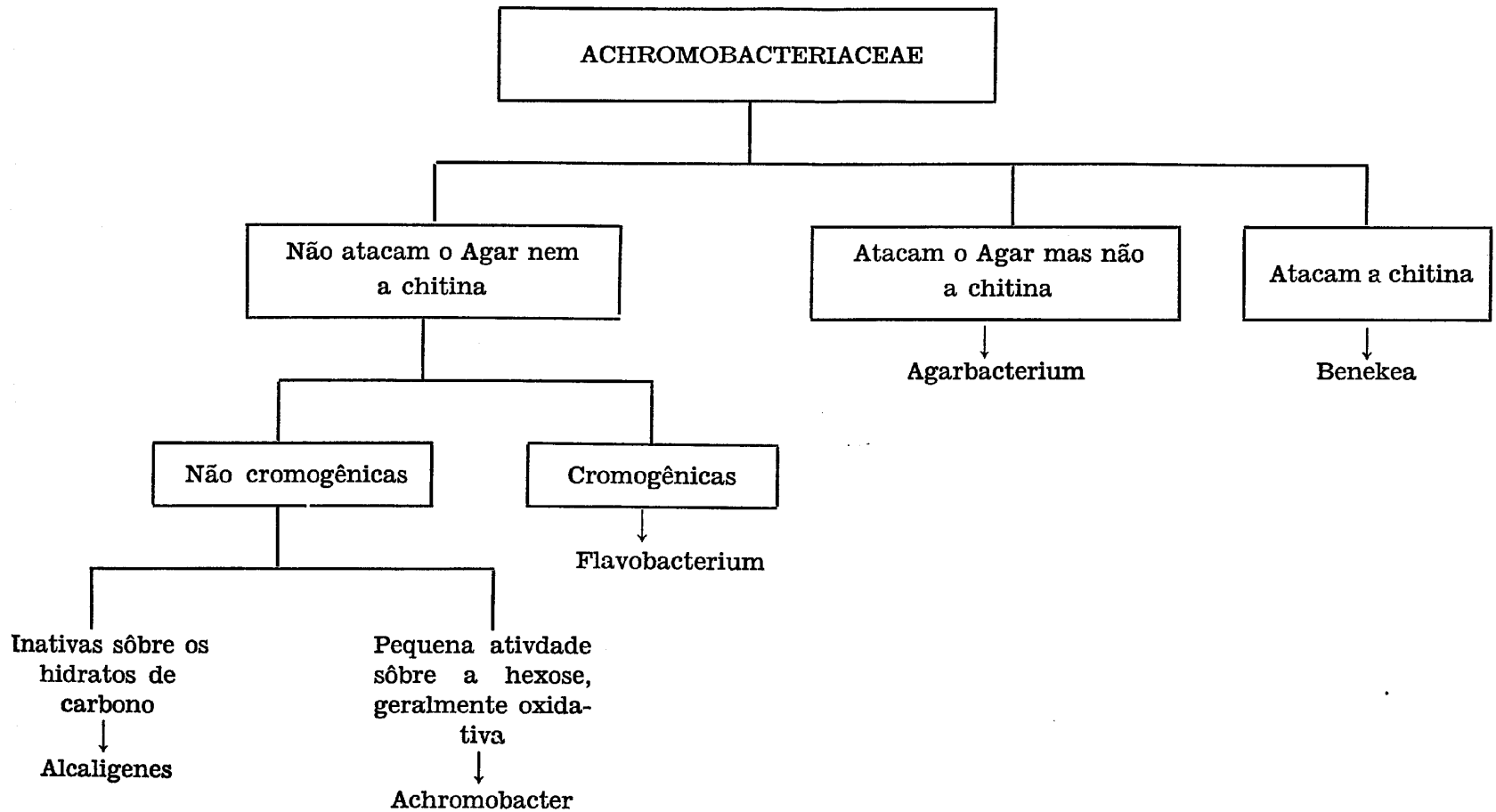
OBSERVAÇÃO: A diferenciação entre as famílias Achromobacteriaceae e Pseudomonadaceae somente na base de citocromo oxidase, não é definitiva, já que algumas espécies da primeira podem ser oxidase positivas. As espécies móveis podem ser diferenciadas pela distribuição dos flagelos. Colônias pigmentadas com pigmento de natureza carotenóide, se isolados de vegetais, provavelmente se trata do gênero Xantomonas (Pseudomonadaceae). Não sendo assim, Pensar do gênero Flavobacterium — (Achromobacteriaceae).

A ação fermentativa sobre a dextrose, se estende a outros açúcares, no caso de se tratar de somente na dextrose pensar na possibilidade de enterobactéria. Quando houver formação de ácido tratar de Achromobacteriaceae.

Bastonetes gram-negativos, retos, monotrichios ou imóveis, as colônias podendo ser incolores ou produzirem pigmentos solúvel em água, que se difunde para o meio (comportamento mais freqüente), ou ainda, conterem pigmento de natureza carotenóide, geralmente amarelo, apanágio de um único gênero.



Bastonetes Gram-negativos, uniformes, móveis ou imóveis, peritrichios, Citocromo oxidase variáveis, com metabolismo pouco ativo sobre os hidratos de carbono, amostras existem que produzem ácido na dextrose. Crescem melhor a temperatura entre 20 e 25°C (poucas espécies crescem a 37°C) a presença da água do mar favorecendo os cultivos das espécies oriundas da água salgada.



3. RESULTADOS

Desenvolvendo as técnicas descritas em materiais e métodos, obtivemos resultados variáveis dentro das espécies, bem como variações apreciáveis entre uma espécie e outra.

A espécie *Mugil brasiliensis* apresentou contagens baixas na maioria das amostras, observando-se que, somente 4 delas ultrapassaram a contagem de 2 milhões de germes por grama de músculo.

A espécie *Odonthestes* sp apresentou durante o decorrer das análises contagens bem mais elevadas, sendo que somente duas amostras mostraram baixo conteúdo bacteriano.

Comparando o exame dos caracteres organoléuticos e contagens, observamos que não houve correlação de dados. (Quadros 4 e 5).

O crescimento em meios seletivos para Enterobactérias mostraram-se sempre negativos, porém em Agar Desoxicolato verificou-se o crescimento abundante e difuso dos gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacter* e *Achromobacter*.

No meio seletivo para isolamento de germes Gram positivos patogênicos, não se evidenciou nenhuma amostra com características patogênicas; germes saprófitos foram, no entanto, muito frequentes, pois da quase totalidade das amostras se isolou o gênero *Micrococcus*. Além destes, os gêneros *Bacillus*, *Brevibacterium* e *Kurthia*, foram isolados, sendo que o gênero *Bacillus* desenvolveu-se nas amostras que apresentaram maior número de germes na contagem total.

Realizando-se uma comparação entre a ocorrência de Gram negativos e Gram positivos no meio de contagem verificamos a predominância da flora Gram negativa.

<i>Mugil brasiliensis</i>		<i>Odonthestes</i> s.p.
<i>Aeromonas</i>	100%	90%
<i>Pseudomonas</i>	H	30%
<i>Flavobacter</i>	10%	30%
<i>Achromobacter</i>	20%	H

Frequência do isolamento dos gêneros Gram negativos das espécies *Mugil brasiliensis* e *Odonthestes* s.p.

<i>Micrococcus</i>	60%	70%
<i>Brevibacterium</i>	50%	30%
<i>Bacillus</i> sp.	60%	20%
<i>Kurthia</i>	20%	H

Frequência do isolamento dos gêneros Gram positivos das espécies *Mugil brasiliensis* e *Odonthestes* s.p.

QUADRO 4

OS REFERENTES AOS EXAMES DOS CARACTERES ORGANOLÉTICOS E CONTAGEM TOTAL DE GERMES DA ESPÉCIE MUGIL BRASILIENSIS.

º da most.	Aspecto dos olhos	Resist. a des-camação	Brilho da pele	Gueiras	Consistência	Odor	Aspecto Geral	Germes/grs de músculo
1	Salientes e Brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	+ 2.000.000
2	Pouco salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Flácido	Acre	Péssimo	525.000
3	Salientes pouco brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	25.600
4	Opacos e afundados	Resistente	Pouco brilho	Vermelho escuro	Firme ao tato	Acre	Péssimo	55.000
5	Sal. c/pouco brilho	Resistente	Pouco brilho	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	68.000
6	Salientes e opacos	Resistente	Pouco brilho	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Bom	40.500
7	Opacos e afundados	Resistente	Opaca e seca	Vermelho violáceo	Firme ao tato	Sui generis	Regular	3.100.000
8	Salientes e brilhantes	Resistente	Vermelho opaco	Vermelho claro	Firme ao tato	Sui generis	Ótimo	600.000
9	Afundados c/pouco brilho	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Acre	Péssimo	1.800.000
10	Pouco sal. e brilhante	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	7.800.000

QUADRO 5

DADOS REFERENTES AOS EXAMES DOS CARACTERES ORGANOLÉTICOS E CONTAGEM TOTAL DE GERMES DA ESPÉCIE ODONTHESTES s. p.

N.º da amost.	Aspecto dos olhos	Resist. a des-camação	Brilho da pele	Guelras	Consistência	Odor	Aspecto Geral	Germes/grs de músculo
1	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	980.000
2	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Ótimo	1.110.000
3	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho gelatinoso	Firme ao tato	Sui generis	Regular	8.100.000
4	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho gelatinoso	Firme ao tato	Sui generis	Regular	6.600.000
5	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho vivo	Firme ao tato	Sui generis	Ótimo	35.900.000
6	Salientes e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho vivo	Firme ao tato	Sui generis	Ótimo	34.000
7	Pouco sal. e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho vivo	Firme ao tato	Sui generis	Regular	5.600.000
8	Pouco sal. e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	+ 2.000.000
9	Pouco sal. e brilhantes	Resistente	Brilhante	Vermelho esverdeado	Firme ao tato	Sui generis	Regular	2.400.000
10	Salientes	Resistente	Brilhante	Vermelho escuro	Firme ao tato	Sui generis	Regular	+ 2.000.000

4. DISCUSSÃO

Verifica-se do exame dos resultados que as amostras examinadas eram muito heterogêneas do ponto de vista bacteriológico, tanto entre as das duas espécies (*Mugil brasiliensis* e *Odonthestes* s.p.) como entre as de uma mesma espécie, enquanto que os caracteres organoléticos foram com algumas excessões, uniformes.

A média do número total de germes foi, para as espécies *Mugil brasiliensis* 1.600.000 por grama de músculo, e para a *Odonthestes* s.p. 3.200.000, não computando a amostra número 5 que continha número excessivamente alto.

Verificamos ainda que as amostras, número 2, 4 e 9 da espécie *Mugil brasiliensis* se apresentavam do ponto de vista organolético, com início de deterioração (mau cheiro e coloração escura das guelras), embora o número total de germes fosse baixo, não sendo isolado delas qualquer gênero bacteriano específico, contendo os gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* e *Bacillus*.

A flora bacteriana encontrada no pescado examinado era representada na sua maioria por bastonetes Gram negativos, dos gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas*, ocorrendo com menos freqüência os gêneros *Achromobacter* e *Flavobacter*, usando-se os novos critérios para classificação destes microorganismos.

A flora Gram positiva continha representantes dos germes *Micrococcus* (mais comum), *Brevibacterium*, *Bacillus* e *Kurthia*.

Em nossos ensaios não foram isolados germes patogênicos pertencentes às *Enterobacteriaceas* (*Shigella* ou *Salmonella*) e nem *Estafilococos*.

A freqüência do gênero *Aeromonas* merece considerações especiais, pois estes germes se assemelham muito, morfológicamente e bioquimicamente a *Escherichia coli* e mesmo às *Salmonellas*. A Constância da produção da citrocomo oxidase serve como base bioquímica de sua identificação.

Estes germes podem ainda ser considerados como potencialmente capazes de produzir toxi-infecção alimentar, conforme discutimos na apresentação.

Embora o número limitado de nossas amostras o peixe vendido no mercado municipal de Pôrto Alegre continha um número total de germes, compatíveis com a sanidade do produto, uma vez que trabalhos neste sentido tendem a indicar o número de 1.500.000/g como limite de sanidade; no entanto, dada a possibilidade de que estes germes venceram a fase de crescimento retardado, podem atingir números consideravelmente maiores no curto espaço de 24 horas. Por estas considerações somos de opinião que deve-se fazer esforços no sentido de que este produto seja oferecido a população com um padrão bacteriológico melhor.

5. CONCLUSÕES

- 1) — Em nossos trabalhos o número total de germes foi para a espécie *Mugil brasiliensis* 1.600.000, e para a *Odonthestes* sp. 3.200.000 germes por grama de músculo.
- 2) — Não houve correlação entre a apreciação dos caracteres organoléticos com o número total de germes por grama de músculo, assim também como não isolamos qualquer gênero predominante das amostras com caracteres organoléticos alterados.
- 3) — Considerando todo o pescado examinado, predominou nos isolamentos bastonetes Gram negativos dos gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas* (família *Pseudomonadaceae*).
- 4) — Não foram isolados germes comprovadamente patogênicos com excessão das *Aeromonas*, potencialmente capazes de produzir toxi-infecções.
- 5) — Julgamos o pescado examinado ainda em condições de ser consumido, mas se situando no limite de sua faixa de conservação.

6. RESUMO

O autor, aborda neste trabalho a determinação da flora bacterina patogênica ou não, nas espécies *Mugil brasiliensis* (tainha) e *Odonthestes* sp. (peixe-rei), consumidos na cidade de Pôrto Alegre, neste trabalho verificamos que o número total de germes médio na espécie *Mugil Brasiliensis* é de 1.600.000 e na espécie *Odonthestes* sp. 3.200.000 germes por grama de músculo. Entre os germes isolados, observamos que os predominantes são bastonetes Gram negativos, pertencentes aos gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas*, ocorrendo também os gêneros *Flavobacter* e *Achromobacter*.

Germes Gram positivos foram isolados sendo que os gêneros observados por ordem de ocorrência foram *Micrococcus*, *Bacillus* sp e *Brevibacterium*, observa ainda o autor que em nenhuma das amostras ocorreu a presença de germes patogênicos.

SUMMARY

In this work:

The, author reports the determination of the bacterial flore whether pathogenic or not, in the species *Mugil brasiliensis* and *Odonthestes* sp., that are eaten in the city of Pôrto Alegre. In this work he found that total number of average germs the species *Mugil brasiliensis* is of one million and six hundred (1.600.000) and in the species *Odonthestes* was found 3 million and two hundred thousand germs by muscle gram.

Among the isolated germs, he found that the predominant are round gram negative, belonging to the *Aeromonas* and *Pseudomonas* genus but also occurring the *Flavobacter* and *Achromobacter* genus.

Gram positive germs were isolated and he found that they were occurring in the following order of genera *Micrococcus* *Bacillus* sp and *Brevibacterium* the author did not find the presence of pathogenic germs in any of the samples.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — DYER, W.J., SIGURDSSON, G.J. and WOOD, A.J. — A rapid test for detection of spoilage in sea fish. *Food Research*, 9: 183-187, 1946.
- 2 — LISTON, J. — A quantitative and qualitative study of the bacterial flora of skate and lemon sole trawled in the north sea. *Fish as Food*, 1: Aberdeen, Academic Press, 1961.
- 3 — SHEWAN, J.M. — Some recent progress in the bacteriology of marine fish. *Fish as Food* 1: Academic Press, 1961.

- 4 — GEORGALA, D.L. — Quantitative and qualitative aspects of the skin flora of north sea cod and the effect thereon of handling on ship and on shore. **Fish as Food**, 1: Aberdeen, Academic Press, 1961.
- 5 — GEORGALA, D.L. — The bacterial flora of the skin of north sea cod. **J. Gen. Microbiol.** 18: 84-91, 1961.
- 6 — SHEWAN, J.M. and LISTON J.C. — Objective and subjective assessments of fish quality, **Bull. Inst. Intern. Proid.** 1: 137-147, 1956.
- 7 — INCRAHAM, J.L. — Growth of psychrophilic bacteria **Journal of bacteriology.** 765: 75-80, 1958.
- 8 — VENKATARAMAN, R. and SREENIVASAN, A. — Salt tolerance of marine bacteria. **Food Research**, 19: 311-313, 1954 — 6.
- 9 — AYRES, J.C., OGILVY, W.S. and STEWART, G.F. Post-mortem changes in stored meats. I Microorganisms associated with the development of slime on eviscerated cut-up poultry. **Food Technol.**, 4: 199, 1950.
- 10 — KAWABATA and SAKAGUCHI, G. — The problem of type e botulism in Japan. **Department of Food control, National Institute of Health Shinagawa, KU, Tokyo, Japan.**
- 11 — JEFFMAN, I. — Aspectos bacteriológicos relacionados com o anaeróbio responsável pelo surto de botulismo em Pôrto Alegre. **Revista da Escola de Agronomia e Veterinária.** Vol. III, (I): 1966.
- 12 — KLAUDER, J.V., RICHTER, L.L. and HARKINS, M. J. A distinctive and severe form of Erysipeloid among fish handlers. **Arch. Dermatol. and Syphilol**, 14: 662-678, 1926.
- 13 — FLOYD, T.M. and JONES, G.B. — Isolation of Shigella and Salmonella organisms from Nile fish. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 3: 475-480, 1954.

- 14 — GIBBONS, N.E. — Lactosa fermenting bacteria from the intestinal contents of marine fish. **Cont. Canad. Biol.**, 8: 291-300, 1934.
- 15 — EDWARDS, P.R., BRUMMER, D.W. and MORAN, A.B. Further studies on the occurrence and distribution of Salmonella types in the United States, **J. INF. DIS.**, 83: 220-231, 1948.
- 16 — BECHTEL, M.A. e PIUGA, N. — Posição taxonômica da flora GRAM negativa isolada de pescado e camarão consumido no Rio Grande do Sul, (a ser publicado).
- 17 — SHEWAN, I.M., HOBBS, C., HODYHISS, W. — From the Pseudomonas and Achromobacter group of bacteria in the spoilage of marine white fish. **Applied Bacteriology**, 23: (3), 1960.