



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AMBIENTE E DA
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) PRODUZIDA EM
SISTEMA DE TANQUES-REDE NO RESERVATÓRIO DE
CHAVANTES, SP.

IVANA GIOVANNETTI CASTILHO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral
e Aplicada, área de concentração Biologia de parasitas e
micro-organismos.

Vera Lúcia Mores Rall

BOTUCATU – SP
2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AMBIENTE E DA
TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*) PRODUZIDA EM
SISTEMA DE TANQUES-REDE NO RESERVATÓRIO DE
CHAVANTES, SP.

IVANA GIOVANNETTI CASTILHO

VERA LÚCIA MORES RALL

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral
e Aplicada, área de concentração Biologia de parasitas e
micro-organismos.

Vera Lúcia Mores Rall

**BOTUCATU – SP
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Castilho, Ivana Giovannetti.

Qualidade microbiológica do ambiente e da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzida em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes, SP / Ivana Giovannetti Castilho. – Botucatu : [s.n.], 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Vera Lucia Mores Rall

Capes: 21201005

1. Microbiologia aquática. 2. Salmonela. 3. Peixe – Criação. 4.
Tilápia (Peixe)

Palavras-chave: *Aeromonas*; coliformes termotolerantes, Piscicultura;
Pseudomonas; *S. aureus*; *Salmonella*.

Aos meus pais, com todo o meu amor e admiração. Por tudo o que me ensinaram, por serem minha luz e meu porto-seguro.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ana Maria e Enéias, que abriram mão de muitos dos seus sonhos pra que eu realizasse os meus. Vocês estão presentes em tudo que sou e em tudo que faço. Retribuir tudo o que fizeram por mim seria impossível e tenho certeza que não é o que desejam, mas espero ainda conseguir dar muito orgulho a vocês.

À minha orientadora, Prof. Dra. Vera Lucia Mores Rall, por quem tenho grande admiração. Obrigada por me receber no laboratório, por tudo o que me ensinou, não só em microbiologia, mas em vários outros aspectos, por toda a ajuda e por confiar no meu trabalho.

Ao Professor Reinaldo José da Silva, pelo projeto, pelas coletas e colaboração em todas as etapas deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro ao projeto e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado.

Aos meus colegas de laboratório, muitos que ainda estão desenvolvendo seus projetos e outros que foram embora, obrigada a cada um de vocês pela convivência, pela colaboração e aprendizado.

À Erika e ao pessoal da Parasitologia, que levavam os peixes até a mim para que eu pudesse realizar o trabalho. Eu vi o quanto essa tarefa era cansativa!

Aos Professores e demais funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia, em especial ao Prof. Dr. Ary Fernandes Junior e ao Prof. João Manuel Grisi Candeias, que participaram da minha qualificação e deram grandes contribuições.

À Sônia, Nice, Lula, Tino, Pedro e Luiz, por toda a ajuda e carinho desde o meu início no departamento.

À Terue, por sempre demonstrar interesse por meu trabalho e preocupação, à Natalia e ao Carlos, por sempre estarem dispostos a esclarecer minhas dúvidas e emprestar materiais.

À Pós-Graduação por todo o auxílio durante os dois anos de Mestrado.

À minha irmã Marcela, por sempre me apoiar e me desejar o melhor. Obrigada pela amizade, pelo amor, proteção e diversão. Tenho muito orgulho da pessoa que se tornou. Vou estar sempre ao seu lado.

Aos meus tios, Maria Júlia e Marcos, por estarem presentes em todos os momentos, por estarem ao meu lado em cada desafio e em cada conquista, me ajudando e torcendo por mim. Vocês são muito especiais na minha vida.

Aos meus primos, Marcos, Marina e Marília, por uma infância inesquecível e por todos os momentos que se seguiram e que estão por vir. Nossa amizade vai além dos laços familiares.

À Seu Cuka (Catarina), Limão (Erika), Kurau (Jéssica) e Pivetti (Ana Carolina) por todos os anos de convivência, pela cumplicidade, pelos dias e madrugadas de conversas, diversão e risadas, por dividirem comigo momentos alegres e momentos difíceis. Vocês fizeram meus anos de faculdade muito felizes e inesquecíveis e ainda estão sempre presentes. Gostaria de agradecer a cada uma, mas é impossível separá-las, porque somos uma família.

À Balada (Magali), pela amizade e carinho, por me ouvir e me incentivar a nunca desistir. Obrigada por me ensinar com seus gestos que existem pessoas dispostas a fazer o bem sem pedir nada em troca. Espero continuar sua corrente. Minha gratidão e amizade são eternas.

Ao Igor, meu exemplo de dedicação e determinação. Obrigada por estar comigo sempre, pelos momentos felizes, pelo amor, carinho, companheirismo, apoio, paciência e por fazer meus dias serem mais leves e divertidos.

Ao Miss, por sempre me ouvir (muito) e a todo o pessoal da Põe, por me divertirem nos momentos de estresse. À Luciana, pela amizade, carinho e por sempre se preocupar comigo. Ao Gilmar, pela amizade e ajuda durante a realização deste trabalho.

Aos meus amigos de São Paulo, em especial Carolina, Suzana, Renata, Danilo, Luiz Henrique e Leandro, por tudo o que vivemos e aprendemos juntos e por sempre torcerem por mim, mesmo longe.

À Tati, Sissi, Margarida, Zeca, Tobias, Malu, Uli, Nêga, Vandinha, Juca, Charles e Tico, pelo amor, por me proporcionarem momentos tão alegres e por serem meu refúgio em momentos difíceis.

E a todos que contribuíram para que eu cumprisse mais esta etapa.

RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	5
OBJETIVOS	16
CAPÍTULO 1	17
Título	18
Resumo	19
Abstract	20
Introdução	21
Material e Métodos	23
Resultados	27
Discussão	30
Conclusão	35
Referências	35
REFERÊNCIAS GERAIS	40

RESUMO

A piscicultura é o setor mais popular da aquicultura e o Brasil tem grande potencial para desenvolvimento da atividade devido às características do país e ao aumento no consumo de peixes. O reservatório de Chavantes, no Médio Rio Paranapanema, possui diversas pisciculturas de tanques-rede com criação de tilápias. No entanto, esses sistemas são intensivos com altas densidades de estocagem e de fornecimento de ração, o que pode ser prejudicial para a qualidade da água e saúde dos animais, trazendo conseqüências ecológicas, econômicas e sociais. *Aeromonas* e *Pseudomonas* estão entre os principais patógenos de peixes, porém, no ambiente e na produção de uma piscicultura, uma grande variedade de micro-organismos pode ser identificada sem provocar doenças nos animais, mas sendo via de transmissão de agentes patogênicos para o homem, como *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus*. A determinação de coliformes termotolerantes também é de grande importância na vigilância da contaminação por patógenos nos sistemas de criação de peixes. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de pescados tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criados em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes (médio rio Paranapanema, SP), bem como a qualidade da água e da ração nesses sistemas. As análises foram feitas em quatro ciclos de produção, dois de verão e dois de inverno, através da pesquisa de *Pseudomonas* sp, *Salmonella* sp, *S. aureus* e coliformes termotolerantes (CTe) nos pescados, *Salmonella* sp e CTe na água e *Salmonella* na ração. No primeiro ciclo de verão, 8% das amostras de peixes estavam contaminadas com *Aeromonas*, 4% com *Pseudomonas* sp e 37,3% das amostras com NMP de CTe/g acima de 10^3 . Não foram detectados *Salmonella* ou *S. aureus*. O primeiro ciclo de inverno apresentou 10% das amostras com *Aeromonas*, 6,1% com *Pseudomonas* sp, 1,1% com *S. aureus*, 0,5% com *Salmonella* e 58,9% estavam acima do limite permitido para CTe/g. No segundo ciclo de verão, 10,6% das amostras de peixes apresentaram-se contaminadas com *Aeromonas*, 8% com *Pseudomonas* sp e 58% das amostras com NMP de CTe/g acima do permitido pela legislação. Não foi detectada a presença de *Salmonella* e *S. aureus* em nenhuma das amostras. O segundo ciclo de inverno apresentou 20,6% das amostras contaminadas com *Aeromonas*, 2,9% com *Pseudomonas* sp, 1,2% com *S. aureus* e 0,6% com *Salmonella*. O NMP de CTe/g estava acima do permitido em 66,5% das amostras. Para as amostras de água, no primeiro ciclo de verão o NMP de CTe/100ml variou de 15 a 94 para a água coletada dos pontos controle e, nas amostras coletadas dos tanques, de 27 a 102. No primeiro ciclo de inverno, os valores

encontrados de NMP de CT/100ml para controle e tanque variaram de 21 a 103 e de 24 a 154, respectivamente. No segundo ciclo de verão, o NMP de CTe/100ml de água controle variou de 42 a 112 e de 47 a 275 nas amostras dos tanques. No segundo ciclo de inverno, para as amostras de água dos pontos controle os valores de NMP de CTe/100ml variaram de 26 a 107 e, para os tanques, de 69 a 212. Todos os valores de CTe para a água estavam dentro do limite de 10^3 estabelecido pela legislação. Não foi detectada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras de água e de ração. Os valores de *Aeromonas* aumentaram no decorrer dos ciclos, o que pode ter sido causado pela atividade de piscicultura. *Pseudomonas* foi detectada dentro da normalidade. A presença de *Salmonella* ocorreu nos ciclos de inverno, porém foi detectada em meses com temperaturas mais elevadas. A presença de *S. aureus* nos ciclos de inverno sugere que a manipulação para captura das amostras pode ter sido inadequada. Os valores encontrados para NMP de CTe/g se devem provavelmente à contaminação fecal ocasionada pelos próprios peixes já nos sacos de coleta. De acordo com os resultados obtidos, os tanques-rede são sistemas adequados para a criação de peixes, pois não ocorreram alterações significativas dos padrões microbiológicos na microbiota dos animais e da água.

Palavras-chave: Piscicultura; *Aeromonas*; *Pseudomonas*; *S. aureus*; *Salmonella*; coliformes termotolerantes.

ABSTRACT

Fish farming is the most popular modality of aquaculture and Brazil has great potential for this activity due to its characteristics and increased consumption of fish. The Chavantes reservoir, at Middle Paranapanema River has several fish farms using cages to create tilapia. However, these systems are intensive and therefore use high stocking and feeding densities, which can be detrimental to water quality and animal health. *Aeromonas* and *Pseudomonas* are among the main pathogens of fish, but a variety of micro-organism can be identified in the environment and in a fish farm without causing disease in animals, but they can act as a route of disease transmission to humans, as those caused by *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*. The fecal coliforms determination is also important in surveillance of the contamination by pathogens in fish farming systems. Thus, this study aimed to evaluate the microbiological quality of Nile-tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) cultivated in cages in Chavantes reservoir (Middle Paranapanema River, SP) and water and feed quality in these systems. Analyses were done during four production cycles, two in the summer and two in the winter, by researching *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp, *Salmonella*, *S. aureus* and thermotolerant coliforms (TC) in fish, *Salmonella* and TC in water and *Salmonella* in feed samples. In the first summer cycle, 8% of the fish samples were contaminated with *Aeromonas* sp, 4% with *Pseudomonas* sp and 37.3% with over 10^3 MPN TC/g. There were no samples with *Salmonella* or *S. aureus*. The first winter cycle presented 10% of fish samples with *Aeromonas* sp, 6.1% with *Pseudomonas* sp, 1.1% with *S. aureus*, *Salmonella* in 0.5% and 58.9% above the allowed limit for TC/g. In the second cycle of summer, 10.6% of the samples were contaminated with *Aeromonas* sp, 8% with *Pseudomonas* sp and 58% of samples with MPN of TC/g higher than allowed by law. We did not detect the presence of *Salmonella* and *S. aureus* in any sample. The second cycle of winter presented 20.6% of samples contaminated with *Aeromonas* sp, 2.9% with *Pseudomonas* sp, 1.2% with *S. aureus* and 0.6% with *Salmonella*. The MPN of TC/g was higher than allowed in 66.5% of the samples. For water samples in the first cycle of summer the MPN of TC/100mL ranged from 15 to 94 for water collected from control points and from 27 to 102 for samples collected from the cages. In the first winter cycle, the values for MPN of TC/100mL in the control and cages ranged from 21 to 103 and from 24 to 154, respectively. In the second cycle of summer, the MPN of TC/100mL for control water ranged from 42 to 112 and from 47 to 275 for cages water. In the second cycle of winter, the MPN of TC/100mL of control water samples ranged

from 26 to 107 and from 69 to 212 from the cages samples. For water samples, the MPN of TC/100mL did not exceed, in any case, the limits of up $10^3/100\text{mL}$. We did not detect the *Salmonella* in any water or feed sample. The values for *Aeromonas* increased over the cycles, which may have been caused by the activity of fish farming. *Pseudomonas* was detected within the normal range. The presence of *Salmonella* occurred in the cycles of winter, but was detected in months with higher temperatures. The presence of *S. aureus* in winter cycles suggest that manipulation of the samples during capture may have been inappropriate. The values found for MPN of TC/g are probably due to fecal contamination by the fish after capture. According to the results, the cages are adequate systems for fish farming because there were no significant changes in the microbiological standards in the microbiota of the animals and water.

Keywords: Fish farming; *Aeromonas*; *Pseudomonas*; *S. aureus*; *Salmonella*; thermotolerant coliforms

1. INTRODUÇÃO

Aquicultura é a produção de organismos aquáticos em cativeiro, compreendendo peixes, crustáceos, moluscos, quelônios e anfíbios (INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS – IBAMA, 2007). A piscicultura é o setor mais popular da aquicultura e está em constante crescimento devido ao aumento na demanda por peixes (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA, 2010) O peixe está entre os tipos de pescado mais consumidos. Segundo Crepaldi (2006), o aumento se deve, principalmente, pelas mudanças nos hábitos alimentares da população, que vem buscando produtos mais saudáveis. As carnes de pescado apresentam alto teor de proteínas com um excelente nível de aminoácidos essenciais, são fonte de vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) e hidrossolúveis do complexo B e minerais (cálcio, ferro e fósforo), além de serem um alimento de baixa gordura e possuir elevados teores de ômega-3 (STEVANATO et al., 2007).

Segundo a Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP, 2011), atualmente, mais de um milhão de toneladas/ano de pescado são produzidas no Brasil, gerando um PIB pesqueiro de R\$ 5 bilhões, ocupando 800 mil profissionais entre pescadores e aqüicultores e gerando 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos O potencial de mercado também é grande, com 190 milhões de brasileiros consumindo 7 kg de pescado/habitante/ano

O Brasil pode se tornar um dos maiores produtores mundiais de pescado devido ao seu grande potencial para a aquicultura, pois possui 13,7% do total da reserva de água doce disponível no mundo e 8,5 mil km de costa marítima, com uma Zona Econômica Exclusiva de quatro milhões de quilômetros quadrados, o que significa metade do território nacional (AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS - ANA, 2011). O país conta com o potencial das grandes bacias hidrográficas para produção de pescados, principalmente pela aqüicultura. São 10 milhões de hectares de lâmina d'água em propriedades particulares no interior do Brasil e reservatórios de usinas hidrelétricas (SEAP, 2011).

O Paranapanema é um dos grandes afluentes da margem esquerda do rio Paraná com origem na vertente ocidental da Serra da Paranapiacaba, no Município de Capão Bonito, SP. Está inserido na Bacia do Alto Paraná e possui uma extensão de, aproximadamente, 930 km e cerca de 330 km formam a divisa natural entre os estados de São Paulo e Paraná. Ao longo de seu curso há um desnível aproximado de 600 metros. Por essa razão e por sua localização, o aproveitamento do Paranapanema para geração de energia hidrelétrica iniciou-se em 1936, com a construção da pequena usina Paranapanema, no médio curso do rio. O Paranapanema

tem hoje onze usinas em operação, o que formou uma sucessão de reservatórios ao longo do seu curso original, sendo Chavantes um deles (MARAGNI e ZOCCHI, 2002; DUKE ENERGY, 2003; AGOSTINHO et al., 2007; POVH et al., 2008)

A usina hidrelétrica de Chavantes começou a ser construída em 1959, sendo a terceira do Paranapanema, mas o fornecimento de energia começou apenas em 1970. Chavantes é capaz de gerar 414 MW de energia, o suficiente para fornecer eletricidade a mais de 1 milhão de habitantes. O reservatório tem um espelho d'água de 400 km² e possibilita o armazenamento de 9,4 bilhões de metros cúbicos de água (DUKE ENERGY, 2011).

Existem diversos sistemas de criação de peixes classificados segundo diferentes critérios. A classificação mais utilizada é segundo a produtividade e os sistemas podem ser extensivos, semi-intensivos e intensivos (CYRINO, 2004; KUBITZA, 2006).

Furlaneto (2008) estudou as pisciculturas do Médio Paranapanema na safra 2007/08 e identificou que, da área total de espelho d'água, 2,5 hectares corresponderam aos tanques-rede, sendo a tilápia a única espécie explorada nesses sistemas de produção na região.

O cultivo de peixes em tanques-rede possibilita o aproveitamento de ambientes aquáticos já existentes, como lagos, represas, canais, rios e açudes e reservatórios de usinas hidrelétricas (SILVA e SOARES, 2009).

A tilapicultura em tanques-rede é uma técnica viável e de alta produtividade. Devido às suas características zootécnicas, as tilápias adaptam-se bem à criação e ocupam um lugar de destaque nesses sistemas intensivos de produção, que constituem uma das modalidades de aquicultura que mais vem se desenvolvendo no Brasil (MOREIRA et al., 2001; ONO e KUBITZA, 2003; OSTRENSKY et al., 2008; FAO, 2010).

Os tanques-rede são estruturas rígidas manufaturadas com diversos materiais que se conectam com canos que funcionam como bóias laterais, nas quais ficam presas telas para o confinamento dos peixes (MARDINI e MARDINI, 2000). Os tanques podem ser de madeira ou plástico, embora a maioria seja de metal. Como esses materiais afundam, é necessária a colocação de tambores flutuantes. As redes podem ser de náilon, metal, plástico rígido ou qualquer material resistente, com malhas apropriadas para o tamanho do peixe que deve conter (TEIXEIRA FILHO, 1991). Os tanques precisam ser fixados para que não se movimentem com a corrente de água, uma vez que são inseridos diretamente nos cursos de água.

Esse sistema permite maiores densidades de estocagem, variando geralmente de 50 a 300 peixes por m³ (CAVERO et al., 2003a; CYRINO et al., 2004). Kubitza (2000a) observou

que, no cultivo de tilápias em tanques-rede, a produção por ciclo pode variar de 30 a 300kg/m³, em função do tamanho da gaiola utilizada. Gaiolas de baixo volume (até 6m³) permitem a produção de 200 a 300kg de tilápia/m³ por ciclo.

A piscicultura em tanques-rede é uma técnica relativamente barata e simples, tem a vantagem da renovação constante de água natural, promove fácil movimentação e relocação dos peixes, facilita a observação dos peixes e concilia o uso sustentável do meio ambiente com alta produtividade oriunda da utilização de altas taxas de estocagem (ROTTA e QUEIROZ, 2003; BRANDÃO et al., 2004; AYROSA, 2009).

Porém, esse sistema de cultivo é bastante vulnerável. Geralmente, os tanques estão inseridos em corpos de água públicos ou que são aproveitados por vários usuários para outras atividades, de forma que os piscicultores não têm como controlar efetivamente a influência dessas atividades sobre a produção (CREPALDI et al., 2006). Outro problema que pode acometer o sistema de tanques-rede é a incrustação nas malhas por algas, bivalves, etc., o que reduz o fluxo de água através da gaiola, além do perigo de rompimento da tela, gerando perda da produção e possibilidade de introdução outras espécies de peixes no ambiente, prejudicando a população natural (LUCAS e SOUTHGATE, 2003).

Tilápia é a denominação comum de grande gama de espécies de peixes ciclídeos, contando com cerca de 22 espécies cultivadas no mundo. É considerada o peixe mais popular, sendo criada em mais de cem países. Entretanto, de todas as espécies vulgarmente chamadas de tilápias, as mais importantes comercialmente pertencem ao gênero *Oreochromis* (FITZSIMMONS, 2000; MIRANDA et al., 2010). A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a espécie de peixe de água doce mais cultivada no Brasil e a segunda de maior importância mundial (ZIMMERMANN e HASPER, 2004), sendo também a principal espécie de tilápia cultivada na região do médio rio Paranapanema é a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

De acordo com Lovshin (1997), a distribuição das tilápias pelo mundo começou com o intuito da criação de peixes para a subsistência em países em desenvolvimento. A tilápia-do-Nilo é procedente da Costa do Marfim, África, e foi introduzida no Brasil em 1971 em açudes do Nordeste, difundindo-se para todo o país (MAINARDES-PINTO et al., 1989; CASTAGNOLLI, 1992; PROENÇA e BITTENCOURT, 1994; LOVSHIN, 2000).

Embora tenha sido introduzida é, sem dúvida, uma das principais espécies da fauna aquática brasileira com potencial para a piscicultura industrial (PIRES et al., 2011). Esta espécie está devidamente adaptada às condições climáticas do país e suas características

zootécnicas tornam-na apta ao processamento industrial e muito bem aceita pelo mercado consumidor (TOYAMA et al., 2000).

No Brasil, a tilápia foi a espécie mais representativa na produção da aquicultura continental nos anos de 2007 a 2009, com uma produção crescente de 95.091 toneladas em 2007 a 132.957 toneladas em 2009 (MPA, 2010).

As tilápias são peixes rústicos, que se adaptam facilmente ao confinamento em sistemas intensivos de criação, tolerando baixos níveis de oxigênio e elevadas concentrações de amônia, além de ser a espécie que melhor resiste à temperaturas mais elevadas (MOREIRA et al., 2001). Por ter hábito alimentar onívoro, aceita rações com grande facilidade desde o período larval (SANTIAGO, et al., 1987; MEURER et al., 1999, 2002). Outras características como crescimento rápido, resistência a doenças e ciclo curto de produção contribuem para o sucesso dessa espécie na aquicultura (HAYASHI et al., 2000; KUBITZA, 2005; SOUZA et al., 1998).

As características relativas à carne da tilápia também são importantes para a frequência de sua produção, como o elevado valor nutricional, baixos teores de gordura, excelente textura e paladar. Por não apresentar micro-espinhas, possibilita a filetagem e a industrialização da carcaça. Assim, por ser uma carne de ótima qualidade, é bastante apreciada pelo mercado consumidor (SCHMIDT, 1988; SOUZA e MARANHÃO, 2001; BOSCOLO et al., 2004).

Porém, as pisciculturas podem trazer problemas em relação à qualidade da água e saúde dos animais confinados.

A conversão dos corpos d'água em pisciculturas tem causado a deterioração da qualidade da água por diversos fatores (MMOCHI et al., 2002). Por usarem diretamente os recursos aquáticos, os tanques-rede têm a desvantagem de promover impactos ambientais, através do acúmulo de fezes e metabólitos embaixo das gaiolas, o que causa um aumento da concentração de nutrientes nas águas com o conseqüente aumento das populações planctônicas e microbiológicas (eutrofização) (AYROSA, 2009).

O manejo adequado e a manutenção das boas condições da água são componentes essenciais para assegurar o sucesso da produção. Qualquer atividade que altere os parâmetros físicos, biológicos e químicos da água também afeta o crescimento e o bem-estar dos peixes, uma vez os peixes dependem da água para realizar todas as suas funções, ou seja: respirar, se alimentar, reproduzir e excretar (MALLYA, 2007; ROCHA e PAULINO, 2007).

Um ponto crítico da criação em tanques-rede é a alta densidade de estocagem, uma vez que esses sistemas são intensivos, ocorrendo o povoamento dos tanques com grande número de peixes (CARBALLO et al., 2008).

Ono e Kubitzka (2003) atentaram para o efeito da alta densidade de peixes na qualidade da água. Com muitos peixes confinados em um ambiente, a quantidade de oxigênio dissolvido na água diminui, com o aumento da quantidade de matéria orgânica, resultado da excreção dos animais e de restos de ração não consumidos.

Além disso, densidades inadequadas podem trazer complicações para a criação, pois influenciam a alimentação, reprodução, crescimento e sobrevivência dos animais. Os peixes passam a se comportar de forma anormal, demonstrando um aumento da agressividade e maior sensibilidade, o que favorece aparecimento de ferimentos, doenças e deformidades (CAVERO et al., 2003b; SOUZA-FILHO e CERQUEIRA, 2003; PEDRAZZANI et al., 2007; CORREIA et al., 2010). Toko et al. (2007) também afirmaram que uma densidade elevada pode acarretar em interações negativas entre os peixes, já que são muitos indivíduos disputando os recursos do ambiente.

Altas concentrações de peixe constituem um ambiente favorável a surtos por micro-organismos que, em condições naturais, teriam expressão mínima. Nessa situação, esses patógenos oportunistas passam a ter sua transmissão muito facilitada (NUNES, 2007).

A criação em tanques-rede também enfrenta o problema de estresse induzido por manejo, que ocorre sempre que os peixes são manipulados, transferidos ou estocados. É rotina das pisciculturas manejarem os peixes durante as etapas da criação, para classificação por tamanho e transferência para outros tanques ou ao final do cultivo (KUBITZA, 2009).

Durante o manejo, os peixes podem sofrer diversas injúrias mecânicas, que resultam em perda de escamas e muco, abrindo caminho para infecções por bactérias e fungos (MOYLE e CECH JR., 1998). Além disso, nessas operações ocorre a suspensão dos sedimentos orgânicos ou minerais (argila, silte e mesmo pequenas partículas de areia). Estes sedimentos se depositam sobre as brânquias dificultando a respiração dos peixes e causando lesões no epitélio branquial (KUBITZA, 2007a).

Os peixes também sofrem com a alta densidade nos recipientes nos quais são transportados. Por ser um espaço pequeno com muitos indivíduos, a quantidade de oxigênio dissolvido se esgota mais rapidamente. Ao mesmo tempo, os indivíduos competem por espaço e podem acabar se ferindo (LIMA et al., 2006).

Os problemas relacionados com práticas de alimentação incorretas são também particularmente graves nesse tipo de criação. Na piscicultura intensiva, grande parte dos problemas de qualidade de água está relacionada com o uso de alimentos de má qualidade e estratégias de alimentação inadequada, como o fornecimento exagerado de ração que não é completamente consumida e se acumula, aumentando a concentração de matéria orgânica na água (SVOBODOVÁ et al., 2006).

Além disso, a incidência de doenças aumenta proporcionalmente à redução na qualidade nutricional dos alimentos e na qualidade da água, podendo causar significativas perdas durante o cultivo (KUBITZA, 1997). As rações fornecidas devem ser de qualidade e atender às exigências nutricionais de peixes confinados, agrupados pelo hábito alimentar, isto é, onívoro, carnívoro etc. (CYRINO et al., 2005). Assim, uma dieta equilibrada e ajustável às necessidades específicas dos peixes é fundamental para manter o funcionamento orgânico normal e a resistência à doenças (PEDRAZZANI et al., 2007).

Todas essas questões relacionadas com o manejo dos peixes (como a densidade de estocagem, manipulação e alimentação) e com a qualidade da água são de extrema importância para a criação das tilápias em tanques-rede. Se a atividade não for realizada de forma adequada, os animais sofrem os efeitos do estresse, reduzindo sua capacidade de manutenção da homeostase. Os fatores estressantes afetam o metabolismo, o bem-estar e a saúde dos peixes (OBA et al., 2009).

Uma vez estressados, os peixes ficam mais susceptíveis à infecções por micro-organismos. Das bactérias que acometem os peixes, nem todas são patógenos primários. Muitos podem ser caracterizados como patógenos oportunistas, que colonizam e causam doenças em hospedeiros já debilitados (AUSTIN e AUSTIN, 2007).

Embora *Aeromonas* e *Pseudomonas* não sejam contempladas na Resolução Colegiada (RDC) n.º12 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2001) com padrões microbiológicos, são importantes patógenos de peixes, causando uma série de enfermidades, podendo também causar doenças em humanos. Além disso, segundo Alves et al. (2002), na produção aquícola uma grande variedade de micro-organismos pode ser identificada sem estar provocando doenças nos peixes, os quais podem ser via de transmissão de agentes patogênicos para o homem, como *Salmonella* sp. A presença de outros micro-organismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus*, provavelmente se deve à contaminação durante o manejo do pescado, na produção ou captura para comercialização.

Dentre as infecções que ocorrem em ambientes de piscicultura, as causadas por bactérias do gênero *Aeromonas* são as mais comuns. (ØRMEN, 2000). *Aeromonas* são bacilos retos, Gram negativos e anaeróbios facultativos. A maioria dos membros desse gênero é catalase e oxidase positiva e móvel, pela presença de flagelos polares. (MURRAY et al., 2009). As espécies de *Aeromonas* são encontradas em água doce, adaptadas ao crescimento em temperaturas que variam de 5°C a 37°C e estão presentes na cavidade oral, escamas e superfície das brânquias de peixes (KOZINSKA, 2007).

Essas bactérias tornam-se patogênicas devido, principalmente, às condições de estresse pelo excesso de matéria orgânica na água, oxigênio dissolvido abaixo das concentrações adequadas e alta densidade animal, sendo então consideradas oportunistas (FIGUEIREDO e LEAL, 2008).

A espécie de maior importância para piscicultura por sua patogenicidade é a *Aeromonas hydrophila*, que tem como hábitat natural a água doce rica em matéria orgânica (NUNES, 2007).

Os animais enfermos apresentam pele escura, ascite, hemorragias extensas na superfície do corpo e na base das nadadeiras. Através da necropsia, podem ser observados órgãos internos congestos e as vísceras hemorrágicas. O rim e o baço apresentam-se aumentados (NASCIMENTO, 2008).

Aeromonas salmonicida é a principal responsável pela furunculose, que tem como fatores predisponentes as mudanças fisiológicas, como épocas de reprodução e desova; presença de ectoparasitas que formam lesões ou feridas, as quais são porta de entrada para bactérias e fatores ambientais, como temperaturas mais elevadas (superiores a 16°C), baixa concentração de oxigênio e alta densidade de animais (BLANCO et al., 2008). A doença traduz-se por formação de abscessos no corpo do animal, evoluindo posteriormente para ulcerações. A bactéria facilmente provoca um quadro septicêmico, culminando em esplenomegalia, enterite, hiperemia da bexiga natatória, peritonite e presença de máculas no fígado. A mortalidade ocorre em 20-50% da população (sem intervenção medicamentosa) e os peixes que se curam, tornam-se portadores do agente (LEITE, 1999).

Aeromonas caviae, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas bestiarum* e *Aeromonas veronii* também são causadoras de doenças em peixes que, em conjunto com *Aeromonas hydrophila*, causam uma enfermidade denominada “septicemia por *Aeromonas* móveis” (FIGUEIREDO e LEAL, 2008). Os sinais clínicos normalmente observados, em conjunto ou individualizados, em peixes infectados por essas *Aeromonas* são o aumento de volume do abdômen, escamas

erichadas, lesões hemorrágicas no corpo, cabeça e base das nadadeiras, natação lenta, exoftalmia, apatia e inapetência (LIMA, 2007). Ainda podem provocar a ruptura de pequenos vasos sanguíneos e a grande quantidade de pequenas hemorragias pode ocasionar uma coloração avermelhada em uma grande extensão do corpo. Além disso, ocorre hipertrofia do baço e rim, nos quais o tecido hematopoiético pode ficar completamente destruído (PAVANELLI et al., 1998).

As bactérias do gênero *Aeromonas* também são responsáveis por doenças em humanos (ALTWEGG e GEISS, 1989; MERINO et al., 1995; MURRAY et al., 2009). As formas móveis de *Aeromonas* estão relacionadas principalmente à diarreias autolimitantes ou severas, semelhantes à colérica. Embora as infecções gastrintestinais sejam a forma mais comum de manifestação clínica, espécies de *Aeromonas* são agentes etiológicos de uma variedade de doenças em humanos (SILVA, 2007). As infecções de feridas são a segunda fonte mais comum de isolados de *Aeromonas*, podendo variar de processos simples envolvendo superfícies cutâneas, como celulite e furúnculos, à doenças mais complexas onde fásia, tendões, músculos, articulações e ossos podem ser infectados (JANDA e ABBOTT, 1998). Porém, o panorama das doenças ligadas a este gênero vai muito além, incluindo peritonite, doenças oculares, infecções dos sistemas respiratórios e trato urogenital e septicemia (JANDA e ABBOTT, 2010).

Bactérias do gênero *Pseudomonas* também são patógenos oportunistas de peixes. São bastonetes Gram negativos, não fermentadores, usualmente móveis, retos ou ligeiramente curvos (MURRAY et al., 2009)

As espécies de *Pseudomonas* estão presentes em praticamente todos os ambientes de água doce e se manifestam quando os peixes estão debilitados, principalmente por problemas de qualidade da água, como excesso de matéria orgânica, temperaturas extremas ou manuseio inadequado (KUBITZA, 2005; LIMA, 2007).

Três espécies são reconhecidas como patogênicas para os peixes: *P. fluorescens*, *P. chlororaphis* e *P. anguilliseptica* (FIGUEIREDO e LEAL, 2008).

As espécies de *Pseudomonas* causam um quadro de septicemia hemorrágica nos peixes que, clinicamente, não se distingue da causada por *Aeromonas* (NUNES, 2007). Geralmente há perdas de escamas e surgem manchas despigmentadas na pele, que podem evoluir para ulcerações. Outros sinais como exoftalmia, opacidade da córnea e ascite com acúmulo de fluido opaco ou sanguinolento podem ser observados. O intestino apresenta aspecto inflamado (avermelhado) e geralmente vazio pelo fato do peixe doente ter parado de

comer e o fígado geralmente se apresenta pálido e hemorrágico (KUBITZA, 2005; NUNES, 2007; TROMBETA e MATTOS, 2010).

Três espécies são reconhecidas como patogênicas para os peixes: *P. fluorescens*, *P. chlororaphis* e *P. anguilliseptica*. As espécies de *Pseudomonas* mais frequentes em peixes não são patógenos importantes para humanos, embora possam causar doenças em imunocomprometidos (RAMIREZ et al., 1989; FIGUEIREDO e LEAL, 2008).

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae. São bacilos Gram-negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos, oxidase negativa e catalase positiva. A maioria é móvel devido à presença de flagelos peritríqueos, com exceção de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que são imóveis (GOLDEN et al., 1993; VISSONI, 2003).

A *Salmonella* apresenta adaptação fisiológica muito grande, como é evidenciado pelo crescimento entre pH de 4,5 a 9,5 e temperaturas que variam de 5 a 47°C, sendo sua temperatura ideal de crescimento é entre 35 e 37°C (FRANCO e LANDGRAF, 2003; VISSONI, 2003).

Esse gênero é composto por duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*, sendo que a primeira contém seis subespécies, além de muitos sorovares de acordo com os antígenos somático, flagelar e capsular presentes. São conhecidos atualmente mais de 2.500 sorovares diferentes, dos quais o maior número está na espécie *S. enterica* subesp. *enterica* (BRENNER et al., 2000).

Humanos, animais, alimentos e o ambiente são potenciais reservatórios de *Salmonella*. Seu principal habitat é o trato intestinal do homem e animais. No ambiente, as principais fontes do patógeno são a água, o solo, fezes de animais, insetos e as superfícies de equipamentos e utensílios de indústrias e cozinhas (TIETJEN e FUNG, 1995).

Em alimentos, as salmonelas são veiculadas principalmente por produtos de origem animal contaminados, principalmente carnes de aves, suína e bovina, os pescados, ovos e leite (D'AOUST, 1995; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2008).

De acordo com Jay et al. (2005) e Juneja e Soffos (2010), as doenças causadas por *Salmonella* podem ser subdivididas em três grupos:

a. Febre tifóide: doença bacteriana aguda, de gravidade variável, causada por *S. Typhi*, sendo transmitida por água e alimentos contaminados. Os sintomas aparecem normalmente até 14 dias após a ingestão do patógeno e são caracterizados por septicemia, febre alta, convulsões, diarreia, vômitos, letargia, dor abdominal, cefaléia e erupções cutâneas. A taxa de

letalidade está em torno de 10% e alguns indivíduos podem se tornar portadores, excretando a bactéria durante meses.

b. Febre paratifóide: causada por *Salmonella* Paratyphi A e C. A doença é semelhante à febre tifoide, porém com sintomas mais brandos. Ocorre geralmente um quadro de septicemia, febre, vômitos e diarreia, com duração máxima de três semanas.

c. Salmonelose (gastrenterite ou enterocolite): representa a forma clínica mais comum e tem como agentes etiológicos os sorovares não tifoïdes, como *S. Enteritidis*. Os sintomas aparecem de 12 a 36 horas após o consumo de alimentos contaminados e caracterizam-se por febre, cefaléia, calafrios, dor abdominal, diarreia, náuseas e vômito. No entanto, em alguns casos, a diarreia pode ser muito severa. Em casos raros, a infecção por *Salmonella* pode ocasionar problemas secundários, como artrites.

Uma vez que alimentos e a água podem servir como veículos de agentes patogênicos ao homem, micro-organismos indicadores, como os coliformes termotolerantes, são geralmente usados para monitorar sua qualidade, classificando e restringindo seu uso (MÖLLERKE, et al., 2002).

O grupo dos coliformes termotolerantes pertence à família Enterobacteriaceae, sendo bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás à 45°C em até 24 horas (FRANCO e LANGDRAF, 2003). O habitat dos coliformes é o trato intestinal do homem e de outros animais e fazem parte desse grupo os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo que os dois últimos também podem ser encontrados no ambiente (SILVA et al., 2005).

De acordo com Ray (1996), *E. coli*, além de indicar contaminação fecal, indica a possível presença de patógenos entéricos e pode, por si só, representar risco à saúde, pois algumas cepas são patogênicas. Sua presença em alimentos crus é considerada um fator de contaminação fecal direta ou indireta. A direta ocorre durante o processamento de matérias-primas de origem animal, devido à falta de higiene pessoal dos manipuladores. A indireta pode ocorrer através de águas poluídas e de esgoto.

Há diversas categorias de cepas de *E. coli* que podem carrear diferentes fatores de virulência. Algumas não são invasivas, mas produzem uma toxina que pode causar uma diarreia aquosa. Outras invadem a parede intestinal, causando inflamação, febre e disenteria. Ainda existem linhagens que causam inflamação do cólon com sangramento profuso e síndrome hemolítico-urêmica (TORTORA et al., 2005). A dose mínima infectante pode variar

de 10 a 10000 células por grama ou mililitro de produto consumido, dependendo do sorotipo envolvido (NASCIMENTO e STAMFORD, 2000).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Staphylococcaceae, sendo cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis e tendem a formar agrupamentos em formato semelhante a cachos de uva. São micro-organismos mesófilos que se desenvolvem entre 7°C e 47,8°C e produzem enterotoxinas entre 10°C a 46°C (TRABULSI et al., 2001; GERMANO e GERMANO, 2003).

A espécie *Staphylococcus aureus* tem grande importância em saúde pública, principalmente na área de vigilância sanitária de alimentos (WASHINGTON JR., 2008). Além de ser um dos mais frequentes causadores de intoxicações alimentares, pode colonizar diferentes regiões do organismo, como pele e lesões, membranas mucosas, trato respiratório superior e intestinal (GOMES, 1994; KONEMAN et al., 2001; VIEIRA et al., 2004).

Os portadores possuem um papel importante na manutenção e disseminação desses micro-organismos, especialmente pessoas ligadas a atividades relacionadas com processamento de alimentos e saúde (GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ et al., 2002).

São dois os tipos de doenças causadas por *S. aureus*: quadros infecciosos provocados pela ação direta do micro-organismo, podendo ser localizados ou septicêmicos, e quadros toxêmicos, como a intoxicação alimentar (BAIRD-PARKER, 1990). A segunda categoria é causada pela ingestão de alimento contendo a toxina pré-formada. Deste modo, o agente casual não é a bactéria em si, mas várias toxinas formadas por essas bactérias, conhecidas como enterotoxinas (FRANCO e LANDGRAF, 2003). As principais manifestações clínicas são náusea, vômito, cólicas abdominais e diarreia, podendo ocorrer, nos casos mais graves, cefaléia e prostração. Esses sintomas normalmente aparecem entre trinta minutos e oito horas após o consumo do alimento contaminado e persistem em geral por 24 a 48 horas (GERMANO e GERMANO, 2003, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica de pescados tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criados em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes (médio rio Paranapanema, SP/PR), bem como a qualidade da água e da ração nesses sistemas.

2.2. Objetivos Específicos

- Isolamento, identificação e contagem de *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp e *Staphylococcus aureus*, verificação da presença de *Salmonella* e determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes (CTe) em amostras de pescado tilápia-do-Nilo;
- Verificação da presença de *Salmonella* e determinação do NMP de CTe em amostras de água.
- Verificação da presença de *Salmonella* em amostras de ração.

CAPÍTULO 1

Este trabalho deu origem ao artigo “Qualidade microbiológica do ambiente e da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzida em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes, SP.”, que foi submetido para publicação no periódico “Aquaculture”.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AMBIENTE E DA TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) PRODUZIDA EM SISTEMA DE TANQUES-REDE NO
RESERVATÓRIO DE CHAVANTES, SP

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF ENVIRONMENT AND NILE TILAPIA
(*Oreochromis niloticus*) PRODUCED IN CAGE SYSTEMS AT CHAVANTES
RESERVOIR, SP.

Ivana Giovannetti Castilho¹, Reinaldo José da Silva², Vera Lúcia Mores Rall³

1 - Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, Brasil.

2 - Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, Brasil.

3 - Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, Brasil.

Autor para correspondência:

Vera Lúcia Mores Rall

Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, Brasil.

Caixa-Postal 510

CEP 18618-970, Distrito de Rubião Jr., s/n, Botucatu, SP – Brasil.

Telefone: (14) 38116240 ramal 215, Fax (14) 38116240

e-mail: vlmores@ibb.unesp.br

RESUMO

Uma das modalidades da aquicultura que mais vem se desenvolvendo no Brasil é a criação de peixes de água doce, especialmente tilápias, em sistemas de tanques-rede instalados em grandes reservatórios. Os tanques-rede são sistemas intensivos e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) se adaptam bem a esse tipo de criação. No entanto, as condições impostas por essa modalidade, principalmente as altas taxas de estocagem, podem causar problemas de estresse, resultando em queda de resistência dos peixes e levando ao aparecimento de doenças, dentre elas as de origem bacteriana. Além disso, podem causar deterioração da qualidade da água. O pescado também é um importante veículo de agentes patogênicos ao homem. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de pescados tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criados em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes (médio rio Paranapanema, SP/PR), bem como a qualidade da água e da ração nesses sistemas. As análises foram feitas em quatro ciclos de produção, dois de verão e dois de inverno, segundo o Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES, 2001). No primeiro ciclo de verão, 8% das amostras de peixe analisadas estavam contaminadas com *Aeromonas* sp, 4% com *Pseudomonas* sp e 37,3% das amostras com NMP de CTe/g acima de 10^3 . Não foram encontradas amostras com presença de *Salmonella* ou *S. aureus*. O primeiro ciclo de inverno apresentou 10% das amostras com *Aeromonas* sp, 6,1% com *Pseudomonas* sp, 1,1% com *S. aureus*, 0,5% com *Salmonella* e 58,9% acima do limite permitido para CTe/g. No segundo ciclo de verão, 10,6% das amostras estavam contaminadas com *Aeromonas* sp, 8% com *Pseudomonas* sp e 58% das amostras com NMP de CTe/g acima do permitido pela legislação. Não foi detectada a presença de *Salmonella* e *S. aureus* em nenhuma das amostras. O segundo ciclo de inverno apresentou 20,6% das amostras contaminadas com *Aeromonas* sp, 2,9% com *Pseudomonas* sp, 1,2% com *S. aureus* e 0,6% com *Salmonella*. O NMP de CTe/g foi acima do permitido em 66,5% das amostras. Em nenhuma das amostras de água o NMP de CTe/100ml excedeu os limite de 10^3 imposto pela legislação. Os resultados mostram que os tanques-rede são sistemas viáveis para a produção de peixes, pois não alteraram expressivamente a microbiota dos animais.

Palavras-chave: Tanque-rede; *Aeromonas*; *Pseudomonas*; *S. aureus*; *Salmonella*; coliformes termotolerantes.

ABSTRACT

One of the aquaculture modalities with significant growing in Brazil is the creation of freshwater fishes, especially Tilapias, in cage systems installed in large reservoirs. The cages are intensive systems and Nile-tilapia (*Oreochromis niloticus*) is well suited to this kind of creation. However, the conditions imposed by this activity, especially the high stocking rates, can cause stress, resulting in decrease of fish resistance and leading to emergence of diseases, among them caused by bacteria. Also, can cause water quality deterioration. The fish is also an important vehicle for pathogens to man. Thus, this study aimed to evaluate the microbiological quality of Nile-tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) cultivated in cages in Chavantes reservoir (Middle Paranapanema River, SP/PR) and water and feed quality in these systems, according to Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES, 2001). In the first summer cycle, 8% of the fish samples were contaminated with *Aeromonas* sp, 4% with *Pseudomonas* sp and 37.3% with over than 10^3 MPNTC/g. There were no samples with *Salmonella* or *S. aureus*. The first winter cycle showed 10% of samples with *Aeromonas* sp, 6.1% with *Pseudomonas* sp, 1.1% with *S. aureus*, *Salmonella* in 0.5% and 58.9% were above the limit allowed for TC/g. In the second cycle of summer, 10.6% of the fish samples were contaminated with *Aeromonas* sp, 8% with *Pseudomonas* sp and 58% of samples with TC/g higher than allowed by law. We did not detect the presence of *Salmonella* and *S. aureus* in any sample. The second cycle of winter had 20.6% of samples contaminated with *Aeromonas* sp, 2.9% with *Pseudomonas* sp, 1.2% with *S. aureus* and 0.6% with *Salmonella*. The MPN of TC/g was higher than allowed in 66.5% of the samples. The MPN TC/g did not exceed the limit of $10^3/100\text{ml}$ imposed by the law in any samples. According to the results, the cages are adequate systems for fish farming because there were no significant changes in the microbiological standards in the microbiota of the animals and water.

Keywords: Cages; *Aeromonas*; *Pseudomonas*; *S. aureus*; *Salmonella*; thermotolerant coliforms.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é a produção de organismos predominantemente aquáticos, em qualquer fase de desenvolvimento, que envolve um espaço confinado e controlado (OLIVEIRA, 2009). Essa atividade é uma alternativa para incrementar os índices de consumo de proteínas de origem animal, uma vez que os peixes representam uma fonte de diversos componentes com significativo valor nutricional, como proteínas, vitaminas e ômega-3, trazendo numerosos benefícios ao organismo humano (BADOLATO et al., 1991). Atualmente esta modalidade é considerada um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce no mundo (SOUZA, 2002).

Além disso, a expansão da aquicultura no Brasil tem sido considerada uma excelente alternativa para diminuir a pressão de pesca sobre os ambientes naturais, contribuindo para evitar a escassez de peixes e reduzir os impactos negativos que a exploração pesqueira indiscriminada pode causar nos ecossistemas aquáticos (ROTTA e QUEIROZ, 2003).

O Brasil apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento da aquicultura, pois conta com ótima aceitação de seus produtos no mercado interno e externo. Além disso, é um país essencialmente agrícola, apresentando uma grande disponibilidade de produtos e subprodutos que podem ser utilizados na formulação de rações a um custo relativamente baixo. Ainda, possui diversos microclimas e grande potencial hídrico, proveniente das bacias hidrográficas, das numerosas represas espalhadas por todo país e da sua produtiva região costeira (CAMARGO e POUHEY, 2005).

Uma das modalidades que mais vem se desenvolvendo no Brasil é a criação de peixes de água doce, especialmente tilápias, em sistemas de tanques-rede instalados em grandes reservatórios (AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS – ANA, 2005). O Médio Rio Paranapanema, no Estado de São Paulo, tem uma sucessão de reservatórios ao longo de seu curso, com diversas pisciculturas que utilizam os tanques-rede como um dos principais sistemas de criação e a tilápia é a única espécie explorada nesses sistemas na região (FURLANETO, 2008; DUKE ENERGY, 2011).

Os tanques-rede são sistemas intensivos de produção e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie rústica que se adapta bem ao confinamento com altas densidades de estocagem, tolera baixa concentração de oxigênio e grandes variações de temperatura, tem crescimento rápido, aceita bem rações artificiais e tem boa aceitação no mercado, tornando-a

a espécie mais cultivada em águas continentais brasileiras (MOREIRA et al., 2001; BORGES et al., 2005; KUBITZA, 2007).

No entanto, nas últimas décadas os cultivos de tilápia se intensificaram impulsionados pela sua aceitação global e pelo desenvolvimento de sólidos mercados locais, trazendo conseqüências ambientais, econômicas e sociais (KUBITZA, 2005)

A tilapicultura em tanques-rede emprega altas densidades de peixes em áreas reduzidas e considerável volume de insumos alimentares para manter a produção, levando ao acúmulo de metabólitos, restos de alimento e nutrientes diretamente no ambiente, contribuindo para a deterioração da qualidade da água (MORAIS, 2003; BEVERIDGE, 2004; AGOSTINHO et al., 2007).

As densidades de estocagem muito elevadas, a maior dependência do uso de alimentos formulados, a intensificação do manuseio e a maior ocorrência de problemas de qualidade de água nestes cultivos intensivos podem causar estresse, resultando em queda de resistência do animal e levando ao aparecimento de doenças (KUBITZA, 2005; CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PEIXES CONTINENTAIS - CEPTA, 2007).

As bactérias presentes nos ambientes de piscicultura podem fazer parte da microbiota do peixe ou podem ser patogênicas para o hospedeiro. Alguns micro-organismos são considerados oportunistas, constituindo a microbiota de peixes saudáveis mas se tornando patogênicos em animais estressados, causando morbidade e mortalidade (BULLER, 2004).

Bactérias do gênero *Aeromonas* e *Pseudomonas* estão entre as principais causadoras de doenças em peixes. São consideradas oportunistas e fazem parte da microbiota da água, pele, brânquias e intestino desses animais, provocando doenças quando há desequilíbrio do sistema bactéria-hospedeiro-ambiente (BARJA e ESTEVES, 1988; MARTINS et al., 2011).

O pescado também é um importante veículo de agentes patogênicos ao homem. (PIMENTEL e PANETTA, 2003), como *Aeromonas* sp. e *Salmonella*, sendo que a última pode ser isolada de águas poluídas ou não e, embora seja freqüentemente associada ao trato intestinal de animais de sangue quente, já foi encontrada em animais de sangue frio, inclusive tilápias (IYER e SHRIVASTAVA, 1989; ARVANITIDOU et al., 1995; SUBASHKUMAR et al., 2006; BREMER et al., 2011).

O uso de indicadores de contaminação ambiental e fecal, através da enumeração de coliformes, tem grande importância para a saúde pública, sendo essencial sua detecção para a determinação da qualidade dos alimentos que serão consumidos (LIMA e REIS, 2002). As

densidades de coliformes termotolerantes também são utilizadas para avaliar o grau de poluição e a qualidade sanitária da água (EATON et al., 2005).

S. aureus é uma bactéria com grande importância em saúde pública. Esse micro-organismo tem os seres humanos como principal reservatório, mas também está amplamente distribuído na natureza. Embora possa fazer parte da microbiota humana normal, pode produzir infecções oportunistas, sendo veiculados principalmente por alimentos que requerem considerável manipulação para o seu preparo (KONEMAN et al., 2001; FORSYTHE, 2002).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de pescados tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) criados em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes (médio rio Paranapanema, SP/PR), bem como a qualidade da água e da ração nesses sistemas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Delineamento experimental

Foram estudados quatro ciclos de produção: dois no verão e dois no inverno. O primeiro ciclo de verão contemplou os meses de dezembro de 2009 a maio de 2010; o primeiro ciclo de inverno incluiu os meses de junho a novembro de 2010; o segundo ciclo de verão compreendeu os meses de dezembro de 2010 a maio de 2011 e o segundo ciclo de inverno, de junho a dezembro de 2011. As amostras de peixe, água e ração foram coletadas mensalmente.

Para cada ciclo de verão, foram analisadas 150 amostras de peixe, 12 de água, sendo 6 dos tanques e 6 dos pontos-controle, e 6 de ração. No primeiro ciclo de inverno foram avaliadas 180 amostras de peixe, 12 de água (6 dos tanques e 6 controles) e 6 de ração. No segundo ciclo de inverno foram analisadas 170 amostras de peixes, 14 amostras de água, sendo 7 em cada ponto (controle e tanques) e 7 amostras de ração.

Foi realizada a pesquisa de *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp, *Salmonella* sp, *S. aureus* e coliformes termotolerantes (CTe) nos pescados, *Salmonella* sp. e CTe na água e *Salmonella* sp na ração.

2.2. Área de coleta

Os peixes foram coletados de uma criação particular com cerca de 200 tanques-rede, usados exclusivamente para tilápias, no reservatório de Chavantes. O reservatório está

localizado na região do médio rio Paranapanema, no município de Ipaussú, entre os Estados de São Paulo e Paraná (Figura 1). As amostras de ração coletadas eram utilizadas na piscicultura. A cada mês, duas amostras de água eram coletadas, sendo uma de um ponto próximo à criação e outra de um ponto controle distante dos tanques, para permitir a comparação entre esses locais.

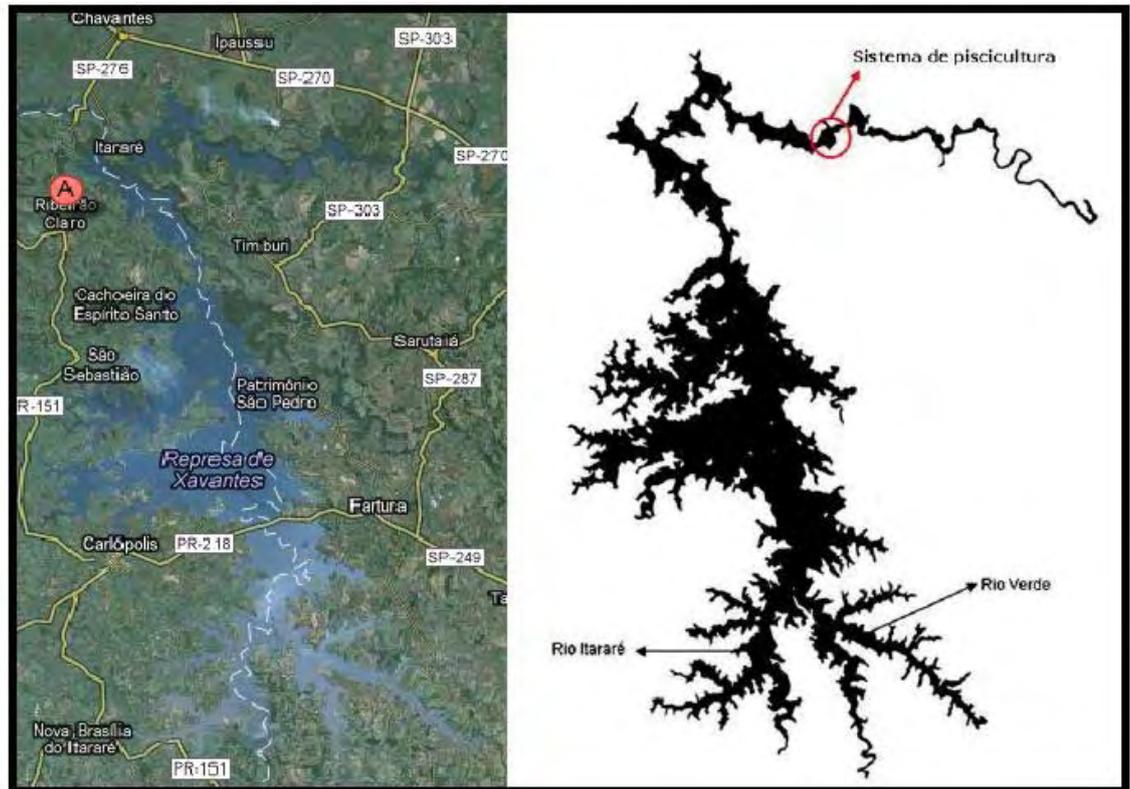


Figura 1: Imagem de satélite e mapa do Reservatório de Chavantes, apontando o local da piscicultura na qual foi desenvolvido o estudo (braço do Rio Paranapanema, município de Ipaussú, SP).

2.3. Coleta das amostras

Os peixes foram coletados com rede (puçá) previamente higienizada e colocados em sacos de coleta esterilizados, sem contato com as mãos do manipulador. As amostras foram mantidas sob refrigeração em caixa isotérmica com gelo e enviadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu. As amostras da ração utilizada na piscicultura foram coletadas com uma colher esterilizada e colocadas em saco de coleta apropriado. Para a análise da água, um volume de 2000 ml para cada ponto foi coletado em frasco estéril, mantido sob refrigeração, até o momento da análise.

2.4. Análise das amostras de pescado

Todos os meios de cultura eram da marca Oxoid, exceto quando especificado. As análises foram realizadas segundo o Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES, 2001) e o Manual of Clinical Microbiology (2007).

2.4.1. Preparo das amostras e diluições

Para a pesquisa das bactérias de interesse, 25g da superfície e musculatura de cada amostra de pescado foram pesadas e homogeneizadas com 225 ml de água peptonada tamponada em garrafas estéreis. A partir dessa diluição inicial (10^{-1}), foram preparadas diluições seriadas, até 10^{-8} , utilizando salina (0,85%).

2.4.2. Pesquisa de *Aeromonas* sp

Alíquotas de 0,1 ml das diluições (até 10^{-4}) foram semeadas no Ágar Aeromonas Medium Base, suplementado com ampicilina (0,4%) previamente reconstituída em água destilada estéril e incubadas por 24 horas a 35°C. A seguir, foi realizada a contagem das colônias suspeitas, as quais se apresentam com coloração verde escura, opacas e com centro preto. Foram retiradas até três colônias das placas de contagem e inoculadas em Ágar Tripticase de Soja (TSA) inclinado. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas e a partir desses crescimentos foram realizados os testes bioquímicos preliminares, como produção de oxidase e catalase, oxidação e fermentação da glicose, motilidade, crescimento a 37°C, redução do nitrato e produção de indol. As cepas positivas esses testes foram submetidas kit API 20E (Biomérieux).

2.4.3. Pesquisa de *Pseudomonas* sp

Alíquotas de 0,1 ml foram semeadas na superfície do Ágar Cetrimide e incubadas a 35°C por até 48 horas. As colônias pequenas com pigmento esverdeado, características de *Pseudomonas* no Ágar Cetrimide, foram contadas e até três colônias foram retiradas da placa de contagem e submetidas provas de oxidase, crescimento a 42°C, oxidação e fermentação da glicose, movimento e formação dos pigmentos A e B kit API 20NE (Biomérieux).

2.4.4. Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Alíquotas de 0,1 ml de cada diluição foram espalhadas semeadas em Ágar Baird-Parker e colocadas em estufa a 35°C por até 48 horas. Até três colônias características

(colônias pretas envoltas por dois halos) foram repicadas para TSA inclinado. Os testes bioquímicos realizados foram catalase, coagulase em tubo, fator “Clumping” (kit Dry Spot), DNase e teste de Voges Proskauer. As cepas positivas para todos os testes foram submetidas ao API Staph (Biomérieux) para confirmação da espécie.

2.4.5. Pesquisa de *Salmonella*

Para avaliar a presença de *Salmonella*, 25 gramas de cada amostra foram homogeneizadas com 225 ml de água peptonada tamponada e o pré-enriquecimento foi incubado a 35°C/24h. Alíquotas 1 ml e 0,1 ml foram inoculadas, respectivamente, em 10 ml de caldo Tetrationato e em 10 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis e incubados a 35°C/24h e 42°C/24h.

A partir de cada caldo, uma alíquota foi semeada em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e em ágar Cromogênico *Salmonella* (CHROMAgar *Salmonella*), seguido de incubação a 35°C por 24 horas. A seguir, até três colônias características em cada ágar foram repicadas em TSA e incubadas a 35°C/24h. As colônias suspeitas foram testadas no ágar tríplice açúcar ferro (TSI) inclinado, fenilalanina e ágar MILI (Movimento, Indol e Lisina). As cepas com perfil positivo para *Salmonella* foram submetidas ao Api 20E (Biomérieux). Uma vez confirmado esse gênero, as cepas foram submetidas a testes sorológicos somático e flagelar (Probae).

2.4.6. Pesquisa de coliformes termotolerantes

A pesquisa de coliformes termotolerantes foi realizada por meio da técnica de tubos múltiplos. Foi transferido 1 ml de cada diluição (até 10⁻⁸) a séries de três tubos por diluição contendo 10 ml de Caldo Lauril Sulfato com tubo de Durhan invertido em cada tubo. Após incubação a 35°C/48h, os tubos que se apresentaram turvos e com produção de gás foram considerados positivos e 3 alçadas de cada um foram transferidas para um tubo contendo Caldo EC, com tubo de Durhan invertido, incubados a 45°C/24h. A partir dos tubos positivos, foi consultada a tabela do Número Mais Provável (NMP).

2.5. Análise das amostras de água

A análise da água dos pontos próximos aos tanques e dos pontos controle foram realizadas através da filtração de 100 ml de cada amostra. Utilizou-se filtro previamente

esterilizado e membranas de acetato de celulose (Millipore) de 47 mm de diâmetro e poros de 0,45 µm.

2.5.1. Isolamento e identificação de *Salmonella* sp

Após a filtração, cada membrana foi incubada em Caldo Selenito Cistina e colocada em estufa de 35°C/24h. A seguir, uma alçada foi semeada em placas de XLD e CHROMagar *Salmonella*. As colônias vermelhas com centro preto nas placas de XLD e as de coloração malva no meio cromogênico foram passadas para tubos de TSA inclinado. Os testes bioquímicos realizados já foram descritos no item 2.4.5..

2.5.2. Contagem dos coliformes termotolerantes

Após a filtração, outras duas membranas correspondentes à água do tanque e controle foram colocadas sobre a superfície de placas contendo o ágar Brilliance *E.coli*/coliform Selective, incubadas a 35°C/24h. A seguir, foi feita a contagem das colônias características, que apresentavam coloração azul escura.

2.6. Análise das amostras de ração

Nas amostras de ração foi realizada a pesquisa de *Salmonella* sp com metodologia já descrita para as amostras de pescado.

2.7. Análises estatísticas

As proporções de positividade de cada bactéria pesquisada foram analisadas pelo Teste de Comparação de Proporção entre dois grupos (Teste Z, 5%) (ZAR, 1996).

3. RESULTADOS

3.1. Amostras de pescado

3.1.1. *Aeromonas* sp

No presente trabalho, das 650 amostras de pescado, 81 (12,5%) estavam contaminadas com *Aeromonas*, sendo 73 (90,1%) *A. hydrophila*, 7 (8,6%) *A. caviae* e 1 (1,2%) *A. sobria*. As contagens de *Aeromonas* sp foram até $3,4 \times 10^6$ UFC/g. Das 81 amostras contaminadas, 57 (70,8%) estavam acima de 10^3 UFC/g.

Comparando a seqüência de ciclos, como mostra a Tabela 1, no primeiro ciclo de verão, 12 amostras (8%) estavam contaminadas com contagens de até 2×10^2 UFC/g; no primeiro ciclo de inverno 18 (10%) apresentaram a bactéria, com contagens de até $2,4 \times 10^4$ UFC/g. O segundo ciclo de verão apresentou 16 amostras (10,6%) com, com contagens de até $3,4 \times 10^6$ UFC/g e o segundo ciclo de inverno, 35 amostras (20,6%) contaminadas, com contagens de até $2,4 \times 10^6$ UFC/g.

Tabela 1. Número de amostras de peixes analisadas por ciclo, número de amostras contaminadas com *Aeromonas* e contagens máximas obtidas durante os 4 ciclos de produção de tilápias em tanques-rede no reservatório de Chavantes.

Ciclo	N.º Amostras analisadas	N.º Amostras contaminadas	Contagem máxima (UFC/g)
Verão 1	150	12 (8%)	2×10^2
Inverno 1	180	18 (10%)	$2,4 \times 10^4$
Verão 2	150	16 (10,6%)	$3,4 \times 10^6$
Inverno 2	170	35 (20,6%)	$2,4 \times 10^6$

UFC/g: Unidades Formadoras de Colônia/g

3.1.2. *Pseudomonas* sp

Do total de 650 amostras de pescado, 34 (5,2%) estavam contaminadas com *Pseudomonas*, sendo 17 (50%) *P. fluorescens*, 14 (41,2%) *P. aeruginosa* e 3 (8,8%) *P. putida*. As contagens obtidas foram de até $1,3 \times 10^5$ UFC/g.

No primeiro ciclo de verão, foram encontradas 6 amostras (4%) com *Pseudomonas* sp, com contagens de até 10^2 UFC/g. No primeiro ciclo de inverno, foram isoladas 11 amostras (6,1%) contaminadas por essa bactéria, com contagens de até 5×10^3 UFC/g. No segundo ciclo de verão, 12 amostras (8%) estavam contaminadas com *Pseudomonas* sp, com contagens de até $1,3 \times 10^5$ UFC/g. Foram encontradas, no segundo ciclo de inverno, 5 amostras (2,9%) com *Pseudomonas* sp., com contagens de até $1,6 \times 10^3$ UFC/g (Tabela 2).

Tabela 2. Número de amostras de peixes analisadas por ciclo, número de amostras contaminadas com *Pseudomonas* e contagens máximas obtidas durante os 4 ciclos de produção de tilápias em tanques-rede no reservatório de Chavantes.

Ciclo	N.º Amostras analisadas	N.º Amostras contaminadas	Contagem máxima (UFC/g)
Verão 1	150	6 (4%)	1×10^2
Inverno 1	180	11 (6,1%)	5×10^3
Verão 2	150	12 (8%)	$1,3 \times 10^5$
Inverno 2	170	5 (2,9%)	$1,6 \times 10^3$

UFC/g: Unidades Formadoras de Colônia/g

3.1.3. *Salmonella*

Não foram detectadas amostras com presença de *Salmonella* nos ciclos de verão. Essa bactéria foi detectada em uma amostra no primeiro ciclo de inverno (0,5%) e em outra, no segundo (0,6%).

3.1.4. *S. aureus*

Nos ciclos de verão não houve amostras contaminadas com *S. aureus*. No primeiro ciclo de inverno, 2 amostras estavam contaminadas por esse micro-organismo, com contagens de até 3×10^3 UFC/g. No segundo ciclo de inverno também foram detectadas 2 amostras (1,2%) com *S. aureus*, com contagens de até 2×10^3 .

3.1.5. NMP CTe/g de pescado

No primeiro ciclo de verão, o número mais provável de CTe/g de pescado variou de <3 a >1100 e 56 amostras (37,3%) apresentaram NMP/g acima de 10^2 . No primeiro ciclo de inverno, o NMP de CTe/g de pescado variou de <3 a $4,6 \times 10^8$ e 106 amostras (58,9%) estavam em desacordo com o padrão microbiológico aceitável. O segundo ciclo de verão mostrou uma variação de NMP de CTe/g de pescado de 3 a $4,6 \times 10^8$, com 87 amostras (58%) acima do padrão e o segundo ciclo de inverno, de 3 a $7,5 \times 10^8$, com 113 amostras (66,5%) inadequadas.

3.2. Amostras de água

No primeiro ciclo de verão, para a água coletada dos pontos controle, o número mais provável de CTe/100ml variou de 15 a 94 e, nas amostras coletadas dos tanques, de 27 a 102.

No primeiro ciclo de inverno, os valores encontrados de NMP de CT/100ml para controle e tanque variaram de 21 a 103 e de 24 a 154, respectivamente. No segundo ciclo de verão, o NMP de CT/100ml de água variou de 42 a 112 nas amostras dos pontos controle e de 47 a 275 nas amostras dos tanques. No segundo ciclo de inverno, para as amostras de água dos pontos controle e dos tanques, os valores de NMP de CT/100ml variaram, respectivamente, de 26 a 107 e de 69 a 212.

Não foi detectada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras de água.

3.3. Amostras de ração

Das 13 amostras de ração analisadas durante os 4 ciclos, nenhuma estava contaminada com *Salmonella*.

4. DISCUSSÃO

Dentre as bactérias pesquisadas nos peixes, as do gênero *Aeromonas* foram as mais freqüentes. Esse micro-organismo é um dos principais patógenos oportunistas que podem causar perdas consideráveis em pisciculturas (COSTA, 2003). Do total de amostras contaminadas por *Aeromonas*, 70,8% estavam com contagens acima de 10^3 UFC/g. A dose infectante capaz de causar doenças em humanos é estimada entre 10^3 e 10^9 UFC/g (ØRMEN, 2000). Na literatura consultada não foi encontrada a dose mínima infectante capaz de causar doenças em peixes.

O número de amostras contaminadas encontradas neste estudo pode ser considerado baixo quando comparado aos resultados de Martins (2006), que isolou *Aeromonas* de 75% das amostras de alimentos a base de pescado cru e de Silva (2007), que encontrou 50% das amostras de peixes frescos comercializados contaminados com essa bactéria. Porém, esses estudos avaliaram a qualidade sanitária de peixes comercializados, e não logo após a captura. Segundo Vieira et al. (2004), imediatamente após a retirada da água, o peixe começa a sofrer deterioração. Lira et al. (2001) e Pimentel e Panetta (2003) observaram que qualquer produto de origem animal pode alterar-se por autólise, atividade bacteriana e oxidação, porém o músculo dos peixes é mais susceptível à deterioração do que a carne dos mamíferos. Esse processo está relacionado às diferentes características destes animais, como pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, elevado teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos micro-organismos (presentes em sua superfície, guelras e trato intestinal),

elevado teor de lipídeos insaturados, rápida ação destrutiva das enzimas naturalmente presentes nos tecidos e alta atividade metabólica da microbiota.

Amostras de peixes de água doce destinadas ao consumo na Turquia foram analisadas por Yücel e Balce (2009) e 10% delas estavam contaminadas com esse micro-organismo, resultado que corrobora o apresentado por este estudo. Rodrigues et al. (2010) pesquisaram a ocorrência de *Aeromonas* sp em tilápias cultivadas em três diferentes pisciculturas do Rio de Janeiro, isolando bactérias desse gênero em 62,9% das amostras da piscicultura A, 25,5% de B e 11,5% de C. O resultado da piscicultura C foi mais próximo ao obtido pelo presente estudo.

O aumento nas porcentagens de amostras contaminadas por *Aeromonas* do primeiro ciclo (início do período de estudo) ao último (final do experimento) foi estatisticamente significativo ($p < 0,01$), o que demonstra que a atividade de piscicultura pode ter causado um aumento da população dessa bactéria. De acordo com Costa (2003), o aumento da atividade aquícola nos corpos de água doce pode aumentar o risco de epidemias causadas por bactérias patogênicas. A manutenção de altas densidades de populações de peixes em áreas limitadas favorece o surgimento e a propagação de doenças responsáveis por grandes mortandades e perdas econômicas significativas.

Embora *Pseudomonas* não seja contemplada na RDC nº12 (ANVISA, 2001), com padrões microbiológicos para alimentos, a International Commission on Microbiological Specification for Food - ICMSF (1996) preconiza como valor máximo até 10^7 UFC/ g para o pescado *in natura*. Sendo assim, os valores encontrados no presente estudo estão em conformidade com o padrão estabelecido. Não foi encontrada na literatura consultada a dose mínima infectante capaz de causar problemas aos peixes. Deve ser ressaltado que durante todo período, não ocorreu aumento significativo no isolamento dessas três espécies, ao longo do tempo.

A porcentagem de amostras contaminadas do presente estudo foi baixa em comparação aos resultados de Boari et al. (2008) que isolaram *Pseudomonas* sp em 100% das amostras de tilápia fresca analisadas, no entanto em contagens mais baixas (até 10^3). Porcentagens mais baixas foram obtidas por Rodrigues et al. (2010), que isolaram *Pseudomonas* nas três pisciculturas estudadas em porcentagens de 14,3% na piscicultura A, 21,4% na B e 64,3% na C.

Os números de amostras contaminadas por *Pseudomonas* não foram estatisticamente diferentes ($p > 0,01$), o que revela que a atividade da piscicultura não foi prejudicial aos peixes em relação a esse patógeno.

Salmonella sp não foi detectada nos ciclos de verão e em porcentagens muito baixas nos ciclos de inverno. Esses resultados estão em conformidade com os Farias et al. (2009), que não detectaram a presença de *Salmonella* em 100% das amostras de peixe fresco provenientes de um entreposto do pescado em Belém/PA. O mesmo ocorreu em estudo de Cardoso Filho et al. (2010), que analisaram 36 amostras de peixes comercializados na cidade de Teresina/PI e não encontraram nenhuma amostra contaminada por essa bactéria. Já em estudo de Rall et al. (2011), *Salmonella* foi detectada em 3% das amostras de peixe fresco de pescado comercializado na cidade de Botucatu, SP.

Os limites de temperatura para o crescimento de *Salmonella* variam de 5 a 43°C (ICMSF, 1996). Embora o ciclo fosse de inverno, as duas amostras de peixe que apresentaram essa bactéria foram detectadas no final de cada ciclo, no mês de outubro, quando a temperatura foi de, aproximadamente, 20,9°C em 2010 e 23,9°C. Deve ser ressaltado que a maioria das mesófilas apresenta crescimento em temperatura mínima de 20°C.

A resolução RDC nº12 (BRASIL, 2001) estabelece tolerância de até 10^3 NMP/g de estafilococos coagulase positiva para pescados “in natura”. Embora o patógeno tenha sido encontrado em poucas amostras ao longo de todo o período de estudo, nas duas amostras positivas, as contagens estavam acima da permitida pela legislação.

Porcentagens mais altas que as do presente estudo foram obtidas por Hiluy et al. (1996), que analisaram amostras de peixes oriundos de pesqueiros no estado do Ceará e 20% delas estavam contaminadas com o *S. aureus*. Das amostras de pescado analisadas por Santos (2006), 15% apresentaram *S. aureus*, porém apenas 5% apresentaram valores acima dos permitidos. Silva (2007) isolou *S. aureus* de 10% das amostras, entretanto com valores abaixo do permitido.

Valores mais próximos aos do atual estudo foram encontrados por Farias et al. (2009) que, analisando a qualidade microbiológica de peixes frescos de um entreposto de pescado em Belém/PA, não detectou a presença de *S. aureus* nas amostras analisadas, resultado mais próximo ao obtido por este estudo.

A presença de *S. aureus* está normalmente associada à manipulação, uma vez que a pele e membranas mucosas do homem são os principais reservatórios desse micro-organismo e à higienização deficiente na elaboração de alimentos (FORSYTHE, 2005). Portanto, as

amostras contaminadas com esse patógeno sugerem que nesse período a manipulação dos pescados no momento da coleta pode ter sido inadequada.

A resolução RDC nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) não impõe um padrão microbiológico para coliformes termotolerantes em pescados “in natura” mas, com base nos padrões atribuídos para pescados em outras condições de pescados (secos ou salgados, em conserva, defumados, pré-cozidos, refrigerados ou congelados), consideramos aceitável um valor de até 10^2 NMP/g.

Contagens menores que as do atual trabalho foram obtidas por Silva (2007), que pesquisou a qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo e a contagem de CTe/g variou de <3 a $4,3 \times 10^3$, apresentando valores superiores a 10^2 em 25% das amostras. Agnese et al. (2001), avaliando as condições higiênico-sanitárias de amostras de pescado fresco comercializado em Seropédica, RJ, encontraram variações de coliformes termotolerantes de <3 a 23 CTe/g.

Liuson (2003) pesquisou coliformes termotolerantes em pescados de 30 pesqueiros da região metropolitana de São Paulo. As coletas foram divididas em período seco e frio e período chuvoso e quente. As contagens variaram de $<0,3$ a $4,6 \times 10^7$ para o primeiro período e de $<0,9$ a $1,7 \times 10^7$ para o segundo, resultados semelhantes aos obtidos pelo presente estudo.

Álvares et al. (2008) analisaram as características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo em três tipos de estabelecimentos: supermercados, feiras-livres e CEAGESP. Esses pesquisadores obtiveram variância de <3 a 23 NMP de CTe/g nos dois últimos locais, porém valores maiores foram encontrados nos supermercados, onde houve variação de <3 a >1100 . Das amostras analisadas, as que se encontraram fora do padrão estabelecido foram 50% nos supermercados e nas feiras-livres e 57,1% no CEAGESP, valores semelhantes aos nossos.

Cardoso Filho et al. (2010), que pesquisaram aspectos higiênicos sanitários de peixes comercializados em mercados públicos de Teresina, PI, encontrou valores menores de coliformes termotolerantes, variando de 0,60 a 2,38 NMP/g.

Segundo Cardoso et al. (2003), em condições naturais, patógenos entéricos ou indicadores de poluição fecal são raramente encontrados nos pescados. Cardoso et al. (2001) afirmaram que a principal via de contaminação da piscicultura, por coliformes termotolerantes e *E. coli* é a água, sendo que altas contagens de *E. coli* no pescado indica a presença de uma fonte poluidora recente. Segundo Andrade et al. (2002), com a morte do animal, ocorre uma série de alterações autolíticas e microbianas e a velocidade de deterioração do pescado

depende das condições de transporte, manipulação, contato com gelo, superfície e equipamentos, estocagem e comercialização.

Porém, os NMPs de CTe/g mais elevados, encontrados neste trabalho, podem ter outras explicações. A presença de coliformes termotolerantes em altas concentrações sugere que a contaminação ocorreu principalmente pelas fezes das próprias tilápias, pois foi observado conteúdo fecal nos sacos de coleta. Isso foi mais observado ao final de cada ciclo, quando os peixes estavam maiores. Embora *E. coli* seja descrita como uma bactéria que habita o trato intestinal de humanos e animais de sangue quente, estudos já isolaram esse patógeno do intestino de peixes. Fattal et al. (1993) e Langoni et al. (2000) isolaram *E. coli* do trato digestivo de tilápias criadas em sistema intensivo. Assim, a pesquisa desse indicador nessas condições deve ser reavaliada.

A Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) N° 357 de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005) estabeleceu a classificação das águas em classe 2 para águas doces destinadas à proteção de comunidades aquáticas e à criação natural e/ou intensiva de espécies destinadas à alimentação humana. Os coliformes termotolerantes não devem exceder o limite de $10^3/100\text{ml}$ em 80% ou mais de pelo menos cinco amostras mensais colhidas em qualquer mês. Coletamos apenas uma amostra de cada ponto, mas em nenhum dos meses de coleta o NMP de CTe/100ml de água excedeu os limites impostos pela resolução.

Socol (2002), que analisou coliformes termotolerantes na água de cultivo de tilápias nos meses de outubro, março e abril, também encontrou valores dentro do permitido pela legislação. Em outubro o NMP/100ml foi de $2,4 \times 10^3$ e em março e abril, de $3,3 \times 10^1$. Lorenzon (2009), analisando água de cultivo de peixes em pesque-pagues da região nordeste do Estado de São Paulo encontrou valores maiores, variando de $3,8 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$. Os resultados encontrados neste estudo também foram menores que os encontrados por Santos (2010), que avaliou a qualidade da água de duas pisciculturas de tanques-rede no Maranhão nos períodos chuvoso e seco e encontrou, na piscicultura A, uma média de 111,8 CTe/100ml para o primeiro período e de 290,8 para o segundo. Na piscicultura B a média foi de 396,8 para o período chuvoso e de 387,3 para o seco.

Os valores de NMP de CTe/100ml da água dos tanques mantiveram-se maiores em 23 (92%) dos 25 meses analisados em relação a água dos pontos controle. Nos três meses restantes, as diferenças foram muito próximas, sendo que no mês de fevereiro de 2010, foram determinados 77/100 ml coliformes no ponto controle contra 71 no tanque, seguidos por 31 e

24, em julho e 67 e 62 em agosto do mesmo ano. De qualquer maneira, todas as amostras mensais do ponto controle e do tanque apresentaram valores muito semelhantes e dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pelo CONAMA (2005), onde a contaminação da água por esses indicadores pode ser de até 10^3 . Isso pode ser explicado pela dinâmica de troca de água dos tanques-rede que, por serem sistemas abertos, promovem uma contínua renovação de água entre as gaiolas e o ambiente (CREPALDI et al., 2006). Segundo Ayrosa (2009), isso mantém a qualidade da água dentro dos tanques-rede, removendo os metabólitos e dejetos produzidos pelos peixes e fornecendo oxigênio aos mesmos.

Segundo o CONAMA, pela Resolução N° 357 de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005), o único parâmetro microbiológico para classificar a qualidade da água são coliformes termotolerantes ou *E. coli*. No presente trabalho, além dos CTe, a *Salmonella* também foi pesquisada para uma melhor caracterização da qualidade dessa água.

Não encontramos *Salmonella* nas amostras de ração. O mesmo resultado foi obtido por Linder et al. (2011). Segundo esses autores, as rações utilizadas atualmente na alimentação de peixes são mais adequadas, pois todos os ingredientes são moídos, seguido por processo de extrusão. Kubitzka (2000) descreveu a extrusão como um processo de cozimento em alta temperatura, pressão e umidade controlada, eliminando a maioria dos contaminantes.

5. CONCLUSÃO

A elevada concentração de coliformes termotolerantes nos peixes provavelmente ocorreu pela contaminação fecal após a captura, sugerindo que esse indicador não é adequado para avaliar a qualidade do pescado nas condições desse trabalho.

Os tanques-rede constituem sistemas apropriados para a criação de peixes e devem ser valorizados pois não alteraram significativamente a microbiota dos peixes e da água, durante o tempo de pesquisa.

6. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA) Aquicultura e pesca: situação atual. **Brasília, 2005.** Disponível em: <<http://ana.gov.br/pnrh/documentos>>. Acesso em: 12 jul. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Resolução – RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jan. 2001.

AGNESE, A. P.; OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Seropédica – RJ. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 182, p. 67-70, 2001.

AGOSTINHO, A. A., GOMES, L. C.; PELICICE, F. M.. **Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil**. Maringá: Eduem, 2007. 501p.

ÁLVARES, P. P.; MARTINS, L.; BORGHOFF, T.; SILVA, W. S.; ABREU, T. Q.; GONÇALVES, F. B. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 161, p. 88-93, 2008.

ANDRADE, F. S. V.; CARNEIRO, M. J. M.; CORDEIRO, C. A. M. Avaliação sensorial e microbiológica do peruá (*Balistes capricus*) capturado na região norte fluminense e comercializado no mercado de Campos de Goytacases – RJ. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 70-74, ago. 2002.

ARVANITIDOU, M. The occurrence of *Salmonella*, *Campilobacter*, e *Yersinia* spp. in river and lake waters. **Microbiological Research**, v. 150, p. 153-158, 1995.

AYROSA, L. M. S.; **Criação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), em tanques-rede, na usina hidrelétrica de chavantes, rio Paranapanema, SP/PR**. 2009. 104 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

BADOLATO, E. S. G.; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MOTRAIS, C. Sardinhas em óleo comestível - Parte II – Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p. 21-26, 1991.

BARJA, J. L.; ESTEVER, A. T. **Patologia em Acuicultura**. Espanha: Caicyt, 1988.

BEVERIDGE, M. C. M. **Cage aquaculture**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 368p.

BOARI, C. A.; PEREIRA, G. I.; VALERIANO, C.; SILVA, B. C.; MORAIS, V. M.; FIGUEIREDO, H. C. P. PICCOLI, R. H. Ecologia bacteriana de filés frescos de tilápia e de pontos capazes de influenciar a sua qualidade microbiológica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 863-867, dez. 2008.

BORGES, A. M.; MORETTI, J. O. C.; McMANUS, C.; MARIANTE, A. S. Produção de população monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chiltralada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 2, p. 153-159, fe. 2005.

BREMER, P. J., FLETCHER, G. C., OSBORNE, C. *Salmonella* in seafood. **New Zealand Institute for Crop e Food Research Limited**, 2003. Disponível em: <<http://www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/Salmonella.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2011.

BULLER, N. B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. Australia: CABI Publishing, 2004. 394 p.

CAMARGO, S. G.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura: um mercado em expansão. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393-396, out./dez. 2005.

CARDOSO FILHO, F. C.; BRAGA, J. F. V.; MURATORI, M. C. S. Aspectos higiênico-sanitários de peixes comercializados em mercados públicos de Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 183, p. 116-120, abr. 2010.

CARDOSO, A. L. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I. A técnica da membrana filtrante, aplicada ao estudo bacteriológico da água da rede de abastecimento utilizada pela população de Descolvado, SP. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 82, p. 33-38, mar. 2001.

CARDOSO, A. L. P. TESSARI, E. N. C., CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M.; ZANATTA, G. F. Incidência de coliformes e *Salmonella* sp em água proveniente de abatedouro avícola. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 111, p. 73-78, ago. 2003.

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PEIXES CONTINENTAIS (CEPTA). Principais doenças bacterianas em criações comerciais de peixes no Brasil. **Boletim técnico**, 2007. 8p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA) **Resolução CONAMA Nº357**, de 17 de março de 2005. Brasil, 2005.

COSTA, A. B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, Piracicaba, 2003.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E.A. ; RIBEIRO, L. P.; COSA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. A situação da aquicultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 81-85, jul./dez. 2006.

DOWNES F P, Ito K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington:Apha, 2001.

DUKE ENERGY. **Usina hidrelétrica de Chavantes**. Disponível em: <www.duke_energy.com.br/usinas/uhe_chavantes.asp>. Acesso em 12 set. 2011.

EATON, A.D.; CLESCERI, L.C.; RICE, E.W.; GREENBERG, A.E. (eds). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21 Ed. Washington: American Public Health Association, 1368p, 2005.

FARIAS, M. C. A.; SOUZA, V. P.; SEIXAS, V. N. C. Qualidade microbiológica e físico-química de filé de peixe congelado beneficiado em um entreposto de pescado em Belém – PA. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, p. 62-63, mar./abr. 2009.

FATTAL, B.; DOTAN, A.; CABELLI, V. J. Microbiological purification of fish in grown in fecally contaminated comercial fish pomd. **Environmental Quality Ecosystem Stab.**, v. 27, p. 303-311, 1993.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FURLANETO, F. P.; ESPERANCINI, M. S. T.; BUENO, O. C.; AYROSA, L. M. S.; AYROSA, M. M. R. Análise quantitativa das pisciculturas da região paulistana do Médio Paranapanema. **Informações econômicas** (Impresso), v. 38, p. 35-44, 2008.

HILUY, D. J.; PINHEIRO, H. C. G.; MOURÃO, A. F.; MACEDO, E. P.; CARVALHO, M. L. M.; PINTO, A. Avaliação da qualidade dos produtos pesqueiros no Estado do Ceará. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 45, p. 37, set./out. 1996.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD - ICMSF. Microorganisms in foods 5. **Microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackel Academic e Professional, 1996. 513p.

IYER, T. S. G.; SHRIVASTAVA, K. P. On the pattern of *Salmonella* serotypes in fishery products, frogs legs and processing environments. **Fishery Technology**, v. 26, p. 131-136, 1989.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDAW, M.; SCHERCKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. **Diagnóstico microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KUBITZA, F. Manejo nutricional e alimentar de tilápias. **Panorama da Aquicultura**, v. 10, n. 60, p. 31-36, jul./ago. 2000.

KUBITZA, F. Antecipando-se às doenças na tilapicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 89, ma./jun.2005.

KUBITZA, F. Produção de pescado no mundo e na aquicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 100, p. 14-23, 2007.

LANGONI, H., NAPOLITANO, G. F.; PEZATTO, L. E.; BARROS, M. M. CANTELMO, O. A. Avaliação da microbiota intestinal de peixes alimentados com duas dietas diferentes. **Boletim técnico do Centro Nacional De Pesquisa E Conservação De Peixes Continentais (CEPTA)**, Pirassununga, v. 13, p. 37-45, 2000.

LIMA, M. G.; REIS, L. B. Incidência de *Salmonella* spp.: comparação entre metodologias de detecção em amostras de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) de rio e cultivado comercializadas no município de Cuiabá – MT. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 43-49, out. 2002.

LINDER, C. E.; ROÇA, R. O.; PINTO, J. P. A. N.; SIGARINI, C. O. *Salmonella* spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce. **Higiene Alimentar**, v. 25, n; 192/192, p. 126-133, jan./fev. 2011.

LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D.; ATHAYDE, A. H.; PINTO, K. P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-76, 2001.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Tese (Mestre em Medicina Veterinária) - Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2003.

LORENZON, C. B. **Perfil microbiológico de peixes e água e de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo**. Tese (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”– UNESP, Jaboticabal, 2009.

MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2006.

MARTINS, A. M. C. R. P. F.; HIPOLITO, M.; CATROXO, M. H. B. **A importância da piscicultura e algumas doenças virais e bacterianas píceas**. 2011. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2011_2/piscicultura/index.htm>. Acesso em: 2 out. 2011.

MORAIS, A. C. **Estudo da eficiência de diferentes sistemas de tratamento na qualidade da água de uma piscicultura intensiva de pregado (*Scophthalmus maximus* L.) ao longo de um ciclo**

produtivo. 2003. 152 f. Tese (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal. 2003.

MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da moderna aquicultura**. 1 ed. Canoas: ULBRA, 2001. 200p.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; LANDRY, M.L., PFALLER, M.A. **Manual of Clinical Microbiology**. ASM Press, Washington, 2007. 1267 p.

OLIVEIRA, R. C. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática como foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 1, fev. 2009.

ØRMEN, O. **The regulation of the aerolysin production from Aeromonas**. PhD thesis – Department of Pharmacology, Microbiology and Food Hygiene, The Norwegian School of Veterinary Science, Norway, 2000.

PIMENTEL, L. P. S.; PANETTA, J. C. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo. Parte 1, resultados microbiológicos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 106, p. 53-63, mar. 2003.

RALL, V. M. L.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Qualidade microbiológica de pescado comercializado na cidade de Botucatu, SP. **Higiene Alimentar**, v. 123, n. 192/193, p. 123-125, jan./fev. 2011.

RODRIGUES, E.; FONSECA, A. B.; FERNANDES, M. L.; CASTAGNA, A. A.; FEIJÓ, M. B.; SANTOS, M. A. V. Densidade na ocorrência de *Aeromonas* spp em tilápias cultivadas em três pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar** v. 24, n. 186/187, p. 116-120, jul./ago. 2010

ROTTA, M. A.; QUEIROZ, J. F. **Boas práticas de manejo (BPMs) para produção de peixes em tanques-rede**. Corumbá: Empraba Pantanal, 2003. 27p.

SANTOS, R. M. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados Municipais da cidade de São Paulo, SP**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2006.

SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Jaboticabal, 2010.

SILVA, M. L. **Pesquisa de *Aeromonas* spp, *Vibrio* spp e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2007.

SOCCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1074-1084, jun. 2002.

SUBASHKUMAR, R.; THAYUMANAVAN, T.; VIVEKANANDHAN, G.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Occurrence of *Aeromonashydrofila* in acute gastroenteritis among children. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 61-66, 2006.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; BARRETO, N. S. E.; SOUZA, O. V.; TÔRRES, R. C. O.; RIBEIRO, R. V. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado – teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004.

YÜCEL, N.; BALÇ, S. Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* species in fish used for human consumption in Turkey. **Journal of Food Protection**, v. 73, n.2, p. 380-384, 2010.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 718 p.

REFERÊNCIAS GERAIS

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA) Aquicultura e pesca: situação atual. **Brasília, 2005**. Disponível em: <<http://ana.gov.br/pnrh/documentos>>. Acesso em: 12 jul. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS - ANA. **Regiões Hidrográficas**. Disponível em: <<http://www.ana.gov.br>>. Acesso em: 2 set. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Resolução – RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jan. 2001.

AGNESE, A. P.; OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Soropédica – RJ. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 182, p. 67-70, 2001.

AGOSTINHO, A. A., GOMES, L. C.; PELICICE, F. M.. **Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil**. Maringá: Eduem, 2007. 501p.

ALTWEGG, M.; GEISS, H. K. *Aeromonas* as a human pathogen. **Critical Reviews in Microbiology**., v. 16, p. 253-286, 1989.

ÁLVARES, P. P.; MARTINS, L.; BORGHOFF, T.; SILVA, W. S.; ABREU, T. Q.; GONÇALVES, F. B. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 161, p. 88-93, 2008.

ALVES, C. L.; CARVALHO, F. L. N.; GUERRA, C. G.; ARAÚJO, W. M. C. Comercialização de pescado no Distrito Federal: avaliação das condições. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 102/103, p. 41-49, nov./dez. 2002.

ANDRADE, F. S. V.; CARNEIRO, M. J. M.; CORDEIRO, C. A. M. Avaliação sensorial e microbiológica do peruá (*Balistes capriscus*) capturado na região norte fluminense e comercializado no mercado de Campos de Goytacases – RJ. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 70-74, ago. 2002.

ARVANITIDOU, M. The occurrence of *Salmonella*, *Campilobacter*, e *Yersinia* spp. in river and lake waters. **Microbiological Research**, v. 150, p. 153-158, 1995.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. **Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish**. Chichester: Praxis Publishing Ltd, 2007.

- AYROSA, L. M. S.; **Criação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), em tanques-rede, na usina hidrelétrica de chavantes, rio Paranapanema, SP/PR.** 2009. 104 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- BADOLATO, E. S. G.; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MOTRAIS, C. Sardinhas em óleo comestível - Parte II – Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p. 21-26, 1991.
- BAIRD-PARKER, A.C. The Staphylococci: an introduction. **Journal of Applied Bacteriology**, v.19, 1S-8S, 1990.
- BARJA, J. L.; ESTEVER, A. T. **Patologia em Acuicultura**. Espanha: Caicyt, 1988.
- BEVERIDGE, M. C. M. **Cage aquaculture**. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 368p.
- BLANCO, M. M.; LIÉBANA, P.; GIBELLO, A.; ALCALÁ, C.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F. DOMÍNGUEZ, L. Principales patologías bacterianas em la piscicultura española. **Revista Electrónica de Veterinaria**. 2004.
- BOARI, C. A.; PEREIRA, G. I.; VALERIANO, C.; SILVA, B. C.; MORAIS, V. M.; FIGUEIREDO, H. C. P. PICCOLI, R. H. Ecologia bacteriana de filés frescos de tilápia e de pontos capazes de influenciar a sua qualidade microbiológica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 863-867, dez. 2008.
- BORGES, A. M.; MORETTI, J. O. C.; McMANUS, C.; MARIANTE, A. S. Produção de população monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chiltralada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 2, p. 153-159, fe. 2005.
- BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; BOMBARDELLI, R. A. Digestibilidade Aparente da Energia e Proteína das Farinhas de Resíduo da Filetagem da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da Corvina (*Plagioscion squamosissimus*) e Farinha Integral do Camarão Canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a Tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.8-13, 2004
- BRANDÃO, R. OMES, L. C.; CHAGAS, E. C.; ARAÚJO, L. D.; Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.4, p.357-362, abr. 2004.
- BREMER, P. J., FLETCHER, G. C., OSBORNE, C. *Salmonella* in seafood. **New Zealand Institute for Crop e Food Research Limited**, 2003. Disponível em: <<http://www.crop.cri.nz/home/research/marine/pathogens/Salmonella.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2011.
- BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ÂNGULO, F. J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. Salmonella nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465-2467, 2000.
- BULLER, N. B. **Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual**. Australia: CABI Publishing, 2004. 394 p.
- CAMARGO, S. G.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura: um mercado em expansão. **Revista Brasileira de Agrociências**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393-396, out./dez. 2005.
- CARBALLO, E.; van EAR, A.; van SCHIE, T.; HILBRANDS, A. Small-scale freshwater fish farming, **Agromisa Foundation and CTA**, Wageningen, 2008.

CARDOSO FILHO, F. C.; BRAGA, J. F. V.; MURATORI, M. C. S. Aspectos higiênico-sanitários de peixes comercializados em mercados públicos de Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 183, p. 116-120, abr. 2010.

CARDOSO, A. L. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I. A técnica da membrana filtrante, aplicada ao estudo bacteriológico da água da rede de abastecimento utilizada pela população de Descolvado, SP. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 82, p. 33-38, mar. 2001.

CARDOSO, A. L. P. TESSARI, E. N. C., CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M.; ZANATTA, G. F. Incidência de coliformes e *Salmonella* sp em água proveniente de abatedouro avícola. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 111, p. 73-78, ago. 2003.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.

CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITAUSSÚ, D. R.; GANDRA, A.L.; CRESCÊNCIO, R. Efeito da densidade de estocagem sobre a eficiência alimentar de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) em ambiente confinado. **Acta Amazonica**, v.33, n.4, p. 631-636, set. 2003a.

CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; ITUASSÚ, D. R.; GANDRA, A. L.; CRESCÊNCIO, R. Biomassa sustentável de juvenis de pirarucu em tanques-rede de pequeno volume. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 723-728, jun. 2003b.

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE PEIXES CONTINENTAIS (CEPTA). Principais doenças bacterianas em criações comerciais de peixes no Brasil. **Boletim técnico**, 2007. 8p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA) **Resolução CONAMA Nº357**, de 17 de março de 2005. Brasil, 2005.

CORREIA, V.; RADÜNZ NETO, J.; ROSSATO, S.; MASCHIO, D.; MARTINELLI, S. G. Efeito da densidade de estocagem e a resposta de estresse no policultivo de jundiá (*Rhamdia quelem*) e carpa húngara (*Cyprinus carpio*), **Revista da FZVA**, Uruguaiiana, v.17, n.2, p. 170-185, 2010

COSTA, A. B. **Caracterização de bactérias do complexo *Aeromonas* isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, Piracicaba, 2003.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E.A. ; RIBEIRO, L. P.; COSA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. A situação da aquacultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 81-85, jul./dez. 2006.

CYRINO, J. E. P.; URBINATTI, E. C.; FRACALOSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. 533p.

CYRINO, J.E.P.; BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J.K. A nutrição de peixes e o ambiente. Palestra. In: **I Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes**, Unesp Botucatu, 2005.

D'AOUST, J. Y. Methods for the detection of foodborne *Salmonella* spp. A review. **Southeast Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 26, n. 2, p. 195-208, 1995.

DOWNES F P, Ito K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington:Apha, 2001.

DUKE ENERGY. **Peixes do Rio Paranapanema**. São Paulo: Horizonte, 2003.

DUKE ENERGY. **Usina hidrelétrica de Chavantes**. Disponível em: <www.duke_energy.com.br/usinas/uhe_chavantes.asp>. Acesso em 12 set. 2011.

EATON, A.D.; CLESCERI, L.C.; RICE, E.W.; GREENBERG, A.E. (eds). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21 Ed. Washington: American Public Health Association, 1368p, 2005.

FARIAS, M. C. A.; SOUZA, V. P.; SEIXAS, V. N. C. Qualidade microbiológica e físico-química de filé de peixe congelado beneficiado em um entreposto de pescado em Belém – PA. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, p. 62-63, mar./abr. 2009.

FATTAL, B.; DOTAN, A.; CABELLI, V. J. Microbiological purification of fish in grown in fecally contaminated comercial fish pomd. **Environmental Quality Ecosystem Stab.**, v. 27, p. 303-311, 1993.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, F. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.37, suplemento especial p.08-14, 2008.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: The most important aquaculture species of the 21st Century. In: **Symposium On Tilapia Aquaculture**, 5., Rio de Janeiro, 2000. Anais. Rio de Janeiro: SRG Gráfica e Editora LTDA, 2000. p.3-8.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**. Roma: Departamento de Pesca e Aquicultura da FAO, 2010

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANGDRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

FURLANETO, F. P.; ESPERANCINI, M. S. T.; BUENO, O. C.; AYROSA, L. M. S.; AYROSA, M. M. R. Análise quantitativa das pisciculturas da região paulistana do Médio Paranapanema. **Informações econômicas** (Impresso), v. 38, p. 35-44, 2008.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2003.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Agentes bacterianos de toxinfecções**. São Paulo: Manole, p. 277-346, 2008.

GOLDEN, D. A.; RHODEHAMEL, E. J.; KAUTTER, D. A. Growth of *Salmonella* spp in cantaloupe, watermelon, and honeydew melons. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 56, p. 194-196, 1993.

GOMES, H.A. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas a partir de leite cru, leite pasteurizado tipo c e queijo “Minas frescal”, comercializados em Piracicaba – SP**. Piracicaba. 1994. 124p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1994.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M.N.; SANZ, J.J.; SANTOS, J.A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M.L. Foodborne pathogenic bacteria in prepackaged fresh retail portions of farmed rainbow trout and salmon stored at 3 degrees C. **International Journal of Food Microbiology**, v.76, n.1, p.135-141, 2002.

HAYASHI, C.; MEURER, F.; BOSCOLO, W. R.; SOARES, C. M. Fontes de fibra bruta em dietas de alevinos de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 3, p. 689-694, 2000.

HILUY, D. J.; PINHEIRO, H. C. G.; MOURÃO, A. F.; MACEDO, E. P.; CARVALHO, M. L. M.; PINTO, A. Avaliação da qualidade dos produtos pesqueiros no Estado do Ceará. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 45, p. 37, set./out. 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Estatística da pesca 2007 – Brasil: grandes regiões e unidades da Federação**. Brasília: IBAMA, 2007.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD - ICMSF. **Microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackel Academic e Professional, 1996. 513p.

IYER, T. S. G.; SHRIVASTAVA, K. P. On the pattern of *Salmonella* serotypes in fishery products, frogs legs and processing environments. **Fishery Technology**, v. 26, p. 131-136, 1989.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. Evolving Concepts Regarding the Genus Aeromonas: An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations and Unanswered Questions. **Clinical Infectious Diseases** v. 27, p. 332–344, 1998.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The genus Aeromonas: taxonomy, pathogenicity, and infection. **Clinical Microbiological Reviews**. V. 23, n. 1., p. 35-73, 2010.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7 ed. New York: Springer, 2005. 790 p.

JUNEJA, V. K.; SOFOS, J. N. **Pathogens and toxins in foods: challenges and interventions**. Washington: ASM Press, 2010.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDAW, M.; SCHERCKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. **Diagnóstico microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KOZINSKA, A. Dominant pathogenic species of mesophilic aeromonads isolated from diseased and healthy fish cultured in Poland. **Journal of Fish Diseases**, v. 30, p. 293-301, 2007.

KUBITZA, F. Transporte de peixes vivos: estratégias permitem eliminar riscos. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v.7. n.43, set./out. 1997.

KUBITZA, F. Manejo nutricional e alimentar de tilápias. **Panorama da Aquicultura**, v. 10, n. 60, p. 31-36, jul./ago. 2000.

KUBITZA, F. Tilápias: qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 59, mai./jun. 2000a.

KUBITZA, F. Antecipando-se às doenças na tilapicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 89, ma./jun.2005.

KUBITZA, F. Sistemas de recirculação: sistemas fechados com tratamento e reuso da água. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 95 mai/jun 2006

- KUBITZA, F. Produção de pescado no mundo e na aquicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 100, p. 14-23, 2007.
- KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, p. 14-23, set./out. 2007a.
- KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes: boas práticas nas despescas, manuseio e classificação dos peixes. **Panorama da Aquicultura**, maio./jun. 2009.
- LANGONI, H., NAPOLITANO, G. F.; PEZATTO, L. E.; BARROS, M. M. CANTELMO, O. A. Avaliação da microbiota intestinal de peixes alimentados com duas dietas diferentes. **Boletim técnico do Centro Nacional De Pesquisa E Conservação De Peixes Continentais (CEPTA)**, Pirassununga, v. 13, p. 37-45, 2000.
- LEITE, C. A. L. Noções aplicadas sobre manejo higiênico-sanitário em piscicultura comercial. In: **Boletim de Extensão**, v. 62. p. 01-63, 1999.
- LIMA, M. G.; REIS, L. B. Incidência de *Salmonella* spp.: comparação entre metodologias de detecção em amostras de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) de rio e cultivado comercializadas no município de Cuiabá – MT. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 43-49, out. 2002.
- LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. ¾, p. 113-117, jul./dez. 2006.
- LIMA, L. C. Doenças de importância econômica em piscicultura. Palestra. In: **III Seminário de Aquicultura, Maricultura e Pesca**, Belo Horizonte, 2007.
- LINDER, C. E.; ROÇA, R. O.; PINTO, J. P. A. N.; SIGARINI, C. O. *Salmonella* spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce. **Higiene Alimentar**, v. 25, n; 192/192, p. 126-133, jan./fev. 2011.
- LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D.; ATHAYDE, A. H.; PINTO, K. P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-76, 2001.
- LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. Tese (Mestre em Medicina Veterinária) - Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2003.
- LORENZON, C. B. **Perfil microbiológico de peixes e água e de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo**. Tese (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”– UNESP, Jaboticabal, 2009.
- LOVSHIN, L. L. Tilapia farming: a growing worldwide aquaculture industry. In: **Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Peixes**, 1, Piracicaba, 1997. p.137-164.
- LOVSHIN, L. L. Tilapia culture in Brazil. In: COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E. (Ed.). **Tilapia aquaculture in the Americas**. Louisiana: The World Aquaculture Society, 2000. v.2, p.133-140.
- LUCAS, J. S.; SOUTHGATE, P. C. **Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants**. Australia: Blacwell Publishing, 2003. 494 p.
- MAINARDES-PINTO, C. S. R.; VERANI, J. R.; ANTONIUTTI, D. M. Estudo comparativo do crescimento de machos de *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de cultivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 6, n. 1-2, p. 19-27, 1989.

- MALLYA, Y. J. **The effects of dissolved oxygen on fish growth in aquaculture**. 2007. 30 F. Tese (Fisheries Training Programme) – The United Nations University, Tanzania, 2007.
- MARAGNI, M.; ZOCCHI, P. Rio Paranapanema – Da Nascente à Foz. São Paulo: Horizonte, 2002.
- MARDINI, C. V.; MARDINI, L. B. L. F.; **Cultivo de peixes e seus segredos**. São Paulo: ULBRA, 2000. 204 p.
- MARTINS, F. O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2006.
- MARTINS, A. M. C. R. P. F.; HIPOLITO, M.; CATROXO, M. H. B. **A importância da piscicultura e algumas doenças virais e bacterianas píceas**. 2011. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2011_2/piscicultura/index.htm>. Acesso em: 2 out. 2011.
- MERINO, S.; RUBIRES, X.; KNØCHEL, S.; TOMÁS, J. M. Emerging pathogens: Aeromonas spp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 28, p. 157-168, 1995.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; BOSCOLO, W. R.. Níveis de gordura na alimentação de machos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*, L.), revertidos sexualmente, na fase inicial. **Aquicultura Venezuela**, v. 99, n. 1, p. 348-357, 1999.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. **Ministério da Pesca e Aquicultura**. Brasil. Maringá, Eduem. 275-305, 2010.
- MIRANDA, J. C.; MAZZONI, R.; SILVA, C. E. A. Ocorrência da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Linnaeus, 1758 na microbacia do Rio Mato Grosso, Saquarema, Estado do Rio de Janeiro. **Revista de Saúde e Biologia**, v.5, n.2, p.47-50, jul/dez 2010.
- MMOCHI, A. J.; DUBI, A. M.; MAMBOYA, F. A.; MWANDYA, A. W. Effects of fish culture on water quality of an integrated mariculture pond system. **Western Indian Ocean Journal of Marine Science**, Tanzânia, v.1, n.1, p. 53-63, 2002.
- MÖLLERKE, R. O.; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. Colimetrias como indicadores de qualidade de pescado artesanal do lago Guaíba, em Porto Alegre, RS. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 102-106, ago. 2002.
- MORAIS, A. C. **Estudo da eficiência de diferentes sistemas de tratamento na qualidade da água de uma piscicultura intensiva de pregado (*Scophtalmus maximus* L.) ao longo de um ciclo produtivo**. 2003. 152 f. Tese (Mestrado em Ecologia Aplicada) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal. 2003.
- MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. **Fundamentos da moderna aquicultura**. 1 ed. Canoas: ULBRA, 2001. 200p.
- MOYLE, P. B.; CECH JR., J. J. **Fishes: An introduction to ichthyology**. 2ed. New Jersey: Prentice Hall. 1998. 559p.

- MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; LANDRY, M.L., PFALLER, M.A. **Manual of Clinical Microbiology**. ASM Press, Washington, 2007. 1267 p.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 917p.
- NASCIMENTO, M. R.; STAMFORD, T. L. M.; Incidência de *Escherichia coli* O157:H7 em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 70, p. 32-35, mar. 2000.
- NASCIMENTO, A. Principais doenças bacterianas em criações comerciais de peixes no Brasil. **Boletim técnico de Saúde Animal**, Cotia, 2008. Disponível em <<http://www.msds-saude-animal.com.br/>> Acesso em: 4 set. 2011.
- NUNES, B. G. **Enfermidades dos peixes**. 2007. 39 f. Tese (Pós-graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2007.
- OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para um manejo rentável. In: DIAS, M. T. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. 1 ed. Macapá, 2009, v. 1, p. 226-247
- OLIVEIRA, R. C. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática como foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 1, fev. 2009.
- ONO, E. A; KUBITZA, F. Cultivo de peixes em tanques-rede. 3 ed.rev.ampl. Jundiaí: Ed.: E. A. Ono, 112p, 2003.
- ØRMEN, O. **The regulation of the aerolysin production from Aeromonas**. PhD thesis – Department of Pharmacology, Microbiology and Food Hygiene, The Norwegian School of Veterinary Science, Norway, 2000.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil – o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276 p.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: EDUEM. 1998. 264p.
- PEDRAZZANI, A. S.; MOLENTO, C. F. M.; CARNEIRO, P. C. F.; CASTILHO, M. F. Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da Aquicultura**, p. 24-29, jul./ago. 2007.
- PIMENTEL, L. P. S.; PANETTA, J. C. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo. Parte 1, resultados microbiológicos. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 106, p. 53-63, mar. 2003.
- PIRES, A. V.; PEDREIRA, M. M.; PEREIRA, I. G.; FONSECA JÚNIOR, A.; ARAÚJO, C. V.; SILVA, L. H. S. Predição do rendimento e do peso do filé da tilápia-do-Nilo. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 33, n. 3, p. 315-319, 2011.
- POVH, J. A.; RIBEIRO, R. P.; SITOL, R. N.; STREIT JÚNIOR, D. P.; LOPERA-BARRERO, N. M.; VARGAS, L.; GOMES, P. C.; LOPES, T. S. Diversidade genética de pacu do Rio Paranapanema e do estoque de um programa de repovoamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 201-206, fev. 2008.
- PROENÇA, E. C. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 195p.

RALL, V. M. L.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Qualidade microbiológica de pescado comercializado na cidade de Botucatu, SP. **Higiene Alimentar**, v. 123, n. 192/193, p. 123-125, jan./fev. 2011.

RAMIREZ R.J., QUINTANA P.P., GALVAN J.J.C., DIAZ J.G. Colestatis intrahepatica severa en el curso de sepsis por *Pseudomonas fluorescens*. **Revista Clinica Española**, v. 185 p. 106–107, 1989.

RAY, B. **Fundamental food microbiology**. Boca Raton: CRC Press, 1996. 516p.

ROCHA, C. M. S.; PAULINO, W. D. Qualidade da água para a piscicultura. **Secretaria dos Recursos Hídricos**. Ceará, 2007.

RODRIGUES, E.; FONSECA, A. B.; FERNANDES, M. L.; CASTAGNA, A. A.; FEIJÓ, M. B.; SANTOS, M. A. V. Densidade na ocorrência de *Aeromonas* spp em tilápias cultivadas em três pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar** v. 24, n. 186/187, p. 116-120, jul./ago. 2010

ROTTA, M. A.; QUEIROZ, J. F. **Boas práticas de manejo (BPMs) para produção de peixes em tanques-rede**. Corumbá: Empraba Pantanal, 2003. 27p.

SANTIAGO, C. B.; ALDABA, M. B.; REYES, O. F. Influence of feeding rate and diet form on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 64, n. 2, p. 277-282, 1987.

SANTOS, R. M. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados Municipais da cidade de São Paulo, SP**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2006.

SANTOS, D. M. S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Jaboticabal, 2010.

SCHMIDT, A. A. P. **Piscicultura: a fonte divertida de proteínas**. São Paulo: Icone, 1988. 88p.

SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA – SEAP. **Mais pesca e aquicultura: plano de desenvolvimento sustentável**. Disponível em: <www.mpa.gov.br> Acesso em 2 dez 2011.

SILVA, N.; CATANÚSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela, 2005. 164p.

SILVA, M. L. **Pesquisa de *Aeromonas* spp, *Vibrio* spp e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo**. Tese (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2007.

SILVA, L. A. C.; SOARES, J. L.. Análise de investimento em piscicultura: produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede. In: **XLVII congresso brasileiro de economia, administração e sociologia rural**, Porto Alegre, 2009.

SOCCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

SOUZA, M. L. R.; CASTAGNOLLI, N.; KRONKA, S. N. Influência das densidades de estocagem e sistemas de aeração sobre o peso e características de carcaça da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757). **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 387-393, 1998.

SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1074-1084, jun. 2002.

SOUZA-FILHO, J. J.; CERQUEIRA, V. R. Influência da densidade de estocagem no cultivo de juvenis de robalo-flecha mantidos em laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1317-1322, nov. 2003.

STEVANATO, F. B.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Aproveitamento de resíduos, valor nutricional e avaliação da degradação de pescado. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n. 7, 2007

SUBASHKUMAR, R.; THAYUMANAVAN, T.; VIVEKANANDHAN, G.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Occurrence of *Aeromonas hydrophila* in acute gastroenteritis among children. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 61-66, 2006.

SVOBODOVÁ, Z.; LLOYD, R.; MÁCHOVÁ, J.; VYKUSOVÁ, B. **Water quality and fish health**. Rome, FAO: EIFAC Technical paper, n.54. 1993. 59 p.

TEIXEIRA FILHO, A. R. **Piscicultura ao alcance de todos**. São Paulo: Nobel, 1991. 199 p.

TIETJEN, M.; FUNG, D. Y. C. Salmonellae and food safety. **Critical Reviews in Microbiology**, v.21, n. 1, p.53-83, 1995.

TOKO, I.; FIOGBE, E. D.; KOUKPODE, B.; KESTEMONT, P. Rearing of African catfish (*Clarias gariepinus*) and vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*) in traditional fish ponds (whedos): Effect of stocking density on growth, production and body composition. **Aquaculture**, Amsterdam, v.262, n.1, p. 65–72, feb. 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

TOYAMA, G. N.; CORRENTE, J. E.; CYRINO, J. E. P. Suplementação de vitamina C para reversão sexual da tilápia do Nilo. **Scientia Agricola**, v.57, n.2, p.221-228, abr./jun. 2000.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo, 2001.

TROMBETA, T. D.; MATTOS, B. O. Manual de criação de peixes em tanques-rede. **Codevasf – Companhia de Desenvolvimento dos Vales de São Francisco e do Parnaíba**, Brasília, 2010.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; BARRETO, N. S. E.; SOUZA, O. V.; TÔRRES, R. C. O.; RIBEIRO, R. V. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado – teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004.

VISSONI, C. L. Z. **Resistência a antimicrobianos em cepas de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. isoladas de carcaças de frango**. 2003. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

WASHINGTON JR., C.W. **Diagnóstico Microbiológico**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Programs and projects in zoonosis and veterinary public health. Veterinary Public Health**, 2008. Disponível em: <www.who.int/zoonosis/vph/en>. Acesso em 4 set. 2011.

YÜCEL, N.; BALÇ, S. Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* species in fish used for human consumption in Turkey. **Journal of Food Protection**, v. 73, n.2, p. 380-384, 2010.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 718 p.

ZIMMERMANN, S.; HASPER, T.O.B. Piscicultura no Brasil: processo de intensificação da tilapicultura. In: Anais da 41ª Reunião Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 2004. Campo Grande, 2004. CD-ROM.