

**CASSIA ALDRIN DE MELLO**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO *Brycon microleps*  
(PIRAPUTANGA) CAPTURADO NA BACIA DO RIO CUIABÁ E DE  
CULTIVO NO ESTADO DO MATO GROSSO**

**RECIFE  
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**CÁSSIA ALDRIN DE MELLO**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO *Brycon microlepis*  
(PIRAPUTANGA) CAPTURADO NA BACIA DO RIO CUIABÁ E DE  
CULTIVO NO ESTADO DO MATO GROSSO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientador:  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Emiko Shinozaki Mendes

**RECIFE  
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO *Brycon microlepis*  
(PIRAPUTANGA) CAPTURADO NA BACIA DO RIO CUIABÁ E DE  
CULTIVO NO ESTADO DO MATO GROSSO**

Tese de Doutorado elaborada por

**CÁSSIA ALDRIN DE MELLO**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. EMIKO SHINOZAKI MENDES  
Orientadora – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. PAULO DE PAULA MENDES  
Departamento de Pesca e Aqüicultura da UFRPE

Prof. Dr. RICARDO TARGINO MOREIRA  
Centro de Formação de Tecnólogos da UFPB

Prof. Dr. FERNANDO LEANDRO DOS SANTOS  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. SÍLVIO HENRIQUE DE FREITAS  
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha filha Bruna - razão de minha vida, em nome de todo sacrifício a ela imposto pela minha ausência nesta fase tão importante de nossas vidas.  
Amo você!

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi árdua uma vez que envolveu a coleta de peixes, a pesquisa e o amadurecimento de idéias concomitante com minha gravidez e as aulas que leciono na Universidade. No entanto, o que amenizou esta difícil tarefa foi poder contar com a ajuda imprescindível de minha orientadora **Dr<sup>a</sup>. Emiko Shinozaki Mendes** que com sua orientação fraterna e segura soube nos momentos mais difíceis dirigir-me os passos, com sutileza soube sinalizar meus erros e me transmitir os conhecimentos fundamentais para este trabalho.

Desejo manifestar meus sinceros agradecimentos à **Simone Francisca de Lira, Priscilla Lima e Márcia Maria de Sousa Americano**, duas colegas que com seu comprometimento e dedicação, foram imprescindíveis para a realização das análises microbiológicas.

Agradeço também à **Lílian Maria Nery de Barros Góes** e a todos os estagiários do LICAL que direta ou indiretamente colaboraram para com este trabalho.

Não poderia deixar de agradecer ao senhor **Rogério** por me disponibilizar os peixes de sua piscicultura todas as vezes que precisei e não ter medido esforços para a coleta

Agradeço aos **pescadores** que foram absolutamente importantes para a captura dos peixes do rio, me ensinando com sua vivência profissional a conhecer o rio Cuiabá.

Agradeço à **Paula Shinozaki** por ter colaborado com o fechamento deste trabalho, me fornecendo auxílio para o tratamento estatístico dos resultados.

Agradeço ao **Dr. Lázaro Manoel de Camargo** pelo incomensurável incentivo nesta etapa de minha carreira e por ter me dispensado todas as vezes que precisei me afastar do serviço em prol deste trabalho.

E uma lembrança em especial à **Rosely, Suely e sua mãe** por terem me recebido com hospitalidade, carinho e tanta presteza nesta bela cidade que é Recife e não me faltarem todas as vezes que precisei.

Meus sinceros agradecimentos a todos vocês.

“ Os peixes são nosso pão de cada dia.  
Sadios e higiênicos eles precisam ser.

Triste do bicho que outro engole.  
Se como o peixe não tenho tristeza.

Mas se ele estiver passado, adoço, padeço, morro!  
Alegre de quem tem um bicho para engolir.

Muitos padecem de fome.  
O peixe é o meu pão de todo dia. ”

**Regine Limaverde**

## RESUMO

A bacia do rio Cuiabá no estado de Mato Grosso é uma das principais receptoras de esgotos domésticos e industriais e por isto, os peixes nela capturados podem estar contaminados e representar perigo ao consumidor, sendo a criação de peixes em cativeiro uma alternativa para a obtenção de peixes microbiologicamente melhor. Exemplares de *Brycon microlepis* (piraputanga) oriundos do rio Cuiabá e de cultivo na região foram analisados quanto à bactérias mesófilas, coliformes, *Aeromonas* e *Salmonella*, nos meses de chuva e seca. Dos exemplares foram utilizados fígado e encéfalo, e para a comparação dos dados utilizou-se a correlação de Spearman e o teste de Kolmogorov-Smirnov. Verificou-se o efeito da sazonalidade (mês de coleta) sobre a contagem de bactérias mesófilas, coliformes termotolerantes e *Aeromonas*, tanto em peixes capturados no rio como nos cultivados, sendo as maiores contagens observadas no final do período seco e no início do período chuvoso, ou seja, nos meses mais quentes do ano, entre agosto e março. Foram isoladas *A. hydrophila* e *A. caviae* dos peixes de viveiro e *A. sobria* e *A. hydrophila* dos peixes do rio e observou-se uma relação entre a contagem de *Aeromonas* e coliformes, ou seja, quanto maior a contagem de coliformes da amostra maiores foram as contagens de *Aeromonas*. A *Salmonella* spp. foi isolada de uma amostra de rio e uma de viveiro. *Escherichia coli* foi isolada nos peixes de rio e de viveiro, indicando que a água dos ambientes estava contaminada com fezes. Verificou-se que a probabilidade de ocorrência da contaminação por mesófilos em peixes capturados no rio, é a mesma nos obtidos em cultivo ( $P \geq 0,05$ ).

**Termos para indexação:** 1- peixes. 2- *Brycon microlepis*. 3- microrganismos.

## ABSTRACT

Cuiabá river basin, in Mato Grosso State is one of means river receivers of domestic sewage and industries effluents, for them, fishes captured can become contaminated and to be a dangerous to consumer, being raising of fishes captivity a viable alternative to provide better quality fish. Specimens of *Brycon microlepis* (piraputanga) captured both from the captivity and from the river on region were studied microbiologically about the mesophiles, total and termtolerants coliforms, *Aeromonas* and *Salmonella*, on rain season, and dry season. About specimens were collected liver and encephalo, and to the comparation of values were used the test of correlation of Spearman and the Kolmogorov-Smirnov test. It was verified the sazonality effect (month of collection) over the counting of mesophile, termtolerants coliforms and *Aeromonas*, at both fish obtained from captivity and river. Higer contamination were observed in finish of dry season and all dry season, then, at most months hots, between August and March. The isolates were *A. hydrophila* and *A. caviae* from captivity fishes and *A. sobria* and *A. hydrophila* from river fishes, and a relationship was observed between the *Aeromonas* total number and the coliforms level, in other words, as higher the level of coliforms in sample, higher they were the *Aeromonas* spp. countings, being the high countings and the low or null, verified in the same months. *Salmonella* spp. was isolated at one river sample and one of captivity sample. *Escherichia coli* was isolated in both the fishes, of indicative that some way the water of the two atmospheres was polluted with feces. It was verified that the probability of contamination by mesophiles occurrence in river collected fish is the same as captivity ones ( $P \geq 0,05$ ).

**Keywords:** 1- fish. 2- *Brycon microlepis*. 3- microorganisms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Bacia do Paraguai e bacias ao redor: Amazonas e Araguaia-Tocantins.....	16
Figura 2 -	Sub-bacias no estado de Mato Grosso, da bacia do Alto Paraguai (BAP)..	17
Figura 3 -	Sub-bacias do rio Cuiabá .....	17
Figura 4 -	Municípios pertencentes à sub-bacia do rio Cuiabá .....	18
Figura 5 -	Fontes de poluição .....	19
Figura 6 -	Córrego da Prainha: importante receptor de esgoto de Cuiabá .....	20
Figura 7 -	Fotografia aérea da região da bacia do rio Cuiabá estudada .....	66
Figura 8 -	Ponte Nova .....	66
Figura 9 -	Ponte Ministro Sérgio Motta.....	66
Figura 10 -	Esgoto doméstico lançado no rio Cuiabá .....	66
Figura 11 -	Efluente industrial no rio Cuiabá .....	66
Figura 12 -	Vista lateral do viveiro .....	67
Figura 13 -	Peixe do rio .....	68
Figura 14 -	Peixe do viveiro .....	68
Figura 15 -	Amostra acondicionada .....	69
Figura 16 -	Caixa isotérmica com amostra e gelo .....	69
Figura 17 -	Lavagem do peixe.....	70
Figura 18 -	Incisão da cabeça .....	70
Figura 19 -	<i>Pool</i> de encéfalo .....	70
Figura 20 -	Incisão dorso-ventral .....	70
Figura 21 -	<i>Pool</i> de fígado .....	70
Figura 22 -	Distribuição das contagens de mesófilos de peixes do viveiro.....	75
Figura 23 -	Distribuição das contagens de mesófilos de peixes do rio.....	75
Figura 24 -	Distribuição das contagens de coliformes totais de peixes do viveiro.....	77
Figura 25 -	Distribuição das contagens de coliformes totais de peixes do rio .....	77
Figura 26 -	Distribuição das contagens de coliformes termotolerantes de peixes do viveiro .....	78
Figura 27 -	Distribuição das contagens de coliformes termotolerantes de peixes do rio .....	78
Figura 28 -	Distribuição das contagens de <i>Aeromonas</i> spp. de peixes do viveiro .....	84
Figura 29 -	Distribuição das contagens de <i>Aeromonas</i> spp. de peixes do rio.....	84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Espécies do gênero <i>Aeromonas</i> .....	50
Tabela 2 -	Contagem de microrganismos mesófilos (em UFC/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá .....	74
Tabela 3 -	Contagem de coliformes totais (em NMP/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá .....	76
Tabela 4 -	Contagem de coliformes termotolerantes (em NMP/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá .....	78
Tabela 5 -	Contagem de <i>Aeromonas</i> spp. (em UFC/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá .....	84
Tabela 6 -	Espécies de <i>Aeromonas</i> isoladas das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá .....	85
Tabela 7 -	Estatística descritiva das contagens de mesófilos, de coliformes totais, de termotolerantes e de <i>Aeromonas</i> , em piraputangas capturadas no rio Cuiabá e de viveiro .....	88
Tabela 8 -	Associação entre a carga bacteriana e o mês de coleta de peixes <i>Brycon microlepis</i> de viveiro e capturados no rio Cuiabá-MT .....	88

## SUMÁRIO

	<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1	GERAIS .....	15
2.2	ESPECÍFICOS .....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
3.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DE EXPLORAÇÃO DA BACIA DO RIO CUIABÁ .....	16
3.2	A POLUIÇÃO E OS IMPACTOS AMBIENTAIS NA BACIA DO RIO CUIABÁ .....	18
3.3	A PISCICULTURA: UMA ALTERNATIVA VIÁVEL .....	22
3.4	O PESCADO COMO ALIMENTO .....	24
3.5	MICROBIOTA NATURAL DO PESCADO .....	25
3.6	MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS VEICULADOS PELO PESCADO.....	27
<b>3.6.1</b>	<b>Coliformes e <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>29</b>
3.6.1.1	Histórico .....	34
3.6.1.2	Características de <i>E. coli</i> .....	34
3.6.1.3	Patogenicidade de <i>E. coli</i> .....	35
3.6.1.4	Alimentos envolvidos com <i>E. coli</i> .....	36
3.6.1.5	Diagnóstico e controle de <i>E. coli</i> .....	37
<b>3.6.2</b>	<b><i>Salmonella</i> spp. ....</b>	<b>37</b>
3.6.2.1	Características do microrganismo .....	37
3.6.2.2	Histórico e taxonomia .....	38
3.6.2.3	Epidemiologia de <i>Salmonella</i> .....	40
3.6.2.4	O peixe como transmissor de <i>Salmonella</i> .....	44
3.6.2.5	Características da doença.....	48
3.6.2.6	Mecanismo de patogenicidade .....	48
3.6.2.7	Medidas de controle .....	49

<b>3.6.3</b>	<b><i>Aeromonas</i> spp.</b> .....	<b>49</b>
3.6.3.1	Histórico e taxonomia .....	49
3.6.3.2	Características do microrganismo .....	50
3.6.3.3	Epidemiologia .....	52
3.6.3.4	Características da doença .....	58
3.6.3.5	Mecanismo de patogenicidade .....	58
3.7	MICROORGANISMOS MESÓFILOS .....	59
3.8	O USO DO PEIXE COMO INDICADOR DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL .....	60
3.9	PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA O PESCADO FRESCO .....	62
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>65</b>
4.1	LOCAL E PERÍODO DE COLETA .....	65
<b>4.1.1</b>	<b>Rio Cuiabá</b> .....	<b>65</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Viveiro</b> .....	<b>67</b>
4.2	AMOSTRAS .....	68
4.3	LOCAL DAS ANÁLISES .....	69
4.4	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	69
4.5	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	71
<b>4.5.1</b>	<b>Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos</b> .....	<b>71</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Contagem de coliformes totais e termotolerantes</b> .....	<b>71</b>
<b>4.5.3</b>	<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.</b> .....	<b>72</b>
<b>4.5.4</b>	<b>Contagem e identificação de <i>Aeromonas</i> spp.</b> .....	<b>72</b>
4.6	ANÁLISE DE DADOS .....	73
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>74</b>
5.1	MESÓFILOS .....	74
5.2	COLIFORMES TOTAIS, TERMOTOLERANTES E <i>E. coli</i> .....	76
5.3	<i>Aeromonas</i> spp.....	83
5.4	<i>Salmonella</i> spp. ....	90
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>93</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O estado de Mato Grosso destaca-se no cenário nacional pela grande disponibilidade em recursos hídricos, onde nasce a maioria dos rios de três grandes bacias hidrográficas brasileiras: a bacia Amazônica, a bacia Araguaia-Tocantins e a bacia Platina, que contribuem para inundações anuais sazonais de extensas áreas de planície, formando diversos *habitats* aquáticos e propiciando a existência de inúmeras espécies da ictiofauna. Em função desta expressiva diversidade, a pesca constitui a segunda maior atividade econômica do Pantanal o que faz do peixe o símbolo culinário da cultura mato-grossense, sendo os mais cobiçados exemplares de sua fauna aquática o *Brycon microlepis* (piraputanga), o *Piaractus mesopotamicus* (pacu), o *Pseudoplatystoma corruscans* (pintado), o *Colossoma macropomum* (tambaqui), o *Salminus maxillosus* (dourado), dentre outros.

A bacia do rio Cuiabá é uma das mais importantes do estado e abrange uma extensa área onde estão inseridos 13 municípios, dentre eles, Cuiabá e Várzea Grande, considerados os principais núcleos urbanos de todo o Mato Grosso, responsáveis pela intensificação dos impactos ambientais sobre o rio Cuiabá.

O rio Cuiabá despeja suas águas no rio Paraguai, banha a capital do estado e recebe vários afluentes, tendo fundamental importância no aspecto social e biológico. No primeiro, porque contribui para a economia pesqueira do estado que ainda tem na pesca extrativista um meio de sustento para inúmeras famílias ribeirinhas e ainda colabora para a pesca esportiva, que é um importante atrativo para o turismo regional. Com relação ao aspecto biológico, contribui com as inundações no período das chuvas, fertilizando o solo e dando vida ao Pantanal Mato-grossense, sendo o reservatório de 197 espécies de peixes, o que corresponde a 74,9 % das espécies de todo o Pantanal (FEMA, 2003).

Um agravante para o meio ambiente de Mato Grosso é o intenso crescimento populacional das três últimas décadas, onde, cidades como Cuiabá e Várzea Grande, por não possuírem infra-estrutura para absorver esta nova população, apresentam como resultado uma “macrocefalia urbana”, que dentre inúmeros problemas, convivem com a falta de saneamento básico, sendo o esgoto destas cidades despejado em pequenos córregos espalhados por toda a cidade que vão desaguar no rio Cuiabá, causando odor desagradável e, conseqüentemente, a contaminação do ambiente e animais dependentes desses ecossistemas.

Paralelamente ao crescimento populacional, a expansão da malha viária trouxe um incremento na industrialização do estado, voltada principalmente para produção agrícola, de alimentos e minerais, responsáveis por impactos ambientais sobre o rio Cuiabá devido à produção de resíduos químicos e biológicos com diferentes potenciais poluidores. Hoje, a bacia do rio Cuiabá é a principal bacia comprometida no estado, onde 71 indústrias são potencialmente poluidoras e responsáveis diretamente por lançar efluentes no rio Cuiabá, elevando a carga de coliformes fecais no mesmo (FEMA, 2003).

Mato Grosso ostenta as características ideais para a criação de peixes em cativeiro como água em abundância, clima adequado (com sol o ano inteiro), território extenso e plano, o que faz da piscicultura uma alternativa viável para suprir a carência dos recursos da pesca decorrente da intensa degradação dos rios.

De acordo com a Associação de Aqüicultores de Mato Grosso (AQUAMAT) o estado ocupa a 5ª posição no *ranking* dos estados produtores de peixes criados em cativeiro, e em 2007 produziu pouco mais de 20 mil toneladas, atrás apenas do Rio Grande do Sul, que é o maior produtor, São Paulo, Santa Catarina e Ceará. Do total de peixes capturados em Mato Grosso, apenas 24,5% vem da pesca extrativista e o restante sai dos viveiros de piscicultura, uma vez que os recursos naturais dos rios e lagoas naturais não mais provêm o sustento dos pescadores (PISCICULTURA ..., 2007).

Cabe salientar que, a piscicultura também requer cuidados no manejo de criação, especialmente com a água de abastecimento que, se não adequadamente tratada e proveniente de fontes poluidoras, assim como rios, oferece risco de transmissão de microrganismos patogênicos para o consumidor através do consumo de seus peixes.

Diante do exposto e considerando-se a contaminação multifatorial do rio Cuiabá, que pode apresentar como consequência direta a chegada à mesa do consumidor de peixes contaminados, e ainda, a escassez de dados científicos que comprovem a qualidade microbiológica de peixes capturados no rio Cuiabá, objetiva-se analisar as cargas microbianas presentes em piraputangas capturadas na bacia do rio Cuiabá e compará-las com exemplares cultivados em um viveiro. Desta forma, a dimensão dos aspectos inerentes à qualidade microbiológica deste pescado poderá servir como incentivo para a piscicultura do estado e alerta para os órgãos públicos competentes sobre a contaminação do rio Cuiabá, caso os peixes nele capturados apresentem contaminação elevada. Este estudo ganha relevância devido ao fato de que toda a contaminação recebida dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande pela bacia do rio Cuiabá se desloca em sentido ao complexo do Pantanal Mato-grossense, reconhecido como patrimônio da humanidade, já que o rio Cuiabá segue seu curso

neste sentido, e esta bacia está inserida em um estado com vocação eminentemente agropecuária e tradicionalmente reconhecido por suas riquezas naturais, como o peixe, e ainda, pelo fato de que hoje, mais de 70% do consumo anual de peixes do Mato Grosso é proveniente da piscicultura, como alternativa para a falência da pesca extrativista decorrente da degradação dos rios do estado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Caracterizar a qualidade microbiológica de peixes da espécie *Brycon microlepis* (Piraputanga) cultivados em um viveiro e capturados no rio Cuiabá.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Quantificar a carga de microrganismos mesófilos, coliformes totais e fecais existente nos peixes de rio e de viveiro;
- Verificar o grau de contaminação dos peixes em relação às bactérias dos gêneros *Aeromonas* e *Salmonella*;
- Relacionar os índices dos microrganismos pesquisados;
- Relacionar a influência da sazonalidade sobre os números e tipos de microrganismos isolados.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E DE EXPLORAÇÃO DA BACIA DO RIO CUIABÁ

O estado de Mato Grosso possui uma disponibilidade de água de 258.242 m<sup>3</sup>/ hab/ano, o que corresponde ao quinto lugar no cenário nacional em recursos hídricos, possuindo as nascentes da maioria dos rios de três grandes bacias hidrográficas brasileiras: a bacia Amazônica, a bacia Araguaia-Tocantins e a bacia Platina (TEIXEIRA, 1994).

A bacia Platina ou do rio da Prata é formada pelos rios Paraná, Uruguai e Paraguai, que também originam bacias distintas com seus respectivos nomes. A bacia do Paraguai (Figura 1) está localizada nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, no Mato Grosso recebe a denominação de Bacia do Alto Paraguai (BAP). A BAP é dividida em cinco sub-bacias (Figura 2): do rio Paraguai, do rio Cuiabá, do rio São Lourenço, do rio Itiquira e do Pantanal (CAVINATTO, 1995).

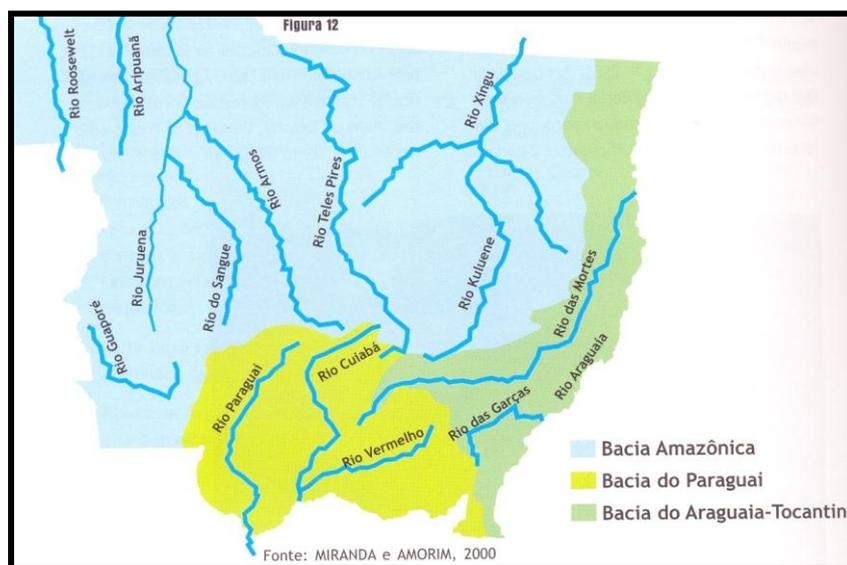


Figura 1 – Bacia do Paraguai e bacias ao redor: Amazonas e Araguaia-Tocantins  
Fonte: Libos (2002)

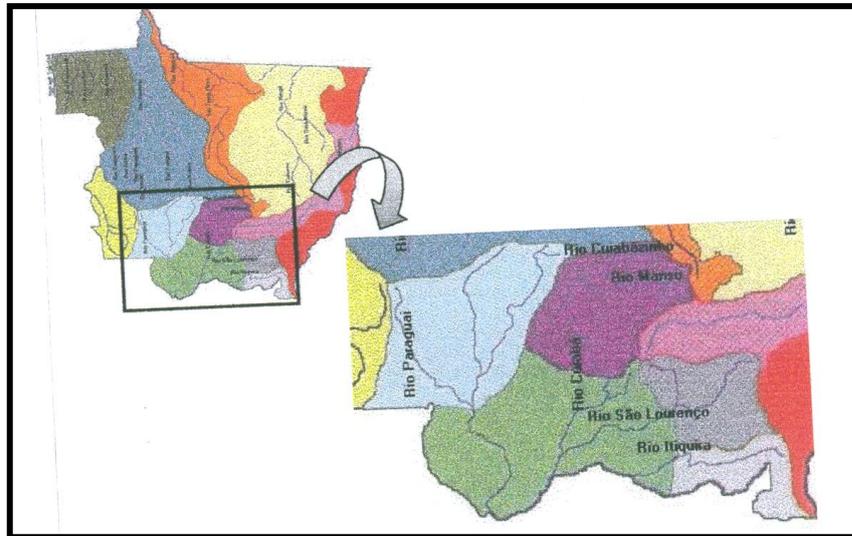


Figura 2 – Sub-bacias no estado de Mato Grosso, da bacia do Alto Paraguai (BAP)  
Fonte: Libos (2002)

A bacia do rio Cuiabá totaliza 29.000 Km<sup>2</sup> e está subdividida em cinco sub-bacias: a sub-bacia do alto Cuiabá, do médio Cuiabá, do baixo Cuiabá, do rio Coxipó e a do rio Manso (CAVINATTO, 1995) (Figura 3).

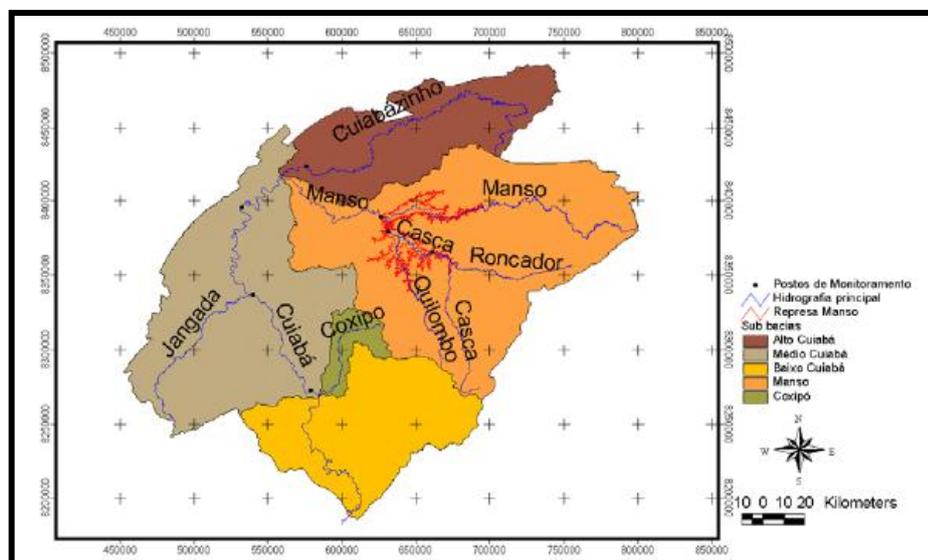


Figura 3 – Sub-bacias do rio Cuiabá  
Fonte: Libos (2002)

De acordo com o Plano de Conservação da Bacia do Alto Paraguai (PCBAP) (1997), na extensão da bacia do rio Cuiabá estão inseridos 13 municípios (Figura 4): Acorizal, Rosário Oeste, Nobres, Jangada, Nossa Senhora do Livramento, Nova Brasilândia, Chapada

dos Guimarães, Planalto da Serra, Santo Antônio do Lerverger, Campo Verde, Barão de Melgaço, Cuiabá e Várzea Grande, sendo os dois últimos os maiores pólos populacionais, representando 35% da população de todo o estado de Mato Grosso.

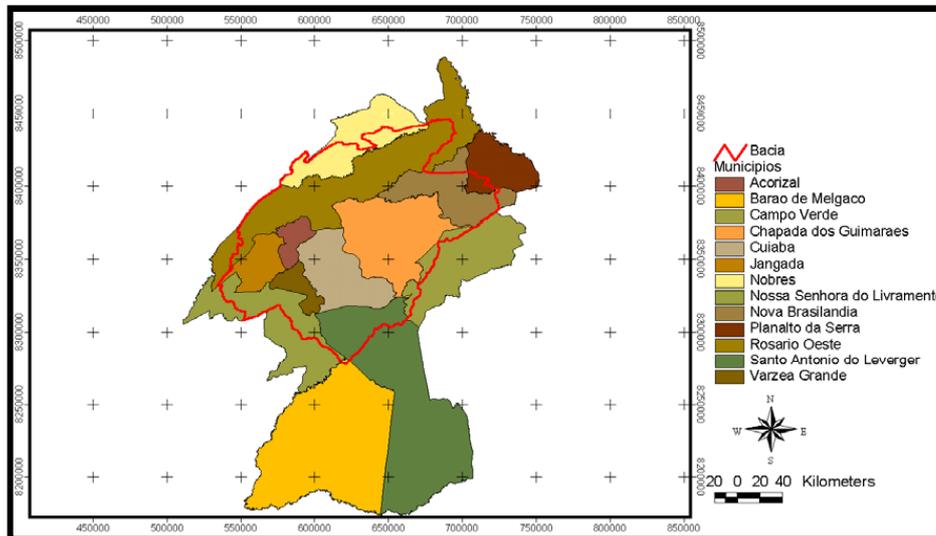


Figura 4 – Municípios pertencentes à sub-bacia do rio Cuiabá  
Fonte: Libos (2002)

A nascente do rio Cuiabá está localizada no município de Rosário Oeste e é formada pela confluência de dois riachos (Cuiabá do Bonito e Cuiabá do Largo) que ao se unirem originam o rio Cuiabazinho. Este, ao receber as águas do rio Manso, dobra seu volume e, então, recebe o nome de rio Cuiabá. Durante seu trajeto, o rio Cuiabá atravessa a sede dos municípios de Rosário Oeste, Acorizal, Cuiabá, Várzea Grande, Santo Antônio do Lerverger e Barão de Melgaço, em um percurso total de 828 km (TEIXEIRA, 1994).

Esta bacia se caracteriza por uma grande diversificação de recursos naturais, constituída por duas grandes formações naturais com características bióticas e abióticas definidas e próprias: a planície do Pantanal e as áreas de planaltos e serras circunvizinhas. Apresenta uma ocupação de 11,53% existindo uma grande área ainda inexplorada de 88,47% , sendo as atividades que ocupam a bacia são na maioria formadas por cultivos de soja e milho, e pecuária (VITAL et al., 1996).

### 3.2 A POLUIÇÃO E OS IMPACTOS AMBIENTAIS NA BACIA DO RIO CUIABÁ

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% das doenças relatadas em países em desenvolvimento são transmitidas pela água contaminada. A água está presente em quase todas as atividades do homem, por isso, o tratamento das águas servidas e o controle de

sua potabilidade são práticas obrigatórias para a manutenção da saúde de uma população (VEIGA et al., 2000).

O estado de Mato Grosso enfrenta na atualidade problemas sociais e ambientais dos mais diversos, associados ao tipo de desenvolvimento econômico, político e social adotado pelo estado, que culminam com a poluição de seus rios e lagoas (LIMA, 2001).

Poluição é um substantivo derivado de uma palavra latina (*pollu'ere*) que significa sujar. Os termos poluição, contaminação, moléstia e degradação da água são freqüentemente usados como sinônimos para descrever as condições defeituosas das águas superficiais e subterrâneas, causadas pelo homem ou devido às atividades humanas que são prejudiciais ao meio ambiente (NOVOTNY e OLEM, 1994).

A poluição das águas dos rios, segundo Naranjo (1997), é usualmente originada de fontes pontuais como esgotos domésticos e industriais, bem como de fontes não pontuais ou difusas, como escoamento de agricultura (Figura 5), e de acordo com Fellenberg (1980) e Mota (1995), o Brasil enfrenta uma grande variedade de poluentes destas duas fontes



Figura 5 – Fontes de poluição  
Fonte: Davis e Cornwell (1998)

Considerando-se que um dos principais usos da água é a diluição de despejos domésticos e industriais, o impacto que esse uso provoca no rio Cuiabá é alarmante, pois tem sido amplamente utilizado para a diluição dos efluentes produzidos por Cuiabá e Várzea Grande, que juntas são responsáveis por 94% de toda a poluição orgânica de origem doméstica, elevando sua carga microbiana, e, conseqüentemente, causando a contaminação dos animais aquáticos ali existentes (TEIXEIRA, 1994).

O acesso à rede coletora de esgoto responde pelo índice mais preocupante da Bacia, ficando abaixo da média nacional, não obstante estar acima da média estadual. A poluição na bacia do rio Cuiabá é principalmente de origem pontual, e ocorre em grande parte devido à falta de tratamento dos efluentes domésticos da Grande Cuiabá, onde de acordo com Piaia (1999), apenas 6% do esgoto doméstico de Cuiabá é tratado e o restante é despejado nos pequenos córregos espalhados por toda a cidade, que vão desaguar no rio Cuiabá, contaminando-o e causando odor desagradável e doenças (Figura 6).



Figura 6 – Córrego da Prainha: importante receptor de esgoto de Cuiabá  
Fonte: Mello (2007)

As principais indústrias do estado estão concentradas na bacia do rio Cuiabá, principalmente nos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, sendo o principal segmento industrial o setor alimentício, principalmente matadouros, indústrias de bebidas e produtoras de óleo e arroz, considerados fontes pontuais de contaminação do rio Cuiabá devido à produção de resíduos químicos e biológicos com diferentes potenciais poluidores (AEDIMAT, 1995).

O serviço de coleta de lixo da bacia também é deficiente, constituído de todo tipo de material, como plástico, madeira, ferro, vidro, embalagens diversas, inclusive móveis e eletrodomésticos em geral; conferindo ameaça à bacia, já que, quando não recolhido pelos caminhões de coleta, tem como destino os terrenos baldios e córregos da cidade, que levam toda a sujeira para o rio Cuiabá. Desta forma, os pequenos afluentes que deveriam funcionar para dar vida ao rio, estão sufocados pela poluição e colaboram para a degradação do rio (SOUZA, 2005).

Ongley (1997) afirma que a contaminação das águas decorrentes de fontes não pontuais é resultado de atividades em que os contaminantes não têm um ponto definido de entrada nos cursos de água que os recebem, sendo as cargas poluidoras geradas em áreas extensas e chegam aos corpos de água de forma intermitente, dificultando assim sua identificação, medição e controle. Segundo Portugal (2001), na maioria dos países, todos os tipos de práticas agrícolas e formas de utilização da terra, incluindo as atividades de alimentação de animais, são considerados como fontes não pontuais

De acordo com a Fundação de Meio Ambiente de Mato Grosso (FEMA) (2003), a contaminação de origem não pontual ocorre em quase toda a extensão da bacia do rio Cuiabá, em decorrência da utilização desregrada de agentes químicos e pesticidas e da gestão incorreta das volumosas quantidades de resíduos orgânicos gerados pelas explorações agropecuárias.

Um agravante aos danos ocasionados ao meio ambiente de Mato Grosso é causado pelo homem - o assoreamento dos rios, que corresponde ao aumento de sedimentos em diversos trechos do rio, que desorganiza o fluxo dos cursos de água e interfere nos deslocamentos tróficos e reprodutivos dos peixes, destruindo a vida aquática e aumentando os efeitos nocivos dos poluentes químicos e do esgoto doméstico despejado comumente sobre os rios (BICUDO e HELENE, 1994) e principalmente sobre o rio Cuiabá. Prova disto é a queixa constante de pescadores a respeito da redução de peixes capturados no rio, o que pode levar por extinguir antigas colônias de pescadores da região (OLIVEIRA, 2000).

No meio aquático qualquer alteração das condições da água resulta em conseqüências significativas nas formas de vida que ali existem (CASTRO et al., 2003), já que a qualidade da água de rios e mares interfere nos hábitos alimentares e comportamentais dos peixes, bem como na sua conformação física, portanto, catástrofes ambientais podem causar impacto negativo levando à morte milhares de peixes e quando não, sua contaminação por agentes patogênicos nocivos ao homem (MÖLLERKE et al., 2002).

A introdução excessiva de matéria orgânica na água permite um exacerbado desenvolvimento de fitoplâncton, o que acarreta desequilíbrio ecológico, depressão das concentrações de oxigênio dissolvido e asfixia dos seres aeróbios (RANZANI-PAIVA e TAKEMOTO, 2004), ou ainda afetar a qualidade do peixe produzido, em virtude da grande variedade de compostos sintetizados por estes organismos que, ao serem absorvidos pelos peixes, tornam-se impróprios para o consumo (BOYD, 1972).

Toda forma de contaminação ambiental que promove agressões à natureza aquática ou terrestre, acaba por retornar ao homem também de forma agressiva, neste caso pela ingestão

de peixes de baixa qualidade higiênica e sanitária que podem transmitir doenças leves, moderadas à graves (SILVA et al., 2002).

Pode-se ressaltar que não apenas a bacia do rio Cuiabá, mas todo o meio ambiente do estado de Mato Grosso sofre com o desenvolvimento desordenado e desestruturado e, a poluição das águas da bacia do rio Cuiabá representa inclusive fator de risco à população. No rio Cuiabá já não é possível tomar banho, beber sua água e consumir seus peixes pelo alto nível de contaminação microbiana, que piora por ocasião das estiagens (ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DE MATO GROSSO, 2008).

### **3.3 A PISCICULTURA: UMA ALTERNATIVA VIÁVEL**

Um dos maiores desafios deste século continua sendo a produção de alimentos, e segundo estudos divulgados pela ONU (Organização das Nações Unidas), a população humana duplica a cada 50 anos (FAO, 2008). Essa situação implica na necessidade de duplicar também a quantidade de alimentos, para que seja no mínimo, mantido o mesmo estado de nutrição que prevalece hoje no mundo – apenas 20% da população mundial está adequadamente nutrida (SILIMON, 1994).

No Brasil mais de 50% da população é subnutrida, com consumo diário de proteína de alto valor nutritivo em torno de 19g ao dia, contrastando com os 56g diários consumidos pelos habitantes de países desenvolvidos (STEMPNIEWSKI, 1986).

A piscicultura é um ramo da aqüicultura – criação de organismos aquáticos em condições controladas (MEDEIROS, 2002) – que vem se mostrando em todo mundo como uma alternativa atraente e economicamente sustentável na produção de alimento altamente nutritivo – o peixe.

Kubitza et al. (1999) propõem a piscicultura como alternativa para suprir a redução dos estoques naturais de rios e lagoas decorrentes da degradação ambiental, que se bem planejada e monitorada, garante baixo custo de produção e pode ser praticada em áreas impróprias para a agricultura e ainda, confere usos múltiplos a grandes coleções de água parada no ambiente, além de abastecer o mercado por prazo determinado pelo piscicultor e ter o potencial de geração de empregos na indústria pesqueira.

Cyrino e Kubitza (1996) atribuem as vantagens oferecidas pela piscicultura aos contínuos avanços e técnicas de produção que vêm se desenvolvendo na atualidade, mas

afirmam que, no Brasil, ainda há muito o que se fazer em termos de regulamentação do uso da água e do solo, do translocamento e introdução de espécies de peixes.

No caso de Mato Grosso, a lei 8464 de quatro de abril de 2006 definiu e disciplinou a piscicultura no estado, e é vista como o principal passo para o desenvolvimento desta atividade, pois, dentre outras atribuições, prevê a utilização de recursos hídricos do ambiente, o que estimula a criação, industrialização e comércio de peixes e jacarés criados em cativeiro e isenta a cobrança de ICMS ao piscicultor, trazendo benefícios fiscais e aumentando sobremaneira a produção de forma qualitativa e sustentável (PISCICULTURA, 2007).

De acordo com Medeiros (2002), Mato Grosso vem desenvolvendo políticas para o aproveitamento de ribeirinhos que vivem da pesca extrativista sazonal, a se dedicarem à criação de peixes de tanque ou viveiro, trazendo benefícios como renda anual estável, diminuição da pressão de pesca predatória sobre os rios e maior oferta de pescado de boa qualidade ao consumidor, considerando-se os impactos ambientais sofridos pelos principais rios do estado. Exemplo disto é o projeto que o governo do estado está desenvolvendo em algumas aldeias indígenas de Mato Grosso, onde índios da tribo “Bororo” serão capacitados para a criação de peixes que serão doados e alocados em lagoas destas comunidades a fim de suprir a carência de peixes decorrente da intensa degradação de rios locais (SEAP, 2007).

Mato Grosso tem condições absolutamente favoráveis para que a piscicultura se torne uma das maiores economias do estado. Dos seis biomas brasileiros (Amazônia, Cerrado, Pantanal, Caatinga, Mata Atlântica e Pampa), o estado abriga os três primeiros, em seus 900 km<sup>2</sup>, além de três bacias hidrográficas brasileiras (e a maior diversidade de espécies de peixes do mundo), três vegetações distintas, clima estável e chuvas regulares (BROWN, 1986).

Estatísticas indicam que o aquecimento da demanda externa está dando novos rumos à piscicultura brasileira, e que em 2010, o mundo estará produzindo algo em torno de três milhões de toneladas de pescado, e o Brasil tende a acompanhar o ritmo do mercado internacional (PISCICULTURA ..., 2007).

Neste sentido, o Mato Grosso se prepara para atender à essa demanda. Atualmente, a produção estadual de peixes é de aproximadamente 20 mil toneladas ao ano, onde do total de peixes capturados, apenas 24,5% vem da pesca extrativista e o restante sai dos viveiros de piscicultura, uma vez que os recursos naturais dos rios e lagoas naturais não mais provêm o sustento dos pescadores em consequência da poluição ambiental (PISCICULTURA..., 2007).

Conforme Melo (1999), as características da água de alguma forma afetam a sobrevivência, reprodução, crescimento, produção ou manejo de peixes, por isto, Proença e Bittencourt (1994) reportam que previamente à implantação de qualquer sistema de cultivo

torna-se importante uma avaliação quantitativa e qualitativa dos recursos hídricos disponíveis. O fator quantitativo é relativo ao volume de água necessário para suprir os viveiros durante todas as épocas do ano, e o fator qualitativo refere-se aos aspectos microbiológicos e físico-químicos da água.

Na emergente aquicultura mundial, onde os peixes são criados em viveiros escavados na terra ou em reservatórios de água desprotegidos, expostos à contaminação ambiental de variadas fontes, como à de esgotos urbanos, de fezes de animais, ou pela introdução de alimentos ou equipamentos contaminados, aliado ao clima quente predispõe à multiplicação de microrganismos patogênicos ao homem (PEDRAHITA, 1990).

Outro aspecto importante relacionado à intensificação das criações de peixes é o uso crescente de antimicrobianos na profilaxia e no tratamento de doenças, o que tem gerado um aumento global da resistência bacteriana a múltiplas drogas, destacando-se o gênero *Aeromonas*, que pode causar doença nos peixes e no homem (CHAUDRHURY et al., 1996)

Portanto, a questão não é apenas produzir peixes, mas assegurar sua qualidade para o consumidor final, o que torna necessário um manejo adequado dos tanques e viveiros a fim de prevenir a transmissão de patógenos (SANTOS et al., 2002).

### **3.4 O PESCADO COMO ALIMENTO**

Pescado é definido como tudo aquilo que é retirado de água doce ou salgada que direta ou indiretamente possa servir para a alimentação humana, inclusive algas marinhas e outras plantas, compreendendo os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos (BRASIL, 1952).

Atualmente, um número cada vez maior de pessoas dá preferência ao peixe como uma alternativa saudável se comparada à carne de outros animais, pois se preocupam com os aspectos da saúde, em particular, nos países desenvolvidos onde a mortalidade por doença cardiovascular é elevada e o nível sócio-cultural é elevado, com um maior número de pessoas esclarecidas (ALMEIDA FILHO et al., 2001).

Neste contexto o pescado desempenha papel relevante na economia de diversos países, como consequência de sua abundância e excelente composição nutritiva, alta digestibilidade e baixos níveis calóricos e a exemplo de carnes, leites e ovos, o músculo esquelético do pescado é rico em proteínas e lipídeos, constituindo para a nutrição humana excelente fonte de aminoácidos essenciais (OGAWA e MAIA, 1999).

Cabe ressaltar que os lipídeos de pescado, além de constituírem uma fonte energética, são ricos em ácidos graxos poliinsaturados, que apresentam efeito redutor sobre os triglicéridos e colesterol sanguíneo, reduzindo o risco de ateromas (FERRETI et al., 1994). Com relação aos teores de vitaminas, o pescado é rico na vitamina B1 e nas lipossolúveis, essencialmente A e D nos músculos de peixes gordos (com mais de 8 % de gordura) e no fígado dos demais peixes (GERMANO E GERMANO, 2001).

### 3.5 MICROBIOTA NATURAL DO PESCADO FRESCO

Em geral, o peixe, como qualquer outro alimento, apresenta uma microbiota própria, principalmente na superfície corporal, vísceras e guelras, por estarem em contato com a água, coexistindo em equilíbrio biológico no peixe vivo. Com a despesca, as defesas naturais deixam de existir, passando os demais tecidos a serem infectados após a morte do animal, já que o músculo do pescado vivo é estéril (OGAWA e MAIA, 1999; VIEIRA, 2004).

Segundo Strauss (1985), a invasão da musculatura de peixes com microrganismos do ambiente pode ocorrer quando crescem em lagoas contendo concentrações de coliformes fecais e salmonelas maiores que  $10^4$  e  $10^5$  por 100 ml, respectivamente, sendo que o potencial de invasão do músculo aumenta com a duração de exposição do peixe com a água contaminada. Algumas evidências sugerem que existem poucos microrganismos entéricos patogênicos nos peixes quando a concentração de coliformes fecais na água é  $< 10^3/100$  mL, no entanto, mesmo com baixas contagens bacterianas, pode haver contaminação da carne quando na manipulação e evisceração inadequados, constituindo fatores de risco ao consumidor se os padrões de higiene forem inadequados.

A microbiota natural do pescado apresenta características peculiares e é tanto mais rica em microrganismos quanto mais poluída for a água da qual ele advém, sendo portanto formada pelos microrganismos de seu *habitat* e refletindo desta forma, a qualidade microbiológica da água (NASCIMENTO et al., 2001; JAY, 2005).

A contaminação do pescado vivo com bactérias da microbiota normal do meio natural não pode ser obviamente controlada e não necessita de o ser (trata-se de um perigo, mas não apresenta um risco). Todavia, a contaminação do pescado com bactérias provenientes do homem e outros animais representa risco de transmissão de patógenos que pode ser reduzida através da vigilância das áreas de pesca e da regulamentação da pesca no caso de elevados níveis de poluição urbana ou industrial serem evidentes (FAO, 2008).

De acordo com Frazier e Westhoff (1993) além dos cuidados após captura do pescado como acondicionamento no gelo, higiene a bordo e qualidade microbiológica da água aonde foram capturados, um fator que exerce influência no grau de contaminação do pescado é o método de captura. Ou seja, capturas com rede, as mesmas entram em contato com o fundo do local (mar, lagos, rios) resultando na exposição dos peixes a altas quantidades de bactérias, pelo distúrbio das águas e dos sedimentos, refletindo nas contagens iniciais dos microrganismos do pescado.

Os microrganismos naturais do pescado variam fundamentalmente em função da temperatura da água, sendo os gêneros predominantes em águas temperadas bactérias Gram-negativas, como *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Shewanella* e *Vibrio*; já as espécies bacterianas freqüentemente presentes em pescados de águas tropicais são Gram-positivas, como *Bacillus*, *Micrococcus* e bactérias corineformes, tendendo a um comportamento mesofílico (VIEIRA, 2004)

De acordo com Frazier e Westhoff (1993), no muco que recobre a superfície externa do pescado marinho se encontram bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio* e *Bacillus*, podendo a contagem destes microrganismos variar de 100 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) a vários milhões por cm<sup>2</sup> e o fluido intestinal pode conter até 100 milhões de UFC/mL. Os mesmos autores citam que estão presentes em peixes de água doce, além dos gêneros anteriormente citados, microrganismos que fazem parte da microbiota da água, como *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium* e *Streptococcus*; e no intestino dos peixes comumente se encontram bactérias dos gêneros *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* e *Escherichia*.

O pescado, como qualquer outro animal, logo após a morte sofre uma série de alterações microbiológicas, químicas e físicas, levando ao final à completa deterioração. Estas alterações começam pela ação enzimática (autólise) que hidrolisam proteínas e gorduras e culminam com a ação microbiana (deterioração) que promove alterações químicas e físicas profundas no pescado e sua conseqüente deterioração (SIRORSKI, 1994).

A contaminação primária do pescado pode ser considerada relevante, gerando conseqüências a outros pontos da cadeia produtiva, reduzindo sua vida-de-prateleira e interferindo diretamente na conservação e comercialização do produto final, e até mesmo causar doenças ao consumidor (SILVA et al., 2002).

Nota-se que, ainda que as investigações sejam todas dirigidas para microrganismos de importância para a Saúde Pública, o pescado, mesmo capturado em águas não poluídas,

deteriora-se em pouco tempo se não devidamente processado, e a causa desta deterioração é a multiplicação rápida das bactérias da microbiota natural do pescado, que normalmente são psicrófilas, como *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Flavobacterium*, sendo capazes de se desenvolver enquanto o pescado está armazenado no gelo (LISTON, 1980).

Objetivando-se retardar as reações químicas e enzimáticas do pescado, além de minimizar ou cessar a atividade dos microrganismos, preconiza-se o uso do gelo ou refrigeração mecânica, usados como o principal método de conservação ou conservação temporária até que outro processo seja instalado (VIEIRA, 2004).

A velocidade de decomposição vai depender do número e das espécies bacterianas da microbiota natural, uma vez que há grande variação no comportamento destas com relação à deterioração, associados com as enzimas endógenas no pescado. No entanto, as enzimas responsáveis pela autólise surgem do próprio músculo e seu controle é mais complicado, a menos que algum tratamento drástico seja realizado (ROSINVALLI e CHARM, 1975).

Portanto, para retardar a deterioração e prolongar a vida-de-prateleira do pescado, é preciso manter sua microbiota e aspectos sensoriais semelhantes àqueles que estavam presentes na captura, o que vai determinar a qualidade sensorial e microbiológica do mesmo (OGAWA e MAIA, 1999).

### **3.6 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS VEICULADOS PELO PESCADO**

Os peixes além de representarem importante fonte nutricional com inúmeros benéficos para a saúde humana (FERRETI et al., 1994), podem também ser fonte de patógenos e causar doenças, na maioria das vezes relacionadas à toxinas e viroses, mas também bactérias patogênicas naturais do ambiente aquático ou derivadas de águas poluídas e/ou de contaminação pós-captura (OGAWA e MAIA, 1999).

Nas últimas duas décadas, as atenções dos ambientalistas e comunidade científica têm se voltado para a crescente degradação ambiental de florestas, rios e mares, aonde têm sido depositados uma série de componentes orgânicos e inorgânicos que colocam em risco a saúde de quem consome alimentos retirados desse ecossistema. No caso de ambientes aquáticos, os peixes são diretamente afetados, pois, ainda no seu *habitat* são contaminados por determinados patógenos, como por exemplo, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* (NAS, 1991), além de substâncias químicas nocivas ao homem (GARRET et al., 1997).

A principal causa de doenças diarréicas é a ingestão de alimento e/ou água contaminados por microrganismos patogênicos, o que torna relevante o pescado, uma vez que pode veicular uma gama enorme de microrganismos patogênicos para o homem, a maior parte deles resultado da contaminação ambiental, sendo o lançamento de esgotos nas águas de reservatórios, lagos, rios e mares a causa poluidora mais comumente registrada em muitas regiões do mundo (CONSTANTINIDO, 1994).

A transmissão de agentes patogênicos ao homem através do consumo de peixe tem sido relatada com maior frequência, e se atribui a diversos fatores como: melhor reconhecimento de sintomas pelos serviços de saúde, maior frequência de exposição a peixes contaminados, aumento da contaminação de ambientes aquáticos e aumento das populações expostas à doenças de origem alimentar (STOSKOPF, 1993).

Outra fonte de contaminação importante para o pescado é o manejo, desde a captura, ainda nos barcos pesqueiros (ZICAN, 1994), até sua destinação final, após passar por inúmeras fases de processamento e transporte (CARDONHA et al., 1994).

Durante as fases de processamento, os contaminantes mais comuns do peixe são os coliformes, principalmente *Escherichia coli*, os enterococos e os estafilococos. Normalmente, a fonte de contaminação é o próprio manuseio do pescado, mas se o peixe for capturado em águas contaminadas, principalmente próximo a esgotos, poderá chegar à indústria já com um alto índice desses microrganismos citados ou outros encontrados na água (VIEIRA et al., 2001).

Os microrganismos presentes no pescado podem ser classificados em: microrganismos deterioradores, microrganismos indicadores de higiene ou processamento inadequado, microrganismos indicadores de manipulação inadequada, microrganismos indicadores de contaminação fecal, microrganismos potencialmente capazes de causar doenças pela ingestão das células bacterianas no pescado (infecção alimentar) ou pela ingestão de toxinas pré-formadas no pescado (intoxicação alimentar) (PIMENTEL e PANETTA, 2003).

Alexandrino (1998) relata que os agentes bacterianos patogênicos têm sido identificados como os perigos mais frequentemente envolvidos com pescados de cultivo, estando relacionados à práticas impróprias de criação, poluição ambiental e hábitos culturais de preparo e consumo do alimento. O autor ressalta que as maiores perdas na produção são causadas pelo manejo inadequado, ou seja, má qualidade da água, ração inadequada, pouca higiene com os peixes, com os tanques, com os equipamentos e fundamentalmente,

deficiência ou inexistência de Boas Práticas de Fabricação, favorecendo o aparecimento e disseminação de doenças.

Na produção aquícola uma grande variedade de microrganismos pode ser identificada, sem estar provocando doença nos peixes. No entanto, estes peixes podem servir de via de transmissão de agentes patogênicos para o homem, como coliformes fecais e *Salmonella*, no caso de viveiros em contaminados por fezes humanas e de animais (ALVES, 2002).

Com relação ao tipo de produção aquícola, ainda é comum a prática do uso de viveiros em consórcio com suinocultura e avicultura, onde piscicultores utilizam as fezes dos animais para produzirem algas e alimentarem os peixes. Este procedimento causa contaminação da água e dos peixes com enterobactérias, coliformes e *Salmonella*, além de aumentar a matéria orgânica e diminuir a concentração de oxigênio, causando enfermidades também nos peixes (MURATORI, 1994; LEHANE e RAWLIN, 2000).

Na família *Enterobacteriaceae*, incluem-se alguns dos patógenos intestinais mais importantes, reconhecidos por sua elevada frequência como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* e alguns tipos patogênicos de *Escherichia coli*, bem como outros cuja frequência é reduzida, mas que podem ser responsáveis por surtos diarreicos (MURRAY et al., 1998).

Neste contexto, ressalta-se a *Edwardsiella tarda* como agente causal de mortalidade de tilápias criadas em viveiro em consórcio com suínos, sendo considerado um importante patógeno emergente também para o homem (MURATORI et al., 2001).

A seguir, serão descritos alguns microrganismos veiculados pelo pescado de água doce, através dos quais podemos não só ajuizar da contaminação dos pescados por microrganismos patogênicos, como também apurar o nível de higiene e sanidade dos pescados.

### **3.6.1 Coliformes e *Escherichia coli***

Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* não esporulados, que fermentam a lactose com produção de gás, dentro de 24 a 48 horas a 35°C, sendo esta única característica suficiente para determinações presuntivas (JAY, 2005).

Este grupo, também designado por coliformes totais, inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto as bactérias originárias do trato gastrintestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também bactérias não entéricas, que estão em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias

patogênicas de origem intestinal (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Por essa razão, sua enumeração em água e alimentos não indica necessariamente, a contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (*ibid.*).

Silva et al. (2001) afirmam que a detecção de coliformes totais em alimentos processados é considerada um indicativo útil de contaminação do produto pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos, ou seja, insatisfatórias.

Coliformes termotolerantes ou fecais são assim chamadas bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás quando incubadas em 24 horas, entre 44,5 e 45,5°C (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Esta classificação em coliformes fecais objetivou, em princípio, selecionar apenas os coliformes originados do trato gastrointestinal. No entanto, hoje é sabido que o grupo dos coliformes fecais inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos incluem cepas de origem não fecal. Por esta razão, a presença de coliformes fecais em alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração direta de *E. coli*, porém mais significativa que a presença de coliformes totais, devido à alta incidência de *E. coli* dentro do grupo fecal (SILVA et al., 2001; VIEIRA, 2004).

O *habitat* natural dos coliformes termotolerantes e *E. coli* são os intestinos do homem e animais de sangue quente e quando existem normalmente na água, ocorrem em menor número. Nas águas temperadas, estes organismos estão ausentes no peixe e nos crustáceos ao serem capturados, a menos que sejam provenientes de águas muito poluídas (MOSEL, 1967).

Cardoso et al. (2001) citam que os coliformes termotolerantes não se multiplicam e não se mantêm viáveis na água ambiental por longos intervalos de tempo, devido às baixas concentrações de nutrientes e da temperatura adversa, sendo assim, sua presença é indicativo de contaminação fecal recente. Por outro lado, Fujioka et al. (1988) e Hazen (1988) mostraram que a *E. coli* e outros coliformes termotolerantes podem ser encontrados em águas tropicais não poluídas e que a *E. coli* pode sobreviver indefinidamente nestes ambientes, desta maneira, nos trópicos a *E. coli* ou os coliformes fecais não são indicadores de confiança da contaminação biológica recente ou de descargas de efluentes domésticos no ambiente aquático.

A maioria dos pesquisadores concorda que a *E. coli* é o principal microrganismo indicador de contaminação fecal do alimento, presumindo-se a possibilidade de germes

patogênicos estarem no produto, em razão de suas más condições higiênicas (ORDOÑEZ, 2005; BRASIL, 2001; VIEIRA, 2004), o que segundo Jay (2005) se deve ao período de sobrevivência da *E. coli* ser semelhante ao de bactérias intestinais patogênicas.

O grupo coliforme pode ser pesquisado por meio da técnica de tubos múltiplos que expressa uma estimativa estatística do número de microrganismos presentes na amostra, conhecida como Número Mais Provável (NMP), que indiretamente informa sobre a provável presença de patógenos entéricos (SILVA et al., 2001).

Em pescado, a presença de *E. coli* está associada não apenas à contaminação fecal da água do local de captura, mas também do transporte e manuseio, processamento e utensílios que, ocasionalmente contaminados, tenham entrado em contato com o pescado fresco, portanto, *E. coli* é particularmente útil como indicador de contaminação ou manuseamento incorreto, tal como temperatura elevada durante o manuseamento do produto (GASPAR et al., 1997) e quando presentes em peixes marinhos, estabelecem-se na superfície e trato intestinal (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

Um inconveniente é o fato que a resistência de *E. coli* à condições químicas e físicas adversas é baixa, o que a torna um organismo indicador de menor utilidade no exame da água e de produtos da pesca congelados ou submetidos a outro processo de conservação. Assim, está bem estabelecido que vírus entéricos sobrevivem por mais tempo que a *E. coli* na água do mar (FAO, 2008) e que a *E. coli* é menos resistente do que a *Salmonella* em produtos congelados (MOSSSEL, 1967).

Os coliformes totais e termotolerantes foram utilizados como indicadores da qualidade higiênico-sanitária de pescados por vários autores, tais como Aquino et al. (1996), Dams et al. (1996), Hoffman (1999), Vieira (2000), Agnese et al. (2001), Lira et al. (2001), Almeida Filho et al. (2002), Andrade et al. (2002), Möllerke et al. (2002), Silva et al. (2002), Cardoso et al. (2003), dentre outros.

Almeida Filho et al. (2002) constataram que regiões ribeirinhas de Mato Grosso aonde a oferta de peixes é impulsionada por hábitos regionais têm grande possibilidade de ocorrência de doenças de origem alimentar pela ingestão de peixe contaminado por microrganismos patogênicos. Estes autores ao avaliarem a carga microbiana de peixe pintado (*Pseudoplatyistoma corruscans*) oriundo do Pantanal Mato-grossense comercializado em supermercados e feiras livres em Cuiabá, encontraram contaminação por coliformes totais em 90,9% das amostras, com valores variando de  $<0,3$  a  $1,1 \times 10^4$  NMP/g para peixes de supermercado e  $4,3 \times 10$  a  $1,1 \times 10^6$  NMP/g para peixes de feiras livres e apenas uma amostra positiva para coliformes fecais, colhida de feira ( $1,1 \times 10^3$  NMP/g).

Aquino et al. (1996) encontraram coliformes em 73,4% das amostras de peixes congelados comercializados em Manaus, com variações entre  $<10$  a  $2,4 \times 10^5$  UFC/g para coliformes totais e  $3,6$  a  $2,4 \times 10^5$  UFC/g para coliformes fecais.

Möllerke et al. (2002) evidenciaram variações para coliformes totais de  $<3,0$  a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g e uma contaminação de 8,14% por coliformes fecais, com variações de  $<3,0$  a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g, sendo *E. coli* em 33,72% das amostras de peixes oriundos do Lago Guaíba, em Porto Alegre/RS.

Agnese et al. (2001) avaliando as condições higiênico-sanitárias de 26 amostras de pescado fresco comercializado em Seropédica/RJ encontraram variações de coliformes totais de  $4$  a  $2,4 \times 10^3$  NMP/g, variações para coliformes fecais de  $<3,0$  a  $2,3 \times 10$  NMP/g e 9 amostras positivas para *E. coli* (34,6%).

Hoffman (1999) analisou 11 amostras de peixes no mercado de São José do Rio Preto/SP e encontrou positividade para *E. coli* em duas amostras.

Andrade et al. (2002) analisaram peixes adquiridos em um mercado no município de Campos dos Goytacazer, RJ e encontraram uma variação para coliformes totais de  $0,3 \times 10^3$  a  $3,0 \times 10^6$  UFC/g para filé de peixe e para peixe inteiro uma variação de  $0,5 \times 10^4$  a  $1,5 \times 10^6$  UFC/g e 66% das amostras de peixes contaminadas por *E. coli*.

Cardoso et al. (2003) encontraram contagens de coliformes totais entre  $<10$  a  $4,6 \times 10^4$  UFC/g para peixe resfriado, enquanto que para peixe congelado a variação foi de  $<1,0 \times 10^1$  a  $4,0 \times 10^3$  UFC/g.

Dams et al. (1996) encontraram uma variação de coliformes totais de  $<3$  a  $2,4 \times 10^5$  NMP/g para pescado inteiro fresco, de  $<3$  a  $2,3 \times 10^3$  NMP/g para pescado congelado e  $4,0 \times 10^2$  a  $2,0 \times 10^6$  NMP/g para filés de pescadinhas em uma indústria em Santa Catarina.

Lira et al. (2001) encontraram variações de coliformes totais de  $<3,0$  a  $2,4 \times 10^2$  NMP/g ao analisar peixe inteiro fresco comercializado em Maceió/AL.

Vieira (2000) em Campina Grande/PB estudou a contaminação por coliformes em 60 peixes na cadeia produtiva. Inicialmente obteve em peixes resfriados concentrações de  $3,0$  NMP/g para coliformes totais e fecais, já em filés congelados encontrou valores de  $2,4 \times 10^3$  NMP/g

Silva et al. (2002) ao avaliarem a contagem de coliformes fecais em peixes comercializados em feiras livres e supermercados em Maceió/AL detectaram contagens variando de  $1,5 \times 10^2$  a  $1,1 \times 10^7$  NMP/g.

Liuron (2003) analisou a qualidade microbiológica de peixes Tilápia em 30 pesqueiros na região metropolitana de São Paulo, no tocante a coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp.

em um período de 12 meses, divididos em dois períodos: seco e chuvoso. Concluiu que os limites mínimo e máximo de NMP/g de coliformes totais nos períodos seco e chuvoso, respectivamente de  $<0,3$  a  $4,6 \times 10^7$  NMP/g e  $<0,9$  a  $1,7 \times 10^7$  NMP/g; e coliformes termotolerantes variaram nos períodos seco e chuvoso, de  $<0,1$  a  $1,2 \times 10^4$  NMP/g e  $<0,1$  a  $6,8 \times 10^4$  NMP/g, respectivamente.

Esposito et al. (2007) analisaram durante o período de abril de 2000 a julho de 2001 (em um total de 18 coletas) a qualidade microbiológica com relação a enterobactérias de Tilápias (*Tilapia nilotica*), também da água e da cama de galinha usada como adubo em uma estação experimental de tratamento de águas residuárias (lagoas de estabilização), no município de Petrópolis, RJ. A técnica para obtenção das amostras de peixes utilizada foi a destrutiva, onde os autores maceraram separadamente a musculatura, as vísceras (macerado de fígado, baço e intestinos), as guelras e a pele de *pools* de peixes (compostos por três a cinco indivíduos). Verificaram a presença de 116 cepas de quatro gêneros enteropatógenos, em 16 das 18 coletas realizadas, entre elas os coliformes *Edwardsiella tarda* (15,5%) e *Plesiomonas shigelloides* (12%), ambos isolados das amostras de músculos, vísceras, guelras, pele. A presença dos microrganismos foi associada à contaminação da água da estação e da cama de galinha, as quais apresentaram os mesmos microrganismos dos peixes. A análise comparativa quanto ao isolamento dos diferentes enteropatógenos em função das coletas evidenciou que *Edwardsiella tarda* e *Plesiomonas shigelloides* foram isoladas em oito (44,4%) e 10 coletas (55,5%), respectivamente.

*Edwardsiella tarda* é a única espécie do gênero com importância médica., sendo seus principais reservatórios os répteis (particularmente serpentes, sapos e tartarugas) e peixes de água doce. Sua presença confere insalubridade do peixe, por ser responsabilizada por muitos casos de gastroenterite e infecções de feridas no homem, além de ser incriminada com mortalidade de tilápias criadas em viveiro em consórcio com suínos (KONEMAN, 2008).

A maioria dos relatos de doença entérica causada por *E. tarda* descreve uma gastroenterite leve que melhora sem tratamento dentro de dois a três dias (KONEMAN, 2008), no entanto já foi descrita como agente etiológico de diarreia grave e crônica em lactente, tendo sido isolada também do peixe de aquário da casa do paciente (VALDEPITTE et al., 1983).

Vandepitte et al. (1980) investigaram pacientes de um povoado ao redor do rio Niger que apresentavam diarreia, dos quais isolou *E. tarda* como agente causal. Paralelamente isolou o mesmo microrganismo em 60% de amostras de peixe coletados do mesmo rio,

concluindo que estes agentes fazem parte da microbiota intestinal de peixes tropicais, constituindo reservatório para infecção no homem.

Pilarski et al. (2004) analisaram microbiologicamente, em Santa Catarina, durante seis meses, 220 amostras de músculo de carpa comum (*Cyprinus carpio*) e água de três viveiros com aporte contínuo de matéria orgânica proveniente de suinocultura e de um viveiro alimentado exclusivamente com ração comercial, isento de contaminação orgânica e com renovação constante de água. Detectaram coliformes totais e termotolerantes na maioria das amostras de peixes, com valores oscilando de <3 NMP/g a  $1,5 \times 10^2$  NMP/g e <3 NMP/g a  $1 \times 10$  NMP/g, respectivamente. No entanto, os autores demonstraram que a qualidade microbiológica dos peixes não foi resultado da situação microbiológica da água dos viveiros, pois a comparação dos níveis de microrganismos dos viveiros fertilizados com dejetos e do viveiro fertilizado com ração comercial não apresentou diferença significativa e não houve tendência do aumento de NMP de coliformes totais e termotolerantes encontrados no músculo dos peixes com o aumento encontrado na água dos viveiros.

### 3.6.1.1 Histórico

Durante a tentativa de isolamento do agente etiológico da cólera, em 1885, Theodor Von Escherich isolou e estudou um microrganismo ao qual denominou *Bacterium coli commune*, devido à sua presença em diarreias de todos os pacientes examinados, sendo mais tarde denominado *Escherichia coli* em sua homenagem (VIEIRA, 2004).

Somente em 1971 que as atenções dos pesquisadores se voltaram para *E. coli*, embora já existissem muitos casos relacionando este microrganismo com casos de gastroenterite de origem alimentar, em decorrência de um surto nos Estados Unidos da América causado pela ingestão de queijo (JAY, 2005).

Em 1895, T. Smith sugeriu o uso de *E. coli* como teste para mensurar a potabilidade da água, marcando o início do uso de coliformes como indicadores de patógenos em água, prática que mais tarde foi estendida para alimentos (*ibid.*).

### 3.6.1.2 Características de *E. coli*

*E. coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, apresentam-se sob a forma de bastonetes retos de 1,1 a 1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0 a 6,0  $\mu\text{m}$ , isolados ou aos pares. Entre as principais características destacam-se: bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, não

esporulados, capazes de fermentar a glicose com produção de ácido e gás, embora algumas cepas sejam anaerogênicas (não produzem gás) (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

De acordo com Nataro e Kaper (1998), a maioria fermenta a lactose (cerca de 90%), mas a fermentação pode ser tardia ou estar ausente em algumas cepas. É um mesófilo típico, capaz de se desenvolver de 7 a 46°C, sendo a temperatura ótima de crescimento de 37°C. Não apresenta termorresistência, sendo destruído a 60°C em poucos segundos, mas pode resistir por longos períodos em temperatura de refrigeração.

A sorotipagem de *E. coli* é baseada nos seus antígenos somáticos O, relacionados com polissacarídeos da membrana externa; antígenos flagelares H, relacionados com proteínas dos flagelos e antígenos K, relacionados polissacarídeos capsulares (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Atualmente são descritos 174 antígenos O, 57 antígenos H e 100 antígenos K. O termo sorotipo define uma combinação específica dos antígenos O e H. Se o antígeno H não for identificado e a bactéria da amostra é móvel, o termo usado é sorogrupo O ou OK (Nataro e Kaper, 1998). Caso as amostras sejam de bactérias imóveis, sem antígenos flagelares, ela é designada de sorotipo imóvel com o sinal “-“(menos), o que indica a ausência do flagelo, por exemplo O111:H<sup>-</sup> (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

### 3.6.1.3 Patogenicidade de *E. coli*

O significado da presença de *E. coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois ângulos: inicialmente, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento indica que esse alimento tem uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias; o outro aspecto a ser considerado é que algumas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e animais (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Todavia, uma falha na detecção de *E. coli* não garante a ausência destes patogênicos entéricos (MOSEL, 1967; SILLIKER e GABIS, 1992).

Apesar de *E. coli* ser considerada como um patógeno oportunista, nos últimos anos ela tem sido reconhecida como um patógeno específico, tanto de ambiente intestinal quanto extra-intestinal. Algumas cepas desenvolveram a habilidade para causar distúrbio gastrointestinal, urinário e até mesmo nervoso (KORNACKI e JOHNSON, 2001); e de acordo com Meng et al. (2001), apesar de a maioria das cepas de *E. coli* não causarem distúrbios gastrointestinais, certos grupos podem levar a um quadro diarréico com várias seqüelas e debilidades.

Em geral, a gastroenterite provocada pela *E. coli* se caracteriza por diarréia sem sangue ou exsudato inflamatório. A dose infectante varia de acordo com a cepa, com a idade do

indivíduo exposto bem como com seu estado nutricional. O período de incubação de *E. coli* varia de cinco a 48 horas, com a média ficando entre dez e 24 horas (GERMANO e GERMANO, 2001).

As enfermidades causadas por *E. coli* são dependentes de fatores de virulência das cepas, que incluem: presença de adesinas ou fatores de colonização, capacidade para invadir células intestinais epiteliais, produção de hemolisinas e de toxinas ST (termoestável), LT (termolábil), VT1 e VT2 (verotoxinas ou toxinas *shiga like*) (VIEIRA, 2004).

A severidade da doença depende se o agente causal pertence às linhagens invasoras ou às formadoras de toxinas. No primeiro caso, dá-se uma infecção semelhante à disenteria, com multiplicação das bactérias no cólon. As linhagens formadoras de enterotoxinas provocam sintomas caracterizados por acesso de diarreia profunda, com acentuada desidratação e debilidade do indivíduo (PARDI et al., 2001).

Apesar do elevado número de tipos antigênicos, apenas uma minoria é capaz de provocar a doença no homem, sendo atualmente reconhecidas seis categorias de *E. coli* responsáveis por infecções intestinais e são elas *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) e *E. coli* difusamente aderente (DAEC) (JAY, 2005).

Na área de segurança alimentar, particularmente, os surtos por EIEC, ETEC e EHEC são os mais documentados, sendo os surtos por EPEC, EIEC e ETEC os menos frequentes em países desenvolvidos (GERMANO et al., 1983).

Em todos os casos, em geral a incidência de infecções por *E. coli* é maior em regiões tropicais com grandes aglomerações populacionais, com condições sanitárias precárias e sendo a contaminação dos suprimentos de água uma constante. Nestas condições, o homem após sucessivas infecções com diferentes tipos de bactérias adquire imunidade e passa a ser portador de cepas patogênicas, propiciando a contaminação do ambiente e o contágio de pessoas suscetíveis, principalmente em casos que envolvem cepas de EPEC e EIEC (ALBERT et al., 1999).

#### **3.6.1.4 Alimentos envolvidos com *E. coli***

As principais vias de transmissão são os alimentos de origem animal e vegetal, principalmente quando consumidos crus ou insuficientemente cozidos, além da água ingerida não tratada, sendo a água contaminada por esgotos domésticos e fezes de animais uma das mais importantes vias (GERMANO e GERMANO, 2001).

A carne de bovinos moída (hamburger) é a principal responsável por surtos de *E. coli*, sendo as formas enterohemorrágica e enteroinvasiva as mais notificadas. Nas mesmas condições a carne de aves tem sido incriminada em surtos na forma enteropatogênica. Leite e derivados de leite cru têm sido incriminados com as formas enterohemorrágica e enteroinvasiva (GERMANO et al., 1983; MENG et al., 2001).

### **3.6.1.5 Diagnóstico e controle de *E. coli***

Germano et al. (1983) concluem que a confirmação dos casos provenientes de surtos de origem alimentar deve se fazer, sempre que possível, mediante o isolamento da bactéria das fezes do paciente e do alimento incriminado.

Cuidados especiais devem ser tomados com a água de abastecimento, principalmente em locais com saneamento precário, visto que a *E. coli* é excretada em grande quantidade no ambiente via esgoto doméstico (GERMANO e GERMANO, 2001), o que torna o pescado um importante veículo transmissor do agente, quando capturados em águas poluídas (MÖLLERKE et al., 2002).

A prevenção e o controle dependem exclusivamente da higiene da obtenção dos alimentos, da conservação adequada dos mesmos em temperaturas baixas (abaixo de 7°C), da pasteurização dos produtos lácteos e sucos de frutas, enfim, da adoção pelos fabricantes de Boas Práticas de Fabricação e outros programas da qualidade que garantem a segurança alimentar (SILVA Jr., 1995).

Para Buchaman e Doyle (1997), a maneira mais efetiva para reduzir risco de doenças de origem alimentar, dentre eles, as causadas pela *E. coli* é a implementação do APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle), que é uma garantia da segurança microbiológica para toda a cadeia de produção do alimento.

## **3.6.2 *Salmonella* spp.**

### **3.6.2.1 Características do microrganismo**

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, produtores de gás a partir de glicose (exceto *S. Typhi*) e capazes de utilizar o citrato como única fonte de

carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que são imóveis (JAY, 2005).

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo os valores > 9,0 e < 4,0 bactericidas e, dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. Com relação à concentração de sal, as salmonelas não toleram valores >9%, enquanto o nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal está na faixa 35 a 37°C, sendo a mínima 5°C e a máxima 47°C (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

### 3.6.2.2 Histórico e taxonomia

O gênero *Salmonella* foi descrito pela primeira vez em 1884 por Graffky como *Bacterium thyposum*, mas foi em 1886 que Salmon e Smith isolaram de suínos com sintomas gastroentéricos um agente causador denominado primeiramente de *Bacillus cholera suis*, que mais tarde recebeu o nome de *Salmonella choleraesuis* em homenagem à Salmon (JAY, 2005).

Desde seu primeiro isolamento, a classificação taxonômica das salmonelas tem sido muito complexa e objeto de muitas controvérsias. Existem vários esquemas de classificação, sendo os mesmos identificados pelos nomes dos seus autores: Kauffmann-White, Edwards e Ewing e Le Minor (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). Segundo o esquema de Kauffmann-White, o gênero *Salmonella* deve ser dividido nos sub-gêneros I, II, III e IV, ao passo que para Edwards e Ewing esta divisão deve ser feita em três espécies: *S. choleraesuis*, *S. thyphi*, e *S. enteritides*; sendo que esta última espécie abriga todas as demais salmonelas, que são consideradas sorotipos de uma mesma espécie (ex. *Salmonella enteritides* sorotipo Typhinurium). Finalmente, Le Minor, propôs a inclusão de todas as *Salmonellas* em uma só espécie, a *S. enterica*, subdividida em sete sub-espécies: *S. cholerae-suis*, *S. salame*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae*, *S. bongori* e *S. indica* (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Atualmente entre esses esquemas taxonômicos descritos acima, vem ganhando aceitação internacional o utilizado pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, USA), que divide o gênero *Salmonella* em duas espécies, a *S. bongori*, representada por uma única subespécie (identificada como V) e a *S. enterica*, esta sendo subdividida em seis subespécies, reconhecidas por algarismos romanos, descritas a seguir: (I) *enterica*, (II) *salamae*, (IIIa) *arizonae*, (IIIb) *diarizonae*, (IV) *houtenae* e (VI) *indica* (POPOFF et al., 2001).

As cepas das subespécies I e II são comumente isoladas de animais de sangue quente, inclusive o homem, enquanto as subespécies IIIa, IIIb, IV e VI e *S. bongori* predominam nos isolados de animais de sangue frio e meio ambiente. Nos processos entéricos e extra-intestinais do homem, ocorrem predominantemente os sorovares ou sorotipos da subespécie I, atingindo 98% dos isolados (VIEIRA, 2004).

Os sorotipos pertencentes à *S. enterica* subsp. *enterica* são designados por nomes usualmente relacionados ao local geográfico de onde foram isolados pela primeira vez ou em homenagem a uma pessoa famosa, escrito em letras romanas não itálicas, com a primeira letra maiúscula. Nota-se que é muito comum grafar as salmonelas de forma simplificada, citando-se apenas gênero e sorotipo (ex. *S. Typhimurium*). Os sorotipos pertencentes a outras subespécies são representados por suas fórmulas antigênicas, seguindo o nome das subespécies (BOPP et al., 1999).

A toxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Embora se reconheça a relevância dos diversos esquemas taxonômicos, é de grande importância epidemiológica a divisão do gênero em tipos sorológicos segundo o esquema proposto por Kauffmann e White, o qual tem por base a diferenciação antigênica das salmonelas, baseada na presença dos antígenos somáticos O e flagelares H. Os antígenos O ou somáticos, são termolábeis, de estrutura polissacarídica localizado na membrana externa, sendo identificados por números arábicos; enquanto os antígenos H ou flagelares, são de estrutura protéica associada aos flagelos, com duas fases distintas: fase 1 - específica, designadas por letras minúsculas e fase 2 - inespecífica, por números arábicos. A combinação dos antígenos O e H são determinantes do sorotipo (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

Existe também o antígeno capsular Vi ou K, antígenos de envelope ou capsulares, que estão presentes somente em alguns sorotipos de *Salmonella* e podem interferir com o O, não ocorrendo a aglutinação. A identificação sorológica é feita por aglutinação rápida. Esta identificação sorológica consiste em submeter as colônias com perfil característico de *Salmonella* a testes de soroaglutinação em lâmina, empregando-se o anti-soro polivalente flagelar e somático. Esta primeira orientação é obtida com a mistura dos soros anti-O e anti-H, antes de se utilizarem os soros monoespecíficos, que permitirão a identificação final (*ibid.*).

### 3.6.2.3 Epidemiologia de *Salmonella*

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e animais de sangue quente e de sangue frio (répteis e anfíbios), exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem contaminar-se após a pesca (VIEIRA, 2004; KONEMAN, 2008); e de acordo com Tessari et al. (2003) os principais reservatórios são suínos e aves.

Os animais domésticos ou domiciliarizados tais como cães, gatos e pássaros podem ser portadores de salmonelas representando risco, principalmente para as crianças (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Por ser primariamente uma bactéria intestinal e um grande número de animais serem reservatórios, inclusive o homem, a *Salmonella* pode ser encontrada com bastante frequência em efluentes de propriedades rurais, esgotos domésticos e industriais (TESSARI et al., 2003), e em costas marítimas em decorrência do aglomerado de pessoas e navegações que contaminam os mares com fezes (JAY, 2005).

Várias espécies de animais são suscetíveis, sendo animais jovens, idosos e gestantes mais afetados, inclusive sem apresentar sintomas. As aves domésticas (principalmente galinhas e perus) são consideradas como maiores reservatórios animais de salmonelas (CUNHA NETO, 1974; LEITÃO, 1979; AMARAL et al., 1982), e podem ser portadores assintomáticos, excretando continuamente salmonelas pelas fezes e, nestas condições podem causar contaminações cruzadas de grande importância em matadouros de aves (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A salmonelose também tem sido associada a contato direto ou indireto com répteis (lagartos, serpentes e tartarugas), visto que estes animais eliminam o agente intermitentemente nas fezes, e já foram comprovadas inúmeras infecções nos EUA causadas por sorotipos associados à criação de tartarugas e iguanas de estimação (KONEMAN, 2008) bem como ao consumo de carne de tartarugas (O'GRADY e KRAUSE, 1999). Muitos pesquisadores têm demonstrado que tartarugas de *pet shops* revelam frequentemente a presença de salmonelas, que podem estar presentes no cólon, cloaca e oviduto, contaminando os ovos e água intermitentemente, conferindo risco aos criadores destes animais. (MANN e BJOTVEDT, 1967; MORSE e DUNCAN, 1976; IZADJOO et al., 1987; SANYAL et al., 1987; SHANE et al., 1990; SEEPERSADSINGH e ADESIYUN, 2003). O contato com os anfíbios (sapos e rãs) também constitui risco para a aquisição de salmonelose humana, sendo responsável por 6% das infecções anuais por *Salmonella* nos EUA (KONEMAN, 2008).

Os sorotipos de *Salmonella* podem estar estritamente adaptados a um hospedeiro particular ou podem ser ubiqüitários, ou seja, encontrados em grande número de espécies animais. Por exemplo, o homem é o único reservatório natural de *S. Typhi* e *S. Paratyphi A, B e C*. Alguns sorotipos são adaptados a uma determinada espécie animal, como *S. Gallinarum* (aves) enquanto outros podem infectar indiretamente o homem e uma grande variedade de animais, sendo estes os maiores responsáveis pelas infecções de origem alimentar, por exemplo *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

O homem pode ser infectado por vários sorotipos de *Salmonella*. Nos EUA os sorotipos mais freqüentemente isolados dos surtos de salmonelose humana são: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Newport* (EKPEREGIN e NAGAJARA, 1998). No Brasil os sorotipos mais encontrados no homem são *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Oranienburg*, *S. Typhi*, *S. Enteritidis*, *S. Albany*, *S. Hadar*, *S. Indiana* e *S. Infantis* (FUZIHARA et al., 2000).

Embora na maior parte dos surtos, a dose infectante tenha sido alta, sabe-se hoje que, em alguns casos, foram necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* para causar sintomas clínicos no homem. Estudos revelaram que 10 a  $10^2$  UFC (unidades formadoras de colônias) foram responsáveis por surtos associados à carne moída (FONTAINE et 1980), barras de chocolate (GREENWOOD e HOOPER, 1983) e queijo cheddar (D'AOUST, 1991). Sabe-se ainda que é necessário menos que 10 UFC para causar infecção (KAPPERUD et al., 1990).

Em diversos países, como EUA, Inglaterra, Canadá, Japão, inclusive Brasil, a *Salmonella* tem sido reconhecida como agente causador de doenças há muitos anos, e atualmente é considerada a principal causa de doença entérica de origem bacteriana no homem, tendo sido responsável por grandes surtos, principalmente em consequência da ingestão de produtos de origem alimentar (D'AOUST, 1995).

Ao analisar o ciclo de transmissão da *Salmonella* ao homem, pode-se observar que os alimentos de origem animal têm papel muito importante na transmissão do agente. A contaminação desses alimentos pode ocorrer na própria fonte de produção, isto é, a partir dos animais criados nas granjas ou fazendas que podem ser os portadores do agente ou ainda ocorrer através da chamada contaminação cruzada, que se refere àquela ocorrida nas diversas fases do processamento industrial, na distribuição, comercialização e consumo final (TESSARI et al., 2003).

Inúmeros surtos de infecção por *Salmonella* têm sido verificados no mundo inteiro envolvendo os mais diversos alimentos, incluindo carne bovina, peixes, frutos do mar crus e sorvetes (DUFFY et al., 1999). As salmoneloses associadas a laticínios são quase sempre causadas por leite cru ou mal pasteurizado e queijos, no entanto, a maioria dos autores concorda que as carnes, principalmente de aves, são as principais responsáveis pelas infecções de origem alimentar (SILLIKER, 1980; BARROS et al., 2002).

De acordo com Silva (1995), mais de 70% das carcaças de frangos são contaminadas por *Salmonella*, no entanto esta contaminação não parece ocorrer somente pelo fato de este microrganismo fazer parte da microbiota normal das aves, mas também pela contaminação dessas carcaças através do ambiente por meio de insetos, roedores, rações e homem.

Inúmeras pesquisas comprovaram a presença de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas, na Inglaterra (WATSON e BROWN, 1975), em Portugal (BERNARDO e MACHADO, 1989), nos EUA (IZAT et al., 1991), na Índia (SHARMA, 1992) e no Brasil (SILVA, 1995; ALMEIDA et al., 2000; SANTOS et al., 2000; MATHEUS et al., 2003; TIROLI e COSTA, 2006).

Desde há muitos anos a *Salmonella* já foi detectada em alimentos preparados e empacotados, como bolos, biscoitos, pães, molhos de saladas, maionese e muitos outros pratos (ADINARAYANAM, 1965).

Nos últimos anos, ovos crus e produtos à base de ovos mal pasteurizados (sorvetes, maioneses e outras fabricações caseiras) têm se envolvido com *S. Enteritidis* que coloniza o canal ovipositor das aves e contamina a gema em sua formação (FRANCO e LANDGRAF, 1996), além de que se estima que 0,01% de todos os ovos contenham *S. Enteritidis* na casca.

A água é uma importante fonte de infecção para o homem, visto que o isolamento da *Salmonella* spp. tem sido freqüentemente relatado em águas poluídas (CHERRY et al., 1972; POPP, 1974; BENASSI ET AL., 1983; MONTICELLI et al., 1984; MENON, 1985; JOHNSTON et al., 1986; KINDE et al., 1997), bem como em água potável (CHERRY et al., 1972; MÜLLER, 1979; POKORNY, 1988; SCHINDLER et al., 1991; Taylor et al., 2000).

SEEPERSADSINGH e ADESIYUN (2003) encontraram uma prevalência de 0,8% de *Salmonella* spp. em aquários de *pet shops*, incluindo os sorotipos Panamá, Newport e Virchow, mostrando que este ambiente é um fator de risco para tratadores de animais e comerciantes.

Cherry et al. (1972) analisaram várias amostras de água de reservatórios de água municipais na Geórgia com diferentes graus de poluição por descargas domésticas e

detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 65% das amostras de pontos extremamente poluídos, 38% em pontos razoavelmente poluídos e 44% em áreas não poluídas.

Benassi et al. (1983) analisaram água do rio Zaimán, na Argentina e Menon (1985) em rios no Canadá, ambos comprovaram que do total de amostras positivas, a maioria freqüência foi nas proximidades de descargas de efluentes de matadouros e efluentes de estações de tratamento de esgoto doméstico.

Monticelli et al. (1984) analisaram 33 amostras de diferentes pontos do rio da Prata, Argentina no tocante à presença de *Salmonella* e concluíram que 36% estiveram contaminadas e atribuíram esta contaminação à concentração de pessoas na região.

Johnston et al. (1986) isolaram 37 sorotipos diferentes de efluentes de matadouros na Escócia e a maioria também presente no gado da região, os quais correlacionaram com um surto envolvendo sete pessoas das proximidades, com quatro dos sorotipos isolados destes efluentes.

Um achado interessante com relação à sobrevivência e virulência de *Salmonella* em água foi descrito por Pokorny (1988) que testou a sobrevivência de *S. Enteritidis* em águas com diferentes níveis de contaminação por matéria orgânica por ml. Comprovou que a sobrevivência tendeu a diminuir significativamente com o aumento da matéria orgânica, de forma que ao maior nível de contaminação da água, a *S. Enteritidis* resistiu apenas por 24 horas, ao passo que na água potável a sobrevivência foi de até 30 dias. Em todos os casos a virulência esteve presente em todo o tempo de sobrevivência do microrganismo.

A ração animal industrial também é incriminada como veículo de transmissão de salmonelas, de modo que os animais que comem a ração contaminada se tornam infectados e se forem consumidor pelo homem, são assim introduzidos nesta população (MORIS et al., 1970; JONES et al., 1991; NABUTT, 1990).

No Brasil, tem sido observado significativo aumento do número de surtos por *Salmonella* spp. desde a década de 90. No estado de São Paulo, por exemplo, de 1994 a 1997 foram relatados 18 surtos envolvendo 23 diferentes tipos de alimentos, predominantemente de origem animal, sendo a *Salmonella* spp. o agente causal identificado em 13 (72,2%) destes surtos (JAKABI et al., 1999).

Muitos pesquisadores têm detectado, no Brasil e em outros países, a presença de salmonelas em peixes e derivados. Estes artigos, dada sua pertinência com o presente trabalho, serão abordados em item à parte, a seguir.

#### 3.6.2.4 O peixe como transmissor de *Salmonella*

A piscicultura praticada sem os devidos cuidados higiênico-sanitários poderá contribuir para o aumento da incidência de contaminação por *Salmonella*, principalmente em cultivos de peixes em tanques escavados na terra ou em reservatórios de água sem proteção, expostos à contaminações ambientais e animais. Além disto, deve-se considerar o fato de algumas espécies de peixes se alimentarem com subprodutos crus da indústria de origem animal e de rações peletizadas mal preparadas ou mal estocadas, contaminadas com *Salmonella* (D'AOUST, 1995).

Além disto, o sinergismo entre o alto conteúdo orgânico das águas dos tanques, resultante da sedimentação e da gradual decantação dos excessos de alimentos contaminados, e o clima quente, freqüentemente associado à aqüicultura, potencializa neste ambiente a proliferação e o crescimento da *Salmonella* e de outros agentes patogênicos para o homem (PIEDRAHITA, 1990).

Em função da capacidade de disseminação no meio ambiente, a *Salmonella* pode ser isolada de águas doces superficiais e da costa marítima, constituindo importantes veículos de transmissão, assim como os animais ali inseridos, como os peixes (STELMA et al., 1992; JAKABI et al., 1999).

Na Itália, de 41 surtos investigados no ano de 1995, *S. Enteritidis* foi responsável por 26 deles, sendo os ovos e peixes os alimentos mais implicados (VIEIRA et al., 2004).

Gaulin et al. (2005) realizaram um estudo retrospectivo no Canadá a fim de descobrir a origem da *S. Paratyphi B* var. Java isolada de um surto que envolveu 53 pessoas e constataram que a maioria dos acometidos se alimentou ou teve contato com peixes tropicais oriundos de criações e aquários, o que os fez pesquisarem o agente causal nos peixes, encontrando em 50% de peixes destas origens o mesmo sorotipo envolvido no surto. Este estudo revelou que não apenas o consumo, mas o contato com peixes de tanque contaminado é um fator de risco para pessoas que entram em contato com a água adquirirem *Salmonella*.

Alguns artigos apontam que a freqüência de surtos associados ao consumo de pescado defumado é comum e remonta de muitos anos, onde os autores acabaram por concluir que o processo de defumação não é capaz de inativar a *Salmonella* e contribui para a propagação do agente, conforme observado em muitos surtos na Alemanha (SCHEWERIN, 1966; KÜHN et al., 1994; FELL et al., 2000) e nos EUA (GANGAROSA et al., 1968; HEINITZ e JOHNSON, 1998).

Em 1997, um surto de infecção alimentar envolvendo uma refeição com peixe acometeu 47 pessoas em Salvador, com quadro severo de salmonelose. Os manipuladores da refeição apresentaram os mesmos sorotipos envolvidos no surto, o que evidenciou serem os mesmos responsáveis pela doença de origem alimentar devido a práticas de higiene inadequadas (GUIMARÃES et al., 2001).

Carrera et al. (1998) constatou que entre os anos de 1995 e 1997 a maioria dos surtos por *Salmonella* em Cuba foi causada por alimentos à base de carnes (11%) e peixes (10%).

No Japão, Tsuji e Hamada (1999) descreveram um surto causado por salgadinhos à base de peixe contaminados com *Salmonella*.

Giorin et al. (2004) identificaram *S. Livingstone* como responsável por um surto na Noruega envolvendo o consumo de refeição à base de peixes industrializados (reestruturados), onde 44 casos foram notificados, com três óbitos.

Embora a *Salmonella* tenha sido freqüentemente associada ao trato intestinal de animais de sangue quente, alguns pesquisadores a isolaram em animais de sangue frio. Na Índia, este microrganismo tem sido isolado do trato intestinal de tilápias e carpas cultivadas com subprodutos de suinocultura e avicultura e também com tilápias e carpas não cultivadas com estes subprodutos (IYER e SHRIVASTAVA, 1989). Em outros estudos realizados na Índia e na África, o microrganismo tem sido isolado do trato intestinal dessas espécies de peixes, tanto nas cultivadas em tanques fertilizados com esgoto tratado, como em tanques de água natural não poluída (OGBONDEMINO, 1993).

Esposito et al. (2007) analisaram durante o período de abril de 2000 a julho de 2001 a qualidade microbiológica com relação a enterobactérias de Tilápias (*Tilapia nilotica*), também da água do tanque e da cama de galinha usada como adubo, em uma estação experimental de tratamento de águas residuárias (lagoas de estabilização), no município de Petrópolis, RJ. Foram encontradas quatro cepas (11,1%) de *Salmonella* spp. em 36 amostras de peixe analisadas. Apenas duas coletas (11,1%) de um total de 18 foram positivas para *Salmonella* spp. sendo isoladas três cepas somáticas (uma na pele, uma nas guelras e uma nas vísceras) e uma cepa flagelar (nas guelras), não tendo sido isolada na água nem tampouco na cama de galinha do viveiro, a que os autores atribuíram sua presença a outras origens.

Em estudo realizado por Pilarski et al. (2004) em Santa Catarina, foram analisadas microbiologicamente durante seis meses 220 amostras de músculo de carpa comum (*Cyprinus carpio*) e água de três viveiros com aporte contínuo de matéria orgânica proveniente de suinocultura e de um viveiro alimentado exclusivamente com ração comercial, isento de contaminação orgânica e com renovação constante de água. A análise de músculo dos peixes

e da água dos viveiros demonstrou ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras. Concluíram que os peixes analisados estavam aptos ao consumo humano em virtude de não terem detectado microrganismos patogênicos como a *Salmonella* spp.

Resultado contrário ao anterior foi obtido por Langoni et al. (1999)<sup>1</sup> apud Linder (2002) que conduziu uma pesquisa em São Paulo para analisar a microbiota intestinal de 221 peixes de água doce, sendo 77 criados em sistema extensivo (peixes alimentados com fezes de suínos e aves) e 144 em sistemas intensivos (peixes alimentados com ração comercial). Foram isolados diferentes microrganismos do grupo das enterobactérias, entre eles a *S. Typhimurium* em 2,28% dos peixes criados no sistema extensivo e em 2,11% no sistema intensivo.

Morales et al. (2004) avaliaram a presença de vários microrganismos em 50 amostras de tilápias coletadas de tanques comerciais na Costa Rica e apenas um cepa de *Salmonella* spp. foi isolada, a qual os autores atribuíram à contaminação dos tanques de criação com cama de galinha, uma prática comum naquela região de estudo.

Berg e Anderson (1972) apontam que as fezes de pássaros podem ser importantes fontes de contaminação de *Salmonella* para tanques de piscicultura, e comprovou que 2,1% de 521 amostras de fezes de aves que visitam criadores no Oregon estavam contaminadas com *Salmonella* spp., conferindo a destes animais, muitas vezes ignorados, certa relevância no manejo de peixes criados em tanques ao ar livre.

Em experimento realizado no Egito, de 101 tilápias do Nilo investigadas para organismos patogênicos e outros potencialmente patogênicos, em 3,9% das amostras foi detectada a *Salmonella*, sendo identificadas quatro cepas pertencentes aos sorotipos *S. Newport*, *S. Typhimurium* e *S. Wangata* (YOUSSEF et al., 1992).

No sudoeste da Ásia foram colhidas amostras de nove tanques de água doce, em que se produziam tilápia do Nilo, carpa e bagre do canal, para a detecção de *Salmonella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, e *Plessiomonas*, sendo que a *Salmonella* estava presente em 28% das amostras de peixes e sedimentos dos tanques (TWIDDY, 1995).

Em vários estudos distintos, o microrganismo também já foi encontrado ocasionalmente nas culturas de camarão, além de peixes, nos países asiáticos (REILLY e TWIDDY, 1992; REILLY e KÄFERSTEIN, 1999); em ambientes similares na Índia (IYER e

---

<sup>1</sup> LANGONI, H.T. Flora microbiana intestinal aeróbica de peixes de diferentes hábitos alimentares. Boletim Técnico do CEPTA-IBAMA. 1999.

SHRIVASTAVA, 1989) e na África do Sul onde 54,5% das 22 tilápias examinadas, estavam contaminadas com *Salmonella* (D'AOUST, 1989).

A incidência de *Salmonella* em peixes de água salgada foi investigada por Heinitz et al. (2000) nos EUA, onde foram analisados peixes congelados importados e regionais, durante os anos de 1990 e 1998. Os resultados mostraram que 10% dos peixes importados e 2,8% dos regionais estavam contaminados por *Salmonella* spp. Os autores concluíram que de acordo com a origem, a incidência parece ser maior no Oceano Pacífico e África e menor na Europa e América do Norte, tendo o Vietnã (30%) e a Coreia (0,7%) o maior e menor índice, respectivamente.

No Brasil, Vieira et al. (2000) analisaram 60 amostras de Tilápias coletadas ao longo da cadeia de produção de filés congelados em um frigorífico de uma fazenda de criação de peixes na Paraíba e antes mesmo do processamento encontraram 8,3% das amostras positivas para *Salmonella* spp., evidenciando a contaminação dos peixes na captura.

Embora a maioria dos autores tenha encontrado *Salmonella* em peixes no comércio varejista, Silva et al. (2007) não detectou o microrganismo em peixes obtidos no comércio no Piauí.

Ainda com relação a peixes comercializados frescos, Almeida Filho et al. (2002) analisaram 30 amostras de peixes frescos em dois meses em feiras livres e supermercados, no município de Cuiabá, MT e detectaram *Salmonella* spp. em cinco amostras (16,7%), todas de peixes comercializados em supermercados.

Fernández e Torres (1996) pesquisaram a contaminação de peixes frescos por *Salmonella* spp. em 89 pontos de comércio fixo e ambulante em Guadalajara, México e encontraram uma prevalência de 16% das 221 amostras coletadas

No mercado de peixes em Cochin, na Índia, foi detectada a presença de *Salmonella* em 5,76% das amostras de peixes frescos e em 8,66% dos congelados, tendo sido isoladas 32 sorotipos (NAMBIAR e MAHADEVAIYER, 1991).

Refeições contaminadas por *Salmonella* são amplamente pesquisadas e já foram descritas na Alemanha (STELLMACHER e RANKE, 1967), nos EUA (MORIS et al., 1970; LEVIS, 1975; HEINITZ e JOHNSON, 1998), na Dinamarca (KARISSON e THAL, 1974) e no Líbano (ROUMANI et al., 1981).

Pimentel e Panetta (2003) atribuíram a presença de *Salmonella* spp. em amostras de peixes de supermercados em São Paulo à contaminação do gelo nos convés dos barcos pesqueiros, porões, entrepostos e comércio varejista.

Dams et al. (1996) comprovaram o aumento da frequência de *Salmonella* spp. durante as fases de processamento, quando encontraram o microrganismo em 20% das amostras de peixe fresco analisadas, em 40% de amostras de peixe congelado e em 80% de filés congelados.

### **3.6.2.5 Características da doença**

A salmonelose constitui um importante problema sócio-econômico em vários países do mundo, principalmente nos chamados desenvolvidos, onde o agente etiológico desta enfermidade tem sido atribuído como o principal responsável pelos surtos das ETA's (ALVES, 2001).

De acordo com Franco e Landgraf (1996) as doenças causadas por essa bactéria costumam ser divididas em três grupos: as febres tifóides (*S. Typhi*), as febres entéricas (*S. Paratyphi* A, B e C) e as enterocolites ou simplesmente salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas. Nas salmoneloses, a infecção no homem ocorrerá com a ingestão de alimentos que contenham o microrganismo (em média de  $10^5$  células por grama de alimento) e ocorrerá em função do seu sistema imunológico, e de doenças pré-existentes que agravam o quadro. Em geral, as salmoneloses caracterizam-se por diarreia, febre, dores abdominais e vômitos, que aparecem em média 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, com duração de quatro a sete dias, não necessitando de antibioticoterapia, na maioria das vezes.

A taxa de mortalidade, em média é de 4,1%, sendo de 5,8% durante o primeiro ano de vida, 2% entre o primeiro e os 50 anos e 15% em pessoas acima de 50 anos. Embora a *Salmonella* seja eliminada rapidamente do trato intestinal, mais de 5% dos pacientes pode se tornar portador assintomático após a cura e continuar eliminando a bactéria por até um ano nas fezes. (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

### **3.6.2.6 Mecanismo de patogenicidade**

Diversos estudos têm demonstrado que as salmonelas apresentam simultaneamente múltiplos fatores de virulência quando causam doença no homem, e estes fatores podem agir individualmente ou sinergicamente (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

As infecções se iniciam na mucosa do intestino delgado e cólon, aonde após a penetração na lâmina própria se multiplicam e são fagocitadas gerando uma resposta inflamatória do sistema retículoendotelial. Ao contrário do que ocorre na febre tifóide e febres entéricas, nas enterocolites a infecção se restringe à mucosa intestinal e raramente ocorre

septicemia. Este processo acaba por provocar aumento da secreção de água e eletrólitos (diarréia) (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

### 3.6.2.7 Medidas de controle

Devido a *Salmonella* encontrar-se cada vez mais envolvida em surtos de ETA's, com efetiva participação do pescado, alerta-se para a necessidade de se implementar controle na higiene dos manipuladores, durante o manuseio e processamento, evitando contaminação cruzada por meio de utensílios e equipamentos. Outro controle deve ser feito com relação à qualidade da água dos tanques e viveiros de criação, evitando-se o uso de antibióticos em piscicultura a fim de evitar a resistência microbiana (VIEIRA, 2004).

O calor é uma forma eficiente para a destruição das salmonelas nos alimentos, que devem ser aquecidos até atingir uma temperatura suficiente para eliminar a bactéria, ou seja, de 65 a 74°C, bem como serem conservados em temperaturas abaixo de 5°C (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Pessoas que trabalham com alimentos devem periodicamente fazer exames médicos para assegurar a ausência da figura do portador assintomático (VIEIRA, 2004).

### 3.6.3 *Aeromonas* spp.

#### 3.6.3.1 Histórico e taxonomia

O primeiro isolamento de bactérias do gênero *Aeromonas* foi em 1890 por Zimmermann, a partir de amostras de água de esgotos, sendo denominada *Bacillus puntactus*. Um ano depois, Sanarelli encontrou uma cepa semelhante a qual chamou de *Bacillus hydrophila fuscus*. Em alimentos, o primeiro relato da presença deste gênero se deu em 1917 por Hammer, em amostras de leite deteriorado, recebendo o nome de *Bacillus ichtyosmius*; já em amostras clínicas somente foi relatado em 1954 por Caselitz a partir de amostras de um caso de septicemia e recebeu o nome de *Vibrio jamaicensis* (MORES, 1994).

Os membros do gênero *Aeromonas* foram por muito tempo incluídos na família *Vibrionaceae*, no entanto, mais recentemente, com base em evidências genéticas e moleculares, foi proposta uma nova família para o gênero, a *Aeromonadaceae*. O gênero sofreu consideráveis revisões taxonômicas e de nomenclatura nos últimos anos; e embora em 1984 apenas quatro espécies fossem reconhecidas bioquimicamente (*A. hydrophila*, *A. caviae*,

*A. sobria* e *A. salmonicida*), existiam grupos genéticos adicionais dentro de algumas fenoespécies, originando grupos diferentes baseados na hibridização. Desde então, várias espécies e Grupos de Hibridização (HGs) de DNA têm sido descritos e no ano de 2000, o número de genomoespécies publicadas (válidas atualmente), atingiu 14, descritas na Tabela 1 (KONEMAN, 2008).

Tabela 1 - Espécies do Gênero *Aeromonas*

ESPÉCIES DE <i>AEROMONAS</i>	ISOLADAS DE:	DOENÇA ASSOCIADA	
	Seres Humanos/Patógenos	Gastrointestinal	Outra*
<i>A. hydrophila</i>	Sim/sim	✓	✓
<i>A. caviae</i>	Sim/sim	✓	✓
<i>A. media</i>	Sim/sim	✓	
<i>A. encrenophila</i>	Sim/não		
<i>A. veronii</i>			
biovariante <i>sóbria</i>	Sim/sim	✓	✓
Biovariante <i>veronii</i>	Sim/sim	✓	✓
<i>A. jandaei</i>	Sim/sim	?	✓
<i>A. trota</i>	Sim/sim		
<i>A. schubertii</i>	Sim/sim		
<i>A. encheleia</i>	Sim/não		
<i>A. allosaccharophila</i>	Sim/não		
<i>A. sóbria</i>	Não/não		
<i>A. popoffii</i>	Não/não		
<i>A. bestiarum</i>	Sim/não		
<i>A. salmonicida</i>	Sim/não		

- Predominantemente septicemia e feridas, incluindo feridas associadas ao uso de sanguessugas medicinais.
- Raramente foram obtidas culturas de espécies de *Aeromonas* de amostras de infecções oculares, respiratórias, ósseas e do trato urinário, meningite, colecistite, endocardite e peritonite.

Fonte: Koneman (2008)

### 3.6.3.2 Características do microrganismo

*Aeromonas* é uma palavra de origem grega, onde *aer*= ar e *monas*= unidade, ou seja, significa “unidade produtora de gás” (KHARDORI e FAINSTEIN, 1988).

*Aeromonas* pertencem à família *Aeromonadaceae*, são bastonetes Gram-negativos com 1,0 a 3,5µm de comprimento por 0,3 a 1,0 µm de largura, anaeróbios facultativos, normalmente encapsulados e não esporulados. A maioria das espécies é móvel e possui flagelo polar, usualmente monotríquio, sendo que, em culturas mantidas por longo tempo em meio sólido, podem formar flagelos peritríquios. As espécies *A. salmonicida* e *A. media* caracterizam-se como imóveis, no entanto, a perda de flagelos pode ocorrer ocasionalmente em outras espécies (VIEIRA, 2004).

Em meados da década de 1970, o gênero foi dividido em dois grupos: psicrófilico e mesófilico. *A. salmonicida*, um patógeno de peixes, é a única espécie do grupo psicrófilico, imóvel e a temperatura máxima de crescimento é 37°C. O grupo mesófilico de espécies móveis é constituído por espécies que determinam patogenia tanto no homem como em animais, crescem entre 10 e 42°C, sendo que algumas amostras mesófilicas são bioquimicamente mais ativas a 22°C do que a 37°C (KONEMAN, 2008). Já para Popoff e Lallier (1984), a temperatura ótima para crescimento de *Aeromonas* spp. é 28°C e de acordo com Palumbo (1986), trata-se de um agente psicrótrófico, uma vez que pode se multiplicar em temperatura ambiente e de refrigeração, e assim como *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes*, põem em risco a segurança de alimentos sob refrigeração.

Vieira (2004) ressalta que 28°C não pode ser a temperatura ótima para crescimento de todas as cepas, visto que são muito heterogêneas. Para Mateos et al. (1993) esta capacidade de crescer em temperaturas extremas varia entre as cepas e está relacionada à origem das mesmas, e comprovou que cepas de origem ambiental crescem melhor a 28°C que a 37°C, enquanto as de origem humana crescem igualmente em ambas as temperaturas, o que nos leva a concluir que cepas ambientais têm dificuldade de multiplicar-se em animais homeotérmicos, como o homem.

*Aeromonas* crescem em concentração máxima de 4,5% de cloreto de sódio (NaCl) e algumas cepas parecem requerer um mínimo de sal para sua multiplicação; e com relação ao pH, são bastantes sensíveis a pH baixo (<5,5). Pode-se dizer que a tolerância ao pH e à concentração de NaCl variam em função da temperatura, por exemplo, quando cultivadas em temperatura ótima (28°C), se multiplicam em meios com pH entre 6,5 e 7,2, porém em pH 5,5 apresentam crescimento retardado, enquanto a 4°C no mesmo pH não há multiplicação (PALUMBO, 1986).

*Aeromonas* spp. são mais sensíveis ao calor que *Salmonella* spp. e *E. coli*, sugerindo que não representam riscos em alimentos cozidos, desde que cuidados subsequentes sejam tomados na correta manipulação para prevenir contaminação (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

As espécies de *Aeromonas* utilizam carboidratos com produção de ácido ou ácido e gás, assim fermentam glicose, frutose, maltose e trealose, mas não o adonitol, dulcitol, inositol, xilose, sorbose e melozitose. Hidrolisam o amido, dextrina e glicerol, além de reduzir nitrato a nitrito; são positivas para testes de citocromo-oxidase e catalase; produzem protease, lipase e diástase (POPOFF e LALLIER, 1984).

De acordo com Pin et al. (1994), *Aeromonas* não é um organismo de difícil cultivo, mas sua separação de outros microrganismos em uma microbiota normal de determinado alimento e sua identificação são complexas. No entanto, Palumbo et al (1985)<sup>2</sup>apud Mores (1994) desenvolveram o ágar amido ampicilina (AAA) no qual as colônias de *Aeromonas* spp. se mostram bem distinguíveis de outras espécies pelo tamanho e pela redução de amilase, tendo a ampicilina como supressora da microbiota restante.

### 3.6.3.3 Epidemiologia

Os membros do gênero *Aeromonas* vêm sendo reconhecidos como importantes patógenos intestinais e extraintestinais de humanos e de uma variedade de outros vertebrados e invertebrados incluídos peixes, anfíbios e aves (DEODHAR et al., 1991; ALBERT et al., 2000).

*Aeromonas* spp. são microrganismos de *habitat* predominantemente hídrico, encontrados mundialmente em água dulcícola, salobra e estuarina (ARAÚJO et al., 1990) e por isto, muitos estudos têm reportado que o consumo de água não tratada é a mais provável forma de se adquirir este microrganismo (HOLMBERG, 1986; MOYER, 1987; GHENGESH et al., 2001).

Os *Aeromonas* spp. fazem parte da microbiota normal de rios, multiplicando-se em condições apropriadas de pH, temperatura e nutrientes, e por isso têm sido usados como indicadores do estado trófico dessas águas (RIPPEY e CABELLI, 1979).

A detecção de *Aeromonas* spp. em água de rio foi estudada por Seidler (1980) que encontraram em máscaras e região oro-faríngea de nadadores do rio Anacostia, em Washington, a mesma contagem e tipos de cepas encontrados no rio – *A. hydrophila* e *A. sobria*, após meia hora de exposição à água.

Da mesma maneira que estão comumente presentes em água doce e clorada (KARAM et al., 1983; BURKE et al., 1984; FUZIHARA et al., 1995; HUYS, 1997) e água mineral (VAN DER KOOIJ, 1988; KÜHN et al., 1997; VILLARI et al., 2003), são detectados em canos de esgoto de escoadouros, de pia e de efluentes domésticos (LEITÃO e SILVEIRA, 1991), em águas de origem hospitalar e piscinas (MEEKS, 1963), em água do mar (LEITÃO

---

<sup>2</sup> PALUMBO, S. A.; MARINO, C.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; THAÖER, D. W. Starch ampicilin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 50, p.1027-1030,1985.

e SILVEIRA, 1991), além de já terem sido identificados em amostras de solo de jardim e áreas de recreação (RODRIGUES et al., 1994).

Tem sido reportada uma significativa correlação entre o conteúdo de matéria orgânica e o número total de *Aeromonas* na água, ou seja, águas com alto nível de contaminação fecal são passíveis de possuírem grandes contagens de *Aeromonas*. Neste sentido, Kaper et al. (1981), Araújo et al. (1989) e Araújo et al. (1991) obtiveram altas contagens de *Aeromonas* spp. simultaneamente à altas contagens de coliformes e não detectaram *Aeromonas* spp. em águas não poluídas, ambos concluíram que em águas com baixa ou nenhuma poluição fecal, a proporção de *A. sobria* e outras espécies do gênero cai consideravelmente. No entanto, Burke et al. (1984) não encontraram tal relação e detectaram *Aeromonas* spp. em águas de abastecimento municipal tratadas e livre de coliformes e *E. coli*.

De acordo com Vieira (2004) a frequência de isolamento de *Aeromonas* spp. é mais elevada nos meses de verão, tanto nas zonas temperadas como nas tropicais, ou seja, a variação sazonal depende da temperatura; o que também foi verificado por Monfort e Baleux (1990) ao isolar cepas ambientais de água não tratada, por Von Graevenitz e Mensh (1968) que detectaram maior número de casos clínicos no verão da Suíça, por El-Taweel (1998) que isolaram do rio Nilo maior contagem de *Aeromonas* no verão e por Seidler et al. (1980) no rio Anacostia (Washington), os quais verificaram um decréscimo na contagem do microrganismo de dois a quatro logs com a queda da temperatura da água em 1°C.

Vieira (2004) cita que diferentes fenoespécies podem predominar em diferentes fontes de água, onde *A. hydrophila* são prevalentes em águas de nascente, *A. caviae* é predominante em amostras marinhas e *A. sobria* em lagos recreacionais e água de rio. Araújo et al. (1991) avaliaram a distribuição de *Aeromonas* spp. em águas com diferentes níveis de poluição e detectaram predominância de *A. caviae* em águas com maior nível de detritos e poluição fecal, e em águas pouco poluídas (doce e salgada) isolou tanto *A. caviae* quanto *A. hydrophila*.

Figura et al. (1986) cita que em água doce a espécie mais comumente encontrada é *A. caviae* e que está frequentemente relacionada a alimentos que entram em contato direto com água, como verduras e legumes.

Dentre as 14 espécies descritas, somente as mesofílicas *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. sobria* e *A. veronii* são correntemente reconhecidas como patógenos ao homem (JANDA e ABBOTT, 1998). *A. caviae*, *A. hydrophila* e *A. sobria* são as de maior relevância nos últimos dez anos associadas à patologias no homem (SINGH e SANYAL,

1997). As espécies *A. media*, *A. trota* e *A. eucrenophila* não são consideradas patogênicas (HIRSCH et al., 2006).

Levando-se em consideração o aumento do risco de surgimento de doenças em pisciculturas intensivas, *Aeromonas* têm assumido uma maior importância nos diagnósticos de doenças de peixes. As espécies patogênicas aos animais peçonhentos incluem *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. sobria*, *A. veronii* e *A. salmonicida* (JANDA e ABBOTT, 1998), das quais *Aeromonas hydrophila* é a espécie mais associada às infecções em organismos aquáticos e pode causar perdas comerciais onerosas em piscicultura com a síndrome hemorrágica, com mortalidade que podem variar de cinco a 100% (RANZANI-PAIVA e TAKEMOTO, 2004).

*A. salmonicida* não é considerada patogênica para o homem, no entanto, pode causar uma patologia importante em peixes – a furunculose, causando perdas econômicas devastadoras em criações de água doce e salgada (RANZANI-PAIVA e TAKEMOTO, 2004) e pode ser isolada de tanques com peixes saudáveis (O'BRIEN et al., 1994).

*Aeromonas* móveis podem colonizar ou estar associadas com várias instalações de água domiciliar e animais (peixes saudáveis, sanguessugas, rãs) e são reconhecidas há muito tempo como agente etiológico da doença da pata vermelha em anfíbios, responsável por alta mortalidade durante a metamorfose de girinos. Estão normalmente associadas à alta densidade populacional nos tanques, manipulação exagerada dos animais, alimentação inadequada, enfim, práticas de manejo incorretas (MOURIÑO et al., 2006).

*Aeromonas* spp. têm sido associadas ao surgimento de abortos em bovinos e diarreia em porcos, assim como outras infecções em uma variedade de animais (GRAY e STICKLER, 1989).

Muitos estudos que apontam *Aeromonas* spp. como sendo responsáveis por gastrintenterites se concentram na suspeita de sua transmissão através da água (DAILY et al., 1981; GEORGE et al., 1985), alternativamente, Buchaman (1984) sugeriu a hipótese de transmissão através de alimentos.

Hanninen e Siitonen (1995) enfatizam que por ser a água o *habitat* natural de *Aeromonas* spp., ela exerce papel de extrema importância como fonte de contaminação dos alimentos que ao entrarem em contato com a mesma, são contaminados. De acordo com esta teoria, Abbey e Etang (1988) pesquisaram a incidência de *Aeromonas* spp. em diferentes amostras para investigar os reservatórios e seus biotipos, e observaram os maiores índices de isolamento em amostras ambientais de caramujos e água, sendo baixos os isolados de aves e

gado, sugerindo que as infecções originadas de carnes e aves podem ser devido a seu contato com a água durante o processamento.

Além da água, *Aeromonas* podem chegar aos alimentos pelas fezes de uma ampla variedade de animais que albergam a bactéria (porcos, vacas, carneiros e aves domésticas) e pessoas doentes ou portadoras que manipulam alimentos (FIGURA e MARRI, 1985; KIROV, 1993); entretanto, Vieira (2004) afirma que *Aeromonas* não é considerado como habitante normal do trato gastrintestinal de humanos, embora em clima temperado o número de portadores assintomáticos se aproxime de 3% e em regiões tropicais este índice pode atingir 30% ou mais.

Existem demonstrações de que há muita pouca similaridade entre a maioria das amostras oriundas dos alimentos e os isolados associados com diarreia, já que cepas capazes de colonizar ou infectar o trato gastrintestinal humano são provavelmente, apenas uma pequena fração daquelas de fonte ambiental (HAVELAAR et al., 1992); entretanto, algumas espécies de *Aeromonas* têm sido associadas à doenças em seres humanos, veiculados tanto pela água quanto por alimentos contaminados, sendo classificadas como patógenos emergentes de interesse para a saúde pública (MARTINS et al., 2002).

Muitos estudos têm evidenciado a ocorrência de *Aeromonas* spp. em alimentos como vegetais (PEDROSO et al., 1997; MONGE et al., 1998; GINESTREA et al., 2005), pescados (MORES, 1994; ALVES, 2001), carnes (OKREND et al., 1987; GARCÍA-LOPEZ et al., 1993; COSTA e ROSSI JÚNIOR, 2002), leite e queijos (FREITAS et al., 1993; MELAS et al., 1999); ovos (KUMAR et al., 2000) e alimentos crus e cozidos (FRICKER e TOMPSETT, 1989).

Sendo a água salgada e doce os principais reservatórios de *Aeromonas* spp., os pescados adquirem relevância com surtos transmitidos por alimentos, sendo as ostras bastante relatadas nestas patogenias (KIROV, 1993).

Evangelista-Barreto et al. (2006) analisaram 30 amostras de ostras do rio Cocó, no Ceará e encontraram *Aeromonas* spp. em 67% das amostras, com predominância de *A. veronii* (43%), *A. media* (37%) e *A. caviae* (23%), com contagens variáveis de  $<10^2$  a  $4,0 \times 10^4$  UFC/g; resultados os quais foram atribuídos à exarcebada contaminação no rio em decorrência do grande número de favelas e povoados sem tratamento sanitário que acabam por descarregar seus esgotos não tratados em córregos que desembocam no rio Cocó.

Resultados semelhantes ao anterior foram obtidos por Pereira et al. (2004) que isolaram *Aeromonas* spp. em 86% das amostras de ostras *in natura* e cozidas obtidas da Baía

da Guanabara, Rio de Janeiro, sendo a maior frequência verificada para *A. media* (37,10%), *A. hydrophila* (15,50%) e *A. caviae* (14,8%).

Leitão e Silveira (1991) isolaram *Aeromonas* spp. em amostras de moluscos (100%) e de crustáceos (78,9%) obtidas em no litoral de São Paulo.

Muitos trabalhos têm descrito isolamento de *Aeromonas* spp. em peixes de mar e de rio (FUKUYAMA et al., 1989), em peixes de tanques e viveiros (SANTOS et al., 1988; MORALES et al., 2004; HIRSCH et al., 2006), em peixes ornamentais (PÁSCOA et al., 2005), em peixes conservados pelo frio e em pratos à base de peixes (NISHIKAWA e KISHI, 1988; HUDSON et al., 1992; KIROV, 1993; HANNINEM et al., 1997; GONZÁLES-RODRIGUEZ et al., 2002).

Fukuyama et al. (1989) avaliaram peixes (intestinos) e água de rios no Japão, e seus resultados mostraram que em 100% das águas e em 90,4% dos peixes foram isolados *Aeromonas* spp., com média de contagens de  $1,3 \times 10^3$  UFC/l e  $1,1 \times 10^6$  UFC/g, respectivamente. As principais espécies isoladas tanto da água quanto dos peixes foram *A. hydrophila*, *A. sobria* e *A. caviae*, o que representou respectivamente 14,2%, 27,5% e 29,2% das amostras de água e 17,2%, 31,4% e 19,5% das amostras de peixes.

Pathak et al. (1988) estudaram a sazonalidade de *A. hydrophila* em peixes e água de rios na Índia, demonstrando que os mais altos índices na água foram detectados no final do inverno, seguido por um progresso declínio durante o verão; o mesmo não ocorreu com os peixes, em que o microrganismo foi encontrado durante todo o tempo, indicando serem os peixes reservatório para *A. hydrophila*.

Santos et al. (1988) isolaram 59 *Aeromonas* móveis de peixes de tanques nos EUA, e detectaram que 62% dos isolados eram enterotoxigênicos, pertencentes às espécies *A. hydrophila* e *A. sobria*.

Morales et al. (2004) avaliaram a presença de vários microrganismos em 50 amostras de tilápias (lavado superficial) coletadas de viveiros comerciais na Costa Rica e isolaram *Aeromonas* spp. em 98% dos peixes, sendo que 80% das contagens foram superiores a  $10^3$  UFC/g.

Nishikawa e Kishi (1988) pesquisaram na Inglaterra, por dois anos, a ocorrência de *Aeromonas* spp. móveis em amostras de origem humana (fezes), e alimentar (carnes, peixes e vegetais). Concluíram que as amostras de alimentos tiveram contagens inesperadamente altas, e isolaram *Aeromonas* spp. de peixes marinhos e de água doce, sendo nestes a concentração dez vezes maior que naqueles.

Hirsch et al. (2006) analisaram 24 amostras de tilápias (lavado superficial) coletadas em viveiros comerciais no estado de Minas Gerais e isolaram oito cepas de *Aeromonas* spp., sendo três de *A. trota*, três de *A. jandaei* e dois de *A. sobria*.

Hatha et al. (2005) avaliaram as espécies de *Aeromonas* móveis de diferentes espécies de peixes (intestinos) de viveiros na Holanda e encontraram 61% de *A. hydrophila*, 30% de *A. caviae*, 7% de *A. sobria* e 2% de espécies não identificadas. A maioria das cepas de *A. hydrophila* apresentou atividade hemolítica o mesmo não ocorreu com as outras espécies, e ainda, muitas apresentaram alta resistência à uma série de antibióticos, a que os autores atribuíram ao uso indiscriminado de antibioticoterapia na criação.

Hanninen et al. (1997) analisaram 29 amostras de peixe, 12 amostras de camarão 23 amostras de água doce de abastecimento doméstico e isolaram *Aeromonas* spp. em 93% dos peixes, em 16% dos camarões e 100% das amostras de água.

Al-Harbi e Uddin (2005) analisaram a viabilidade de microrganismos de 36 tilápias (intestinos) após congelamento por 12 meses e demonstraram que *Aeromonas hydrophila* estiveram presentes tanto nos peixes frescos (24%) quanto congelados (19%), mostrando que durante o congelamento a maioria das bactérias pode não ser recuperada, mas muitas sobrevivem com o processo, dentre elas, *A. hydrophila*.

Lallier e Higgins (1988) isolaram *Aeromonas* spp. de peixes saudáveis e doentes, e encontraram *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. sobria* de ambos os peixes. As espécies predominantes foram *A. hydrophila* nos peixes doentes e *A. caviae* e *A. sobria* nos saudáveis, sendo *A. hydrophila* as principais cepas produtoras de elementos extracelulares. Os resultados sugerem que os peixes podem representar um importante reservatório de infecção.

Kirov (1993) isolou *Aeromonas* spp. de vários alimentos à base de ostras, pescados em geral e salada de ovos e em um um caso de infecção humana a mesma cepa isolada das fezes foi encontrada no alimento ingerido (coquetel de camarão).

Hudson et al. (1992) pesquisaram a presença de *Aeromonas* em alimentos prontos para comer, incluindo carnes de várias origens, moluscos e barbatanas de peixes. *A. hydrophila* foi encontrada em todas as amostras de alimentos, a saber: carne de carneiro (100%), de frango (25%), de peru (83%), de suínos (14,7%), de bovinos (5,6%), mariscos (40%) e barbatanas de peixes (28%).

### 3.6.3.4 Características da doença

A habilidade de algumas amostras em crescer e produzir toxinas em baixas temperaturas induz à especulação de que as doenças causadas por alimentos podem ser causadas pela toxina pré-formada no alimento. No entanto, estas cepas não são comuns e as toxinas podem ser inativadas por vários alimentos, não oferecendo risco quando comparadas com as amostras capazes de colonizar o intestino e expressar fatores de virulência *in vivo* (VIEIRA, 2004).

De acordo com Mores (1994), embora algumas espécies de *Aeromonas* sejam patogênicas para animais, são as doenças que causam no homem que fazem com que *Aeromonas* sejam merecedoras de estudos mais profundos e representem um patógeno potencial capaz de provocar tanto infecções intestinais quanto extra-intestinais (septicemia, infecção em ferimentos, ocular, em osso, articulação, intra-abdominal, etc.). Para Von Graevenitz (1987) *A. hydrophila* é a espécie mais comumente implicada em patologia humana.

### 3.6.3.5 Mecanismo de patogenicidade

A patogenicidade do gênero está associada à capacidade de produção de diversos fatores de virulência, tais como produção de enterotoxinas, hemolisinas, proteases, leucocidina, fosfolipases e endotoxina. A variedade de quadros clínicos, em particular da infecção gastrointestinal, sugere um complexo mecanismo de patogenicidade (THORNEY et al., 1997).

Duas categorias de enterotoxinas, citotônicas e citotóxicas, foram encontradas em culturas de *Aeromonas*. A enterotoxina citotônica não degenera as vilosidades intestinais enquanto a citotóxica provoca grandes danos no epitélio (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). *Aeromonas* spp. produzem várias proteases que causam danos teciduais e auxiliam no estabelecimento da infecção, vencendo as defesas do hospedeiro, por exemplo.

*A. hydrophila* produz várias lecitinas e adesinas que permitem a aderência da bactéria a glicoconjugados na mucosa intestinal ou superfície epitelial (MORES, 1994).

Hemolisinas são também produzidas por *Aeromonas* spp. e atuam formando poros na membrana celular, destruindo a permeabilidade seletiva da mesma (BURKE et al., 1984)

O fenômeno suicida tem sido implicado na patogenicidade de algumas espécies de *Aeromonas* e consiste na produção de ácidos a partir da glicose do meio de cultivo,

normalmente a 30°C. Tem sido relatado que diarreia e acúmulo de líquido em ratos ocorrem apenas com cepas virulentas não suicidas, ao contrário, cepas suicidas demonstraram-se ser avirulentas para estes animais (NAMDARI e CABELLI, 1989).

### 3.7 MICRORGANISMOS MESÓFILOS

Mesófilos são assim chamados os microrganismos que crescem bem entre 20 e 45°C e possuem temperatura ótima de crescimento entre 30 e 40°C, podendo ser encontrados em alimentos resfriados (JAY, 2005).

Um número elevado de mesófilos em um alimento indica a contaminação da matéria-prima ou processamento insatisfatório sob o ponto de vista sanitário, já que as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Neste caso pode-se afirmar que houve condições para que estes microrganismos se desenvolvessem no alimento, logo, o alimento é insalubre (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A contagem de mesófilos é utilizada para estimar a possível presença de patógenos no alimento e, mesmo que eles estejam ausentes e não tenham ocorrido alterações sensoriais no alimento, acaba por estimar sua qualidade sanitária, sendo útil para medir as condições da matéria-prima, a eficiência dos procedimentos (por exemplo, tratamento térmico), as condições higiênicas durante o processamento, as condições sanitárias dos equipamentos e utensílios, e ainda o perfil tempo x temperatura durante a armazenagem e distribuição (FAO, 2008).

No Brasil não existe padrão microbiológico para mesófilos em pescados, mas um padrão bastante utilizado por muitos pesquisadores é o da ICMSF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*), e determina como tolerância para amostra indicativa é de  $10^7$  e para amostra representativa é de  $n=5$   $c=2$   $m=5 \times 10^5$  e  $M=10^7$  UFC/g (FAO, 2008).

No entanto, essa contagem não tem significado como índice de qualidade de alguns produtos de pesca conservados tais como os salgados, marinados, defumados, dentre outros, uma vez que uma grande população de bactérias lácticas não patogênicas se desenvolve, normalmente, nestes produtos (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Andrade et al. (2002) analisaram peixes adquiridos em um mercado no município de Campos dos Goytacazer, RJ apresentaram contagem de mesófilos variando de  $3,0 \times 10^5$  a  $1,7 \times$

$10^7$  UFC/g para filé de peixe e para peixe inteiro uma variação de  $<10^5$  a  $9,4 \times 10^8$  UFC/g, e foram considerados peixes de baixa qualidade pelos pesquisadores.

Almeida Filho et al. (2002) constataram em 100% dos peixes comercializados em supermercados e feiras livres em Cuiabá uma contagem excessiva de mesófilos, com variações de  $2,0 \times 10^5$  UFC/g a  $5,3 \times 10^5$  UFC/g.

González-Rodríguez et al. (2001) avaliaram filés de peixes comercializados em supermercados em Madri, Espanha, imediatamente após a embalagem e detectaram contagens variando entre  $4,87 \times 10^2$  a  $5,27 \times 10^6$  UFC/g, o que os fez concluir estarem os filés em baixas condições higiênicas.

Al-Harbi e Uddin (2005) analisaram quantitativa e qualitativamente 36 tilápias (intestinos) coletadas de um viveiro de terra na Arábia Saudita. As amostras recém capturadas apresentaram contagem de mesófilos variável de  $8,7 \times 10^7$  a  $1,9 \times 10^8$  UFC/g, sendo a seguir submetidas ao congelamento por 12 meses, com observações quantitativas feitas mensalmente e qualitativas, a cada três meses. Os resultados mostraram que houve um decréscimo na contagem de mesófilos de dois logs após um mês de tratamento pelo frio, rebaixando lentamente e chegando a menor contagem a atingir  $6,5 \times 10^4$  UFC/g. As observações qualitativas mostraram a presença de *Shewanella putrefascians*, *Corynebacterium urealyticum*, *Aeromonas hydrophila* e *Flavobacterium* spp que estiveram presentes tanto nos peixes frescos quanto congelados. Os autores concluíram que a contaminação da carne pode ser decorrente dos intestinos durante o processamento dos peixes e que o congelamento não elimina grande parte dos microrganismos.

### **3.8 USO DO PEIXE COMO INDICADOR DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL**

Alguns pesquisadores têm utilizado peixes como bioindicadores, ou seja, eles têm demonstrado que a presença de coliformes e *E. coli* em vísceras e músculos de peixes pode ser utilizada como indicativo de contaminação ambiental por microrganismos de aonde os mesmos se estabelecem (BURAS et al., 1985; GELDREICH e CLARKE, 1996; LATSELVA et al., 1997; EL-SHAFI et al., 2004; GUZMÁN et al., 2004).

Bioindicadores são todos os organismos vivos que são usados no monitoramento qualitativo e quantitativo do nível de poluentes no meio ambiente e a sua repercussão na ecologia. Estes organismos podem já estar presentes no ecossistema (monitor passivo) ou serem introduzidos (monitor ativo). Em ambos os casos, os danos observados e/ou análises

dos mesmos permitem conclusões mais ou menos acuradas relacionadas à quantificação de níveis de poluentes específicos (ARIAS et al., 2007).

Geldreich e Clarke (1996) estudaram a ocorrência de coliformes totais e fecais no trato intestinal de peixes recém capturados de várias áreas de um rio em Miami, EUA. Revelaram que os níveis de contaminação do trato intestinal dos peixes foram mais baixos exatamente na região do rio com menor contaminação por descarga de esgoto de origem animal, ou seja, estiveram diretamente proporcionais com o nível de poluição ambiental, observado nos trechos mais contaminados do rio; concluíram que a contaminação dos peixes refletiu o nível de poluição da água.

Latselva et al. (1997) avaliaram amostras de fígado de peixes obtidos em pesqueiros na Rússia, e detectaram alta contaminação com coliformes totais e fecais, sendo evidenciadas a presença de *E. coli* em 27,3% dos fígados. Outros microrganismos encontrados foram *Edwardsiella* (16,6%), *Citrobacter* (14,3%) e *Acinetobacter* (14,3%), o que associaram às condições insatisfatórias dos pesqueiros e ainda, a presença de *E. coli* nos peixes é um indicativo de poluição da água com material fecal de homem e animais.

El-Shafai et al. (2004) analisaram a contaminação de peixes criados em tanques com diferentes tratamentos (suspensão com fezes oriundas de criação de patos, cevada e ração comercial) objetivando alterar a contaminação da água dos mesmos. A qualidade microbiológica das amostras de peixes indicou que todos os tecidos, exceto músculos, estiveram contaminados com *E. coli*, sendo o microrganismo encontrado nos intestinos, brânquias, superfície corporal e fígado. Comprovou que quanto maior a contaminação da água, maior a contaminação nas vísceras dos peixes ( $2,2 \times 10^4$  UFC/g para peixes do tanque alimentado com restos fecais;  $1,7 \times 10^4$  para os do tanque alimentado com cevada e,  $1,7 \times 10^3$  para os do tanque alimentado com ração comercial) o que demonstrou a eficiência do uso de vísceras de peixe como bioindicador.

Guzmán et al. (2004) trataram experimentalmente água de aquários com diferentes concentrações de *E. coli* ( $10^2$  a  $10^6$  UFC/ml) para posterior análise microbiológica dos peixes. Todas as concentrações de *E. coli* da água foram restabelecidas no trato digestivo dos peixes ( $10^2$  a  $10^6$  UFC/g) e nos músculos foram detectadas as menores concentrações ( $10^3$  UFC/g), onde concluíram haver uma relação direta entre o nível de contaminação da água com o das vísceras, sugerindo que os peixes podem carrear a bactéria de uma água poluída para uma não poluída, visto que absorveram a *E. coli* da água.

Resultado semelhante foi obtido por El-Zanfaly e Ibrahim (1982), que analisaram pele, guelras, intestinos e músculos de peixes recém capturados do rio Nasser's Lake, na

Alemanha, e detectaram a presença de *E. coli* em 43% das amostras de pele e guelras e 100% dos intestinos e músculos, e também concluíram que a poluição ambiental interfere na contaminação microbiológica dos peixes.

Nuhi e Khorasani (1981) realizaram estudo semelhante ao anterior, no entanto, analisaram também a água do lago Amir-Kolayeh, na Alemanha. Encontraram coliformes fecais na água e nos intestinos de 100% dos peixes e concluíram que a presença destes microrganismos nos trato intestinal dos peixes pode ser usada como indicativo de água poluída.

Buras et al. (1985) inocularam vários microrganismos presentes na água em peixes e compararam com peixes que foram imersos na água, a fim de observar em quais dos peixes a absorção de microrganismos seria maior. Os resultados mostraram que nos peixes inoculados as contagens de microrganismos foram menores que nos peixes imersos na água contaminada, fato atribuído ao sistema imune dos peixes inoculados. Os autores concluíram que a contaminação dos peixes pode ser utilizada para estimar a contaminação da água.

O uso do peixe como indicador da presença de microrganismos patogênicos na água foi também testado por Baker et al. (1983) que comprovou uma resposta imune à *S. Tiphimurium* na tilápia (*Tilapia áurea*), que ao receber doses infectantes intra-intestinal do microrganismo, somente apresentou contaminação nas vísceras e pele 15 a 16 dias após, no entanto, 30 a 32 dias após a inoculação já não mais foi isolada, sem apresentar qualquer contaminação nos músculos, além de apresentar alta titulação de anticorpos, o que fez o autor concluir que as Tilápias possuem uma excelente resposta imune à *S. Tiphimurium* e que ao serem usadas como bioindicadores deve-se levar em conta este período pré-patente e a resposta imune.

### **3.9 PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA O PESCADO FRESCO**

As análises microbiológicas realizadas em alimentos objetivam conhecer as condições de higiene em que os mesmos foram obtidos e processados, fornecendo subsídios sobre os riscos que esses alimentos podem oferecer à saúde do consumidor e ainda, se o alimento terá ou não a vida útil pretendida. Além disso, essas análises são indispensáveis para verificar se os padrões e especificações microbiológicas estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

No Brasil, os aspectos higiênicos, sanitários e tecnológicos dos pescados e seus derivados, quando ainda nos entrepostos ou nas fábricas de conservas de pescados, são

legislados pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA) no âmbito da fiscalização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que define como fresco o pescado dado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação, a não ser a ação do gelo (BRASIL, 1952).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), através da Resolução RDC nº 12 de dois de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) determina os critérios e padrões microbiológicos brasileiros para alimentos expostos à comercialização. As bactérias sobre as quais esta legislação estabelece limites quase sempre não alteram a aparência do pescado, estando a razão de suas limitações relacionada à sua patogenicidade ao homem e não à deterioração dos produtos (VIEIRA, 2004).

Muitos autores utilizam indiscriminadamente os padrões microbiológicos preconizados por Brasil (2001) para pescado em geral (que seja peixe resfriado, congelado ou conservado por outro método e ainda, outra espécie de pescado), no entanto para peixe *in natura* (resfriados ou congelados), as únicas análises preconizadas se referem à enumeração de estafilococos coagulase positiva por grama de amostra e pesquisa de *Salmonella* spp. por 25g de amostra.

A contagem de mesófilos é um método passível de erros, uma vez que células estressadas podem não se desenvolver no meio, mesmo quando presentes no alimento. Embora conste em padrões microbiológicos de muitos países, não consta na legislação brasileira para pescados e derivados, já que muitas vezes um grande número de microrganismos não significa necessariamente um pescado inaceitável para consumo e vice-versa.

De acordo com Brasil (2001), para estafilococos coagulase positiva, a tolerância para amostra indicativa é de  $10^3$  e para amostra representativa é de  $n=5$   $c=2$   $m=5 \times 10^2$  e  $M=10^3$ ; para produtos a base de pescado e pescado processado, a tolerância para amostra indicativa é de  $10^2$  e para amostra representativa é de  $n=5$   $c=2$   $m=10$  e  $M=10^2$ , onde **m** significa o limite máximo que separa a classe das amostras aceitáveis das amostras com qualidade marginal, e **M** é o limite máximo que separa a classe dos marginais dos inaceitáveis. Para *Salmonella* spp., a tolerância para amostra indicativa é de “ausência” e para amostra representativa é de  $n=5$   $c=0$  e  $m$ =ausência

Cabe ressaltar que os padrões microbiológicos para pescados e derivados adotados por instituições consideradas referências, internacionalmente aceitas como ICMSF e FAO têm sido utilizados como referência por muitos pesquisadores brasileiros (LIUSON, 2003).

Embora não figurem na legislação outros grupos de microrganismos considerados patogênicos, cada estabelecimento pode adotar seus critérios microbiológicos para assegurar a qualidade de seus pescados, como por exemplo, a contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, pesquisa de *Aeromonas* spp., contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, dentre outros (VIEIRA, 2004).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL E PERÍODO DE COLETA

As amostras de peixes foram obtidas de uma área delimitada na bacia rio Cuiabá e de um viveiro de piscicultura comercial, ambos situados no município de Várzea Grande, Mato Grosso. Essa região é conhecida como baixada cuiabana e compreende uma área de depressão entre as partes mais altas do planalto e o início de uma planície inundável, onde há uma intensificação dos impactos ambientais sobre o rio Cuiabá.

Várzea Grande está localizada na região centro-sul mato-grossense (latitudes 15°32'30"S e 56°17'18"W), sendo sua sede localizada apenas cinco km em linha reta da capital do estado, Cuiabá. Caracteriza-se por apresentar clima tropical quente e semi-úmido, cuja característica principal é a frequência de temperaturas elevadas, com média anual de 29°C. O período mais quente corresponde ao semestre primavera/verão quando a temperatura se mantém constantemente elevada, sendo a média das máximas em torno de 34°C. As temperaturas mais baixas são registradas nos meses de junho e julho, porém, com ocorrência também de temperaturas elevadas, ficando as mínimas entre 18 a 24°C. Apresenta distribuição de chuvas irregular, sendo mais intenso (média de 200 mm/mensal) nos meses de novembro a abril.

Amostras de rio e viveiro foram coletadas mensalmente, no período de maio de 2006 a abril de 2007, abrangendo desta maneira o período de chuvas (novembro a abril) e o período de seca (maio a outubro) objetivando estudar o efeito da sazonalidade sobre os microrganismos pesquisados.

#### 4.1.1 Rio Cuiabá

Os peixes foram capturados na bacia do rio Cuiabá (Figura 7), em uma área delimitada entre os limítrofes da “Ponte Nova” (Figura 8) e “Ponte Ministro Sérgio Motta” (Figura 9). Esta porção da bacia é denominada sub-bacia do médio Cuiabá e a sua escolha para o presente estudo se deve ao fato de ser uma região fronteira com a capital Cuiabá e por apresentar grande atividade pesqueira para abastecer as duas cidades, consideradas os maiores pólos populacionais do estado, resultando em altos índices de contaminação (Figuras 10 e 11) de origem pontual e não pontual que juntas, oferecem intensos impactos ambientais com reflexos sobre a cadeia alimentar deste *habitat* e risco de contaminação de peixes.



Figura 7: Fotografia aérea da região da bacia do rio Cuiabá estudada  
Fonte: GOOGLE-MAPS (2007)

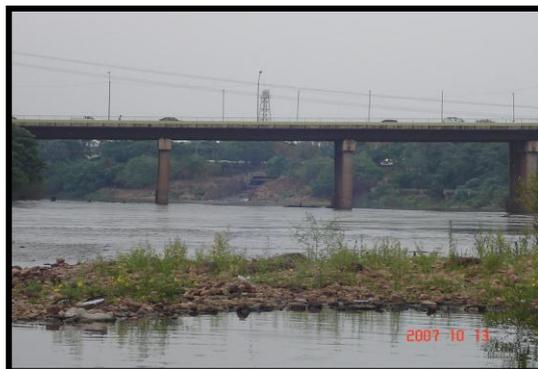


Figura 8: Ponte Nova



Figura 9: Ponte Ministro Sérgio Motta



Figura 10: Esgoto doméstico lançado no rio Cuiabá



Figura 11: Efluente industrial no rio Cuiabá

#### 4.1.2 Viveiro

Os peixes foram retirados de um viveiro de terra, com as medidas de 80 m de comprimento x 60 m de largura X 1,8 m de profundidade (Figura 12), com um sistema de renovação de água constante e variável, de acordo com o nível de água do mesmo, ou seja, à medida que o nível desce, um sistema de bomba elétrica enche o viveiro com água captada de uma represa nas proximidades, cujo abastecimento se faz por uma nascente natural.

Não há fertilização do viveiro com adubo orgânico nem tampouco esterco oriundo de consorciação com suinocultura e avicultura, portanto, o arraçoamento dos peixes é feito exclusivamente com o uso de rações comerciais (peletizadas) próprias para peixes, uma vez ao dia, as quais são adequadamente armazenadas, tomando-se o cuidado para evitar a contaminação das mesmas e não levar microrganismos para os viveiros.

Quando os peixes atingem entre 12 a 18 meses estão com o peso e o tamanho ideais para sua comercialização, aproximadamente com 700g e 22 cm, respectivamente. Nesta fase, ocorre a despesca com uso de rede para promover o completo esvaziamento do viveiro para a comercialização dos peixes. A seguir, ocorre a limpeza e desinfecção do viveiro com auxílio de máquinas de drenagem e uso posterior de substância sanitizante (cal), num período de aproximadamente duas semanas. Após terminado o processo de limpeza, ocorre o novo peixamento, com introdução de alevinos.



Figura 12: Vista lateral do viveiro estudado

## 4.2 AMOSTRAS

Os peixes analisados (Figuras 13 e 14) pertencem à família *Characidae* e espécie *Brycon microlepis*, vulgarmente conhecidos como piraputanga, e foram escolhidos em virtude da tradição na culinária mato-grossense e por apresentar carne clara e succulenta, o que o torna bastante apreciado pelo consumidor. De acordo com Cravo (2001), esta espécie está distribuída em toda Bacia do Prata, é onívora e alimenta-se de peixes, frutos e sementes. Vivem em locais de corredeiras e remansos, embaixo de árvores frutíferas, próximos às plantas aquáticas. Têm o corpo prateado e alongado, um pouco achatado látero-lateralmente, coberto por escamas, nadadeiras alaranjadas com uma mancha preta sobre a linha lateral que vai da nadadeira adiposa até os raios centrais da nadadeira caudal. Podem medir até 50 cm de comprimento e atingir até 3 kg de peso corporal quando adultos.



Figura 13: Peixe do rio



Figura 14: Peixe do viveiro

Cada amostra foi composta por 3 a 6 peixes, variável de acordo com o tamanho de cada peixe, com a finalidade de se obter uma quantidade suficiente de vísceras para a realização das análises, sendo utilizadas em um ano de captura um total de 12 amostras de rio e 12 de viveiro, o que representou 24 amostras.

A captura dos peixes do rio e do viveiro foi feita com uso de linhada, composta por linha, chumbada, e anzol com iscas naturais (pequenos peixes e frutas). Imediatamente após a captura, o anzol foi retirado dos peixes, tomando-se o máximo cuidado para não contaminá-los e assim mascarar sua qualidade microbiológica. A seguir, cada peixe foi colocado individualmente em sacos plásticos próprios para alimentos (Figura 15), lacrados e acondicionados em caixas isotérmicas distintas, sendo uma para amostra procedente do rio e outra para viveiro, ambas contendo gelo picado (Figura 16), sem contato direto, de acordo com a recomendação de Silva et al. (2001), e a seguir enviadas ao laboratório para as análises microbiológicas.



Figura 15: Amostra acondicionada



Figura 16: Caixa isotérmica com amostra e gelo

#### 4.3 LOCAL DAS ANÁLISES

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) do Departamento de Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Imediatamente após a recepção no laboratório, as amostras dos peixes foram preparadas para a obtenção das respectivas unidades analíticas a serem analisadas.

#### 4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram pesadas e os peixes lavados e enxaguados com água estéril (Figura 17), sendo acondicionados em bandejas esterilizadas, para a obtenção das alíquotas. Posteriormente, foi realizado um corte sagital na cabeça (Figura 18), próximo à linha dos olhos do animal, para exposição do encéfalo. Procedeu-se a coleta, em placa de Petri estéril, de um *pool* de 2 g de encéfalo (Figura 19). Para a obtenção do *pool* de fígado, foi realizada uma incisão no sentido crânio caudal sob a linha lateral em qualquer antímero dos animais, seguida de uma incisão dorso-ventral (Figura 20). Procedeu-se a coleta de de um *pool* de 3 g de fígado em placa de Petri estéril (Figura 21).



Figura 17: Lavagem do peixe



Figura 18: Incisão da cabeça

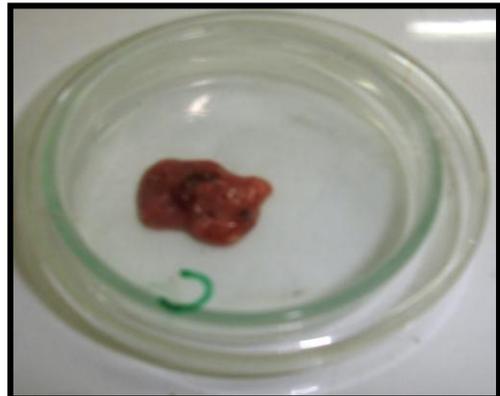


Figura 19: *Pool* de encéfalo



Figura 20: Incisão dorso-ventral



Figura 21: *Pool* de fígado

## 4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises bacteriológicas constaram de contagem de coliformes totais e termotolerantes, pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, por serem as bactérias indicadoras da qualidade higiênico-sanitárias de peixes. Adicionalmente, foram realizadas contagens e identificação de *Aeromonas* spp., por serem bactérias normalmente presente em água, sendo isolada com frequência em peixes, além de serem agentes etiológicos de enfermidades.

Foram utilizados métodos recomendados por SILVA et al. (2001), exceto para contagem e identificação de *Aeromonas* spp., em que se utilizou o método preconizado por Mores (1994).

### 4.5.1 Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos

Para a contagem de aeróbios mesófilos foram preparadas diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em Água Peptonada a 0,1% do *pool* de fígado, estabelecendo-se a proporcionalidade de 25 g de amostra/ 225 mL de diluente para a diluição inicial. Em seguida, foram transferidas alíquotas de 1 mL de cada diluição para placas de Petri estéreis em duplicatas e adicionados 15 mL de Agar Padrão para Contagem (PCA), seguindo-se incubação por 48 h a 35°C. Para o processamento do encéfalo realizou-se o mesmo procedimento.

### 4.5.2 Contagem de coliformes totais e termotolerantes

#### 4.5.2.1.NMP de coliformes totais

A determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais consistiu de duas etapas distintas, teste presuntivo e confirmativo. Dos tubos positivos no Caldo Lauril Sulfato (LST) foram transferidas alçadas para confirmação de coliformes totais em tubos com Caldo Verde Brilhante Bile Lactose (BGBL) e incubados a 35° C por 24-48 horas. A confirmação foi feita por repicagem em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), com o desenvolvimento de colônias características.

O número de tubos positivos (indicados pela presença de gás no interior) no Caldo BGBL foi anotado e levado à Tabela de Mac Crady para determinar o NMP de coliformes totais por grama da amostra.

#### 4.5.2.2 Contagem de coliformes termotolerantes

Dos tubos positivos no LST foram transferidas alçadas para confirmação de coliformes termotolerantes em tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a  $44,5 \pm 0,1^\circ \text{C}$  por 24-48 horas, em banho-Maria com agitação.

O número de tubos positivos (indicados pela presença de gás no interior) no Caldo EC foi anotado e levado à Tabela de Mac Crady para determinar o NMP de coliformes termotolerantes por grama da amostra.

As colônias características foram cultivadas em Agar Cérebro e Coração (BHI) para proliferação, a partir da qual foram submetidas às provas bioquímicas (IMViC, produção de gás a partir de glicose, lactose, celobiose, adonitol e manitol) para a identificação da espécie.

#### 4.5.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada inoculando-se em meios de pré-enriquecimento (Caldo Lactosado) incubados a  $35^\circ \text{C}$  por 24 h. Posteriormente, foi inoculada uma alíquota de 1 mL para o enriquecimento seletivo em Caldo Selenito Cistina e Caldo Tetrionato, utilizando-se duplicatas e cada um dos meios incubados a  $35^\circ \text{C}$  e  $43^\circ \text{C}$ , durante 48 h, conforme as recomendações de Calderon e Furlanetto (1991). Posteriormente, foi efetuada a passagem para os meios seletivos de Ágar Hektoen (HE), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLDA). As colônias características foram repicadas para os meios de diferenciação TSI e Ágar Lisina-Ferro (LIA-Merck) e com incubação a  $35^\circ \text{C}$  por 24 h. Em seguida, as colônias características procedentes do Agar TSI foram submetidas a provas bioquímicas de descarte, para confirmação definitiva, constando de: teste de urease, teste de fermentação da lactose e da sacarose, teste de indol, teste de citrato, teste de Vermelho de Metila (VM), teste de Voges-Proskauer (VP) e teste da descarboxilação da lisina em caldo. Não foi realizada pesquisa de *Salmonella* spp. nas amostras de encéfalo.

#### 4.5.4 Contagem e identificação de *Aeromonas* spp.

Os microrganismos do gênero *Aeromonas* foram pesquisados de acordo com o método descrito por Mores (1994). A partir do *pool* de fígado e *pool* de encéfalo, separadamente, foram preparadas diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em Água Peptonada a 0,1%, estabelecendo-se a proporcionalidade de 25 g de amostra/ 225 mL de diluente para a diluição inicial. Em seguida

0,1 mL de cada diluição da amostra assim obtida foi inoculado por (plaqueamento em superfície) em placas de Petri contendo Ágar Amido com 20 µg/ml de ampicilina (AAA), seguindo-se incubação a 28° C por 24 horas.

Em seguida, as colônias típicas (amarelas e com halo devido a produção de amilase pelo microrganismo) foram contadas e repicadas para o Agar Tripticase Soja (TSA) inclinado e outro com Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) inclinado, e ambos incubados a 28° C por 24 horas. Observou-se a coloração do meio TSI, em que as cepas suspeitas de *Aeromonas* spp. acidificam o ápice (sacarose +) e a base (glicose +), mantendo a coloração da rampa e fundo do tubo amarelos, com ou sem produção de gás. As culturas em TSA foram utilizadas para a identificação, que foi feita através de provas bioquímicas convencionais (teste de motilidade, VP, produção de indol, arginina dihidrolase, lisina descarboxilase, ornitina descarboxilase, fermentação de salicina, arabinose, sacarose, manitol e inositol, crescimento a 0, 3 e 6% de NaCl).

#### 4.6 ANÁLISE DE DADOS

As avaliações quantitativas e qualitativas das análises microbiológicas dos peixes foram realizadas através de teste não paramétrico de associação/correlação de Spearman e o teste não paramétrico de Kolmogorov\_Smirnov (ZAR, 1999), ambos ao nível de 5% de significância.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 MESÓFILOS

As contagens de mesófilos de amostras de encéfalo, durante o período seco, variaram de  $3,0 \times 10^2$  a  $1,0 \times 10^5$  UFC/g e  $0,8 \times 10$  a incontáveis UFC/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Durante o período chuvoso, as contagens variaram de  $4,2 \times 10^2$  a  $3,2 \times 10^5$  UFC/g e  $1,2 \times 10^2$  a  $5,5 \times 10^5$  UFC/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente.

Observa-se na Tabela 2 que as amostras de fígado apresentaram durante o período seco contagens de mesófilos variáveis de  $0,3 \times 10$  a  $2,7 \times 10^5$  UFC/g e  $4,8 \times 10$  a  $2,3 \times 10^5$  UFC/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Já durante o período chuvoso, as contagens variaram de  $3,6 \times 10^2$  a  $6,3 \times 10^4$  UFC/g e  $2,3 \times 10^2$  a  $5,6 \times 10^5$  UFC/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Os níveis de contaminação podem ser melhor visualizadas nas Figuras 22 e 23.

Tabela 2 - Contagem de microrganismos mesófilos (em UFC/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá.

MÊS DE COLETA	PERÍODO	PEIXES DE RIO (UFC/g)	PEIXES DE VIVEIRO (UFC/g)
Maio	seco	$4,9 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
Junho	seco	$4,8 \times 10$	$0,3 \times 10$
Julho	seco	$8,3 \times 10^2$	$7,0 \times 10$
Agosto	seco	$1,7 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$
Setembro	seco	$2,3 \times 10^5$	$2,1 \times 10^4$
Outubro	seco	$1,2 \times 10^4$	$8,4 \times 10^3$
Novembro	chuvoso	0	$6,2 \times 10^4$
Dezembro	chuvoso	$7,6 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$
Janeiro	chuvoso	$1,2 \times 10^5$	$1,9 \times 10^4$
Fevereiro	chuvoso	$2,3 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$
Março	chuvoso	$5,6 \times 10^5$	$6,1 \times 10^2$
Abril	chuvoso	$9,4 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$

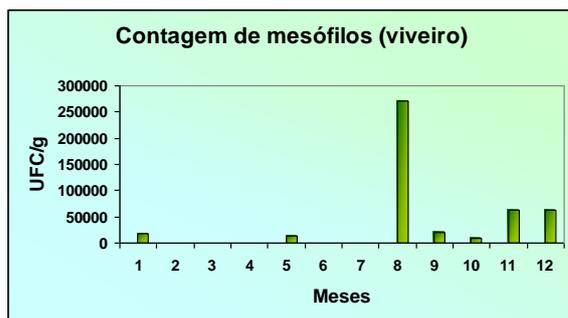


Figura 22: Distribuição das contagens de mesófilos de peixes do viveiro.

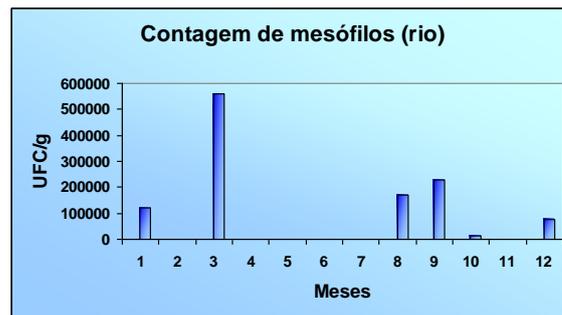


Figura 23: Distribuição das contagens de mesófilos de peixes do rio.

No Brasil, não existe padrão microbiológico para a contagem de mesófilos, no entanto, se considerarmos o padrão adotado pela ICMSF (FAO, 2008) onde  $m=5 \times 10^5$  e  $M=10^7$ , do total de amostras de fígado analisadas ( $n=24$ ), quatro amostras de rio e uma amostra de viveiro apresentaram-se com qualidade chamada marginal, ou seja, com valores entre  $m$  e  $M$  estando as demais amostras abaixo de  $m$  (aceitáveis), com contagens entre  $0,3 \times 10^5$  e  $7,6 \times 10^4$  UFC/g. De acordo com Franco e Landgraf (1996), um número elevado de mesófilos em um alimento indica que o mesmo permaneceu em condições suficientes para que microrganismos patogênicos se desenvolvessem, visto que estes são também mesófilos. Portanto, no presente trabalho as amostras se apresentaram em condições sanitárias satisfatórias.

Os resultados das contagens de mesófilos do total de amostras de fígado analisadas nos dois períodos (seco e chuvoso), variaram de  $0,3 \times 10^5$  a  $5,6 \times 10^5$  UFC/g e estiveram abaixo dos achados de alguns autores tais como a seguir: Andrade et al (2002) que pesquisaram mesófilos em peixes comercializados no RJ e encontraram variações de  $<10^5$  a  $9,4 \times 10^8$  UFC/g; Gonzáles-Rodríguez et al. (2001) que estudaram peixes comercializados em supermercados na Espanha onde encontraram máxima de  $5,27 \times 10^6$  UFC/g; Almeida Filho et al. (2002) que encontraram 100% das amostras de peixes comercializados em Cuiabá com contagens entre  $2,0 \times 10^5$  a  $5,3 \times 10^5$  UFC/g.

Cabe ressaltar que os trabalhos supracitados foram realizados com amostras de músculo de peixes coletados no comércio e submetidos a manipulações diversas. As amostras deste trabalho, além de terem sido coletadas diretamente da produção (rio e viveiro) foram acondicionadas com cuidados de antissepsia para não mascarar a qualidade do local de captura, o que podem ter contribuído para as menores contagens de mesófilos.

Os achados estiveram abaixo dos encontrados por Al-Harbi e Uddin (2005) que analisaram intestinos de peixes recém capturados em um viveiro de terra na Arábia Saudita e constataram contagens de  $8,7 \times 10^7$  a  $1,9 \times 10^8$  UFC/g.

## 5.2 COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

De acordo com os resultados obtidos de coliformes totais para amostras de encéfalo, durante o período seco as variações foram de  $<3$  a  $3$  NMP/g e  $<3$  a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Durante o período chuvoso, as contagens de coliformes totais para as amostras de encéfalo foram de  $<3$  NMP/g e  $<3$  a  $4$  NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente.

Observa-se na Tabela 3 que as amostras de fígado apresentaram durante o período seco contagem de coliformes totais com variações de  $<3$  a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g e  $<3$  a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Durante o período chuvoso, as contagens de coliformes totais para as amostras de fígado foram de  $<3$  a  $2,4 \times 10^2$  NMP/g e  $<3$  a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. As variações podem ser visualizadas nas Figuras 24 e 25.

Tabela 3 - Contagem de coliformes totais (em NMP/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e n rio Cuiabá.

<b>MÊS DE COLETA</b>	<b>PERÍODO</b>	<b>PEIXES DE RIO (UFC/g)</b>	<b>PEIXES DE VIVEIRO (UFC/g)</b>
Maio	Seco	$2,3 \times 10$	$2,4 \times 10^2$
Junho	Seco	$<3$	$<3$
Julho	Seco	$<3$	$<3$
Agosto	Seco	$1,1 \times 10^3$	4
Setembro	Seco	$\geq 2,4 \times 10^3$	7
Outubro	Seco	11	$\geq 2,4 \times 10^3$
Novembro	chuvoso	$<3$	4
Dezembro	chuvoso	$<3$	$2,4 \times 10^2$
Janeiro	chuvoso	$<3$	$<3$
Fevereiro	chuvoso	$<3$	$<3$
MARÇO	chuvoso	$\geq 2,4 \times 10^3$	$4,3 \times 10$
ABRIL	chuvoso	9	$<3$

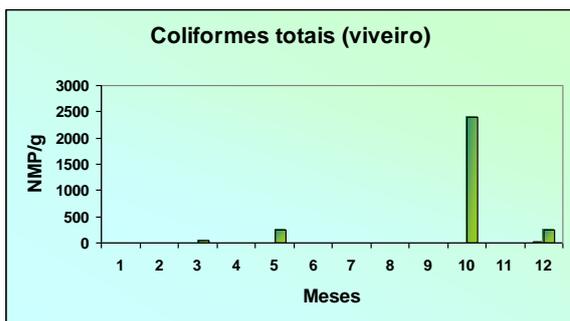


Figura 24: Distribuição das contagens de coliformes totais de peixes do viveiro.

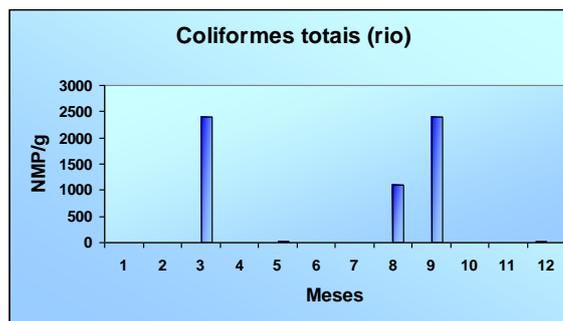


Figura 25: Distribuição das contagens de coliformes totais de peixes do rio.

Na contagem de coliformes termotolerantes, as amostras de encéfalo apresentaram, durante o período seco, resultados entre 3 NMP/g e 4 a 9,3 x 10 NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Durante o período chuvoso, os resultados para as amostras de encéfalo estiveram entre <3 NMP/g e <3 a 4 NMP/g para peixes de viveiro e rio, respectivamente.

As espécies de termotolerantes isoladas em encéfalos foram *Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans* e *Serratia ficaria* nas amostras de peixes de rio e *Pantoea agglomerans* nas amostras de peixes de viveiro.

Observa-se na Tabela 4 que as amostras de fígado apresentaram, durante o período seco, contagem de coliformes termotolerantes com variações de <3 a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g e <3 a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g, para peixes de viveiro e rio, respectivamente. Durante o período chuvoso, os resultados para as amostras de fígado estiveram entre <3 a  $4,3 \times 10$  NMP/g e <3 a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g, para peixes de viveiro e rio, respectivamente. As variações podem ser melhor observadas nas Figuras 26 e 27.

As espécies de termotolerantes isoladas em amostras de fígado foram *Escherichia coli* (11,1%), *Pantoea agglomerans* (11,1%), *Serratia ficaria* (11,1%), *Serratia rubidea* (11,1%), *Edwardsiella tarda* (22,2%), *Klebsiella oxytoca* (22,2%) e *Proteus vulgaris* (11,1%) nas amostras de peixes de rio e *Pantoea agglomerans* (16,6%), *Serratia rubidea* (16,6%), *Serratia marcensens* (16,6%), *Klebsiella oxytoca* (16,6%) e *Escherichia coli* (33,3%) nas amostras de peixes de viveiro.

Tabela 4 - Contagem de coliformes termotolerantes (em NMP/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá.

MÊS DE COLETA	PERÍODO	PEIXES DE RIO (UFC/g)	PEIXES DE VIVEIRO (UFC/g)
Maio	seco	<3	<3
Junho	seco	-	-
Julho	seco	-	-
Agosto	seco	1,1 x 10 <sup>3</sup>	4
Setembro	seco	2,4 x 10 <sup>2</sup>	<3
Outubro	seco	<3	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>
Novembro	chuvoso	-	<3
Dezembro	chuvoso	-	4,3 x 10
Janeiro	chuvoso	-	-
Fevereiro	chuvoso	-	-
Março	chuvoso	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>	4,3 x 10
Abril	chuvoso	<3	<3

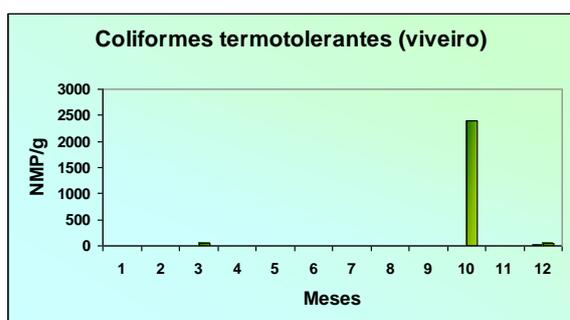


Figura 26: Distribuição das contagens de coliformes termotolerantes de peixes do viveiro

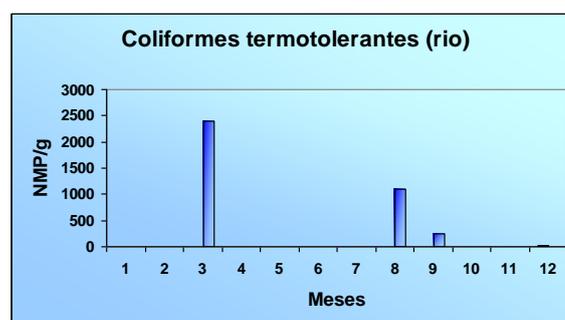


Figura 27: Distribuição das contagens de coliformes termotolerantes de peixes do rio

Os resultados das contagens de coliformes totais e termotolerantes do total de amostras de fígado analisadas, nos dois períodos seco e chuvoso, variaram de <3 a  $\geq 2,4 \times 10^3$  NMP/g. Ao comparar com os resultados de pesquisas obtidos por diversos autores, realizadas com peixes obtidos no comércio varejista, nota-se que algumas situações, como a etapa da cadeia produtiva que se fez a colheita do produto para análise (produção ou comercialização),

o tipo de apresentação (filé ou inteiro) e o método de conservação (resfriado, congelado), proporcionam diferenças na contagem de coliformes totais.

As contagens de coliformes totais nos dois períodos (seco e chuvoso) estiveram abaixo dos achados de autores que avaliaram os peixes no comércio (González-Rodríguez et al., 2001; Almeida Filho et al., 2002; Andrade et al., 2002), em virtude da grande manipulação e exposição a fontes de contaminação das amostras por eles analisados. Estas elevadas contagens também podem ser atribuídas a maior contaminação dos pontos de captura dos peixes, porém, não se pode assegurar esta afirmativa, já que não foram informadas as contagens dos peixes na produção.

De acordo com Franco e Landgraf (1996), os coliformes totais são indicadores de qualidade higiênica, não apontando diretamente o contato do produto com fezes humanas ou de animais. Porém, presume-se o grau de poluição microbiana a que está exposto o alimento em estudo. Indiretamente, estima-se a qualidade das práticas de produção, ou seja, elevadas concentrações sinalizam que há necessidade de se rever os procedimentos operacionais para se identificar as causas de contaminação do produto.

Os coliformes termotolerantes e *E. coli* estão em elevadas concentrações nas fezes humanas e de animais de sangue quente e quando existem naturalmente nas águas, ocorre em número muito reduzido, dada sua baixa resistência às condições adversas, porém, em águas poluídas sua ocorrência pode variar (MOSSSEL, 1967). A maioria dos pesquisadores concorda que a *E. coli* é o principal microrganismo indicador de contaminação fecal do alimento (SILVA et al., 2001; ALMEIDA FILHO et al., 2002; VIEIRA, 2004), indicando a possibilidade de germes patogênicos estarem no produto, em razão de suas más condições higiênicas (BRASIL, 2001; ORDOÑEZ, 2005).

No Brasil, não existe padrão microbiológico para contagem de coliformes totais em pescados e derivados e os padrões existentes para contagem de coliformes termotolerantes e *E. coli* (BRASIL, 2001) se referem a pescados processados e produtos à base de pescados, e não a pescados *in natura*. Portanto, considerando-se este padrão que é de  $m=10$  e  $M=10^2$ , do total de amostras de fígado analisadas ( $n=24$ ) seis amostras de coliformes totais e quatro amostras de coliformes termotolerantes foram consideradas inaceitáveis (acima de  $M$ ), estando as demais abaixo de  $m$  (aceitáveis).

Valores mais elevados foram obtidos por Almeida Filho et al. (2002) que ao avaliarem peixes oriundos do Pantanal mato-grossense e comercializados em supermercados e feiras livres em Cuiabá, encontraram coliformes totais em 90,9% das amostras e apenas uma amostra foi positiva para coliformes termotolerantes; por Andrade et al. (2002) que

analisaram peixes adquiridos em um mercado no município de Campos dos Goytacazes-RJ e encontraram uma variação para coliformes totais de  $0,3 \times 10^3$  a  $3,0 \times 10^6$  UFC/g para filé de peixe e para peixe inteiro uma variação de  $0,5 \times 10^4$  a  $1,5 \times 10^6$  UFC/g e 66% das amostras de peixes contaminadas por *E. coli*; por Aquino et al. (1996) que encontraram coliformes em 73,4% das amostras de peixes congelados comercializados em Manaus e as contagens de coliformes totais e termotolerantes com variações entre  $<10$  a  $2,4 \times 10^5$  UFC/g para coliformes totais e  $3,6$  a  $2,4 \times 10^5$  UFC/g para coliformes fecais; por Cardoso et al. (2003) que encontraram contagens de coliformes totais entre  $< 10$  a  $4,6 \times 10^4$  UFC/g para peixe resfriado, enquanto que para peixe congelado a variação foi semelhante, e esteve entre  $< 1,0 \times 10^1$  a  $4,0 \times 10^3$  UFC/g; por Dams et al. (1996) que encontraram uma variação para coliformes totais em peixes frescos no comércio variando de  $4,0 \times 10^2$  a  $2,0 \times 10^6$  NMP/g para filés de pescadinhas em uma indústria em Santa Catarina, exceção para contagens de peixe congelado, que foi de  $<3$  a  $2,3 \times 10^3$  NMP/g para pescado congelado; Silva et al. (2002) que avaliaram a contagem de coliformes termotolerantes em peixes comercializados em feiras livre e supermercados em Maceió/AL e detectaram contagens variando de  $1,5 \times 10^2$  a  $1,1 \times 10^7$  NMP/g. Provavelmente, as manipulações diversas a que foram submetidas as amostras, tenham interferido na obtenção de contagens elevadas.

Alguns autores avaliaram peixe no comércio e encontraram contagens inferiores para coliformes, tais como Agnese et al. (2001) que avaliaram as condições higiênico-sanitárias de 26 amostras de pescado fresco comercializado em Seropédica/RJ e encontraram variações de coliformes totais de  $4$  a  $2,4 \times 10^3$  NMP/g e para coliformes termotolerantes de  $<3,0$  a  $2,3 \times 10$  NMP/g, além de nove amostras positivas para *E. coli* (34,6%). Apenas a frequência relativa de *E. coli* foi semelhante, nos peixes oriundos de viveiro; Lira et al. (2001) que encontraram variações de coliformes totais de  $<3,0$  a  $2,4 \times 10^2$  NMP/g, ao analisarem peixe inteiro fresco comercializado em Maceió/AL.

Resultados semelhantes foram encontrados por Möllerke et al. (2002) que evidenciaram variações para coliformes totais de  $<3,0$  a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g e de coliformes termotolerantes de  $<3,0$  a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g, sendo *E. coli* presente em 33,72% das amostras de peixes oriundos do Lago Guaíba, em Porto Alegre/RS, indicando serem as áreas de captura de qualidade microbiológica semelhante, em se tratando destes microrganismos.

Vieira (2000) em Campina Grande/PB estudou a contaminação por coliformes em 60 peixes na cadeia produtiva e encontrou contagens de  $3,0$  NMP/g para coliformes totais e termotolerantes, o que é indicativo que a água de captura destas amostras é menos contaminada que a de origem das amostras do presente trabalho.

Com relação aos períodos de coleta, as variações encontradas foram muito inferiores aos achados de Liuson (2003), que analisou peixes obtidos diretamente de pesqueiros situados na região metropolitana de São Paulo, detectando limites de  $<0,3$  a  $4,6 \times 10^7$  NMP/g e  $<0,9$  a  $1,7 \times 10^7$  NMP/g de coliformes totais, nos períodos seco e chuvoso, respectivamente.

Pilarski et al. (2004) analisaram microbiologicamente amostras de músculo de carpa comum e água de três viveiros com aporte contínuo de matéria orgânica proveniente de suinocultura e de um viveiro com animais alimentados exclusivamente com ração comercial e com renovação constante de água, situados em Santa Catarina, e detectaram coliformes totais e termotolerantes na maioria das amostras de peixes, com valores oscilando de  $<3$  NMP/g a  $1,5 \times 10^2$  NMP/g e  $<3$  NMP/g a  $1 \times 10$  NMP/g, respectivamente. Os autores demonstraram que a qualidade microbiológica dos peixes não foi resultado da situação microbiológica da água dos viveiros e ainda notaram que no período de chuvas houve uma tendência para o aumento do número de coliformes totais e termotolerantes nos viveiros consorciados com suinocultura, devido à enxurrada nos viveiros, a qual acarretou maior quantidade de matéria orgânica na água.

Esposito et al. (2007) analisaram a qualidade microbiológica com relação à enterobactérias de tilápias, também da água e da cama de galinha usada como adubo em uma estação experimental de tratamento de águas residuárias (lagoas de estabilização), no município de Petrópolis, RJ. Os resultados de apontaram a presença de 116 cepas de quatro gêneros enteropatógenos, entre elas os coliformes *Edwardsiella tarda* (15,5%) isolada das amostras de músculos, vísceras, guelras, pele, semelhante aos achados do presente trabalho.

De acordo com Koneman (2008), os peixes de água doce são reservatórios de *Edwardsiella tarda*. No entanto, a presença do patógeno confere a insalubridade do peixe, por ser responsabilizada por muitos casos de gastroenterite e infecções de feridas no humano, além de ser um patogênico para o peixe.

Vandepitte et al. (1980) investigou pacientes de um povoado ao redor do rio Niger que apresentavam diarreia, dos quais isolou *E. tarda* como agente causal. Paralelamente, isolou o mesmo microrganismo em 60% de amostras de peixe coletados do mesmo rio, concluindo que estes agentes fazem parte da microbiota intestinal de peixes tropicais, constituindo reservatório para infecção no homem.

Latselva et al. (1997) encontraram resultados semelhantes aos deste trabalho, ao avaliarem amostras de fígado de peixes obtidos em pesqueiros na Rússia, onde detectaram a presença de *E. coli* em 27,3% dos fígados. Outros microrganismos encontrados foram *Edwardsiella* (16,6%), *Citrobacter* (14,3%) e *Acinetobacter* (14,3%), o que associaram às

condições insatisfatórias dos pesqueiros e ainda, a presença de *E. coli* nos peixes é um indicativo de poluição da água com material fecal de homem e animais.

El-Zanfaly e Ibrahim (1982) analisaram pele, guelras, intestinos e músculos de peixes recém capturados do rio Nasser's Lake, na Alemanha, e detectaram a presença de *E. coli* em 43% das amostras de pele e guelras e 100% dos intestinos e músculos, resultados muito acima dos encontrados no presente trabalho.

Nas pesquisas citadas, pode-se observar uma ampla variação de ocorrência de coliformes termotolerantes e *E. coli*, indicando que podem ser várias as práticas não adequadas desde a captura (ZIVAN, 1994) até a comercialização (CORDONHA et al., 194) dos peixes que estão permitindo seu contato com fezes.

O pescado é relevante nos casos de doenças provocadas por alimentos, uma vez que pode veicular uma gama enorme de microrganismos patogênicos para o humano (ALVES et al., 2002), sendo a maior parte deles resultado da contaminação ambiental, sendo o lançamento de esgotos nas águas de reservatórios, lagos, rios e mares a causa poluidora mais comumente registrada em muitas regiões do mundo (CONSTANTINIDO, 1994).

Na piscicultura, as vias de contaminação por coliformes termotolerantes e *E. coli* geralmente ocorre pela água contaminada por fezes recentes (CARDOSO et al., 2001), por vários adubos orgânicos ou por dejetos de criações animais lançados nos tanques de criação (MURATORI, 1994; SILVA et al., 2001). De acordo com Cardoso et al. (2001), altas contagens de *E. coli* no pescado indicam a presença de uma fonte poluidora recente e riscos deste alimento causar doença após sua ingestão.

Observou-se a ocorrência de *E. coli* nas amostras de fígado de peixes de rio (11,1%) e viveiro (33,3%), e apesar dos achados serem inferiores a de muitos autores, estes resultados indicam que de alguma forma a água está sendo contaminada com fezes, já que o microrganismo não faz parte da microbiota natural do peixe (VIEIRA, 2004).

No caso das amostras de rio, a provável causa é sua contaminação por esgotos domésticos (BICUDO e HELENE, 1994; LIMA, 2001) e industriais (AEDIMAT, 1995), advindos principalmente das cidades de Cuiabá e Várzea Grande (PIAIA, 1999) já que os peixes foram capturados em uma área de grande descarga destes contaminantes.

Já para o viveiro, a provável causa pode ter sido a contaminação da água com excrementos de animais como bovinos e ovinos da propriedade, que às vezes são colocados para pastar aos arredores dos viveiros e desta maneira, defecam e aumentam a possibilidade de contaminação da água por enteropatógenos.

### 5.3 *Aeromonas* spp.

Com relação à contagem de *Aeromonas* spp. em amostras de encéfalo, apenas duas amostras de viveiro foram positivas, com valores de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g (no período chuvoso) e  $9,5 \times 10^2$  UFC/g (no período seco). Para as amostras de encéfalo de peixes de rio, três foram positivas no período seco com variáveis de  $0,4 \times 10$  UFC/g a  $3,2 \times 10^2$  UFC/g, e uma foi positiva no período chuvoso com contagem de  $2,6 \times 10^3$  UFC/g.

Das amostras de encéfalo de peixes de viveiro, 16,6% foram positivas para *Aeromonas* spp., sendo isolados *A. hydrophila* (50%) e *A. sobria* (50%). Das amostras positivas (33,3%) de encéfalo de peixes de rio foram isoladas *A. hydrophila* (50%), *A. sobria* (25%) e *A. caviae* (25%).

Do total de amostras de fígados analisados, 33% foram positivos em amostras de rio e 25% em amostras de viveiro, sendo seu isolamento já esperado, uma vez que são microrganismos de *habitat* predominantemente hídrico, encontrados mundialmente em água dulcícola, salobra e estuarina (ARAÚJO et al., 1990), fazendo parte da microbiota normal de rios, onde se multiplica em condições apropriadas de pH, temperatura e nutrientes (RIPPEY e CABELLI, 1979).

Observa-se na Tabela 5 que com relação à contagem de *Aeromonas* spp. em fígado, três amostras de viveiro foram positivas, com valores de  $5,0 \times 10^2$  a  $8,2 \times 10^3$  UFC/g, sendo todas no período CH. Para as amostras de rio, três foram positivas no período seco com variáveis de  $2,6 \times 10$  UFC/g a  $7,5 \times 10^2$  UFC/g, e uma foi positiva no período chuvoso com contagem de  $2,0 \times 10$  UFC/g. As distribuições das contagens ao longo do período de um ano podem ser observadas na Figuras 28 e 29.

Tabela 5 - Contagem de *Aeromonas* spp. (em UFC/g) das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá.

MÊS DE COLETA	PERÍODO	PEIXES DE RIO (UFC/g)	PEIXES DE VIVEIRO (UFC/g)
Maio	seco	NHD	NHD
Junho	seco	NHD	NHD
Julho	seco	NHD	NHD
Agosto	seco	2,6x10	NHD
Setembro	seco	7,5x10 <sup>2</sup>	NHD
Outubro	seco	3,0x10	NHD
Novembro	chuvoso	2,0x10	1,0,x10 <sup>3</sup>
Dezembro	chuvoso	NHD	5,0x10 <sup>2</sup>
Janeiro	chuvoso	NHD	NHD
Fevereiro	chuvoso	NHD	NHD
Março	chuvoso	NHD	8,2x10 <sup>3</sup>
Abril	chuvoso	NHD	NHD

NHD - Não houve desenvolvimento

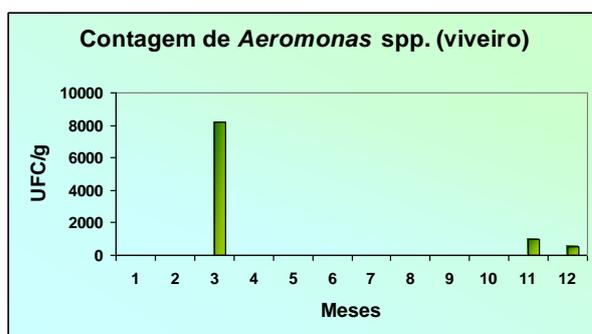


Figura 28: Distribuição das contagens de *Aeromonas* spp. de peixes do viveiro

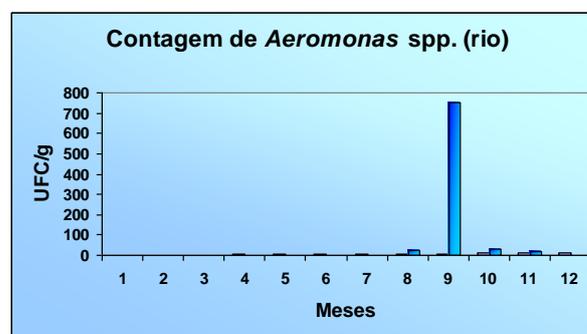


Figura 29: Distribuição das contagens de *Aeromonas* spp. de peixes do rio

Na Tabela 6 pode-se observar as espécies de *Aeromonas* isoladas. Das amostras de fígado de peixes de viveiro positivas para *Aeromonas* spp. foram isoladas *A. hydrophila* (33,3%) e *A. caviae* (66,6%) e nas amostras positivas de fígado de peixes de rio foram isoladas *A. hydrophila* (25%) e *A. sobria* (75%).

Tabela 6 - Espécies de *Aeromonas* isoladas das amostras de fígado analisadas durante o período seco e chuvoso de peixes capturados em viveiro e no rio Cuiabá.

MÊS DE COLETA	PERÍODO	PEIXES DE RIO (UFC/g)	PEIXES DE VIVEIRO (UFC/g)
Maio	seco	NHD	NHD
Junho	seco	NHD	NHD
Julho	seco	NHD	NHD
Agosto	seco	<i>A. sobria</i>	NHD
Setembro	seco	<i>A. sobria</i>	NHD
Outubro	seco	<i>A. sobria</i>	NHD
Novembro	chuvoso	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>
Dezembro	chuvoso	NHD	<i>A. hydrophila</i>
Janeiro	chuvoso	NHD	NHD
Fevereiro	chuvoso	NHD	NHD
Março	chuvoso	NHD	<i>A. caviae</i>
Abril	chuvoso	NHD	NHD

NHD - Não houve desenvolvimento

Se for considerada a água de viveiro como pouco poluída, os resultados deste trabalho estão em conformidade com Vieira (2004), que citou que diferentes fenoespécies podem predominar em diferentes fontes de água, onde *A. hydrophila* são prevalentes em águas de nascente e pouco poluídas e *A. sobria* em lagos recreacionais e água de rio. E ainda, não contrastam com os dados de Figura et al. (1985), que citou ser a água doce o *habitat* de *A. caviae*, o que pode explicar a prevalência de 66,6% desta espécie no viveiro.

Araújo et al. (1991) avaliaram a distribuição de *Aeromonas* spp. em águas com diferentes níveis de poluição e detectaram predominância de *A. caviae* em águas com maior nível de detritos e poluição fecal. Em águas pouco poluídas (doce e salgada) isolou tanto *A. caviae* quanto *A. hydrophila*, sendo este achado em conformidade com os resultados deste trabalho visto que no rio que apresenta alto nível de poluição fecal, não foi detectada a presença de *A. caviae*.

No Brasil, não existe padrão microbiológico para contagem de *Aeromonas* spp. em pescados e derivados, porém, muitos autores já realizaram estudos a cerca desta bactéria, visto a sua importância sob o ponto de vista da patogenicidade para o humano. Evangelista-Barreto

et al. (2006) analisaram 30 amostras de ostras do rio Cocó, no Ceará e encontraram *Aeromonas* spp. em 67% das amostras, com predominância de *A. veronii* (43%), *A. media* (37%) e *A. caviae* (23%), com contagens variáveis de  $<10^2$  a  $4,0 \times 10^4$  UFC/g; resultados os quais foram atribuídos à exarcebada contaminação no rio em decorrência do grande número de favelas e povoados sem tratamento sanitário que acabam por descarregar seus esgotos não tratados em córregos que desembocam no rio Cocó. No entanto, nenhum destes dados é concordante com os do presente trabalho.

Tem sido reportada uma significativa correlação entre o conteúdo de matéria orgânica e o número total de *Aeromonas* na água, ou seja, águas com alto nível de contaminação fecal são passíveis de possuírem grandes contagens de *Aeromonas*. Neste sentido, Kaper et al. (1981), Araújo et al. (1989) e Araújo et al. (1991) obtiveram altas contagens de *Aeromonas* spp. simultaneamente à altas contagens de coliformes, semelhante ao encontrado neste trabalho em que nos meses em que *Aeromonas* spp. apresentaram altas contagens os coliformes também apresentaram altas contagens, e nos meses em que não foram isolados *Aeromonas* ou a contagem de coliformes foi baixa ou nula.

De acordo com Vieira (2004) a frequência de isolamento de *Aeromonas* spp. é mais elevada nos meses de verão, tanto nas zonas temperadas como nas tropicais, ou seja, a variação sazonal depende da temperatura alta, o que foi observado no presente trabalho, em que o isolamento de *Aeromonas* em amostras de fígado ocorreu nos meses mais quentes do ano, correspondendo ao final do período seco e todo o período chuvoso. Outros autores reiteraram estes achados, por exemplo, Von Graevenitz e Mensh (1968) que detectaram maior número de casos clínicos no verão da Suíça; Seidler et al. (1980) os quais verificaram no rio Anacostia, em Washington, um decréscimo na contagem do microrganismo de dois a quatro logs com a queda da temperatura da água em 1°C; El-Taweel (1998) que isolaram do rio Nilo maior contagem de *Aeromonas* no verão.

Fukuyama et al. (1989) avaliaram intestinos de peixes e água de rios no Japão, e seus resultados mostraram que em 90,4% dos peixes foram isolados *Aeromonas* spp., com média de contagens de  $1,1 \times 10^6$  UFC/g, sendo as principais espécies isoladas dos peixes *A. hydrophila*, *A. sobria* e *A. caviae*, o que representou 17,2%, 31,4% e 19,5%, respectivamente. Com relação aos achados de Fukuyama et al. (1989) o único dado que está de acordo com o presente trabalho é a frequência de isolamento mais alta para *A. sobria* em rio, também verificada neste trabalho, visto que 90,4% de isolamento do gênero foi muito acima dos nossos achados, assim como a média de contagens também.

Morales et al. (2004) avaliaram a presença de vários microrganismos em tilápias coletadas de viveiros comerciais na Costa Rica e isolaram *Aeromonas* spp. em 98% dos peixes, sendo que 80% das contagens foram superiores a  $10^3$  UFC/g, estando ambos os achados muito acima dos achados neste trabalho, em que as maiores contagens estiveram abaixo de  $10^3$  UFC/g e apenas 33,3% e 25% dos peixes foram positivos, para peixes de rio e viveiro, respectivamente.

Hirsch et al. (2006) isolaram *A. trota*, *A. jandaei* e *A. sobria* de peixes de viveiros comerciais em Minas Gerais, que representaram 33,3% dos isolados, semelhantes aos isolados em rio no presente trabalho, no entanto, apenas *A. sobria* foi comum aos trabalhos.

As contagens de *Aeromonas* de viveiro no presente trabalho estiveram semelhantes aos resultados de Hatha et al. (2005), que isolaram com maior frequência *A. hydrophila* e *A. sobria* em peixes de viveiros na Holanda.

Considerando-se que *A. caviae*, *A. hydrophila* e *A. sobria* são as espécies de maior relevância nos últimos dez anos associadas à patologias intestinais e extraintestinais de humanos e de uma variedade de outros vertebrados e invertebrados incluídos peixes, anfíbios e aves (DEODHAR et al., 1991; SINGH e SANYAL, 1992), os achados deste trabalho adquirem importância, já que foram exatamente as espécies isoladas nas amostras analisadas.

Outro aspecto observado neste trabalho foi o isolamento de *Aeromonas hydrophila* que por ser a espécie mais associada à infecções em organismos aquáticos, pode causar perdas comerciais onerosas em piscicultura com a síndrome hemorrágica e levar a morte em massa dos peixes (RANZANI-PAIVA et al., 2004).

Ao se utilizar as técnicas estatísticas preconizadas por Mendes et al. (2006), nos resultados das análises microbiológicas, verificou-se a não existência de distribuição normal, além de elevada variação dos dados.

Ao se utilizar as técnicas estatísticas preconizadas por Mendes et al. (2006), nos resultados das análises microbiológicas de fígado dos peixes em relação à contagem de mesófilos, de coliformes totais (C. totais), de termotolerantes (C. termot.) e *Aeromonas*, verificou-se a não existência de distribuição normal, além de elevada variação dos dados, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 - Estatística descritiva das contagens de mesófilos, de coliformes totais, de termotolerantes e de *Aeromonas*, em piraputangas capturadas no rio Cuiabá e de viveiro.

Estatística	Mesófilos	C. totais <sup>(1)</sup>	C. termot. <sup>(2)</sup>	<i>Aeromonas</i>
<b>VIVEIRO</b>				
Valor mínimo	0,3 x 10	<3	<3	5,0 x 10 <sup>2</sup>
Valor máximo	2,7 x 10 <sup>5</sup>	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>	8,2 x 10 <sup>3</sup>
Mediana	2	11200	4	0
<b>RIO</b>				
Valor mínimo	4,8 x 10	<3	<3	2,0 x 10
Valor máximo	5,6 x 10 <sup>5</sup>	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>	≥2,4 x 10 <sup>3</sup>	7,5 x 10 <sup>2</sup>
Mediana	6470	5,5	1	0

1- coliformes totais. 2- coliformes termotolerantes.

Ao se aplicar o teste não paramétrico de associação/correlação de Spearman (ZAR, 1999), ao nível de 5% de significância, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 8. Foi verificada associação entre o mês de coleta e a contagem de bactérias mesófilas, coliformes termotolerantes e *Aeromonas*, tanto em peixes capturados no rio, como nos cultivados, indicativo de que a variável Mês interferiu na quantidade destas bactérias.

Com a aplicação do teste não paramétrico de Kolmogorov\_Smirnov (ZAR, 1999), verificou-se que a probabilidade de ocorrência da contaminação por mesófilos em peixes capturados no rio, é a mesma nos obtidos em cultivo ( $P \geq 0,05$ ).

Nas amostras de fígado de peixes de viveiro e rio, as maiores quantidades de mesófilos (Figuras 22 e 23), coliformes termotolerantes (Figuras 26 e 27) e *Aeromonas* spp. (Figuras 28 e 29) foram observadas no final do período seco e no período chuvoso, ou seja, nos meses mais quentes do ano, entre agosto e março.

Baseando-se nos achados de Al-Harbi e Uddin (2005), em que os mesófilos tiveram suas contagens reduzidas em peixes submetidos ao tratamento pelo frio, é provável que as maiores contagens tenham sido verificadas nos meses mais quentes do ano, em decorrência do caráter de adaptação e multiplicação dos microrganismos em temperaturas mais altas, apesar de não se ter medido a temperatura da água.

Tabela 8 - Associação entre a carga bacteriana e o mês de coleta de peixes *Brycon microlepis* de viveiro e capturados no rio Cuiabá-MT.

<b>VARIÁVEL</b>	<b>VALOR CALCULADO</b>	<b>VALOR TABELADO</b>	<b>ESTATÍSTICA COMPARATIVA</b>
<b>AMOSTRAS DO RIO</b>			
Mês/Mesófilos	0,9167	0,5833	EDS
Mês/Coliformes totais	0,6667	0,68	NEDS
Mês/Coliformes termotolerantes	0,75	0,7239	EDS
Mês/ <i>Aeromonas</i>	0,8333	0,7239	EDS
<b>AMOSTRAS DE VIVEIRO</b>			
Mês/Mesófilos	0,9167	0,5677	EDS
Mês/Coliformes totais	0,6667	0,6902	NEDS
Mês/Coliformes termotolerantes	0,6667	0,6945	NEDS
Mês/ <i>Aeromonas</i>	0,8333	0,7386	EDS

EDS – existe diferença significativa. NEDS – não existe diferença significativa.

A maior contagem encontrada no período seco (viveiro) provavelmente ocorreu pela redução na diluição da água, com concentração da matéria orgânica (fezes), bem como dos microrganismos presentes na água, principalmente em consequência da temperatura elevada reinante nesta época do ano. Nas amostras de rio, a maior contagem foi verificada no período chuvoso, o que provavelmente pode ser decorrente do transbordamento de córregos receptores de esgoto na cidade, além da lixiviação da superfície terrestre pelas águas da chuva. Todas as situações citadas aumentam a probabilidade de contaminar os peixes, já que o nível da sua contaminação é diretamente proporcional ao nível de poluição ambiental (GELDREICH E CLARKE, 1996; EL-SHAFAI et al., 2004).

Com relação a *Aeromonas* spp., os achados são concordantes com o citado por Vieira (2004), uma vez que a frequência de isolamento de *Aeromonas* spp. foi mais elevada nos meses mais quentes da região, entre agosto e março, ou seja, a variação sazonal deste microrganismo foi dependente da temperatura. Foi também verificado por Monfort e Baleux

(1990), ao isolarem cepas ambientais de água não tratada; por Von Graevenitz e Mensh (1968), que detectaram maior número de casos clínicos no verão da Suíça; por El-Taweel (1998), que isolaram do rio Nilo maior contagem de *Aeromonas* no verão e por Seidler et al. (1980), no rio Anacostia (Washington), que verificaram um decréscimo na contagem do microrganismo de dois a quatro logs com a queda da temperatura da água em 1°C.

#### 5.4 *Salmonella* spp.

Com relação à pesquisa de *Salmonella* spp. nas amostras de fígado de peixes de rio e peixe de viveiro, ambos os peixes apresentaram uma única amostra positiva (8,33%), no fígado, no mês de abril (chuvoso).

Alguns trabalhos pesquisados indicaram a ocorrência de *Salmonella* em peixes, tais como: Nambiar e Mahadevaiyer (1991) que detectaram *Salmonella* spp. em 5,76% dos peixes frescos examinados procedentes de mercados na Índia; Fernández e Torres (1996) que encontraram prevalência de *Salmonella* spp. em 16% de amostras de peixes frescos em mercados no México; Almeida Filho et al. (2002) que encontraram *Salmonella* spp. em 16,7% de amostras de peixes frescos em supermercados em Cuiabá; Vieira et al. (2000) que analisaram amostras de tilápias em um frigorífico de uma fazenda de criação de peixes na Paraíba e antes mesmo do processamento encontraram 8,3% das amostras positivas para *Salmonella* spp., evidenciando a contaminação dos peixes na captura.

Observa-se que estes dados acima variam de 5,76% a 16,7%, no entanto, semelhante ao ocorrido em relação ao estudo de coliformes termotolerantes, ressaltamos que estes estudos referem-se a amostras coletadas no comércio, enquanto o presente trabalho pesquisou o peixe em sua origem. Portanto, desde a captura até as fases de processamento final, muitas fontes podem causar a contaminação do peixe com *Salmonella*, como utensílios e manipuladores (TESSARI et al., 2003) e até mesmo o gelo usado para resfriar o peixe (PIMENTEL e PANETTA, 2003), o que torna a comparação dos dados pouco significativa.

Alguns trabalhos pesquisados mostraram a presença de *Salmonella* spp. em peixes capturados diretamente na produção, como a seguir: Iyer e Shrivastava (1989) que isolaram *Salmonella* spp. do trato intestinal de tilápias cultivadas em tanques alimentados com dejetos de suinocultura; Ogbondemino (1993) na África, que isolou *Salmonella* spp. do trato intestinal de peixes, tanto nas cultivadas em tanques fertilizados com esgoto tratado, como em

tanques de água natural não poluída, Longoni et al. (1999)<sup>3</sup> *apud* Linder (2002) que isolaram em peixes de água doce *Salmonella* em 2,28% dos peixes criados no sistema extensivo e em 2,11% no sistema intensivo; Esposto et al. (2007) no RJ, que analisaram tilápias criadas e, água de com aporte de cama de galinha usada como adubo, e encontraram *Salmonella* spp. em 11,1% das amostras; Morales et al. (2004) que encontraram apenas *Salmonella* spp. em 2% de peixes de tanques pesquisados na Costa Rica; Youssef et al. (1992) no Egito que de isolou *Salmonella* spp. em 3,9% de tilápias do rio Nilo; Twiddy (1995) na Ásia que isolou *Salmonella* spp. em 28% de amostras de peixe de tanques.

Considerando-se que as salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo seu principal reservatório o trato intestinal do homem e animais de sangue quente e de sangue frio (répteis e anfíbios), e que peixes, moluscos e crustáceos se contaminam após a pesca (VIEIRA, 2004; KONEMAN, 2008), no presente trabalho a ocorrência de *Salmonella* spp. nas amostras de peixes pode ser atribuída à contaminação da água de captura por material fecal de origem humana ou animal, direta ou indiretamente descarregado neste ambiente. Embora não tenham sido feitas análises de água, muitos autores já comprovaram que a detecção de microrganismos em vísceras e músculos de peixes pode ser utilizada como indicativo de contaminação ambiental por estes microrganismos (BURAS et al., 1985; GELDREICH e CLARKE, 1996; LATSELVA et al., 1997; EL-SHAFAI et al., 2004; GUZMÁN et al., 2004), desta maneira, pode-se dizer que a presença de *Salmonella* no peixe é indicativo de contaminação ambiental por fezes.

Alguns trabalhos encontrados relataram a ocorrência de salmonelas na água de origem, dos peixes tais como: Cherry et al. (1972) que analisaram várias amostras de água de reservatórios de água municipais na Geórgia e detectaram a presença de *Salmonella* spp. em 65% das amostras de pontos extremamente poluídos, 38% em pontos razoavelmente poluídos e 44% em áreas não poluídas; Benassi et al. (1983) e Menon (1985) que encontraram maior prevalência de *Salmonella* em amostras de água de rio coletadas nas proximidades de descargas de efluentes de matadouros; Monticelli et al. (1984) analisaram a água do rio da Prata, Argentina e encontraram *Salmonella* em 36% das amostras de água, principalmente nas áreas com maior índice de pessoas e esgotamentos domiciliares

Diante do exposto acima, a provável causa da presença de *Salmonella* em peixes do rio é a contaminação de suas águas por esgotos domésticos (BICUDO e HELENE, 1994;

---

<sup>3</sup> LANGONI, H.T. Flora microbiana intestinal aeróbica de peixes de diferentes hábitos alimentares. Boletim Técnico do CEPTA-IBAMA. 1999.

LIMA, 2001) e industriais (AEDIMAT, 1995), advindos principalmente das cidades de Cuiabá e Várzea Grande (PIAIA, 1999) já que os peixes foram capturados em uma área de grande descarga destes contaminantes.

Deve-se considerar também o fato de que cultivos de peixes em tanques escavados na terra ou em reservatórios de água sem proteção estão expostos à contaminações ambientais e animais (D'AOUST, 1995), portanto, a provável causa de detecção de *Salmonella* spp. nos peixes de viveiro pode ter sido a contaminação da água com excrementos de animais como bovinos e ovinos da propriedade, que às vezes são colocados para pastar aos arredores dos viveiros e desta maneira, defecam e aumentam a possibilidade de contaminação da água por enteropatógenos.

Outra fonte de infecção pode ser a ração animal industrializada administrada aos peixes, que também tem sido incriminada como veículo de transmissão de salmonelas, de modo que os animais que comem a ração contaminada se tornam infectados e se forem consumidos por humanos são assim introduzidos nesta população (MORRIS et al., 1970). Em trabalho realizado por Jones et al. (1991) com criadores de frangos, a ração foi tida como fonte de *Salmonella* para as aves, visto as farinhas que compunham a ração estavam contaminadas pelo agente.

De acordo com Berg e Anderson (1972), não podem ser descartadas as fezes de pássaros como importantes fontes de contaminação por *Salmonella* de tanques de piscicultura que comprovaram que 2,1% de 521 amostras de fezes de aves que visitam criadores no Oregon estavam contaminadas com *Salmonella* spp., conferindo a estes animais, muitas vezes ignorados, certa relevância no manejo de peixes criados em tanques ao ar livre.

Considerando-se que o padrão microbiológico brasileiro (BRASIL, 2001) para *Salmonella* spp. refere-se à ausência do microrganismo em 25 g da amostra, um pequeno percentual das amostras de fígado de peixes de rio (8,33%) e de viveiro (8,33%) foram consideradas inaceitáveis para consumo. No entanto, ao compararmos estes dados com trabalhos encontrados na literatura que também analisaram peixes na produção podemos concluir que estiveram acima da maioria deles.

Ainda assim, considerando-se que *Salmonella* spp. pode ser isolada de águas com diferentes graus de contaminação, e principalmente de águas com despojos de matadouros e efluentes domésticos, esperava-se encontrar um número maior de amostras de peixes positivas que o observado, fundamentalmente nas amostras do rio. No entanto, de acordo com Vieira (2004) as cepas poderiam estar numa fase não própria para cultura, sendo necessário o uso de técnicas especiais para sua detecção.

## 6 CONCLUSÕES

- ✓ As contagens de coliformes totais e termotolerantes, dos peixes de rio e do viveiro, foram iguais e a ocorrência de *E. coli* nos peixes do rio foi indicativo que os dois ambientes estavam contaminados com fezes;
- ✓ Os peixes do rio apresentaram com maior frequência *Aeromonas sobria* e os do viveiro *A. caviae* ;
- ✓ Os peixes capturados do rio e os de viveiro possuem a mesma probabilidade de contaminação por mesófilos;
- ✓ Existe relação entre o número total de *Aeromonas* na água e o nível de coliformes, ou seja, quanto maior o nível de coliformes da amostra, maiores foram as contagens de *Aeromonas* spp., sendo as altas contagens e as baixas ou nulas, verificadas nos mesmos meses;
- ✓ A contagem de bactérias mesófilas, coliformes termotolerantes e *Aeromonas* foi variável de acordo com o mês de coleta, tanto em peixes capturados no rio como nos cultivados, demonstrando o efeito da sazonalidade. As maiores quantidades de mesófilos, coliformes termotolerantes e *Aeromonas* spp. foram observadas no final do período seco e no período chuvoso, ou seja, nos meses mais quentes do ano (agosto a março);
- ✓ Apenas uma amostra de rio e uma de viveiro foram consideradas impróprias para o consumo por apresentarem *Salmonella* spp.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, S. D.; ETANG, B. B. Incidence and biotyping of *Aeromonas* species from the environment. **Microbios**, v. 56, p. 149-155, 1988.

ADINARAYANAN, N. Incidence of *Salmonella* in prepared and packaged foods. **J. Infect. Dis.**, v. 115, p. 19-26, 1965.

AEDIMAT – Associação de Empresários dos Distritos Industriais do Estado de Mato Grosso. **Realising**. Cuiabá, 1995. 98 p.

AGNESE, A. P. et al. Contagem de bactérias aeróbias heterotróficas mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Seropédica, RJ. **Hig. Aliment.**, v. 15, n. 88, p. 67-70, 2001.

ALBERT, M. J. et al. Case-control study of enteropathogens associated with childhood diarrhoea in Dhaka, Bangladesh. **J. Clin. Microbiol.**, v. 37, n. 11, p. 3458-3464, 1999.

ALBERT, M. J. et al. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhoea, healthy controls, and environment. **J. Clin. Microb.**, v. 38, p. 3785-3790, 2000.

ALEXANDRINO, A. C. Prevenção de doenças em piscicultura. **Bol. Téc. Inst. Pesca**, n. 23, p. 45, 1998.

AL-HARBI, A. H. e UDDIN, M. N. Microbiological quality changes in the intestine of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*) in fresh and frozen storage condition. **Let. Appl. Microbiol.**, v. 40, p. 486-490, 2005.

ALMEIDA, I. C. et al. Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas e frescas, através do método rápido. **Hig. Aliment.**, v. 14, n.70, p.59-62, 2000.

ALMEIDA FILHO et al. Avaliação microbiana de pescado “pintado” proveniente da região do Pantanal Mato-grossense, comercializado com e sem refrigeração, no município de Cuiabá/MT, quanto à presença de patógenos de importância em saúde pública. **Hig. Aliment.**, v.15, n. 80/81, p. 144, 2001.

ALMEIDA FILHO et al. Características microbiológicas de pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiabá, MT. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 99, p. 8488, 2002.

ALVES, C. L. Comercialização de pescado no Distrito Federal: avaliação das condições. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 102/103, p. 41-49, 2002.

ALVES, D. C. C. **Caracterização de *Vibrio* e *Aeromonas* em peixes comercializados em feiras livres no município do Rio de Janeiro.** Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 151 p., 2001.

AMARAL, L.A. et al. **Fontes de contaminação de alimentos.** São Paulo, 1982.

ANDRADE, F. S. V et al. Avaliação sensorial e microbiológica do Peruá (*Balistes caprixcus*) capturado na região norte fluminense e comercializado no mercado de Campos dos Goytacazes, RJ. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 99, 2002.

AQUINO, J. S. et al. Estudo microbiológico de pescado comercializado em Manaus/AM. **Bol. Centro Pesq. Proc. Alim.**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 1996.

ARAÚJO, R. M. et al. Relation between *Aeromonas* and fecal coliforms in fresh waters. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 67, p. 213-217. 1989.

ARAÚJO, R. M. et al. The effect of terrestrial effluents on the incidence of *Aeromonas* spp. in coastal waters. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 69, p. 439-444, 1990.

ARAÚJO, R. M.; ARRIBAS, R. M.; PARES, R. Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollutions. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 71, n. 2, p. 182-186, 1991.

ARIAS, A. R. L. et al. **Utilização de bioindicadores como ferramentas de monitoramento e avaliação ambiental: o caso dos recursos hídricos.** 2007. FIOCRUZ. Disponível em [www.ensp.fiocruz.br](http://www.ensp.fiocruz.br) acesso em dezembro de 2007.

ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DE MATO GROSSO. **Lei permite desenvolvimento da piscicultura em MT. 2008.** Disponível em [www.al.mt.br](http://www.al.mt.br) acesso em janeiro de 2008.

BAKER, D. A. et al. Longevity of *Salmonella* Typhimurium in *Tilapia aurea* and water from pools fertilized with swine waste. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 45, n. 5, p. 1548-1554, 1983.

BENASSI, F. O. et al. *Salmonella* y su incidencia en aguas del arroyo Zaimán. **Rev. Argent. Microbiol.**, v. 15, n. 3. p. 169-175, 1983.

BERG, R. W.; ANDERSON, A. W. *Salmonella* and *Edwardsiella tarda* in gull feces: a source of contamination in fish processing plants. **Appl. Microbiol.**, v. 24, n. 3, p. 501-503, 1972.

BERNARDO, F. M. A.; MACHADO, J. C. C. Prevalência de *Salmonella* em carcaças de frangos em Portugal. Perspectiva Epidemiológica em humanos. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v.84, n.489. p.31-45. 1989.

BICUDO, M. B.; HELENE, M. E. M. **Sociedades sustentáveis.** São Paulo: Scipione, 1994. 125 p.

BOYD, C. E. **Water quality in aquaculture.** Alabama: Birmingham Publishing CO, 1972. 482 p.

BOPP, C. A. et al. *Escherichia, Shigella* and *Salmonella*. In: MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology**. Washington: ASM, p. 459-474. 1999.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Decreto 30691 de 29 de março de 1952 que dispõe sobre o regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Prpodutos de Origem Animal.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.**

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240 p.

BROWN, K. S. **Zoogeografia da região do Pantanal Mato-grossense**. In: Simpósio sobre recursos naturais e sócio-culturais do Pantanal. Corumbá: Embrapa, 1986. p. 137-178.

BUCHAMAN, R. L. The New pathogens and update of selected examples. **Assoc. Food Drug Official Chem. Bull.**, v. 48, p. 142-155, 1984.

BUCHAMAN, R. L.; DOYLE, M. P. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. **Food Technol.**, v. 51, p. 69-76, 1997.

BURAS, N. et al. Reactions of fish to microorganisms in wasterwater. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 50, n. 4, p. 989-995, 1985.

BURKE, V. et al. Exotoxins of *Aeromonas hydrophila*. **Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.**, v. 59, p. 651-801, 1984.

CALDERON, D.F., FURLANETTO, S.M.P. Isolamento de *Salmonella* em diferentes meios seletivos de enriquecimento, tempos e temperaturas de incubação. **Rev. Microbiol.**, v.22, n.2, p.127-130, 1991.

CAMPOS, J. Aislamento de las pricipales bacterias contaminantes em carnes de pescado que se expenden em mercados de Santa Cruz. **S. Cruz Sierra**, s. n, p. 55, 1996.

CARDONHA, A. M. S.; CASIMIRO, A. R. S.; VIEIRA, R. H. S. F. Identificação de bacterias psicotróficas em caudas de lagostas durante o processo industrial com tripolifosfato de sódio. **Hig. Aliment.**, v. 8, n. 31, p.29-34, 1994.

CARDOSO, A. L. P. et al. A técnica de membrana filtrante aplicada no estudo bacteriológico da água de rede de abastecimento utilizada pela população de Descalvado, SP. **Hig. Aliment.**, v. 15, n. 82, p. 33-38, 2001.

CARDOSO, N. L. et al. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiás. **Hig. Aliment.**, v. 17, n. 19, p. 81-87, 2003.

CARRERA, V. J. A. et al. Vigilância de *Staphylococcus* y *Salmonella* en alimentos. **Rev. Cuba. Aliment. Nutri.**, v. 12, n. 1, p. 16-19, 1998.

CAVINATTO, V. **Caracterização hidrológica do estado de Mato Grosso**. Cuiabá: PRODEAGRO/SEPLAN/FEMA, 1995. 195 p.

CHAUDRHURY, A. et al. Biochemical characterization, enteropathogenicity and antimicrobial resistance plasmids of clinical and environmental *Aeromonas* isolates. **J. Med. Microbiol.**, v. 44, n. 6, p. 434-437, 1996.

CHERRY, W. B. et al. *Salmonella* as an index of pollution of surface waters. **Appl. Microbiol.**, v. 24, n. 3, p. 334-340, 1972.

CONSTANTINIDO, G. A. A saúde do pescado depende diretamente da saúde do ambiente. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v. 8, n. 32, p. 5-6, 1994.

COSTA, F. N.; ROSSI JÚNIOR. Bactérias do gênero *Aeromonas* em abatedouro de frangos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 54, n. 5, 2002.

CRAVO, A. C. **Piraputanga**. 2001. Disponível em [www.pescacommosca.com.br](http://www.pescacommosca.com.br) acesso em outubro de 2007.

CUNHA NETO, S. J. Sorotipos de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte em três abatedouros em Belo Horizonte, MG. **Arg. Esc. Vet. UFMG**, v.28, n.2, p.125-129. 1974.

CYRINO, J. E. P.; KUBITZA, F. **Piscicultura**. Cuiabá: SEBRAE, 1996, 86 p.

DAILY, O. P. et al. Association of *Aeromonas sobria* with human infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 13, p. 769-777, 1981.

D'AOUST, J. Y. *Salmonella*. In: DOYLE, M. P. **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcel Dekker, 1989. p.327-445.

D'AOUST, J. Y. Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 12, n.1, p.17-40, 1991.

D'AOUST, J. Y. Methods for the detection of foodborne *Salmonella* spp.: a review. **South. Asi. J. Trop. Med. Public Health**, Bangkok, v.26, Suppl. 2, p.195-208, 1995.

DAMS, R. I.; BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E. Estudo da viabilidade da implantação de um sistema de análise de risco e pontos críticos de controle em uma indústria de pescado congelado. **Rev. Bras. Análise de Alim.**, v. 1, p.115-130, 1995.

DEODHAR, L. P. et al. *Aeromonas* spp. and their association with human diarrhoea disease. **J. Clin. Microbiol.**, v. 29, p. 853-856, 1991.

DUFF, G. et al. The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. on Irish retail meat products. **Food Microbiol.**, v. 16, p. 623-631, 1999.

EL-SHAFI, S. A. et al. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environ. Res.**, v. 95, n. 2, p. 231-238, 2004.

EKPERIGIM, H. E.; NAGAJARA, K. V. Microbial foodborne pathogens. *Salmonella*. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract.**, v.14, n.1, p.17-29, 1998.

EL-ZANFALY, H. T.; IBRAHIM, A. A. Occurrence of bacterial pollution indicators in Boulti (*Tilapia nilotica*) fish. **Zeitschrift Für Ernährungswissenschaft**, v. 21, n. 3, p. 246-253, 1982.

EL-TAWEEL, G. E. Microbiological profile of raw Nile water. **J. Egypt. Public Health Assoc.**, v. 73, n. 5, p. 449-477, 1998.

ESPOSTO, E. M. et al. Enteropatógenos bacterianos em peixes criados em uma estação de reciclagem de nutrientes e no ecossistema relacionado. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 27, n. 4, p. 144-148, 2007.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. *Aeromonas* spp. isolated from oysters (*Crassostrea rhizophora*) from a natural oyster bed, Ceará, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 48, n.3, 2006.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Fisheries and Aquaculture Departments - Garantia da Qualidade dos produtos de pesca**. 2008. Disponível em [www.fao.org](http://www.fao.org) acesso em dezembro de 2007.

FELL, G. et al. An outbreak of *Salmonella* blockley infectious following smoked eel consumption in Germany. **Epidemiol. Infect.**, v. 125, n. 1, p. 9-12, 2000.

FELLENBERG, G. **Introdução aos problemas da poluição ambiental**. São Paulo: USP. 1980. 268 p.

FEMA. FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE DE MATO GROSSO. **Implementação de práticas de gerenciamento em bacias hidrográficas de Mato Grosso**. Cuiabá/MT. 2003. 227 p.

FERNANDÉZ, E. E.; TORRES, V. M. R. Contamination of fish cerviche *Salmonella* in Guadalajara, México. **Bol. Oficina Sanit. Panama**, v. 120, n. 3, p. 198-203, 1996.

FERRETI, R. et al. Aterosclerose e ácidos graxos “mega-3”. **Acta Med.**, Porto Alegre, v.15, p. 557-574, 1994.

FIGURA, N.; MARRI, L. Isolation of *Aeromonas* species from animals. **Eur. J. Clin. Microbiol.**, v. 4, p. 354-355, 1985.

FIGURA, N. et al. Prevalence species differentiation and toxigenicity of *Aeromonas* strains in cases of childhood gastroenteritis and in controls. **J. Med. Microb.**, v. 23, p. 595-599, 1986.

FONTAINE, R. E. et al. Epidemic salmonellosis from cheddar cheese: surveillance and prevention. **Am. J. Epidemiol.**, v.111, p.247-253, 1980.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

FREITAS, A. C. et al. Occurrence and characterization of *Aeromonas* species in pasteurized milk and white cheese in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Food Prot.**, v. 56, p. 62-65, 1993.

FRICKER, C. R.; TOMPSETT, S. *Aeromonas* spp. in foods: a significant cause of food poisoning. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 9, n. 1, p. 17-23, 1989.

FUJIOKA, R. S. K. et al. Naturally occurring fecal coliforms and fecal streptococci in Hawai's freshwater stream. **Toxic. Assess.**, v. 3, p. 613-630, 1988.

FUKUYAMA, M. et al. Studies on motile-*Aeromonas* infection: incidence of motile-*Aeromonas* in river mud, river water and fresh-water fish. **Kansenshogaku Zasshi**, v. 63, n. 6, p. 565-574, 1989.

FUZHARA, T. O. et al. Proposal for an Aeroscheme for the identification of clinical *Aeromonas* species. **Med. Sci. Res.**, v. 22, p. 617-619, 1994.

FUZHARA, T. O. et al. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughtering. **J. Food Prot.**, v. 63, n. 12, p. 1749-1753, 2000.

GANGAROSA, E. J. et al. Epidemic of febrile gastroenteritis due to *Salmonella java* traced to smoked whitefish. **Am. J. Public Health Nations Health.**, v. 58, n. 1, p. 114-121, 1968.

GARCÍA-LOPEZ, M. L. Incidence, behavior and control of *Aeromonas hydrophila* in meat and dairy products. **Microbiologia**, v. 9, p. 49-56, 1993.

GARRET, E. S.; JAHNCKE, M. I.; TENNYSON, J. M. Microbiological hazard and emerging food safety issues associated with seafoods. **J. Food. Prot.**, v. 60, n.11, 1409-1415, 1997.

GASPAR, J. C.; VIEIRA, R. H. S. F.; TAPIA, M. S. R. Aspectos sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercialização na feira de Gentilândia, Fortaleza, CE. **Hig. Aliment.**, v.11, n. 51, p. 20-23, 1997.

GAULIN, C. et al. Sporadic infections of *Salmonella* Paratyphi B var. Java associated with fish tanks. **Can. J. Public Health**, v. 96, n. 6, p. 471-471, 2005.

GELDREICH, E. E.; CLARKE, N. A. Bacterial pollution indicators in the intestinal tract of freshwater fish. **Appl. Microbiol.**, v. 14, n. 3, p. 429-437, 1996.

GEORGE, W. L. et al. *Aeromonas* related diarrhoea in adults. **Arch. Int. Med.**, v. 145, p. 2207-2211, 1985.

GERMANO, P. M. L. et al. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. **Hig. Aliment.**, v.7, n. 27, p. 6-11, 1993.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629 p.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Hig. Aliment.**, v. 7, n.28, 40-45, 1983.

GHENGHESH, K. S. et al. Prevalence, species, differentiations, Haemolytic activity and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* in untreated ell water. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 2, 2001.

GINESTRA, M. et al. Espécies de *Aeromonas* en vegetables frescos que se expenden en un mercado popular de Maracaibo. **Rev. Soc. Ven. Microbiol.**, v. 25, n. 2, 2005.

GIORIN, P. J. et al. Outbreak of *Salmonella* Livingstone infection in Norway and Sweeden due to contaminated processed fish products. **Epidemiol. Infect.**, v. 132, n. 5, p. 889-895, 2004.

GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, M. S. et al. Bacteriological quality of aquacultured freshwater fish portions in prepackaged trays at 3 degrees C. **J. Food Prot.**, v. 64, n. 9, p. 1399-1404, 2001.

GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, M. S. et al. Detection of potentially pathogenic aeromonads in raw and cold smoked freshwater fish. **J. Appl. Microbiol.**, v. 93, n. 75, p. 680, 2002.

GRAY, S. J.; STICKLER, D. J. Some observations on the faecal carriage of mesophilic *Aeromonas* in cows and pigs. **Epidem. Infect.**, v. 103, p. 523-537, 1989.

GREENWOOD, M. H.; HOOPER, W. L. Chocolate bars contaminated with *Salmonella napoli*: an infective study. **Brit. J. Med.**, v.122, p.286-1394, 1983.

GUIMARÃES, A. G. et al. Detecção de *Salmonella* spp. em alimentos e manipuladores envolvidos em um surto de infecção alimentar. **Rev. Bras. Saúde Prod. Animal**, v. 2, p. 14, 2001.

GUZMÁN, M. C. et al. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Brycon americanus* iheringi. **Water Res.**, v. 38, n. 9, p. 2367-2373, 2004.

HANNINEN, M. L. et al. *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp and freshwater. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 34, n. 1, p. 17-26, 1997.

HANINNEIN, M. L.; SIITONEN, A. Distribution of *Aeromonas* phenospecies and genospecies among strains isolated from water, foods or from human clinical samples. **Epid. Infect.**, v. 115, p. 39-50, 1995.

HATHA, M. et al. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from raised fresh water fish. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 98, n. 2, p. 131-134, 2005.

HAVELAAR, A. H. et al. Typing of *Aeromonas* strains from patients with diarrhoea and from drinking water. **J. Appl. Bacteriol.**, v.72, p. 435-444, 1992.

- HAZEN, T. Fecal coliforms as indicators in tropical waters: a review. **Toxic. Assess.**, v. 3, p. 461-477, 1988.
- HEINITZ, M. Z. et al. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **J. Food Protect.**, v. 3, n.5, p. 579-592, 2000.
- HEINITZ, M. Z.; JOHNSON, J. M. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp. and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. **J. Food Prot.**, v. 61, n. 3, p. 318-323, 1998.
- HIRSCH, D. et al. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Cienc. Agrotec.**, v. 30, n. 6, 2006.
- HOFFMAN, F. L. et al. Levantamento da qualidade higiênico-sanitária de pescado comercializado na cidade de São José do Rio Preto, SP. **Hig. Aliment.**, v. 13, n. 64, p. 45-48, 1999.
- HOLMBERG, S. D. *Aeromonas* intestinal infections in the United States. **Ann. Intern. Med.**, v. 105, n/ 5, p. 683-689, 1986.
- HUDSON, J. A. et al. Incidence and coincidence of *Listeria* spp., motile aeromonads and *Yersinia enterocolytica* on ready to eat freshfoods. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 16, p. 99-108, 1992.
- HUYS, G. *Aeromonas popoffi* sp. Nov., a mesophilic bacterium isolated from drinking water production plants and reservoirs. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 47, n. 4, p. 1165-1171, 1997.
- ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganisms in foods**. Blackwell Scientific Publications, 1986.
- IYER, T. S. G.; SHRIVASTAVA, K. P. On the pattern of *Salmonella* serotypes in fishery products, frogs legs and processing environments. **Fish. Technol.**, Kochi, v.26, p.131-136, 1989.
- IZADJOO, M. J et al. Acquisition of *Salmonella* flora by turtle hatchings on commercial turtle farms. **Can. Microbiol.**, v. 33, n. 8, p. 718-724, 1987.
- IZAT, A.L. et al. Research note: incidence, number and serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. **Poult. Sci.**, v.70, p.1438-1440. 1991.
- JAKABI, M. et al. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* spp. ocorridos na grande São Paulo no período de 1994 a 1997. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.
- JANDA, J. M.; ABBOT, S. L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, diseases preservations and unanswered questions. **Clin. Infect. Dis.**, v. 27, p. 332-344, 1998.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JOHNSTON, W. S. et al. *Salmonella* in sewage effluent and the relationship to animal and human disease in the north of Scotland. **Vet. Rec.**, v. 119, n. 9, p. 201-203, 1986.

JONES, F. T. et al. A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. **J. Food Protect.**, v.54, p. 502-507, 1991.

KAPER, J. B.; LOCKMAN, H. I.; COLWELL, R. R. *Aeromonas hydrophila*: ecology and toxigenicity of isolates from an estuary, **J. Appl. Bacteriol.**, v. 50, p. 359-577, 1981.

KAPPERUD, G. et al. Outbreak of *Salmonella* Typhimurium infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60 megadalton virulence plasmid. **J. Clin. Microbiol.**, v.28, n.12, p.2579-2601, 1990.

KARAM, G. H.; ACKLEY, A. M.; DISMUKES, W. E. Posttraumatic *Aeromonas hydrophila* osteomyelitis. **Arch. Intern. Med.**, v. 143, n. 11, p. 2073-2074, 1983.

KARISSON, K. A; THAL, M. Studies on the detection of *Salmonella* in fishmeal by the direct and indirect immunofluorescent method. **Nord. Vet. Med.**, v. 26, n. 9, p. 492-498, 1974.

KHARDORI, N.; FAINSTEIN, V. *Aeromonas* and *Plesiomonas* as etiological agents. **Ann Rev. Microbiol.**, v. 42, p. 395-419, 1988.

KINDE, H. et al. Prevalence of *Salmonella* in municipal sewage treatment plant effluents in southern California. **Avian Dis.**, v. 41, n. 2, p. 392-398, 1997.

KIROV, S. M. The public health significance of *Aeromonas* spp. from human, livestock and poultry faeces. **Inter. J. Food Microbiol.**, v. 20, p. 179-198, 1993.

KONEMAN. **Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas colorido**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008. 1565 p.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli* as quality safety. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: APHA., 676 p., 2001. p. 69-82.

KUBITZA, F. et al. **Planejamento da Produção de Peixes**. Jundiaí, 1999, 52 p.

KÜHN, H. et al. Outbreak of *Salmonella* Paratyphi B infectious in connection with consumption of smoked fish. **Gesundheitswesen**, v. 56, n. 4, p. 211-214, 1994.

KÜHN, I. et al. Diversity, persistence and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 63, n. 7, p. 2708-2715, 1997.

KUMAR, A. et al. Occurrence of enterotoxigenic *Aeromonas* species in foods. **J. Comm. Dis.**, v. 35, p. 369-373, 2000.

LALLIER, R.; HIGGINS, R. Biochemical and toxigenic characteristics of *Aeromonas* spp. isolated from diseased mammals, moribunds and healthy fishes. **Vet. Microbiol.**, v. 18, n. 1, p. 63-71, 1988.

LATSELVA, L. V. et al. Microbiological contamination of fish in the delta of Volga. **Gig. Sanit.**, v. 3, p.24-26, 1997.

LEHANE, L.; RAWLIN, G. T. Tropically acquired, bacterial zoonoses from fish: a review. **Med. J. Aust.**, v. 173, p. 256-259, 2000.

LEITÃO, M. F. F. **Salmonelas em águas fluviais e em alimentos não processados e industrializados de origem animal e vegetal no estado de São Paulo.** Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 1979. 148p.

LEITÃO, M. F. F.; SILVEIRA, N. F. A. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* na água, pescado e hortaliças no estado de São Paulo. **Col. ITAL**, v. 21, p. 90-91, 1991.

LEVIS, D. H. Retention of *Salmonella* Typhimurium by certain species of fish and shrimp. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 167, n. 7, p. 551-552, 1975.

LIMA, E. B. N. R. **Modelagem Integrada para Gestão da Qualidade da Água na Bacia do Rio Cuiabá.** Rio de Janeiro: UFRJ. Tese de Doutorado apresentada ao curso de Pós Graduação em Engenharia Civil da UFRJ. 2001. 198 p.

LINDER, C. E. ***Salmonella* spp. em sistemas de criação de peixes tropicais de água doce.** Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação da UNESP. 2202. 61 p.

LIRA, G. M. et al. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió. **Hig. Aliment.**, v. 15, n. 84, p. 67-74, 2001.

LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: CONNELL, J. J. **Advances in fish science and technology.** Farnham: Fishing Newsbooks, 1980. p. 138-157.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp. em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo.** Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação da UNESP. 2003. 94 p.

MANN, P. H.; BJOVEDT, G. *Salmonella* organisms isolated from water used for storage of pet turtles. **Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.**, v. 31, n. 2, p. 43-45, 1967.

MARTINS, L. M. et al. Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. **FEMS Immun. Med. Microbiol.**, v. 32, p. 237-242, 2002.

MATEOS, D. et al. Influence of grow temperature on the production of extracellular virulence factors and pathogenicity of environmental and human strains of *Aeromonas hydrophila*. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 74, p. 111-118, 1993.

MATHEUS, D. P. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.**, v.62, n.2, p.111-115. 2003.

MEDEIROS, F. C. M. **Tanque-rede: mais tecnologia e lucro na piscicultura.** Cuiabá: Centro América Gráfica e Editora Ltda., 2002, 109 p.

MEEKS, M. The genus *Aeromonas*: methods for identification. **Am. J. Med. Technol.**, v. 29, p. 361-378, 1963.

MELAS, D. S. et al. Enumeration and confirmation of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria* isolated from raw, milk and other milk products in Northern Greece. **J. Food Prot.**, v. 62, n. 5, p. 463-466, 1999.

MELO, J. S. C. **Água e Construção de Viveiros na Piscicultura,** 1999. 102 p.

MENDES, P. P. et al. Análise estatística dos parâmetros aquícolas, com fins a otimização da produção. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43. **Anais...** 2006. João Pessoa, SBZ. **Suplemento especial da Rev. Brasileira de Zootecnia,** 2006. v. 35, p.886-903.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** Washington: APHA, 2001. p. 331-341.

MENON, A. S. *Salmonella* and pollution indicator bacteria in municipal and food processing effluents and the Cornwallis River. **Can. J. Microbiol.**, v. 31, n. 7, p.598-603. 1985.

MÖLLERKE, R. D.; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C. Colimetrias como indicadores de qualidade de pescado artesanal do lago Guaíba, em Poto Alegre, RS. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 99, p. 102, 2002.

MONFORT, P.; BALEUX, B. Dynamics of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* and *Aeromonas caviae* in a sewage treatment pond. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 56, p. 1999-2006, 1990.

MONGE, R. et al. Presence of cytotoxic *Aeromonas* and *Plesiomonas* in fresh vegetables. **Rev. Biom.**, v. 9, p. 176-180, 1998.

MONTICELLI, L. S. et al. Isolation and quantification of *Salmonella* in waters of the Rio de La Plata destined for recreation. **Rev. Argent. Microbiol.**, v. 16, n. 1, p. 1-20, 1984.

MORALES, G. et al. Evaluación de la calidad bacteriológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. **ALAN**, v. 54, n. 4, 2004.

MORES, V. L. **Bactérias do gênero *Aeromonas* em peixe pintado (*Pseudoplatystoma* sp.) e pesquisa de alguns fatores de virulência a partir das cepas isoladas.** Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 1994. 122 p.

MORIS, G. K. et al. *Salmonella* in fish meal plants: relative amounts of contamination at various stages of processing and a method of control. **Appl. Microbiol.**, v. 19, n. 3, p. 401-408, 1970.

MORSE, E. V.; DUNCAN, M. A. A survey of aquarium fishes, their foods, and environmental water for *Salmonella*. **Lab. Anim. Sci.**, v. 26, n. 3, p. 494-496, 1976.

MOSSEL, D. A. A. Ecological principles and methodological aspects of the examination of foods and feeds for indicator microorganisms. **J. Assoc. Agric. Chem.**, v. 50, p. 91-104. 1967.

MOTA. **Preservação e conservação de recursos hídricos**. Rio de Janeiro: ABES. 1995. 68 p.

MOURIÑO, J. L. P. et al. Isolamento de *Aeromonas hydrophila* em girinos de rã-touro na metamorfose. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 41, n. 8, 2006.

MOYER, P. N. Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhoea. **J. Clin. Microbiol.**, v. 25, p. 2044-2048, 1987.

MÜLLER, H. E. The occurrence of *Salmonella* in drinking water. **Zentralblatt Fur Bakteriologie**, v. 169, n. 5, p. 551-559, 1979.

MURATORI, M. C. S. et al. Mortalidade por “septicemia dos peixes tropicais” em tilápias criadas em consorciação com suínos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 53, p. 658-662, 2001.

MURATORI, M. C. S.; PEREIRA, M. M. G.; SOARES, L. R. Pesquisa de bactérias potencialmente patogênicas em pescado comercializado no mercado central de Teresina, PI. **Bol. Centro Pesq. Proc. Aliment.**, v. 12, n. 1, p. 33-38, 1994.

MURRAY, P. R. et al. **Medical Microbiology**. St. Louis: Mosby -Year Book, 1998. 719 p.

NABBUT, N. H. *Salmonella* serotypes encountered in animal feed activities in Lebanon. **Am. J. Vet. Res.**, v. 39, n. 5, p. 839-845, 1978. 1990.

NAMBIAR, V. N.; MAHADEVAIYER, K. Distribution of *Salmonella* serotypes in fish in retail trade in Kochi. **Fish. Technol**, v.28, n.1, p.33-37, 1991.

NAMDARI, H. e CABELLI, V. J. The suicide phenomenon in motile *Aeromonas*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 55, p. 543-547, 1989.

NARANJO, E. **A model of pollution simulation**. 1990. Disponível em [www.esri.com](http://www.esri.com) Acesso em dez. 2006.

NAS. NACIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Seafood safety: a report to the committee on evaluation of the safety of fishery products. **Nac. Acad. Press**, Washington, v.3, p. 30-86, 1991.

NASCIMENTO, A. R. et al. Colimetria das águas do rio Bacanga (São Luís do Maranhão) de peixes e sururus capturados em suas águas. **Hig. Aliment.**, v. 15, . 84, p.59-86. 2001

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrhoeagenic *E. coli* **Clin. Microbiol.**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NISHIKAWA, Y; KISHI, T. Isolation and characterization of motile *Aeromonas* from human, food and environmental specimens. **Epidemiol. Infect.**, v. 101, n. 2, p. 213-223, 1988.

NOVOTNY, V.; OLEM, H. Prevention, identification and management of diffuse pollution. **Water Qual.**, v. 24, p. 33-38, 1994.

NUHI, A.; KHORASANI, Y. Bacterial pollution indicators in the intestinal tract of various species living in Amir-Kolayeh lagoon. **Zentralbl. Bakteriolog. Naturwiss.**, v. 136, n. 7, p. 566-571, 1981.

O'BRIEN, D. et al. Detection of *Aeromonas salmonicida* causal agent of furunculosis in salmonid fish, from the tank effluents of hatchery-reared Atlantic salmon smolts. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 60, n. 10, p. 3874-3877, 1994.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo: Varela, 1999, 430 p.

OGBONDEMINO, F. S. The occurrence and distribution of enteric bacteria in fish and water of tropical aquaculture ponds in Nigeria. **J. Trop. Aquac.**, v.8, p.61-66, 1993.

O'GRADY, K. A.; KRAUSE, V. An outbreak of salmonellosis linked to a marine turtle. **Southeast Asian J. Trop.**, v. 30, n. 2, p. 324-327, 1999.

OKREND, A. J. et al. Incidence and toxigenicity of *Aeromonas* species in retail poultry, beef and pork. **J. Food Prot.**, v. 50, p. 509-513, 1987.

OLIVEIRA, M. Rio Cuiabá vai morrer nos próximos vinte anos. **Jornal A Gazeta**, Cuiabá, ago. 2000. Disponível em [www.agazeta.com.br](http://www.agazeta.com.br). Acesso em dez. de 2007.

ONGLEY. Control of water pollution from agriculture. 1997. FAO. Disponível em [www.fao.org.br](http://www.fao.org.br) acesso em dez. 2006.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos – volume 1: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.

PALUMBO, S. A. Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens? **J. Food Protect.**, v. 49, p. 1003-1009, 1986.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da carne**. Niterói: EDUFF, 2001. 623 p.

PÁSCOA, I. et al. *Aeromonas* spp. em peixes ornamentais: Isolamento e estudo de resistência a antibióticos. In: **Anais do XV Congresso Latino-Americano de Zootecnia**, Vila Real, Portugal, 2005.

PATHAK, S. P. et al. Seasonal distribution of *Aeromonas hydrophila* in river water and isolation from river fish. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 65, n. 4, p. 347-352, 1988.

PCBAP. **Plano de Conservação da Bacia do Alto Paraguai**. SEMA, v. 2, 1997. 243 p.

PEDRAHITA, R. H. Detritus based aquaculture systems. **Food Res. Int.**, Barking, v.6, p.317-331, 1990.

PEDROSO, D. M. M. et al. Virulence factors in motile *Aeromonas* spp. isolated from vegetables. **Rev. Microbiol.**, v. 28, p. 49-54, 1997.

PEREIRA, C. S. et al. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de mexilhões *in natura* e pré-cozidos no Rio de Janeiro/RJ. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 24, p. 562-566, 2004.

PIAIA, I. I. **Geografia de Mato Grosso**. 2. ed. Cuiabá: EdUNIC, 1999. 207 p.

PILARSKY, F. et al. Consórcio suíno-peixe: aspectos ambientais e qualidade do pescado. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 33, n. 2, p. 267-276, 2004.

PIMENTEL, L. P. S.; PANETTA, J. C. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo. **Hig. Aliment.**, v. 17, n. 106, p. 56-63, 2003.

PIN, C. et al. Comparison of different media for the isolation and enumeration of *Aeromonas* spp. in foods. **Lett. Appl. Microb.**, v. 18, p. 190-192, 1994.

PISCICULTURA tem isenção de ICMS em MT. **FAMATO On Line**. Mato Grosso, 2007. Disponível em <http://www.famato.org.br> . Acesso em out. de 2007.

POKORNY, J. Survival and virulence of *Salmonella* in water. **J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.**, v. 32, n. 3, p. 361-366, 1988.

POPOFF, M. et al. Supplement 2000 to the Kauffmann-Wite scheme. **Res. Microbiol.**, 152, p. 907-909, 2001.

POPOFF, M.; LALLIER, R. Characterization of *Aeromonas*. **Methods Microbiol.**, v. 16, p. 128-145, 1984.

POPP, L. *Salmonella* and natural purification of polluted waters. **Zentralbl. Bakteriol.**, v. 158, n. 5, p. 432-435, 1974.

PORTUGAL. **Planos de fertilização e fertilizantes utilizados na exploração agrícola**. FEMA. 2001.

PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de Piscicultura Tropical**. Brasília: IBAMA, DIREN, DEPAQ/DIPEA, 1994. 196 p.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. 426 p.

REILLY, A.; KÄFERSTEIN, F. Food safety and products from aquaculture. **J. Appl. Microbiol.**, v. 85, p.249S-257S, 1999.

REILLY, P. J. A.; TWIDDY, D. R. *Salmonella* and *Vibrio cholerae* in brackish water tropical prawns. **Int. J. Food Microbiol.**, v.16, p.293-301, 1992.

RIPPEY, S. R.; CABELLI, V. J. Membrane filter procedure for enumeration of *Aeromonas hydrophila* in fresh waters. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 38, n. 1, p. 108 -113, 1979.

RODRIGUEZ, D. P. et al. Enterobactérias patogênicas no solo de áreas de recreação da cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 16, p. 256-259, 1994.

ROSINVALLI, L. J.; CHARM, S. E. Spoilage and *shelf life* prediction of refrigerated fish. **Marine Fish. Rev.**, v. 37, p. 32-34, 1975.

ROUMANI, B. M. et al. *Salmonella agona* isolated from fish meal and a *Salmonella* strain isolated from shrimps in Lebanon. **Zentralbl. Bakteriell. Mikrobiol. Hyg.**, v. 172, n. 4, p. 411-414, 1991.

SANYAL, D. et al. Enteric pathogens in tropical aquaria. **Epidemiol. Infect.**, v. 99, n. 3, p. 635-640, 1987.

SANTOS, D. M. S. et al. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesq. Vet. Bras.**, v.20, n.1, p. 24-29, 2000.

SANTOS, M. G. et al. Coliformes isolados de utensílios e equipamentos de camarão de uma indústria de pescado de Fortaleza, CE. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 101, p. 67-75, 2002.

SANTOS, Y. et al. Virulence properties and enterotoxin production of *Aeromonas* strains from fish. **Infect. Immun.**, v. 56, n. 12, p. 3285-3293, 1988.

SCHEWERIN, K. D. Salmonellosis caused by the consumption of smoked fish. **Monat. Vet.**, v. 21, n. 9, p. 325-327, 1966.

SCHINDLER, P. R. et al. Occurrence of *Salmonella* in lakes and rivers and drinking waters of southern Bavaria. **Offenti. Gesundheitsw.**, v. 53, n. 7, p. 333-337, 1991.

SEAP. SECRETARIA DE AGRICULTURA E PESCA DE MATO GROSSO. **Criação de peixe garantirá alimento a comunidades indígenas em Mato Grosso**, 2007. Disponível em [www.onortao.com.br](http://www.onortao.com.br). Acesso em out. de 2007.

SEEPERSADSINGH, N.; ADESIYUN, A. A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. in pet, mammals, reptiles, fish aquarium water and birds in Trinidad. **J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health**, v. 50, n. 10, p. 488-493, 2003.

SEIDLER, R. J. et al. Isolation, enumeration and characterization of *Aeromonas* from polluted waters encountered in diving operations. **Appl. Environm. Microbiol.**, v. 39, n. 5, p. 1010-1018, 1980.

SHANE, S. M. et al. *Salmonella* colonization in commercial pet turtles. **Epidemiol. Infect.**, v. 105, n. 2, p. 307-316. 1990.

SHARMA, V. D. *Salmonella* contamination of foods of animal origin. In: **Salmonella and Salmonellosis Symposium**, Ploufragan, França. 1992. p. 137-138.

SILIMON, K. Z. S. **Piscicultura: a nova opção do produtor rural Mato-grossense**. Cuiabá: SEBRAE/MT, 1994. 100 p.

SILLIKER, J. H. Status of *Salmonella* – ten years later. **J. Food Prot.**, n.43, v.4, p.307-313. 1980.

SILLIKER, J. H.; GABIS, D. A. Indicators tests as substitutes for direct testing of dried foods and feeds for *Salmonella*. **Can. J. Microbiol.**, v. 22, p. 971-974, 1992.

SILVA, E. N. *Salmonella* Enteritidis em aves e saúde pública. **Hig. Aliment.**, v.9, p.7-13, 1995.

SILVA, M. C. D. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió, AL. **Hig. Aliment.**, v. 16, n. 96, p. 60-64, 2002.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.317 p.

SILVA, R. A. et al. Controle de qualidade do pescado e avaliação microbiológica do gelo utilizado para sua conservação. **Cad. Téc. CEFET/PI**, v. 15, 2007.

SILVA Jr., E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1995. 479 p.

SINGH, D. V.; SANYAL, S. C. Production of haemolysis and its correlation with enterotoxicity in *Aeromonas* spp. **J. Med. Microbiol.**, v. 37, p. 262-267, 1997.

SIRORSKI, Z. E. **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación**. Zaragoza: Acribia, 1994. 330 p.

SOUZA, T. **Recuperação do rio Cuiabá será uma das prioridades**. Secretaria de Meio Ambiente de Mato Grosso, Cuiabá, 2005. Disponível em: [www.sema.mt.gov.br](http://www.sema.mt.gov.br) Acesso em dez. de 2005.

STELLMACHER, W.; RANKE, M. Fish meal and *Salmonella*. **Monatsh. Vet.**, v. 22, P. 728-779, 1967.

STELMA, G. N., Jr.; Mc CABE, L. J. Nonpoint pollution from animal sources and shellfish sanitization. **J. Food Protect.**, Ames, v.55, p.649-656, 1992.

STEMPNIEWSKI, H. L. **Doenças parasitárias dos peixes. Generalidades. Poluição e piscicultura.** São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP e Instituto de Pesca, 1986. 216 p.

STOSKOPF, M. K. Zoonotic diseases. In: NEMETZ, T. G.; SHOTTS, E. B. **Fish medicine**, W. B. Saunders, 1993. p. 214-215.

STRAUSS, M. Health aspects of nightsoil and sludge in agriculture and aquaculture. pathogen survival. **Int. Ref. Center of Waste Disposal**, v. 85, n. 4, p. 87, 1985.

TEIXEIRA, I. **Modelagem da Qualidade das Águas do Rio Cuiabá.** Cuiabá: FEMA/PNMA. 1994.

TESSARI, E. N. C. et al. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. **Hig. Alim.**, v. 17, n. 107, p.52-55, 2003.

THORNEY, J. P. et al. Virulence properties of clinically significant *Aeromonas* species: evidence for pathogenicity. **Rev. Med. Microbiol.**, v. 8, p. 61-72, 1997.

TIROLI, I. C. C.; COSTA, C. A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. **Acta Amaz.**, v.36, n.2, p.205-208. 2006.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.

TSUJI, H.; HAMADA, K. Outbreak of *Salmonella* Chester and *Salmonella* Oranienburg. **J. Infect. Dis.**, v. 52, p. 138-139, 1999.

TWIDDY, D. R. Antibiotic-resistant humans pathogens in integrated fish farms. **Asean Food J.**, v.10, n.1, p.22-29, 1995.

VALDEPITE, J. et al. *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas shigelloides*. Their role as diarrhoea agents and their epidemiology. **Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales**, v. 73, n. 2, p. 139-149, 1980.

VALDEPITE, J. et al. Human edwardsielosis traced to ornamental fish. **J. Clin. Microbiol.**, v. 17, p. 165-167, 1983.

VAN DER KOOJ, D. Properties of *Aeromonas* and their occurrence and hygienic significance in drinking water. **Zentralbl. Bakteriol. Hyg.**, v. 187, n. 1, p. 1-17, 1988.

VEIGA, S. M. O. M. et al. Eficácia da água ozonizada contra patógenos encontrados em água e alimentos. **Hig. Aliment.**, v. 17, n. 106, p.95-99, 2000.

VIEIRA, R. H. S. S. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. Teoria e prática.** São Paulo: Varela, 2004. 380 p.

VIEIRA, R. H. S. S. et al. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em filés congelados. **Hig. Alim.**, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.

VIEIRA, R. H. S. F. et al. Qualidade microbiológica do mapará (*Hyphotalmus edntatus*) salgado comercializado em Fortaleza, CE. **Hig. Aliment.**, v. 15, n.85, p.61-64, 2001.

VILLARI, P. et al. Molecular typing of *Aeromonas* isolates in natural mineral waters. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 1, p. 697-701, 2003.

VITAL, A. R.; COSTA, E. S.; CURVO, M. **Projeto de recuperação e conservação da bacia do rio Cuiabá.** Cuiabá: FEMA/MT. 1996.

VON GRAEVENITZ, A. A research on *Aeromonas* and *Plesiomonas*. **Experientia.**, v. 43, p. 348-361, 1987.

VON GRAEVENITZ, A.; MENSCH, A. H. The genus *Aeromonas* in human bacteriology: report of 30 cases and review of literature. **N. England. J. Med.**, v. 278, p. 245-249, 1968.

WATSON, W. A. e BROWN, J. M. *Salmonella* infection and meat hygienic: poultry meat. **Vet. Rec.**, v.96, p.351-353. 1975.

YOUSSEF, H. et al. Role of pathogens of freshwater fish in transmission of humans diseases. **J. Food Protect.**, Ames, v.55, n.9, p.739-740, 1992.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** New Jersey: Prentice Hall, p.531-533, 1999.

ZICAN, C. A. O Ministério da Agricultura iniciou o controle sanitário através do sistema de pontos críticos. O pescado é o carro-chefe desse sistema. **Hig. Aliment.**, v.8, n.31, p.9-10, 1994.