

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE DA ÁGUA E DO PESCADO (TILÁPIA DO
NILO - *Oreochromis niloticus*) ORIUNDOS DE PESQUE-
PAGUES SITUADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO**

**André Buzutti de Siqueira
Médico Veterinário**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**QUALIDADE DA ÁGUA E DO PESCADO (TILÁPIA DO
NILO - *Oreochromis niloticus*) ORIUNDOS DE PESQUE-
PAGUES SITUADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO**

André Buzutti de Siqueira

Orientador: Prof. Dr. Luiz Francisco Prata

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária área de Medicina Veterinária Preventiva.

Ficha catalográfica

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ANDRÉ BUZUTTI DE SIQUEIRA – nascido em 24 de abril de 1982, na Cidade de Várzea Grande – MT, filho de João Bosco de Siqueira e Maria Aparecida Buzutti de Siqueira. Ingressou em agosto de 2003 no Curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Mato Grosso, mesma instituição onde realizou o Mestrado em Ciência Animal. Em 2011 iniciou o Doutorado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias- Unesp, Jaboticabal.

*A nossa maior glória não reside no fato de nunca cairmos,
mas sim em levantarmo-nos sempre depois de cada queda.*

(Autor desconhecido)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João Bosco de Siqueira e Maria Aparecida Buzutti de Siqueira que nunca desistiram de mim e sempre acreditaram que na vida tudo dá certo, por mais que os caminhos não sejam fáceis, e me ensinaram a ser um homem desceute e honesto. Quero dedicar aos meus avós (Mildo Arnaldo Buzutti, Maria da Silva Buzutti e Lucinda Tolentina de Siqueira) que sempre nos trataram como filhos e estavam sempre do meu lado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e professor Dr. Luiz Francisco Prata que me deu esta oportunidade e que confiou em mim, além dos ensinamentos repassados.

Ao meu sempre mestre e amigo Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho, por sempre ter me oferecido oportunidades e ter aceitado fazer parte de mais esta etapa da minha vida.

A Profa. Dra. Adolorata Aparecida Bianco Carvalho pela importante contribuição na banca de qualificação e de defesa, e obrigado professora por sempre estar de portas abertas para todos os alunos, além de concordar e dar forças para ideias malucas que levávamos para a senhora.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral pelas ensinamentos e correções sempre pertinentes.

Ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Jorge pelas contribuições nas correções do nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe pelo bom humor e ensinamentos repassados.

Ao Prof. Dr. Samir Issa Samara pelos ensinamentos repassados.

A Profa. Dra. Maria da Gloria Buzinaro por sempre estar no laboratório da frente nos ajudando em todas as horas.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva que de alguma forma contribuíram na minha formação.

Aos proprietários dos pesque-pagues que nos deram a oportunidade de realizar esta pesquisa

A Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinária- Jaboticabal, por me acolher.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por ter me concedido a bolsa de doutorado.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por ter nos fornecido auxílio financeiro para a realização do projeto.

A técnica Cidinha que me ajudou muito durante o curso.

A todos os técnicos que me ajudaram (Assis, Andréa, Giba, Zé Tebaldi, Lila, Hermes), as secretárias (Mariza e Marcia), a Roseane pelas conversas.

Quero agradecer a Deus por ter me dado força e vontade para ter chegado até aqui.

Aos meus pais João Bosco e Maria Aparecida, pois são o meu alicerce na vida, e graças a eles estou aqui.

Aos meus queridos vô Mildo e vó Maria por estarem sempre ao meu lado. A minha vó paterna Lucinda pelos ensinamentos sobre a vida.

A minha querida e companheira esposa Heloisa Pinto de Godoy Siqueira que eu amo muito e que esta sempre ao meu lado, em todos os momentos.

Aos meus irmãos Dado e Dico os quais sabemos que sempre vamos ter uns aos outros.

As minhas cunhadas Rose e Adriana por sempre estarem presentes em todos os momentos

Aos meus sobrinhos (Heitor, Gabriela, Murilo, Miguel e Guilherme) simplesmente pelo fato de existirem e fazer dos nossos dias mais alegres.

Aos meus sogros Nicolau e Amélia por nos darem força e confiança.

As minhas amigas Renata, Glaucenyra, Raquel e Roberta pelo companheirismo nos momentos fáceis e difíceis.

Ao meu grande amigo Léo que sempre se importa com as coisas que comigo acontecem.

Ao casal de amigos Denise e André pelas risadas e parcerias.

A Alessandra que muito ajudou nesta pesquisa.

Muito obrigado a todos que me proporcionam este momento e me desculpem as pessoas que não citei mais todos fazem parte deste momento e desta vitória, pois sem vocês nada disso seria possível.

SUMÁRIO

RESUMO	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE TABELAS	VI
LISTA DE FIGURAS	IX
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 QUALIDADE DA ÁGUA.....	4
2.2 PESQUE-PAGUE	6
2.3 MICROBIOTA DO PEIXE E SUA IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA	10
2.3.1 Microbiota deteriorante de pescado	14
2.3.2 Bactérias do gênero <i>Pseudomonas</i> spp.....	15
2.3.3 Bactérias do gênero <i>Aeromonas</i> spp.	16
2.3.4 Coliformes	17
2.4 SAZONALIDADE.....	18
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 PESQUE-PAGUES	22
4.1.2 Coleta da água de cultivo	23
4.1.3 Coleta dos peixes	25
4.2 ANÁLISES DA ÁGUA DE CULTIVO.....	27
4.2.1 Análises físicas e químicas	27
4.2.2 Análises microbiológicas	27
4.3 ANÁLISES DOS PEIXES	28
4.3.2 Microbiologia do pescado.....	29
4.3.3 Avaliações Microbiológicas	30
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 QUALIDADE FÍSICO E QUÍMICA DA ÁGUA DE CULTIVO	32
5.2 MICROBIOLOGIA DA ÁGUA DE CULTIVO	36

5.3 PARÂMETROS QUALITATIVOS DO PESCADO	38
5.4 MICROBIOLOGIA DO PESCADO	42
7. REFERÊNCIAS.....	69

Comite

1

QUALIDADE DA ÁGUA E DO PESCADO (TILÁPIA DO NILO - *Oreochromis niloticus*) ORIUNDOS DE PESQUE-PAGUES SITUADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

RESUMO - Os pesque-pagues constituem atividade recente, difundida por todo o Brasil, sendo uma opção de lazer, entretenimento e prestação de serviços, carecendo de adequado enquadramento regulamentar e suas necessárias salvaguardas. Estabelecimentos mal estruturados, irregulares, com manejo inadequado, sem supervisão técnica e fiscalização podem ser responsáveis por impactos ambientais e danos à saúde pública. Neste trabalho propôs-se avaliar a influência da variação sazonal, representada pela época da seca e época das chuvas, sobre a qualidade da água e do pescado (tilápia do Nilo – *Oreochromis niloticus*) oriundos de cinco diferentes pesque-pagues localizados no Estado de São Paulo. Foram realizadas análises físicas e químicas (temperatura, oxigênio dissolvido e pH) e microbiológica da água de cultivo (coliformes termotolerantes), análise do tempo de instalação do pleno *rigor-mortis* nos exemplares de peixes e análises microbiológicas quantitativas (estimativas de microrganismos aeróbios mesófilos, de microrganismos aeróbios psicrotróficos e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp.) do limo superficial, das brânquias, da lavagem da cavidade abdominal, da musculatura com pele e dos filés de tilápias do Nilo. Verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos analisados para a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH da água de cultivo dos pesque-pagues. Para coliformes termotolerantes, 20% (4/20) dos tanques dos pesque-pagues foram considerados impróprios para produção de peixes no período das chuvas. Tanto para o limo superficial, quanto para as brânquias, observou-se reflexo dessa condição para, respectivamente, 10% (3/30) e 20% (6/30) com excesso de coliformes termotolerantes nos períodos da seca e das chuvas. Independente do período, após o abate por destruição cerebral verificou-se que o *rigor-mortis* atingiu sua plenitude cinco horas após a despesca. A maioria dos parâmetros avaliados, representados por estimativas microbiológicas do limo superficial, das brânquias, da lavagem da cavidade abdominal e da musculatura com pele, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos da seca e das chuvas. Para o gênero *Aeromonas* spp. houve diferença significativa ($P < 0,05$) somente no limo superficial. Para os filés observou-se, na quantificação dos mesófilos no tempo zero, a maior estimativa, tanto para o período das chuvas quanto para o da seca, ocorrendo redução com o passar das horas. Comportamento inverso ocorreu para os psicrotróficos e bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., em concordância com a temperatura de estocagem e de classificação preferencial desses microrganismos. Bactérias do gênero *Aeromonas* spp. somente foram detectadas nas amostras de filés no período das chuvas. Conclui-se que o período das chuvas interferiu de forma negativa na qualidade da água e do pescado de pesque-pagues, mas, independente do período, são necessárias medidas higiênico-sanitárias preventivas com o intuito de assegurar a inocuidade do produto final.

Palavras-chave: água de cultivo, análises, peixe, pesqueiro, microbiologia, Saúde Pública

CHANGES IN WATER QUALITY AND FISH (NILE TILAPIA - *Oreochromis niloticus*) ARISING OUT OF FISH AND PAY OF SÃO PAULO STATE

ABSTRACT - The fish and pay constitute recent activity, widespread throughout Brazil, one option for leisure, entertainment and services, lacking adequate regulatory framework and its necessary safeguards. Barely establishments installed, irregular, with inadequate management without technical supervision and inspection may account for environmental impacts and damage to public health. In this work proposed to evaluate the influence of seasonal variation, represented by the dry season and the rainy season on water quality and fish (*Nile tilapia* – *Oreochromis niloticus*) from five different fish and pay located in São Paulo. Physical and chemical analysis (temperature, dissolved oxygen and pH) were performed and microbiological cultivation of water (fecal coliform), analysis of the installation time of rigor mortis-full in specimens of fish and quantitative microbiological analysis (estimates of mesophilic aerobic microorganisms, of psychrotrophic aerobic microorganisms and bacteria of the genera *Pseudomonas* spp and *Aeromonas* spp.) of the surface slime, gills, of the abdominal cavity wash, skin and muscles with the Nile tilapia fillets. There was a significant difference ($p < 0.05$) between the periods analyzed for temperature, dissolved oxygen and pH of the cultivation of water from fish and pay. For fecal coliforms, 20% (4/20) of the tanks of fish and pay were considered unsuitable for fish production during the rainy season. Both the surface slime, as to the gills, there was a reflection of that condition for, respectively, 10% (3/30) and 20% (6/30) with excess fecal coliform in periods of drought and rain. Regardless of the period after slaughter by brain destruction was found that the *rigor-mortis* reached its fullness five hours after is harvesting. Most of these parameters, represented by microbiological estimates of surface slime, gills, wash the abdominal cavity and the muscles with skin, there was a significant difference ($p < 0.05$) between periods of drought and rain. To the genre *Aeromonas* spp. was no significant difference ($P < 0.05$) only in the surface slime. For steaks observed, the quantification of mesophilic at time zero, the highest estimate for both the rainy season and for the drought, leading to a reduction in the hours passed. Opposite behavior occurred for psychrotrophic and bacteria of the genus *Pseudomonas* spp., In accordance with the temperature storage and preferential classification of microorganisms. Bacteria of the genus *Aeromonas* spp. They were only found in samples of steaks during the rainy season. We conclude that the rainy season interfered negatively on water quality and fish and pay of fish, but independent of the period, are necessary preventive hygienic-sanitary measures in order to ensure the safety of the final product.

Keywords: water cultivation , analysis, fish , fishing , microbiology, public health

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Índice pluviométrico obtido pela estação agroclimatologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP de Jaboticabal-SP, para os anos de 2013 (período da seca) e 2014 (período das chuvas). 20
- Tabela 2.** Médias da temperatura (°C), oxigênio dissolvido e pH da água de cultivo de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos da seca (2013) e das chuvas (2014)..... 32
- Tabela 3.** Porcentagem de conformidade ou não conformidade dos resultados da prova de NMP (número mais provável) de coliformes termotolerantes da água de cultivo de amostras provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 37
- Tabela 4.** Evolução do índice de *rigor-mortis* e do pH de Tilápias do Nilo abatidas por destruição cerebral e armazenadas em gelo e sob refrigeração, provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 39
- Tabela 5.** Médias dos valores nas populações de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 42
- Tabela 6.** Porcentagem (%) dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 45

Tabela 7. Médias dos valores das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 47

Tabela 8. Porcentagem (%) dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 49

Tabela 9. Médias dos valores das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas, de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. Do líquido da lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 51

Tabela 10. Porcentagem (%) dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes da água de lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues (PP), do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 54

Tabela 11. Médias dos valores das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp., da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 54

Tabela 12. Porcentagem dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 57

Tabela 13. Médias dos valores das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas, de Psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. dos filés de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 59

Tabela 14. Médias das populações microbianas de diferentes amostras de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Índice pluviométrico obtido pela estação agroclimatologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP de Jaboticabal-SP, para os anos de 2013 (período seco) e 2014 (período chuvoso). 20
- Figura 2.** Localização geográfica dos municípios de origem dos pesque-pagues e procedência das amostras, do Estado de São Paulo. 23
- Figura 3.** Ilustração dos pesque-pagues do Estado de São Paulo, selecionados para a pesquisa. 24
- Figura 4.** Esquema do desenvolvimento da pesquisa por pesque-pague, para avaliação da variação sazonal na qualidade da água e do pescado (Tilápia do Nilo - *Oreochromis niloticus*) do Estado de São Paulo, nos anos de 2013 e 2014. (CF: Coliformes Termotolerantes; LCA: Lavagem de Cavidade Abdominal). 25
- Figura 5.** (A) Captura de tilápias do Nilo com rede de tarrafa; (B) Abate por destruição cerebral; (C) Pesagem dos peixes; (D) Acondicionamento dos peixes em gelo. 26
- Figura 6.** Ilustração da metodologia de Bito et al. (1983) para o cálculo do Índice de *rigor-mortis* (IRM). 29
- Figura 7.** Curvas da evolução do Índice de *rigor-mortis* (IRM) de tilápias do Nilo abatidas por destruição cerebral e armazenadas em gelo e sob refrigeração, provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos da seca (2013) e das chuvas (2014). 40

Figura 8. Distribuição das médias das estimativas para bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 43

Figura 9. Distribuição das médias das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 47

Figura 10. Distribuição das médias das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. da água da lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues (PP), do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 52

Figura 11. Distribuição das médias das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 55

Figura 12. Distribuição das populações microbianas de diferentes amostras de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014). 63

Figura 13. Populações microbianas de diferentes partes de tilápias do Nilo oriundas de pesque-pagues do Estado de São Paulo, no período da seca (2013) no período das chuvas (2014). 65

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, de modo geral, apresenta condições favoráveis para a produção de peixes em águas interiores graças às características hidrográficas e climáticas. Nas últimas décadas ocorreu um aumento considerável na quantidade de pequenos produtores que se dedicam a essa prática. Isso pode ser justificado pela facilidade da criação de peixes, possibilitando que esses empreendedores se transformem em importantes produtores e, pela oportunidade de renda extra, transformar pequenas propriedades em áreas de lazer, conhecidas como pesque-pagues.

Os estabelecimentos designados de pesque-pagues encontram-se distribuídos por todo o Estado de São Paulo, sendo reconhecidos como locais de lazer, diversão e fuga da zona urbana e da rotina diária. Pesqueiros oferecem, aos frequentadores, a oportunidade de contato com a natureza, além da prática da pesca, mas devem atender normas regulamentadoras e legislações para garantir qualidade de serviços.

Esses estabelecimentos têm, diariamente, frequentadores e consumidores de todas as idades e classes sociais, demandando produtos da própria pesca, o abate e a manipulação do pescado e, muitas vezes, a demanda de refeições produzidas e oferecidas no próprio local, tornando-os alvos e merecedores de atenção quanto às condições das instalações, às facilidades higiênicas e sanitárias, à qualidade em relação à água de cultivo e aos peixes ali produzidos.

Além da importância do segmento como entretenimento e oferta de produtos à população, com inevitável e difícil interface com inúmeros aspectos de importância em saúde pública, neste trabalho buscou-se, em diferentes estabelecimentos, realizar um diagnóstico da situação com a caracterização de parâmetros importantes da atividade. O intuito foi proporcionar conhecimentos e oferecer subsídios para que medidas de controle e preventivas possam ser adotadas, salvaguardando direitos, tanto dos consumidores quanto dos próprios pesproprietários e do meio ambiente.

A qualidade da água de cultivo é fundamental para o adequado desenvolvimento e equilíbrio sanitário dos peixes cultivados, potencialmente capaz de imprimir qualidade ao produto final, evitando danos para o pescado e, conseqüentemente, à saúde humana. Para a água de cultivo foram realizadas análises físicas, químicas e microbiológicas. Já, para os peixes, foram realizadas análises relacionadas com o rendimento, indicadores da fisiologia muscular pós abate e análises microbiológicas do limo superficial, das brânquias, da lavagem da cavidade abdominal, da musculatura com pele e dos filés.

A região Sudeste do Brasil exibe dois períodos pluviométricos bem definidos ao longo de um ano, referidos como período das chuvas e período da seca. Na literatura consultada foram encontrados poucos dados que pudessem subsidiar possíveis interferências desses fatores sobre a atividade – seja na água de cultivo e seus parâmetros, ou mesmo reflexos na qualidade do pescado. Assim, este trabalho teve também o objetivo de avaliar a variação sazonal da qualidade da água de cultivo e do pescado (tilápia do Nilo- *Oreochromis niloticus*) oriundos de pesque-pagues situados no Estado de São Paulo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Pescado é todo animal que vive em água doce ou salgada e é utilizado para a alimentação humana, compreendendo os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos (BRASIL, 1952). Segundo a Portaria nº 185 (BRASIL 1997), peixes são animais aquáticos pecilotérmicos, e peixe fresco é definido como aquele que não sofreu qualquer processo de conservação, exceto pelo resfriamento a uma temperatura próxima à do ponto de fusão do gelo, mantendo temporariamente suas características essenciais inalteradas.

O peixe fresco deve apresentar as seguintes características sensoriais: escamas brilhantes aderidas à pele, nadadeiras apresentando resistência aos movimentos provocados, carne firme com consistência elástica, vísceras integras, musculatura da parede abdominal livres de sinais de autólise, superfície do corpo limpo com brilho metálico, olhos transparentes, brilhantes e salientes ocupando completamente as órbitas, brânquias avermelhadas, úmidas e brilhantes e ventre roliço, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos (BRASIL, 1997).

A microbiota do pescado é reflexo direto das condições físicas, químicas e ecológicas da água onde o animal vive. A microbiota normal é geralmente encontrada em três regiões: no limo superficial, nas brânquias e nos intestinos. A musculatura de um peixe vivo saudável deve ser estéril, sendo que contaminação deste tecido é indício de manipulação inadequada. Os baixos índices de contaminantes encontrados nas brânquias, pele e limo superficial são comumente associados às águas limpas e frias, e os índices mais elevados às águas tropicais, subtropicais e áreas poluídas (WARD, 1994; JAY, 2000; CARDOSO; ANDRÉ, SERAFINI, 2003; MORITA 2005).

Os peixes destacam-se nutricionalmente de outros alimentos de origem animal por possuir grandes quantidades de vitaminas lipossolúveis A e D, minerais como cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio e, no caso dos peixes de água salgada, iodo (OGAWA; MAIA, 1999). A composição lipídica dos peixes contrasta com a de mamíferos por conter elevada proporção de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa com cinco ou seis duplas ligações, os quais

não são sintetizados pelo organismo humano. O ômega 6 (ω -6) é promotor e inibidor da agregação plaquetária e o ômega 3 (ω -3) tem função no desenvolvimento e funcionamento dos sistemas nervoso e reprodutivo – apontados como redutores de risco de doenças coronarianas, hipertensão moderada, incidência de diabetes, prevenção de certas arritmias cardíacas e morte súbita (ÇELIK; DILER; KÜÇÜKGÜLMEZ, 2005; VILA NOVA; GODOY; ALDRIGUE, 2005).

2.1 Qualidade da água

A manutenção da qualidade da água em viveiros de piscicultura é requisito básico para o sucesso econômico do sistema produtivo. Condições inadequadas de qualidade da água resultam em prejuízos ao crescimento, à saúde, à sobrevivência e à qualidade dos peixes (SIPAÚBA-TAVARES, 1994; BOYD; TUCKER, 1998; ELER et al., 2001; KUBITZA, 2003; ARANA, 2004).

A análise de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos da água constitui importante ferramenta para monitorar a qualidade hídrica do sistema de produção (MATSUZAKI; MUCCI; ROCHA, 2004). Dentre os parâmetros mais estudados destacam-se: temperatura, oxigênio dissolvido e pH.

A temperatura é uma importante variável para a vida aquática e ao metabolismo do sistema, interferindo diretamente na solubilidade dos gases (BRANCO, 1986), e no crescimento e desenvolvimento animal e vegetal, devido à influência sobre as reações químicas (ANGELOCCI; VILLA NOVA, 1995). Essa variável está intimamente relacionada às condições climáticas locais e com a quantidade de radiação solar incidente (SIPAÚBA-TAVARES; ALVARES; BRAGA, 2008).

A temperatura da água influencia diretamente o rendimento dos sistemas de produção de organismos aquáticos, portanto, é fundamental obter informações precisas sobre o clima local e a hidrodinâmica dos reservatórios. A temperatura da água nos tanques pode sofrer variações em função da ocorrência de dias nublados, nos quais a redução da atividade fotossintética poderá diminuir a concentração de oxigênio dissolvido (HOLANDA; RIBEIRO; LIMA, 2000). A faixa de temperatura indicada para as espécies tropicais situa-

se entre 20°C e 32°C, porém a faixa ideal de conforto térmico para crescimento e reprodução está entre 25 °C e 28 °C (CYRINO et al., 2000).

Elemento vital para sobrevivência de diversas formas de vida, o oxigênio pode ser fator limitante na produtividade dos sistemas de cultivo de peixes. Altos níveis de oxigênio dissolvido são favoráveis à piscicultura, sendo que concentrações abaixo de 4,0 mg/L geralmente causam estresse aos peixes, reduzindo o consumo de alimento e a resistência às doenças (MASSER; CICHRA; GILBERT, 1993).

A concentração de oxigênio dissolvido na água varia em função da temperatura, da altitude e da aeração da água. A elevação da temperatura diminui a solubilidade do oxigênio na água, e a presença de cachoeiras ou ainda de fortes chuvas, pela turbulência provocada por esses fenômenos, favorece a oxigenação (BRANCO, 1986; ZUCCARI, 1992).

A influência do pH sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies. O efeito indireto também é importante, pois em determinadas condições de pH alguns elementos químicos podem precipitar-se, como no caso de alguns metais pesados. Em outras situações pode ocorrer solubilização de alguns nutrientes prejudicando os peixes (BRASIL, 2005a).

Para a produção de peixes, os valores mais adequados de pH estão na faixa de 6,5 a 8,0. Dessa forma, as restrições de faixas de pH são estabelecidas para as diversas classes de águas naturais, tanto de acordo com a legislação federal (Resolução n° 357 do CONAMA, de março de 2005), como pela legislação do Estado de São Paulo (Decreto n° 8.468), que permitem moderados afastamentos do pH 7,0, tomado como referência.

A qualidade microbiológica da água dos viveiros pode influenciar na microbiota do peixe e de seus produtos (PAL; DASGUPTA, 1992). Os coliformes apontam a possibilidade da presença de poluição fecal, ou seja, ocasionada por organismos que ocorrem em grande número na microbiota intestinal humana ou de animais homeotérmicos (PÁDUA, 2003). Os coliformes não são habitantes normais da microbiota intestinal dos peixes. No entanto, estes têm sido isolados do trato gastrointestinal desses animais. Esse fato indica que a microbiota bacteriana do peixe pode revelar as condições

microbiológicas da água onde o peixe se encontra (AL-HARBI, 2003; GUZMÁN et al., 2004).

2.2 Pesque-pague

A pesca pode ser definida como o ato de extração de organismos aquáticos provenientes de águas continentais ou de águas marinhas. A atividade pesqueira pode ser classificada em categorias de acordo com suas características. A pesca que é praticada como hobby ou esporte, que não visa à sobrevivência do pescador nem apresenta finalidade econômica para este, é enquadrada na categoria de pesca não comercial e amadora, que é praticada com o objetivo de lazer (BRASIL, 2010b).

Uma gama de oportunidades resulta da potencialidade da pesca amadora, sendo necessária a intervenção governamental adequando a oferta de produtos e efetivando medidas que busque proteção ambiental, com o apoio de pesquisas com relação ao estoque dos peixes mais procurados para a compra, e com a necessidade de ampliar e melhorar a qualidade das estruturas necessárias para facilitar a prática da pesca amadora no território nacional. Além disso, considera-se fundamental a qualificação profissional e o estudo constante do perfil da demanda do turismo de pesca nacional e internacional (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994).

Na pesquisa realizada pelo Ministério do Turismo em 2010 identificou-se que estabelecimentos definidos com pesque-pagues ocupam a segunda colocação, equivalendo a 34,65% dos ambientes onde a pesca é realizada, perdendo apenas para a pesca em rios e lagos, que corresponde a 86,64% (BRASIL, 2010b).

Segundo Pezzato e Scorvo Filho (2000), os pesque-pagues podem ser definidos como instalações de lazer onde as pessoas exercitam modalidades de pesca passivas e seletivas, geralmente empregando molinetes, carretilhas ou apenas caniços com linha e anzol. Existem diversas modalidades de sistemas de cobrança, mas o modelo de pesca esportiva, também conhecido como “pesque e solte” tem crescido muito entre os estabelecimentos e pode

ser definido como aquele em que o cliente-pescador paga uma taxa de ingresso e pode optar entre devolver ao lago o peixe capturado ou comprá-lo.

Os estabelecimentos designados de pesque-pagues legalmente precisam de registro no IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). O interesse por este tipo de empreendimento ocorre constantemente, tanto que, de acordo com o IBAMA, ocorre diariamente cerca de 15 consultas à procura de instruções á respeito da sua implantação (REPORTAGEM LOCAL, 1997).

Para obter a legalidade do pesqueiro o proprietário deve preencher um formulário anexando a planta do projeto e a relação dos fornecedores de peixe e disponibilizá-los ao IBAMA. No Estado de São Paulo, o DAEE (Departamento de Águas e Energia Elétrica) que autoriza o uso de água para o pesqueiro e o DEPRN (Departamento Estadual de Proteção aos Recursos Naturais), são os outros dois órgãos que completam a documentação legal para o funcionamento (REPORTAGEM LOCAL, 1997).

Venturieri (2002) cadastrou 1.000 estabelecimentos de pesca esportiva e destacou haver a possibilidade desse número chegar a 1.500 empreendimentos em funcionamento no Estado de São Paulo. Nesse mesmo trabalho estimou-se que esses estabelecimentos geravam em torno de 5.600 empregos diretos e até 10.000 indiretos, com uma venda anual de aproximadamente de 22.000 kg de pescado, ao preço médio de R\$ 6,00/Kg.

O setor de pesque-pagues é reconhecido como a “mola propulsora” da piscicultura, constituindo-se no principal canal de comercialização de peixes cultivados da Região Sudeste (BORGHETTI; OSTRENSKY, 2000). Esses estabelecimentos absorvem de 70% (FIRETTI; SALES, 2002) a 90% da produção de peixes (VENTURIERI, 2002). Além disso, representam um nicho de escoamento da produção que oferece preços atraentes aos piscicultores (BORGHETTI; OSTRENSKY, 2000).

Estima-se que a pesca seja um dos esportes não olímpicos que mais tem praticantes no Brasil. De acordo com as estimativas de Colavitti (2007), cerca de 60.000 pessoas se dedicam à pesca amadora, e parte dessas opta pelos estabelecimentos conhecidos como pesque-pagues para essa prática. O pesque-pague ou complexo pesqueiro se define como um local adequado à

prática da modalidade de pesca como um esporte ou hobby, sem que dela dependa a subsistência do pescador. Também se pode denominar de pesca de lazer ou pesca amadora. É normalmente realizada em lagos, artificiais ou naturais, mantidos por empreendedores particulares que, em geral, adquirem o peixe já criado, o aloja e o alimenta para terminação, e o disponibiliza para essa modalidade de pesca, enquanto o pescador, com livre acesso ao estabelecimento comercial, despende horas na atividade e paga pela quantidade pescada.

De acordo com o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, no ano de 2010 a produção aquícola nacional era de 479.399 toneladas (t), representando um incremento de 15,3% em relação à produção do ano de 2009. Comparando-se essa produção com o montante produzido no ano de 2008 (365.366 t), fica mais evidente o crescimento do setor no país, com um incremento de 31,2% na produção durante o triênio dos anos 2008 a 2010. Seguindo o padrão observado nos anos anteriores, a maior parcela da produção aquícola era oriunda da aquicultura continental, na qual se destaca a piscicultura continental que representou 82,3% da produção total (BRASIL, 2010a).

Em 2010 o Brasil ocupava o 18º lugar no ranking geral dos maiores produtores de pescado do mundo, sendo que a produção nacional, para aquele ano, foi de 1.264.765 t, registrando-se um incremento de 2% em relação a 2009, quando foram produzidas 1.240.813 t de pescado (BRASIL, 2010a). Ainda de acordo com a mesma fonte, relatou-se que o consumo per capita aparente de pescado no país, no ano de 2010, foi de 9,75 Kg/hab./ano, com crescimento de 8% em relação ao ano anterior.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe africano da Família *Cichlidae*. Sua alimentação baseia-se em plânctons (fitoplâncton e zooplâncton), mas aceita bem ração artificial. Foi introduzida no Brasil em 1971, juntamente com a tilápia de Zanzibar (*Sarotherodon hornorum*). A tilápia do Nilo apresentou melhores resultados quando cultivadas em tanques, por isso sua produção tem aumentando largamente (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994; ZIMMERMANN, 1999).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) do Brasil, em 2010 foram produzidas 132.957,8 toneladas de tilápias. Isso representa 39% do total proveniente da piscicultura continental; valor expressivo, já que o país dispõe de uma grande diversidade de espécies nativas com potencial para a piscicultura.

Por ser uma espécie que tolera variações amplas de temperatura da água, de oxigênio dissolvido e mesmo de qualidade de água, a tilápia está presente em todos os microclimas existentes no Estado de São Paulo, desde as regiões mais frias do Vale do Paraíba até as mais quentes do noroeste paulista; esse último responde por aproximadamente 65% da tilápia produzida no Estado (SUSSEL, 2011).

Cerca de 70% de toda a tilápia produzida no Estado de São Paulo é processada em estabelecimentos frigoríficos de pescado e comercializada na forma de filés congelados em redes de supermercados. O restante, cerca de 30%, é comercializado como peixe inteiro no Ceagesp, na capital do Estado, ou como peixe vivo nos pesque-pagues (turismo rural). Os preços praticados no mês de fevereiro de 2011 estavam por volta de R\$ 7,00/kg para tilápias com peso médio de 700 gramas, com um custo de produção girando em torno de R\$ 2,40/kg (SUSSEL, 2011).

De acordo com trabalho realizado por Pires et al. (2011), através da relação das características morfométricas e de peso para a avaliação de rendimento, chegou-se a uma média de peso de 833,82g por peixe, com média de peso do filé de 266,64g, resultando num rendimento de filé 31,98%. Todavia, a produção de tilápias torna-se rentável por características como rusticidade, fácil manejo, bom índice de rendimento e possuir carne de boa qualidade. Mundialmente é também um dos peixes mais cultivados, cuja produção já ultrapassou dois (2) milhões de toneladas, sendo que somente a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi responsável pela oferta de 1,7 milhão de toneladas em 2005.

2.3 Microbiota do peixe e sua importância em saúde pública

A par de sua composição e características como alimento, os produtos oriundos de pescadores podem disseminar agentes patogênicos para o ser humano, razão pela qual a segurança quanto à sua inocuidade, como em qualquer outra cadeia produtiva de alimentos, tem merecido empenho e atenção global, buscando-se, por meio de ferramentas adequadas de gestão, conhecer os potenciais perigos de modo a atuar preventivamente no seu controle, mitigando eventuais riscos (BRASIL, 2008).

O Manual de Boas Práticas de Processamento do Pescado (BRASIL, 2011), cita que a manipulação do pescado fresco, durante o período compreendido entre a captura e o processamento, é extremamente importante para a qualidade do produto final, bem como as más condições de armazenamento e transporte contribuem para a perda dessa qualidade e para a deterioração do pescado.

Logo após a retirada do pescado da água, ocorrem diversos fenômenos naturais que levam à sua deterioração. Essas alterações ocorrem independentemente da forma como o pescado é manuseado, mas a velocidade com que elas se instalam e evoluem, podem ser reduzidas se forem adotadas práticas adequadas de manipulação (GALVÃO, 2010)

O pescado capturado sofre uma série de transformações bioquímicas, associadas com a degradação de vários compostos presentes na carne, e consequente ocorrência do *rigor- mortis*. Nessa etapa prevalecem as condições de anaerobiose, com formação de ácido láctico, causando abaixamento do pH do músculo entre 6,0 a 6,5. Tal redução influencia a velocidade das reações enzimáticas e a própria deterioração microbiana (BERKEL; BOOGAARD; HEIJNEN, 2005).

A vida de prateleira de um alimento é o período que se estende até sua microbiota alcançar cerca de 7,0 Log UFC/g, quando então o produto já não oferece condições higiênico-sanitárias adequadas ao consumo humano (ICMFS, 1986). A extensão do prazo de validade comercial é dependente de variação no processo de produção e obtenção, condições da manipulação, estocagem e também da contaminação bacteriana inicial. A lavagem da

superfície do pescado com água clorada é fator que pode auxiliar na redução da carga microbiana originalmente presente, diminuindo a viscosidade, fragmentos de vísceras e outras sujidades que contribuem para o aumento da carga microbiana superficial e aceleram a deterioração do pescado (BRASIL, 2007).

O alto teor de umidade desses animais (em torno de 53% a 80%) apresenta variações relacionadas às espécies e à época do ano, sendo um fator que favorece a degradação das proteínas e a deterioração do peixe. Assim, os procedimentos de higienização são importantes na manipulação de alimentos para assegurar a qualidade dos mesmos, satisfazendo e protegendo os consumidores contra riscos à saúde. Por outro lado, a deterioração pode ser definida como a perda de qualidade dos alimentos por diversos fatores, tornando-os com características desagradáveis ao consumidor - como mau aspecto, sabor e odor, e mesmo impróprios ou impeditivos para o consumo – como na veiculação de enfermidades alimentares. No caso do pescado, a deterioração compreende todas as alterações que ocorrem desde a captura até a putrefação (GONÇALVES, 2011).

O processo de deterioração ocorre por mudanças nas propriedades físicas e químicas dos músculos durante o armazenamento refrigerado, por degradação de ATP, produção de compostos voláteis e outras substâncias. Todos os alimentos sofrem, ao longo do tempo, alterações físicas e químicas que alteram as suas características e que acabam por provocar a sua deterioração. Dentre os fatores que contribuem para a deterioração, tornando-os impróprios para consumo, pode-se destacar a multiplicação dos microrganismos presentes, a atividade desses microrganismos e suas consequências, a ação de enzimas teciduais do próprio alimento, as reações químicas espontâneas que não são catalisadas por enzimas e, ainda, alterações físicas decorrentes da manipulação, exposição, temperatura, pressão e umidade (GONÇALVES, 2011).

A qualidade do pescado fresco é a principal preocupação para os consumidores. No Brasil, as características do pescado fresco considerado próprio para consumo são determinadas pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1997)

e pela Portaria nº 185 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1997). A avaliação sensorial, no ato da compra e/ou do consumo, é um dos parâmetros mais utilizados pelos consumidores de pescado para estimação da qualidade, sendo utilizada para medir, analisar, e interpretar as reações e as características de alimentos e outros produtos de consumo, da forma como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto e tato.

A avaliação do estado de frescor do pescado pode ser realizada por métodos sensoriais, físicos e químicos. O pH é considerado como um índice seguro de medida do estado de frescor ou do início da deterioração. Outra maneira de se avaliar o nível de frescor do pescado é por meio da avaliação do *rigor-mortis*, que se caracteriza pela perda da plasticidade e extensibilidade dos músculos, como resultado da alteração dos ciclos de contração e relaxamento muscular (CONTRERAS, 1994).

Quando o peixe morre ele sofre uma série de transformações que culminam no *rigor-mortis*. O tempo que durará a etapa anterior ao *rigor-mortis* vai depender de como o pescado foi capturado. O processo completo do *rigor mortis* passa por três fases: o período de pré-rigor, que ocorre antes do estabelecimento do *rigor-mortis* propriamente dito, é o período em que se inicia o enrijecimento muscular; o rigor pleno, período em que o *rigor-mortis* está realmente estabelecido; e o pós-rigor, que é quando ocorre a resolução do *rigor-mortis*, caracterizado pela perda da rigidez muscular (VIÉGAS; SOUZA, 2004).

São vários os fatores que influenciam a duração do *rigor-mortis*, assim como o tempo necessário para seu início e fim. Estes fatores vão desde o tamanho do peixe, nível de gordura no corpo ou mesmo a espécie. O método utilizado para sacrificar o peixe pode acelerar ou atrasar o início do rigor (VIÉGAS; SOUZA, 2004). Quanto mais o peixe sofreu e se debateu durante a captura ou antes de sua morte, maior foi a depleção da reserva de glicogênio. A princípio, quanto mais usa o glicogênio, mais o pH se abaixa, constituindo-se em proteção para o peixe, pois em um pH baixo há o impedimento da multiplicação bacteriana. Entretanto, após a morte, a escassez de energia impede o abaixamento do pH e reduz a duração da fase de rigor.

No pescado, ocorre rápida instalação do *rigor-mortis*, que se caracteriza pela redução do pH da carne, resultante de reações bioquímicas que utilizam o glicogênio muscular como energia e produzem ácido láctico. Por esse motivo, a partir do término da fase de *rigor-mortis*, que é curta, as alterações microbiológicas se iniciam, sendo determinante para uma vida de prateleira menor que em qualquer outra espécie animal (VELLOSO, 2004). O RIISPOA (BRASIL, 1952) estabelece que o pH da carne externa de peixes frescos deve ser inferior a 6,8 e, para a carne interna, inferior a 6,5.

Após a morte do peixe deixam de operar os mecanismos de defesa do pescado contra a invasão microbiana. Em consequência ocorre de imediato a penetração dos microrganismos nos músculos através dos tecidos vasculares das brânquias, ao longo da veia caudal, através dos poros da pele, na região lateral e finalmente pela via intestinal (VIÉGAS; SOUZA, 2004).

Enzimas proteolíticas presentes no músculo do pescado e as de origem bacteriana têm um papel importante na deterioração dos pescados tropicais do que nas espécies de água fria. Peixes tropicais podem deteriorar-se rapidamente em temperaturas ambientes (VIÉGAS; SOUZA, 2004).

A autólise é o processo de quebra das proteínas devido à ação das enzimas proteolíticas, uma vez que os tecidos são constituídos basicamente de compostos proteicos. A hidrólise das proteínas permite a criação de um ambiente favorável para a multiplicação bacteriana, possibilitando a deterioração. Em temperaturas próximas de 0°C, a autólise tem sua velocidade sensivelmente diminuída. Traumas mecânicos originados na captura, no manuseio e estocagem do pescado contribuem para que as enzimas contidas nas vísceras tenham acesso ao músculo, degradando-o (BEIRÃO; TEIXEIRA; MEINERT, 2000).

A oxidação lipídica é uma das mais importantes causas da deterioração de alimentos, podendo resultar no ranço, na produção de compostos responsáveis por “*off flavors*” e “*off odors*”, conduzir à perda de cor, sabor, modificação da textura e formação de compostos tóxicos. Esse tipo de reação não só diminui o tempo de vida e o valor nutritivo dos alimentos, como podem gerar compostos nocivos à saúde do consumidor (SHIMOKOMAKI; OLIVO, 2006).

2.3.1 Microbiota deteriorante de pescado

A decomposição do pescado, após o *rigor-mortis* e autólise, é causada por ação enzimática de origem bacteriana e, para que ocorra a multiplicação e desenvolvimento microbiano, é necessário que no meio se encontrem elementos nutritivos e condições favoráveis aos microrganismos como: oxigênio, umidade e temperatura. Dentre as principais bactérias que contribuem para deterioração do pescado estão: *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. e *Micrococcus* spp. Além dessas, podem ser encontrados os coliformes, geralmente associados à origem e manipulação do pescado (OETTERER, 2002).

Os mesófilos são microrganismos que podem se multiplicar em temperaturas entre 20°C e 45°C e o seu aumento populacional está relacionado principalmente às falhas de higiene e de refrigeração. A presença desses microrganismos em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e sanitização de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (JAY, 2005). Assim, podem ser utilizadas como indicadores de qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, visto que possibilita a avaliação do tempo de vida útil, assim como do processo de deterioração e consequentemente da forma de conservação do produto. Franco e Langraf (2008) afirmaram que, mesmo que não haja patógenos, um número elevado de microrganismos mesófilos pode resultar num alimento impróprio para consumo, e que houve condições para que patógenos pudessem se multiplicar, já que a maioria dessas bactérias são mesofílicas.

De acordo com a legislação brasileira para pescados, não existem limites de aceitação para contagem de microrganismos mesófilos, no entanto a ICMFS (1986) estabelece como limítrofe 7 Log UFC/g para contagem de bactérias aeróbias mesófilas. O Código Sanitário de São Paulo (SÃO PAULO, 1992) estabelece $3,0 \times 10^6$ UFC/g como valor máximo para a contagem microbiana total em placa para pescado.

Microrganismos psicotróficos são definidos como aqueles que se multiplicam a $7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e formam colônias visíveis entre de 7 e 10 dias, independentemente da sua temperatura ótima de multiplicação. As bactérias psicotróficas são deteriorantes devido, principalmente, à produção de exoenzimas - proteases, lipases e fosfolipases, que hidrolisam proteína e gordura dos produtos cárneos (ARCURI et al., 2008).

Esse grupo está diretamente ligado aos alimentos que são armazenados em baixas temperaturas e tem relação direta com a manipulação, qualidade no armazenamento e controle da temperatura. São particularmente importantes para o pescado em função das condições seletivas do próprio habitat. Nesse grupo podem ser incluídos os seguintes gêneros: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Listeria* e outros (COUSIN et al., 2001).

2.3.2 Bactérias do gênero *Pseudomonas* spp.

Pseudomonas são bacilos Gram negativos, aeróbicos, móveis, catalase positivos, amplamente distribuídos na natureza e particularmente abundantes no solo e água, sendo algumas vezes capazes de colonizar e causar doença em plantas e animais. Classificados como patógenos oportunistas devido às mínimas necessidades nutricionais, podem também apresentar capacidade de resistência a uma ampla variedade de condições físicas, como por exemplo, capacidade de adaptação e multiplicação sob refrigeração (PIRNAY et al., 2005).

Pseudomonas possuem intensa atividade metabólica, degradando proteínas, gorduras, carboidratos e outros substratos, além de produzir pigmentos, causando alterações nas características químicas e sensoriais, representando o grupo de microrganismos mais frequente em alimentos frescos, tanto de origem animal quanto vegetal. Sua presença em níveis elevados, no final do processamento, resulta na redução da vida de prateleira dos produtos refrigerados, devido à produção do muco superficial, além de odores e sabores desagradáveis, sendo, portanto, seu estudo de grande importância para a indústria de alimentos (GUAHYBA, 2003).

Algumas espécies podem ser patogênicas ao ser humano, principalmente para os imunocomprometidos, podendo-se considerá-la como problema na saúde pública (GUAHYBA, 2003).

2.3.3 Bactérias do gênero *Aeromonas* spp.

Os peixes podem ser transmissores de vários microrganismos, entre eles *Aeromonas* spp., as quais podem ser encontradas no solo, água doce e salgada, água clorada e fezes de animais (SOUZA, 2003).

As bactérias do gênero *Aeromonas* spp. pertencem à família *Aeromonadaceae*, composta por bacilos Gram negativos, imóveis e móveis por meio de flagelo polar, fermentadores, anaeróbios facultativos que apresentam reação de oxidase positiva (COLWELL; MACDONELL; DELEY, 1986; POPOFF; GENUS, 1984). São de ampla distribuição no meio aquático, devido principalmente à sua extrema adaptabilidade (MATTÉ, 1995). De acordo com Pasquale, et al. (1994), esses microrganismos são contaminantes comuns de anfíbios, répteis, aves, peixes e mamíferos. Já foi comprovada a patogenicidade de algumas espécies para o ser humano e animais, podendo tornar-se um problema em saúde pública (SEN; RODGERS, 2004).

Por estar amplamente difundida na água, essa exerce papel de importância como meio de transmissão dos alimentos de origem animal. *Aeromonas* spp. possuem vários fatores de virulência que justificam sua ameaça como patógeno humano, e são causadoras de diarreia, de infecções extraintestinais e, em imunocomprometidos, de septicemia, meningite e óbito (SEN; RODGERS, 2004)..

A maioria dos trabalhos sugere a existência de 14 diferentes espécies já confirmadas: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. media*, *A. bestiarum*, *A. popofii*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. allosaccharophila*, *A. schubertii*, *A. encheleia*, *A. trota* e *A. salmonicida* (KOZINSKA et al., 2002).

2.3.4 Coliformes

Enterobacteriaceae é uma família heterogênea de bactérias Gram-negativas, sendo o grupo dos coliformes seu principal representante, o qual pode fazer parte da microbiota intestinal normal de humanos e animais, mas também do solo, água e vegetação, além de outros associados em vários processos patogênicos. Podem ser móveis com flagelos peritricos ou imóveis; têm distribuição ubiquitária; não formam esporos; são aeróbios ou anaeróbios facultativos; fermentam a glicose; alguns fermentam a lactose; reduzem os nitratos a nitritos; são oxidase negativa e catalase positivos (OKURA; SIQUEIRA, 2005). Esse grupo de bactérias engloba muitos gêneros de origem não fecal e, desse modo, a contagem de coliformes é usada mais regularmente como indicador da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos do que como indicador de poluição fecal (FRESCO, 2004).

A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento. Segundo Franco; Landgraf; Destro (2005), os microrganismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Dentro do grupo dos coliformes totais encontram-se os coliformes termotolerantes.

Coliformes totais incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35° C. Apresentam cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente (SILVA, 1997).

Coliformes termotolerantes são bactérias Gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase-negativos, caracterizados pela atividade da enzima β -galactosidase. Podem se multiplicar em meios contendo agentes tensoativos e

fermentar a lactose nas temperaturas de 44°C a 45°C, com produção de ácido, gás e aldeído (SILVA, 1997).

Entre as bactérias desse grupo, pode-se citar a *Escherichia coli* e algumas bactérias do gênero *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter*. A *E. coli* é a única que vive no intestino humano. Vale destacar que *E. coli* não causa problemas à saúde quando está no intestino, pois é uma bactéria normal nesse local. Entretanto, algumas variantes podem desencadear distúrbios gastrointestinais caracterizados por diarreia aquosa ou mais grave (NATARO; KAPER, 1998).

São importantes causas de infecções e intoxicações alimentares os contaminantes de origem exógenas onde estão contidos os microrganismos como *Escherichia coli*. Portanto, a grande preocupação é impedir que esses microrganismos sejam adicionados à matéria-prima e se multipliquem (GERMANO; GERMANO, 2003).

Nas normas sobre alimentos, no âmbito federal não existem padrões para coliformes totais e termotolerantes para o pescado. A Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), apresenta padrão para coliformes termotolerantes (máximo aceitável de NMP.100 g⁻¹). O Código Sanitário do Estado de São Paulo- Decreto 12.342, de 27 de setembro de 1978, na sua legislação complementar- Decreto 12.486, de 20 de outubro de 1978- também determina como padrão máximo para coliformes termotolerantes 10² NMP.100 g⁻¹, para o produto pescado.

2.4 Sazonalidade

Por ser um país de grande extensão territorial, no Brasil o regime de precipitação e temperatura é diferenciado, com climas distintos em cada região. A Região Sudeste sofre influência tanto de sistemas tropicais como de latitudes médias, com estação seca bem definida no inverno e estação chuvosa no verão com chuvas convectivas. O Sudeste devido às suas localizações latitudinais caracteriza-se por ser região de transição entre os climas quentes de latitudes baixas e os climas mesotérmicos de tipo temperado das latitudes médias (NIMER, 1979). Linhas de instabilidade pré-frontais, geradas a partir da

associação de fatores dinâmicos de grande escala e características de meso-escala são responsáveis por intensa precipitação (CAVALCANTI; FERREIRA; KOUSKY, 1982).

Assim, existe a sazonalidade na região sudeste com o período das chuvas e período da seca, sendo a estação das chuvas definida como o período anual recorrente de um ou mais meses em que a precipitação apresenta um máximo para uma região, o qual é o oposto da seca, ou seja, neste último período a precipitação apresenta valores mínimos durante um ou mais meses consecutivos (QUADRO; ABREU, 1994).

Barbieri, Rao e Franchito (2003) verificaram que a Região Sudeste apresenta claramente uma estação seca e outra chuvosa e observaram que essas estações têm seus inícios a partir de março e outubro, respectivamente, com um pequeno desvio em relação ao início entre um ano e outro.

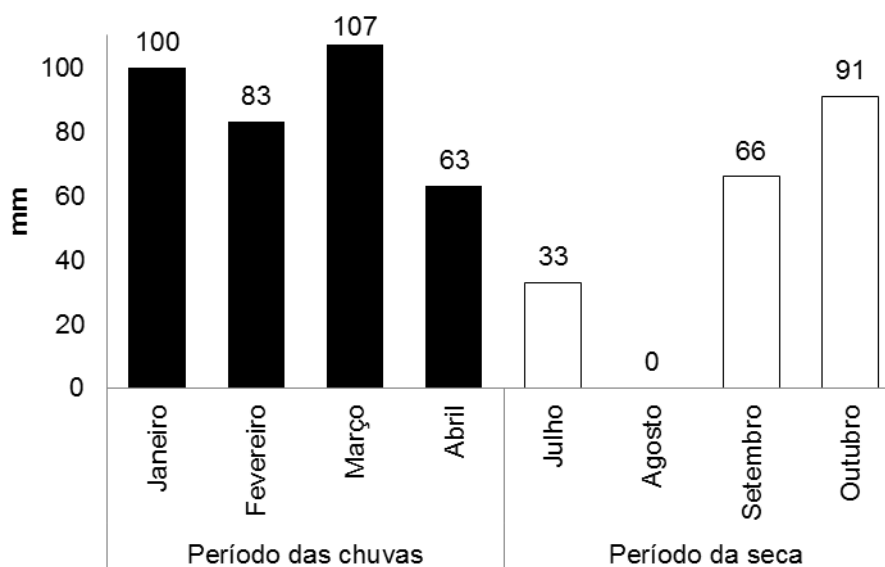
Os fatores climatológicos afetam a produtividade primária dos ecossistemas aquáticos, fundamental para a manutenção de qualquer cadeia alimentar. Dentre os diversos fatores climáticos, a radiação solar tem maior importância em superfícies líquidas, sendo responsável pela distribuição de calor na massa de água e participando também nos processos de evaporação. A precipitação total também tem forte influência sobre a dinâmica destes ambientes, pois ocasiona um aporte de nutrientes e material particulado, alterando as características da água (MERCANTE et al., 2005).

Assim, na Tabela 1 e na Figura 1 estão apresentadas as médias dos índices pluviométricos obtidos pela estação agroclimatológica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP de Jaboticabal, para os anos de 2013 e 2014, referentes ao período da seca e de chuvas, respectivamente. Esses dados deram origem à Figura 1, a seguir, a qual possibilita sua visualização comparada.

Tabela 1. Índice pluviométrico obtido pela estação agroclimatologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP de Jaboticabal-SP, para os anos de 2013 (período da seca) e 2014 (período das chuvas).

	Mês	Pluviosidade média mensal
2013 Seca	Julho	33,0
	Agosto	0
	Setembro	66,0
	Outubro	91,0
	Média	47,5
2014 Chuva	Janeiro	100,0
	Fevereiro	83,0
	Março	107,0
	Abril	63,0
	Média	88,3

Fonte: <http://www.fcav.unesp.br/#!/estacao-agroclimatologica/equipe/>



Fonte: <http://www.fcav.unesp.br/#!/estacao-agroclimatologica/equipe/>

Figura 1. Índice pluviométrico obtido pela estação agroclimatologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da UNESP de Jaboticabal-SP, para os anos de 2013 (período seco) e 2014 (período chuvoso).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a interferência da variação sazonal na qualidade da água e do pescado (Tilápia do Nilo- *Oreochromis niloticus*) oriundos de pesque-pagues do Estado de São Paulo.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade da água e do pescado no período da seca, por meio de análises microbiológicas e físicas e químicas;
- Avaliar a qualidade da água e do pescado no período das chuvas, por meio de análises microbiológicas e físicas e químicas;
- Determinar o tempo de instalação plena do rigor pelo Índice de *rigor-mortis* e a evolução do pH do músculo dorsal de tilápias do Nilo, após o abate;
- Avaliar as populações microbianas de diferentes partes de tilápias do Nilo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Pesque-pagues

4.1.1 Localização e descrição dos estabelecimentos

O período das amostragens estendeu-se de 01 de julho a 30 de outubro de 2013, representando a estação seca (estiagem) e de 04 de janeiro a 30 de abril de 2014, caracterizando a estação chuvosa. Para a pesquisa foram utilizados peixes da espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de cinco pesque-pagues (PP), do Estado de São Paulo, localizados nos municípios de Jaboticabal (A), Itápolis (B), Taquaritinga (C), Cedral (D) e Taiaçu (E) (Figura 2), que foram selecionados por possuírem dois tanques distintos que cultivavam essa espécie.

As amostras eram constituídas por alíquotas das águas de cultivo e pela obtenção e aquisição de exemplares de peixes nelas cultivados. Ressalta-se que os peixes que estavam nesses estabelecimentos, encontravam-se nos tanques há no mínimo um ano.

Na Figura 3 estão ilustrados os pesque-pagues (A a E) e seus respectivos tanques (1 e 2), cuja topografia dos viveiros indica que os mesmos foram construídos em áreas com declividades. Os tanques dos pesque-pagues tinham em torno de 1,5 metros de profundidade.

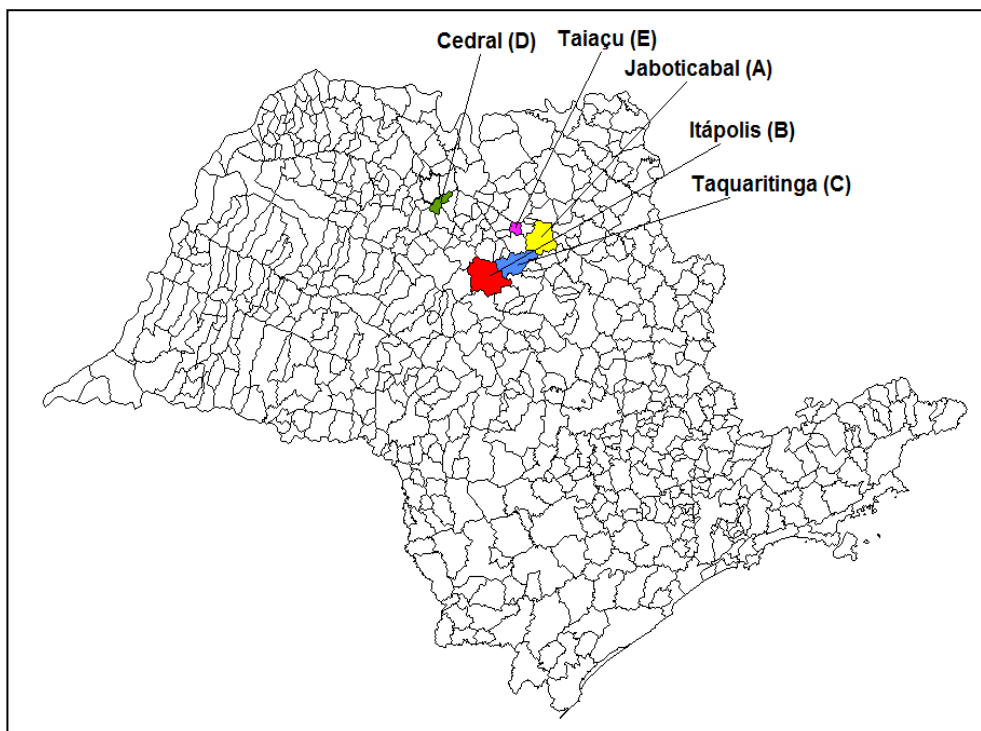


Figura 2. Localização geográfica dos municípios de origem dos pesque-pagues e procedência das amostras, do Estado de São Paulo.

4.1.2 Coleta da água de cultivo

Em todos os pesque-pagues foram selecionados dois tanques (Tanque 1 e Tanque 2), dos quais, em três pontos distintos, foram aferidos sistematicamente a cada visita: a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH da água, sempre próximo das 6:00 horas, a uma profundidade de cerca de 20cm, evitando-se variações na coleta de dados.

Amostras de água de cultivo foram colhidas em duplicatas, com 500mL cada uma, em dois pontos distintos de cada tanque. Foram acondicionadas em recipientes esterilizados e armazenadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e, imediatamente, levadas até os Laboratórios de Inspeção Sanitária de Alimentos (LISA), no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP de Jaboticabal, onde foram realizadas as análises para a detecção de coliformes termotolerantes. Ao todo, foram 40 amostras de água de cultivo, 20 em cada período (seca e chuvas), sendo quatro amostras por estabelecimento e por período.

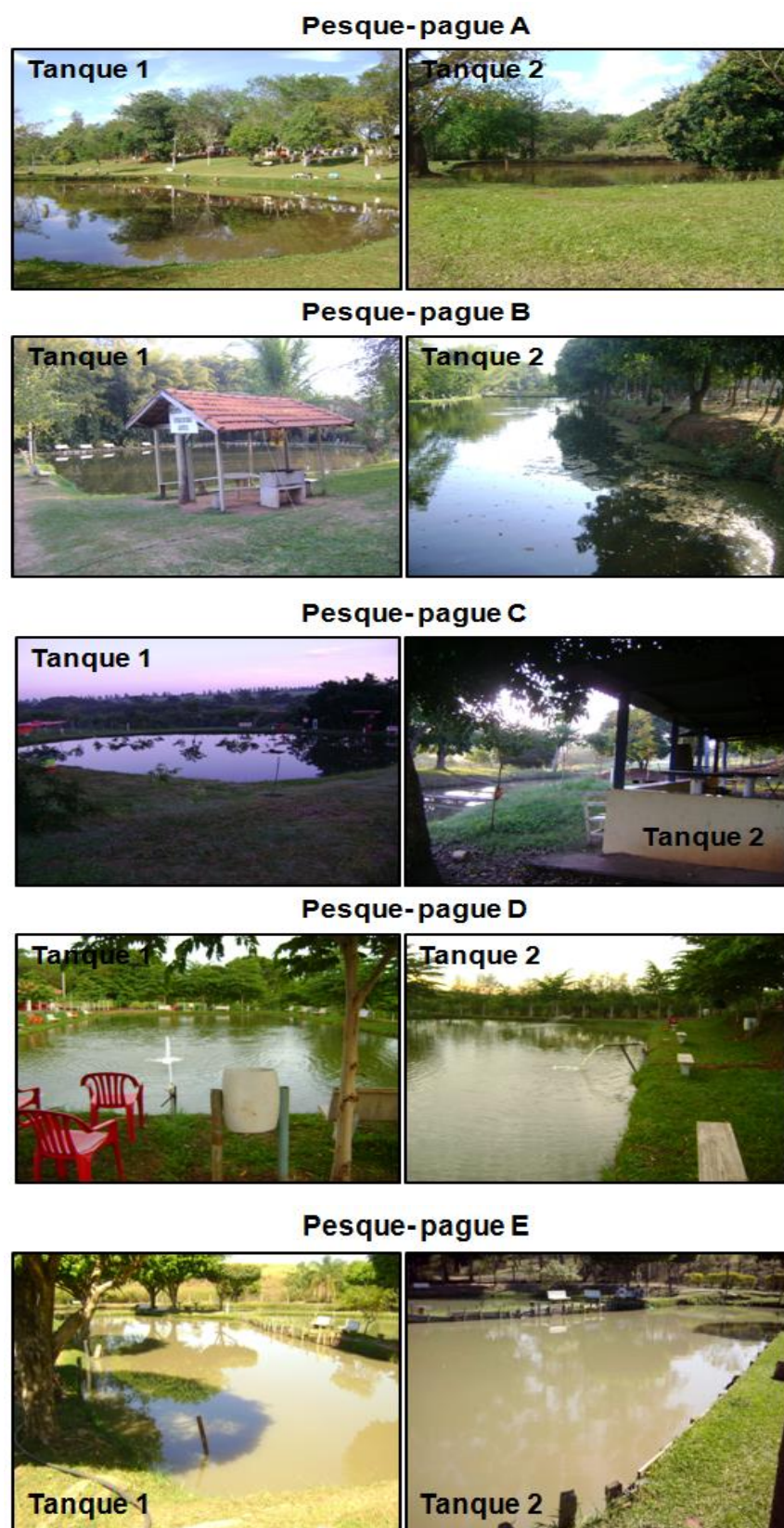


Figura 3. Ilustração dos pesque-pagues do Estado de São Paulo, selecionados para a pesquisa.

4.1.3 Coleta dos peixes

Em cada pesque-pague, como demonstrado na Figura 4, foram colhidos 12 exemplares de tilápias em cada período (chuva e seca), sendo seis peixes do tanque 1 e seis peixes do tanque 2, resultando em 24 amostras por estabelecimento e, somando os dois períodos de análise, um total de 120 amostras de peixes para todo o estudo.

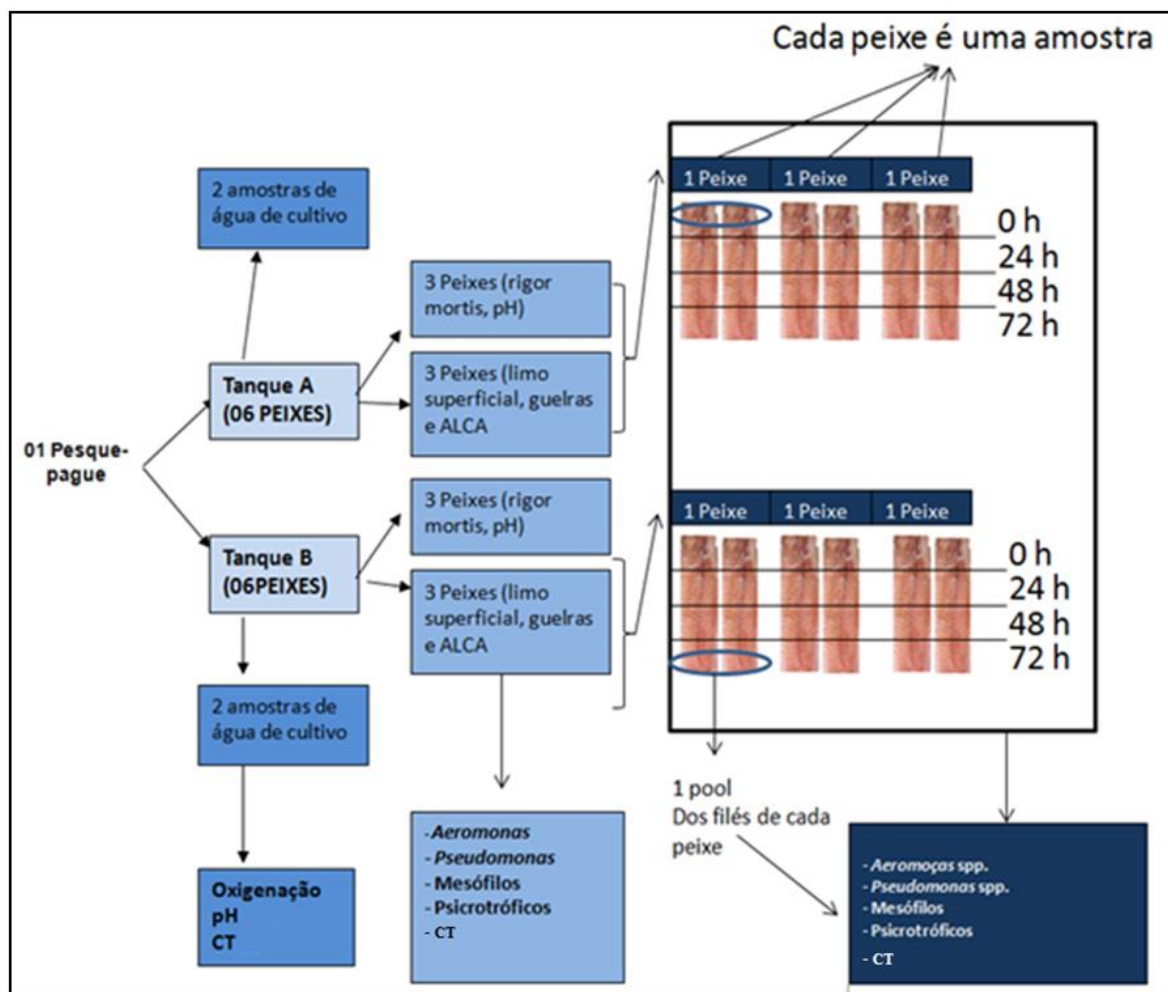


Figura 4. Esquema do desenvolvimento da pesquisa por pesque-pague, para avaliação da variação sazonal na qualidade da água e do pescado (Tilápia do Nilo - *Oreochromis niloticus*) do Estado de São Paulo, nos anos de 2013 e 2014. (CF: Coliformes Termotolerantes; LCA: Lavagem de Cavidade Abdominal).

Os peixes foram coletados com o auxílio de redes de tarrafa. Logo após a despesca, três peixes de cada tanque foram abatidos pelo método de destruição cerebral e os outros três foram abatidos por hipotermia em gelo, sendo todos eles identificados (data, horário). Cada peixe foi embalado em

sacos plásticos esterilizados, devidamente lacrados, evitando-se o contato direto com o gelo e impedido a ocorrência de contaminações. Todos os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas de polietileno contendo gelo na proporção de 2:1(gelo:peixe), de acordo com a Figura 5 (A,B,C,D).



Figura 5. (A) Captura de tilápias do Nilo com rede de tarrafa; (B) Abate por destruição cerebral; (C) Pesagem dos peixes; (D) Acondicionamento dos peixes em gelo.

As amostras foram imediatamente levadas até os Laboratórios de Inspeção Sanitária de Alimentos (LISA), localizados no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP de Jaboticabal, onde foram realizadas as análises laboratoriais.

4.2 Análises da água de cultivo

4.2.1 Análises físicas e químicas

A determinação do pH foi realizada em três pontos distintos no viveiro meio eletrométrico, utilizando-se um potenciômetro e eletrodo da marca Phtek modelo PH- 203, com a inserção direta na água do tanque de cultivo.

A temperatura foi aferida em três pontos distintos de cada tanque, utilizando-se de termômetro digital da marca Phtek modelo PH- 203, por meio da inserção direta na água do tanque de cultivo, sendo a medida expressa em graus Celsius (°C).

O oxigênio dissolvido refere-se ao oxigênio molecular (O₂) dissolvido na água. Foi também avaliado em três pontos distintos de cada tanque com o auxílio de um oxímetro portátil da marca Phtek, modelo DO-100, inserindo-se o eletrodo direto na água de cada tanque de cultivo, sendo a unidade de medida expressa em mg.L⁻¹.

4.2.2 Análises microbiológicas

Para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes na água foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos para água de cultivo). Para a avaliação dos coliformes totais, 0,1 mL da amostra de água foi inoculadas em tubos contendo 7 mL de caldo verde brilhante (bile a 2%), com tubos de Durham invertidos, e então incubadas a 35°C durante o período de 48 horas. Após a incubação foi verificada a presença de gás nos tubos de Durham. Quando isso ocorreu foi considerada prova confirmatória positiva para coliformes totais (APHA, 1998).

Para coliformes termotolerantes, alíquotas dos tubos de caldo verde brilhante (bile a 2%) com produção de gás, foram transferidas para tubos com caldo EC (*Escherichia coli*), com tubos de Durham, e para tubos com caldo triptona. Todos foram incubados em banho-maria a 44,5°C por 24 horas. A presença de gás nos tubos de Durham indicou prova confirmatória positiva para coliformes termotolerantes, que foi confirmada com adição de quatro gotas de Reativo de Kovacs no caldo triptona, correspondente ao EC positivo.

Foram consideradas positivas as amostras que evidenciaram halo cor de rosa no caldo triptona.

Por meio da tabela de NMP, e baseado no número de tubos de caldo EC com produção de gás e triptona positivo, foi obtido o NMP de coliformes termotolerantes por 100 mL ou grama da amostra (APHA, 1998).

4.3 Análises dos peixes

4.3.1 Índice de *rigor-mortis*

Das tilápias coletadas, três exemplares de cada tanque passaram pela avaliação do desenvolvimento do *rigor-mortis*, contemplando seis peixes por pesque-pague, 30 por período e 60 no total.

A observação do *rigor-mortis* iniciou-se com a retirada do peixe da água e foi realizada de acordo com Bito et al. (1983), posicionando-se a metade anterior do corpo do exemplar sobre um plano de madeira, deixando suspensa a metade restante do corpo, livre no ar, de acordo com as Figura 6.

A distância entre os níveis da tábua e a base da cauda foi mensurada por uma escala retangular no intervalo de tempo. O índice do rigor foi expresso a partir de leituras de curvatura de cauda pela fórmula:

$$IR(\%) = \frac{L - L'}{L} \times 100,$$

na qual L representa a distância inicial da base da nadadeira caudal a partir de uma linha horizontal da mesa (tomada imediatamente após a morte), e L' representa valores a intervalos de tempos selecionados durante a estocagem em horas (0h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h).

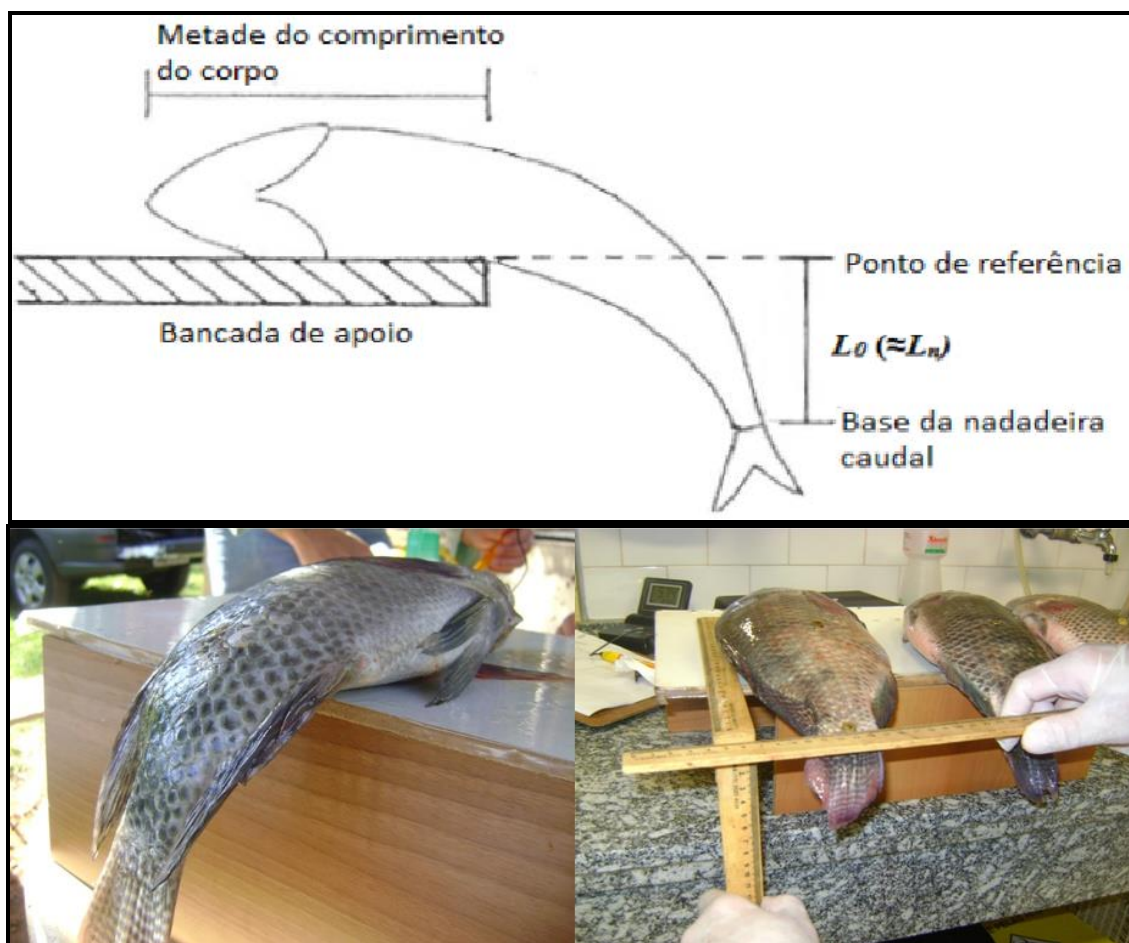


Figura 6. Ilustração da metodologia de Bito et al. (1983) para o cálculo do Índice de *rigor-mortis* (IRM).

4.3.2 Microbiologia do pescado

Três outros exemplares de peixes de cada tanque foram utilizados para as análises microbiológicas, com análises individuais sequencialmente para o limo superficial, as brânquias, a água de lavagem da cavidade abdominal sem as vísceras, a musculatura com pele e os filés.

Para obtenção da amostra do limo superficial cada peixe foi colocado em saco plástico esterilizado, com adição posterior de 225mL de solução tampão, massageando-os por um minuto. Posteriormente o líquido foi transferido para recipiente esterilizado.

Depois de extraídas, foram pesadas 10g de brânquias dos peixes, correspondendo à primeira amostra, colocadas em recipientes esterilizados contendo 90 mL de solução tampão.

No laboratório após cuidadosa evisceração, foi realizada a lavagem da cavidade abdominal por meio de massagem manual durante um minuto, também com o uso de embalagem plástica estéril e solução tampão. Assim como no caso das amostras do limo superficial, a água de enxágue foi transferida para recipiente esterilizado.

Para análise da musculatura com pele foram pesados 25g de cada amostra e acondicionada em 225 mL de solução tampão. Essas amostras, após homogeneização, deram origem às respectivas diluições.

Vinte e quatro (24) horas após o abate, as carcaças foram filetadas, registrando-se o rendimento dos filés por animal. Os filés foram identificados de acordo com o número do peixe e o tanque de procedência, sendo armazenados em gelo e sob refrigeração. Foram realizadas análises do pool dos filés de cada exemplar, constituindo três amostras por tanque para as análises microbiológicas nos tempos 0, 24, 48 e 72 horas, considerando zero hora o momento da filetagem, ou seja, 24 após a despesca. Para análise foram pesados 25g dos filés de cada peixe, acondicionados em 225 mL de solução tampão.

4.3.3 Avaliações Microbiológicas

Para o estudo da microbiota quantificaram-se os microrganismos aeróbios mesófilos, os aeróbios psicrótróficos, os dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp., além de análises para a presença de coliformes termotolerantes das brânquias, do limo superficial, da lavagem da cavidade abdominal, da musculatura com pele e dos filés de tilápias. Todas as análises microbiológicas foram realizadas em duplicata.

A solução tamponada, somada à amostra, foram homogeneizadas 25 vezes manualmente e suavemente por um minuto. A partir desta diluição inicial foram realizadas outras diluições decimais. Obtendo-se a diluição 10^{-1} , a partir dessa diluição foram realizadas as diluições decimais.

Para a determinação do número de microrganismos aeróbios mesófilos

Um mililitro das diluições das amostras foi inoculado em placa de Petri, com plaqueamento em profundidade (*pour- plate*) e, a seguir, de maneira asséptica foram vertidos entre 15mL a 20 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) a 40°C. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas para determinações dos números de microrganismos aeróbios mesófilos (DOWNES; ITO, 2001).

Para a determinação do número de microrganismos aeróbios psicrotróficos

A partir das diluições retirou-se uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição, transferindo para placas de Petri, imediatamente vertendo de 15mL a 20 mL do meio Ágar Padrão para contagem pela técnica *pour- plate*. As placas foram incubadas invertidas à temperatura de 7°C por 7 a 10 dias em geladeira comum. Os resultados foram expressos em UFC/g e transformados em Log UFC/g (BRASIL, 2003).

Contagem de bactérias do gênero *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp.

Foi utilizada metodologia segundo Varnam e Evans (1991) e *Bacteriological Analytical Manual* (ANDREWS; HAMMACK, 2006). Utilizou-se entre 15 mL e 20 mL de ágar esterilizado, suplementado com 10mL de ampicilina por litro, em placa de Petri vazia esterilizada. Após solidificação do ágar foram adicionados 0,1mL das diluições, com plaqueamento em superfície (*spread-plate*). O inóculo foi espalhado com auxílio da alça de Drigalsky e as placas foram incubadas a 28°C por 24 a 48 horas para estimação do número de bactérias.

Após a incubação, foram contadas as colônias nas placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias e o número encontrado foi multiplicado pelo fator de diluição, fornecendo o número de microrganismos por grama de peixe.

Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes para os peixes (APHA, 1998)

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos), conforme procedimentos já descritos para as amostras de água dos tanques de cultivo.

4.4 Análises estatísticas

Para a realização da análise estatística, utilizou-se o programa estatístico R® versão 2.2.1, disponível na internet (www.r-project.org). Verificou-se a influência da variação sazonal (período da seca e período das chuvas) na qualidade da água e do pescado. Utilizou-se nível de significância de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Qualidade físico e química da água de cultivo

A Tabela 2, expressa a comparação dos dados médios obtidos para as aferições da temperatura da água dos tanques dos diferentes pesque-pagues, do oxigênio dissolvido e do pH, respectivamente para os períodos da seca e período das chuvas, parâmetros esses avaliados como medidas objetivas inerentes às condições físicas e químicas que representam a qualidade da água de cultivo para esses períodos.

Tabela 2. Médias da temperatura (°C), oxigênio dissolvido e pH da água de cultivo de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos da seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	N	T (°C)	O ₂ Dissolvido (mg/L)	pH
Seca	30	21,89 ^a ± 1,62	4,32 ^a ± 1,75	6,81 ^a ± 0,44
Chuvas	30	24,59 ^b ± 1,98	4,18 ^b ± 0,87	6,63 ^b ± 0,37

Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Conforme se verifica, embora numericamente as diferenças pareçam sutis, observou-se que elas foram significativas ($p < 0,05$) entre os períodos analisados para todos os parâmetros avaliados, ou seja, a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH da água de cultivo.

A diferença observada nas médias das temperaturas para o período da seca ($21,89^{\circ}\text{C}$) e para o período das chuvas ($24,59^{\circ}\text{C}$), embora pareça pequena, está diretamente relacionada às estações do ano, tendo-se normalmente temperaturas mais baixas no outono e inverno correspondendo ao período da seca, e temperaturas mais elevadas na primavera e no verão, correspondendo ao período das chuvas. Neste caso, a diferença foi de apenas $2,7^{\circ}\text{C}$, enquanto que os resultados divulgados por Matsuzaki et al. (2004) mostraram diferença bem maior, de 9°C entre as temperaturas médias da água de um pesqueiro na cidade de São Paulo, com valores de temperatura, respectivamente para o período seco e para o chuvoso, de 17 e 26°C .

A variação na temperatura pode ter efeito direto no desenvolvimento dos organismos, assim como nas reações químicas que possam vir a ocorrer no corpo da água, além de interferir na solubilidade dos gases dissolvidos (ELER et al., 2006). Todavia, a Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005), referência para diversos parâmetros em nosso meio, não faz menção à temperatura da água, mas essa é importante, pois reflete bem as variações sazonais dos parâmetros físicos e químicos da água.

Observou-se pequena, mas significativa, diferença no teor de oxigênio dissolvido na água entre o período da seca ($4,32\text{ mg/L}$) e o período das chuvas ($4,18\text{ mg/L}$), situação condizente com água mais limpa e de temperatura mais fria, tais resultados, em ambos os casos, mostraram-se aquém dos esperados.

Ao se considerar a legislação vigente, ou seja, a resolução 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2005c), essa estabelece valores de oxigênio dissolvido em qualquer amostra de águas de tanques para cultivo não inferior a $5,0\text{ mg/L}$. Neste caso, constata-se que, apesar de algumas mensurações individuais terem atendido tal valor, as médias das aferições, independente do período pesquisado, não atingiram o valor mínimo, possivelmente indicando que os estabelecimentos avaliados evidenciavam problemas estruturais e de manutenção, sendo necessária a adoção de medidas corretivas visando

melhoria na qualidade da água e, conseqüentemente, na aptidão desses locais tanto para a pesca quanto para o cultivo de organismos aquáticos.

Por outro lado, considerando-se os dados de Coche (1982) e de Boyd e Tucker (1998), verifica-se que as concentrações médias de oxigênio dissolvido mantiveram-se acima da concentração mínima (3,0 mg/L) necessária para manter o crescimento ótimo da tilápia. Segundo KUBTZA (1998), baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água podem causar atraso no crescimento, redução na eficiência alimentar e aumento na incidência de doenças e na mortalidade dos peixes, resultando em sensível redução na produtividade dos sistemas aquaculturais. Entender os fatores que afetam a dinâmica do oxigênio nos sistemas aquaculturais é fundamental ao manejo econômico da produção de peixes.

Os resultados relatados por Mercante et al. (2005), avaliando a qualidade da água em pesque-pague da região metropolitana de São Paulo, evidenciam diferenças com os resultados aqui obtidos, registrando amplitude de variação desde 3,5 mg/L a 14,6 mg/L.

Barcellos et al. (2006) afirmaram que quantidades significativas de matéria orgânica incorporadas à água podem fazer com que a concentração de oxigênio dissolvido diminua, pois o oxigênio acaba sendo utilizado em reações químicas oxidativas e pelas bactérias na decomposição e estabilização das matérias, principalmente em águas estagnadas ou próximas do fundo de corpos de água, pois as principais fontes de oxigênio para a água são a atmosfera e a fotossíntese.

De acordo com os resultados para aferição do pH, verificou-se que, no período das chuvas, a média dos resultados foi menor (6,63) quando comparada à do período da seca (6,81), ou seja, as águas do primeiro apresentaram-se ligeiramente mais ácidas. Mais uma vez, apesar dessas diferenças terem se mostrado significativas, desconsiderando-se a extensão da variabilidade, os valores médios situaram-se muito próximos e ambos na faixa ácida.

A resolução 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2005c) estabelece como limites a faixa de pH entre 6,0 e 9,0, que se aplica às águas doces de classe 2. Kubtza (1998) considera que a faixa adequada para crescimento de tilápias do

Nilo é entre 6,0 e 8,5. Considerando-se essas faixas, verifica-se que a totalidade dos resultados amostrais situou-se dentro desses intervalos, o que não implica, entretanto, que a água seja de boa qualidade. Para tal afirmação há a necessidade da somatória de evidências obtidas em diferentes e importantes parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

São vários os fatores que podem interferir no pH das águas de cultivo, entre eles destacam-se o fator climático - uma vez que, ao realizar a fotossíntese, o fitoplâncton retira o CO_2 da água, aumentando o pH; em contrapartida a própria fotossíntese contribui para o abaixamento do pH ao liberar CO_2 na água, etc. Esses fatores podem ser prejudicados no período das chuvas pois esses dias tendem a permanecer nublados, obstruindo ou reduzindo a luminosidade solar, diminuindo o processo de fotossíntese (OSTRENSKY; BOEGER, 1998). Além disso, as chuvas diluem as concentrações de cálcio, há maior aporte de matéria orgânica lixiviada do solo, ocorre interferência na produção de CO_2 e, conseqüentemente, de ácido carbônico (H_2CO_3) e outros compostos com características ácidas.

A acidez da água também pode estar relacionada ao não gerenciamento adequado da alimentação fornecida aos peixes e à alta densidade de estoque. Valores baixos de pH, resultantes da “poluição”, podem afetar a reciclagem de nutrientes nos ecossistemas aquáticos pela redução da taxa de decomposição da matéria orgânica e pela inibição da fixação de nitrogênio. Resultados distintos foram encontrados por Mercante et al. (2005) e por Schalach; Moraes; Moraes (2005). Os primeiros, ao avaliarem a qualidade da água de 30 pesque-pagues da região metropolitana de São Paulo, nos períodos seco e chuvoso, verificaram que a metade (15/30) dos estabelecimentos avaliados apresentaram valores de pH abaixo de 6,0. Os segundos, ao avaliarem um pesque-pague no município de Guariba, SP, encontraram valores médios de 7,3 e 7,0 no outono e no inverno, respectivamente, associado ao período da seca. Já, na primavera e verão, que podem ser referidos ao período das chuvas nessa região, os valores encontrados foram: 7,8 e 7,7 respectivamente.

Dados clássicos da literatura nessa área, decorrentes de análises dos parâmetros físicos e químicos como temperatura da água, teor de oxigênio dissolvido e pH, são considerados fundamentais na avaliação da qualidade da

água, pois a variação sazonal têm interferência negativa, principalmente no período das chuvas em relação ao período da seca. Para tentar diminuir tais interferências indica-se realizar maior renovação de água nos tanques para diminuir ou impedir a ocorrência de grandes concentrações de fitoplâncton e, conseqüentemente, contribuir para a diminuição da amplitude de variação do pH. Por outro lado, aconselha-se também a construção de barreiras físicas que impeçam o acesso da água de enxurrada aos tanques de cultivo e, quando necessário, realizar a secagem total dos tanques para fazer a correção do solo. Desse modo, ao menos esses três parâmetros citados devem fazer parte da rotina frequente de avaliação da qualidade do ambiente de cria e manutenção de peixes, constituindo-se em ferramentas de gestão da atividade.

Medidas preventivas e corretivas quando da ocorrência de variações bruscas nos parâmetros físicos e químicos devem ser previstas, contingenciadas e realizadas, visto que a qualidade da água não só influencia o crescimento dos peixes, como também a sobrevivência e conseqüentemente a qualidade do produto comercializado.

5.2 Microbiologia da água de cultivo

NMP de coliformes termotolerantes

O parâmetro microbiológico utilizado para avaliação da qualidade da água de cultivo foi a do número mais provável (NMP) para a presença de coliformes termotolerantes, anteriormente denominados coliformes fecais, mas que expressa a presença de *E. coli* e, conseqüentemente, a probabilidade de maior ou menor contaminação com matéria fecal.

Tabela 3. Porcentagem de conformidade ou não conformidade dos resultados da prova de NMP (número mais provável) de coliformes termotolerantes da água de cultivo de amostras provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Coliformes Termotolerantes (NMP.100 mL ⁻¹)		
	Seca	Chuva
0 — $1,1 \times 10^3$	100% (20/20)	80% (16/20)
> $1,1 \times 10^3$	0 (0/20)	20% (4/20)

Coliformes termotolerantes: Conforme- 0- $1,1 \times 10^3$
 Não conforme- > $1,1 \times 10^3$

A resolução 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2005c) estabelece que a concentração de coliformes termotolerantes não deverá exceder 10^3 NMP.100 mL⁻¹. Assim, quando os resultados desta pesquisa foram avaliados, verificou-se que somente no período das chuvas foram detectados pesque-pagues que não atenderam a essa legislação, classificados como possuidores de águas impróprias para o cultivo e manutenção de peixes para pesca e configurando-os como estabelecimentos de maior grau de risco microbiológico, obviamente com prejuízos à atividade, que poderia ser traduzida em maior probabilidade de morbidade e mortalidade dos peixes, assim como maior probabilidade de risco à saúde humana. Diferentemente, no período da seca nenhum dos estabelecimentos (pesque-pagues) apresentou essa deficiência (Tabela 3), possivelmente indicando que, durante o período chuvoso, essa minoria tenha problemas com enxurradas e com o arraste de materiais do entorno para o interior dos tanques.

Os dois tanques do pesque-pague A, um tanque do pesqueiro C e um tanque do pesque-pague D não estavam conformes com relação ao oxigênio dissolvido, sugerindo problemas locais no período das chuvas considerando que o oxigênio é indispensável para os seres vivos. A baixa concentração deste parâmetro pode estar relacionado a vários fatores entres estes excessos de detritos e dejetos.

Existem vários fatores que podem contribuir para que os valores de NMP dos coliformes termotolerantes sejam maiores do que o estabelecido pela legislação no período das chuvas, entre esses as águas de enxurrada das chuvas, as quais carregam detritos (lixos, dejetos de animais e de seres

humanos) das margens para dentro dos tanques de cultivos. Justamente naqueles estabelecimentos em que se contataram as citadas não-conformidades foram observadas, durante as visitas e por uma ou mais vezes, evidências da presença ou permanência de outras espécies animais no entorno dos tanque, muitas vezes encontrando-se restos de bolos fecais.

Valle Junior et al. (2013) ao realizarem um diagnóstico temporal da qualidade das águas do Rio Uberaba – MG, verificaram que, na época das chuvas, a contagem de coliformes termotolerantes não atendia a Resolução Conama nº 357/2005, classificando as águas como impróprias tanto para o contato primário como para consumo, elevando seu grau de risco para a saúde humana nesse período.

Os dados de Lorenzon et al. (2010), para a avaliação do perfil microbiológico da água de cultivo de cinco pesque-pagues da região nordeste do Estado de São Paulo, mostraram amplitude de variação desde $3,8 \times 10^2$ até $2,0 \times 10^4$ NMP.100mL⁻¹, porém, como foi realizada apenas uma coleta no ano, não foi possível observar-se variações sazonais.

5.3 Parâmetros qualitativos do pescado

Nesta pesquisa foram utilizadas 120 tilápias obtidas de pesque-pagues localizados nos municípios de Jaboticabal, Cedral, Taiaçu, Itápolis e Taquaritinga, todos no Estado de São Paulo. Do total dessa amostragem, o peso médio por peixe verificado foi de 843,3g, com comprimento total médio de 33,6cm e peso médio dos filés de 235,4g. Consequentemente, o rendimento médio obtido para os filés foi de 27,9%.

Índice de *rigor-mortis* (IRM)

A Tabela 4 apresenta a síntese dos resultados médios observados para a evolução do índice de *rigor-mortis*, estabelecendo-se o tempo médio em horas para sua plena instalação, e o comportamento do pH no decorrer dessas mesmas primeiras horas após o abate.

Tabela 4. Evolução do índice de *rigor-mortis* e do pH de Tilápias do Nilo abatidas por destruição cerebral e armazenadas em gelo e sob refrigeração, provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	N	Tempo (horas)	Valor (cm)	pH	IRM %
Chuva	30	0	7,3	6,9	0
		1	5,5	6,6	23,9
		2	3,6	6,4	49,8
		3	1,9	6,2	73,2
		4	0,1	6,1	98,8
		5	0	6,1	100,0
Seca	30	0	7,5	6,9	0
		1	5,3	6,6	29,0
		2	3,1	6,4	58,7
		3	1,0	6,3	86,1
		4	0	6,3	100,0
		5	0	6,2	100,0

Na Figura 7, apesar de ligeiras ou sutis diferenças para as amostras dos diferentes períodos, tanto nos valores da angulação mensurada quanto do pH, verifica-se que em ambos os casos o tempo de estabelecimento do *rigor-mortis* (100%) foi de cinco (5) horas e, como era de se esperar, sem a definição do pH final do músculo nesse tempo. Também, conforme se observa nessa mesma Figura, pode-se deduzir que a variação sazonal não influenciou no estabelecimento pleno do *rigor-mortis* uma vez que, tanto no período das chuvas quanto no período da seca, o índice de 100% de RM foi atingido praticamente com o mesmo tempo.

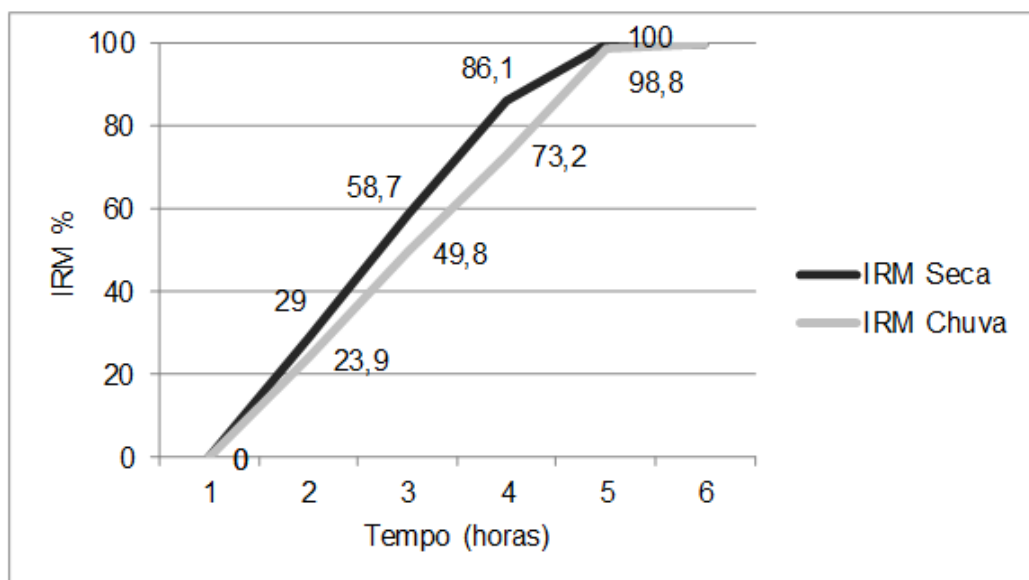


Figura 7. Curvas da evolução do Índice de *rigor-mortis* (IRM) de tilápias do Nilo abatidas por destruição cerebral e armazenadas em gelo e sob refrigeração, provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos da seca (2013) e das chuvas (2014).

Kojima et al. (2005), avaliando a qualidade de tilápias abatidas por hipotemia em gelo ou por sangria, verificaram que, independente da forma de abate, a partir do período de duas horas as tilápias entraram no período de pleno enrijecimento muscular. Almeida et al. (2005) determinaram que a resolução plena, com concentração máxima de 99,4%, do *rigor-mortis* de tambaqui (*Colossoma macropomum*) abatidos em gelo ocorreu em 30 minutos após o abate. Nos resultados encontrados neste trabalho o pleno rigor foi atingido cinco horas após a despesca, três horas a mais quando comparado Kojima et al. (2005) e quatro horas e meia a mais aos resultados encontrados por Almeida et al. (2005). Os diferentes métodos utilizados no pré-abate e abate de peixes podem influenciar no estresse acentuado, ocorrendo diminuição na concentração de glicogênio fazendo com que estes entrem em pleno rigor mais rápido e acelerando o processo de deterioração. O abate por destruição cerebral mostrou-se uma técnica favorável porque o animal morre rapidamente, se debate menos e aumenta a fase do pleno rigor.

A avaliação do *rigor-mortis* de tilápias é importante para o conhecimento da melhor forma de captura assim como para o processamento, considerando-se que a retirada de filés no período pré-rigor melhora significativamente a

qualidade de atributos como textura e cor em filés frescos segundo Skjervold et al. (2001), embora haja controvérsias.

Independente do período analisado, seca e chuva, os valores obtidos para pH não apresentaram grandes variações. A primeira medição realizada instantes após o abate dos peixes evidenciou valor médio de 6,9, próximo da neutralidade, e com o passar das horas o pH sofreu redução até atingir valor mínimo médio de 6,1 no período das chuvas e de 6,2 no período da seca, considerados aqui como pH final. Assim esses valores são muito inferiores ao de 6,5 e de 6,8 utilizados como limites respectivamente para musculatura interna e superfície de peixe fresco no Brasil (BRASIL, 2000).

Segundo Poli et al. (2005), as reações químicas derivadas do estresse no momento do abate bem como aquelas de toda extensão do pré-abate fazem com que os peixes entrem em estado de *rigor-mortis* mais rapidamente. O sofrimento provoca, ainda, uma redução das reservas de glicogênio muscular dos peixes e, conseqüentemente, menor acúmulo de ácido láctico. Isso faz com que o pH da carne fique próximo da neutralidade, acelerando a ação das enzimas musculares.

O pH final da carne do pescado, após a sua morte, está relacionado com a quantidade de glicogênio disponível no momento do abate. A diminuição do pH é consequência da conversão do glicogênio em ácido láctico. Durante a atividade física, o glicogênio é degradado para liberar a energia necessária no momento que o peixe se debate (KOJIMA, et al. 2005).

Os mesmos autores em relação ao pH inicial detectaram valores de 7,15 para o abate em gelo e de 6,88 para o abate com sangria mais gelo, estabilizando-se em 24 horas com 6,28 e 6,24. Santos, 2013 que ao avaliar o pH de tilápias do Nilo no tempo de zero horas até cinco horas, encontraram que no abate por eletronarcose houve variação 6,86 a 6,39, por asfixia gasosa variou de 6,60 a 6,29 e por hipotermia foi entre 7,02 a 6,48, enquanto que neste trabalho a variação foi de 6,9 a 6,1, mas deve-se considerar que estes valores poderiam reduzir mais, o que pode ser diferenciado pela forma como os animais foram abatidos, destruição cerebral, que consiste na morte rápida e gasto mínimo da reserva do glicogênio.

5.4 Microbiologia do pescado

Microbiologia do Limo superficial

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos analisados para a quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicotróficos, bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. e bactérias do gênero *Aeromonas* spp. no limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo (Tabela 5).

Tabela 5. Médias dos valores nas populações de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	n	Mesófilos (Log10)	Psicotróficos (Log10)	<i>Pseudomonas</i> spp. (Log10)	<i>Aeromonas</i> spp. (Log10)
Seca	30	5,57 ^a	3,41 ^a	2,75 ^a	2,61 ^a
Chuva	30	5,99 ^b	3,91 ^b	3,22 ^b	2,10 ^b

Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna e dentro do mesmo pesque-pague, não diferem estatisticamente, com 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Pode ser observado que no período das chuvas a média das estimativas dos microrganismos aeróbios mesófilos foi maior (5,99 Log UFC/g) que no período da seca (5,57 Log UFC/g). Para bactérias aeróbias psicotróficas, no período da seca foi encontrada uma média de 3,41 Log UFC/g, enquanto que no período das chuvas foi registrado média maior, representada por 3,91 Log UFC/g (Figura 8).

Os valores médios para a contagem das bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. foram de 2,75 Log UFC/g no período da seca e de 3,22 Log UFC/g no período das chuvas, enquanto que as contagens das bactérias do gênero *Aeromonas* spp. evidenciaram valores médios de 2,61 Log UFC/g relacionado ao período da seca e de 2,10 Log UFC/g no período das chuvas (Figura 8).

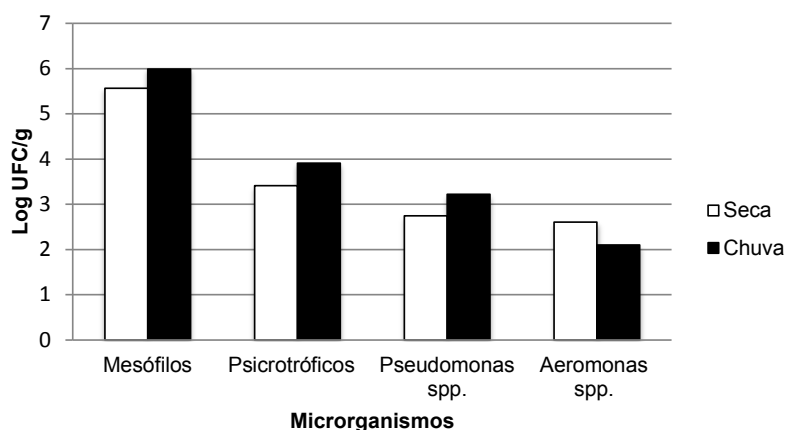


Figura 8. Distribuição das médias das estimativas para bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Baseando-se nos achados de Al-Harbi e Uddin (2005), em que as bactérias mesófilas tiveram suas contagens reduzidas em peixes submetidos ao tratamento pelo frio, é provável que as maiores contagens tenham sido verificadas nos meses mais quentes do ano, em decorrência do caráter de adaptação e multiplicação dos microrganismos em temperaturas mais altas, uma vez que a temperatura da água foi mais alta no período das chuvas (24,59°C), quando comparado ao período da seca (21,89°C).

No período da seca estes processos ocorrem de forma menos acentuada, o que faz com que a água esteja menos contaminada, e esta contaminação pode ser direta da água de abastecimento dos tanques ou pelos mesmos fatores já apresentado no período das chuvas só que de forma menos intensa.

Silveira et al. (2001) ao avaliarem a microbiota da superfície de tilápias do Nilo oriundas de tanques de criação da cidade de Pindamonhangaba encontraram uma média da microbiota mesofílica de 2,25 Log UFC/cm² no outono e 1,40 Log UFC/cm² no inverno, podendo ser relacionada ao período da seca. Foi encontrada média de 2,19 Log UFC/cm² na primavera e 4,59 Log

UFC/cm² no verão, relacionada ao período das chuvas, coincidindo com os resultados encontrados neste trabalho.

Fontes et al. (2007), em Vila Real-Portugal, realizaram a contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos na superfície do pescado em diferentes estabelecimentos A, B, C e D, e encontraram valores de 5,92 Log UFC/cm², 6,03 Log UFC/cm², 5,41 Log UFC/cm² e 5,85 Log UFC/cm² respectivamente, ou seja, valores acima dos quais foram registrados neste trabalho.

Já, para a contagem das bactérias do gênero *Aeromonas* spp. ocorreu o inverso, ou seja, a maior média observada foi encontrada no período da seca (2,61 Log UFC/g), quando comparado ao período das chuvas (2,10 Log UFC/g). Esse gênero evidenciou presença em todas as amostras analisadas, ou seja, em 100% (60/60) das amostras, coincidindo com os dados de Boari et al. (2008) que identificaram essa bactéria em 100% de amostras oriundas do tegumento de tilápias. Já, Esposto et al. (2007), com o objetivo de verificar a presença de enteropatógenos bacterianos na pele de *Tilapia nilotica* encontraram uma prevalência de 24,3% (19/78) de *Aeromonas* spp. A presença desses microrganismos em grande quantidade nas amostras, relatadas em diferentes estudos, pode ser atribuída à ampla disseminação desses microrganismos no ambiente e na água.

Não há padrões para NMP de coliformes termotolerantes para o limo superficial, porém existe este padrão para água de cultivo de acordo com a resolução 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2005c) que estabelece que a concentração de coliformes termotolerantes não deverá exceder 10³ NMP.100 mL⁻¹. Portanto, nesta pesquisa foram seguidos tais padrões, pelo fato de que a concentração de microrganismos do limo está intimamente ligada à qualidade da água.

Foram analisados coliformes termotolerantes para o limo superficial de tilápias do Nilo no período da seca e no período das chuvas. No primeiro período 90% (27/30) das amostras apresentavam-se com valores até 1,0 x 10³ NMP.100 mL⁻¹ e 10% (3/30) maior que 1,0 x 10³ NMP.100 mL⁻¹. No período das chuvas 80% (24/30) apresentaram valores até 1,0 x 10³ NMP.100 mL⁻¹ enquanto que 20% (6/30) representaram as amostras com valores maiores que 1,0 x 10³ NMP.100 mL⁻¹ (Tabela 6).

Tabela 6. Porcentagem (%) dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes do limo superficial de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Coliformes Termotolerantes (NMP.100 mL ⁻¹)		
	Seca	Chuva
0 – $1,0 \times 10^3$	90% (27/30)	80% (24/30)
> $1,0 \times 10^3$	10% (3/30)	20% (6/30)

No trabalho realizado por Liuson (2003), ao avaliar 30 pesque-pagues na região metropolitana de São Paulo, o autor observou maior número de amostras positivas para coliformes termotolerantes no período seco e frio 19 (21,1%) e menores no período chuvoso e quente, 17 (18,9%), embora a diferença tenha sido pequena entre os dois períodos. Esses resultados diferem dos do presente estudo, no qual se observou uma maior porcentagem de coliformes termotolerantes no período das chuvas.

Neste trabalho verifica-se que, no período das chuvas, os valores médios foram superiores para a quantificação de bactérias aeróbias mesófilas, bactérias aeróbias psicrotróficas e para a contagem das bactérias do gênero *Pseudomonas* spp, além de maior porcentagem de amostras apresentarem valores acima de $1,0 \times 10^3$ NMP.100 g⁻¹ para coliformes termotolerantes. Neste caso pode-se concluir que esse período exerceu influência negativa em todos esses parâmetros citados, com aumento da concentração dos respectivos microrganismos pesquisados ou aumento da frequência de sua ocorrência.

Esses fatos podem ser explicados pelo aumento da possibilidade de contaminação da água dos tanques devido ao carreamento de sujeira do entorno pelas águas das chuvas e enxurradas, repletas de uma variedade de detritos e microrganismos ambientais capazes de alterar negativamente a qualidade da água de cultivo, podendo acarretar estresse nos animais e, conseqüentemente, abaixar sua imunidade e propiciar a instalação dos microrganismos oportunistas. Para tanto sugere-se o vazio sanitário do tanque entre o período das chuvas e o da seca.

Assim como nos estudos de Bremer et al. (2003) e Huber et al. (2004), que observaram a frequente ocorrência de *Aeromonas* spp. em ambientes aquáticos, neste estudo também se observou sua presença e distribuição e, dos itens pesquisados foi o único a expressar menor valor na época das chuvas. Segundo King et al., (1992) esse gênero bacteriano sobrevive em ambiente aquático sem a necessidade ou exigência de um hospedeiro humano ou qualquer outro animal mamífero.

Verifica-se, por tais resultados, que o limo pode reter grande quantidade de organismos, os quais, eventualmente e agindo como oportunistas podem exercer patogenicidade para o peixe e/ou para o ser humano, além de participar da deterioração do produto. É importante que, no ato da despesca o peixe seja lavado com água de boa qualidade, com a finalidade de reduzir, impedir ou minimizar o contato do limo com as porções comestíveis do peixe e, conseqüentemente, melhorar a qualidade do produto, estender sua vida útil e proteger a saúde humana.

Microbiologia das Brânquias

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos analisados (seca e chuva) para a quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos aeróbios psicrotróficos, e bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. nas brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo. Já, para as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre esses mesmos períodos, levando a crer que, diferentemente dos microrganismos anteriores e confirmando sua predileção por ambientes aquáticos, não seja tão influenciadas pelas épocas do ano (Tabela 7). Os que apresentaram diferenças seguiram um mesmo padrão, ou seja, com estimativas sempre maiores para o período das chuvas. Além de não diferir, as estimativas para o gênero *Aeromonas* spp. evidenciou padrão invertido, com valores numéricos relativamente menores no período das chuvas.

Tabela 7. Médias dos valores das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	N	Mesófilos (Log10)	Psicrotróficos (Log10)	<i>Pseudomonas</i> spp. (Log10)	<i>Aeromonas</i> spp. (Log10)
Seca	30	4,61 ^a	2,83 ^a	2,48 ^a	2,21 ^a
Chuva	30	5,41 ^b	3,46 ^b	2,99 ^b	1,82 ^a

Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna e dentro do mesmo pesque-pague, não diferem estatisticamente, 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

De acordo com tais resultados (amostras das brânquias), para o grupo dos microrganismos aeróbios mesófilos foi registrada menor média no período da seca, com o valor de 4,61 Log UFC/g, quando comparada à do período das chuvas, com média 5,41 Log UFC/g. As estimativas dos microrganismos aeróbios psicrotróficos evidenciou maior média também no período das chuvas (3,46 Log UFC/g), quando relacionado ao período da seca (2,83 Log UFC/g). Para a contagem das bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. verificaram-se valores médios de 2,99 Log UFC/g e 2,48 Log UFC/g nos períodos das chuvas e no período da seca respectivamente (Figura 9).

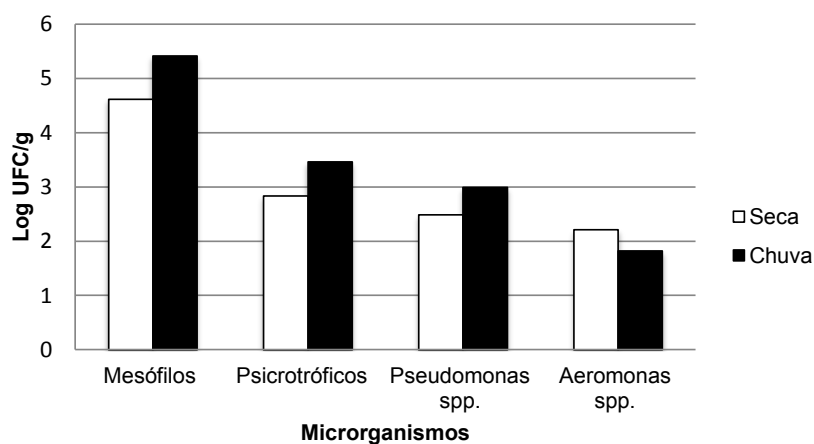


Figura 9. Distribuição das médias das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Psicrotróficas, bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Em trabalho realizado por Adewoye; Adegunlola (2010), no qual avaliaram o perfil bacteriano de amostras de brânquias de *Clarias gariepinus*, esses autores verificaram estimativas da ordem de $1,2 \times 10^2$ UFC/mL para bacterianas totais em peixes do grupo controle e de 10^6 UFC/mL para pescado criados em águas com resíduos industriais. Esses mesmos autores afirmaram que a concentração de microrganismos na água tem efeito direto sobre o pescado.

Dados de Wlasow et al. (2003), avaliando grupos bacterianos de brânquias de *Pike esox luicius* e *Tench tinca tinca*, no lago de Oewin Lake, na Polônia, constataram que ambas as espécies apresentaram resultados semelhantes, com um aumento das bactérias totais a 37°C (TVC a 37°C) entre a primavera e o verão. Já, para *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas aeruginosa* verificaram que os resultados foram maiores no verão, com menor frequência dessas bactérias na primavera.

Não há padrões microbiológicos na legislação brasileira para a contagem de microrganismos nas brânquias, porém esse conhecimento é importante para que se reforce a importância da caracterização deste sistema, para impedir ou minimizar a contaminação microbiológica de outros tecidos e servir como um indicativo de que o peixe foi capturado em águas limpas ou contaminadas, uma vez que peixes recém-capturados refletem o ambiente terrestre próximo aos ambientes hídricos e as condições microbiológicas do local de captura, assim como a qualidade sanitária da água.

Assim, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos industriais, fezes e sujidades em geral, albergam microrganismos patogênicos e indicadores de poluição fecal, motivo pelo qual a legislação impede a pesca comercial nesses locais e classifica o pescado como impróprio ao consumo humano (SOARES, 2011). Para tanto as brânquias tornam-se importantes na avaliação da qualidade do pescado segundo artigo 442 do RIISPOA (1952), no qual o pescado fresco, próprio para consumo, deve apresentar brânquias róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural, próprio e suave, ainda mais considerando que é um dos primeiros locais a apresentar sinais de deterioração.

Na análise dos coliformes termotolerantes nas brânquias das tilápias do Nilo foi possível observar que no período da seca 90% (27/30) das amostras estavam com valores de até $1,0 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹, enquanto que 10% (3/30) se apresentaram com valores superiores a $1,0 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹. No período das chuvas 80% (24/30) constituíram as amostras até $1,0 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹ e 20% (6/30) encontravam-se com valores maiores que $1,0 \times 10^3$ NMP.100mL⁻¹ (Tabela 8).

Tabela 8. Porcentagem (%) dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes das brânquias de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

NMP.100mL ⁻¹	% - Coliformes Termotolerantes	
	Seca	Chuva
0 – $1,0 \times 10^3$	90% (27/30)	80% (24/30)
> $1,0 \times 10^3$	10% (3/30)	20% (6/30)

Por tais resultados verifica-se que, no período das chuvas, houve o dobro de amostras que excederam os valores limites para a qualidade da água, reforçando o fato de que neste período ocorre uma maior contaminação da água de cultivo e, conseqüentemente, reflexos sobre o pescado como a possibilidade de maior contaminação das brânquias, com sérios riscos que implicam em prejuízos para o produtor, para o produto e para o consumidor.

De modo geral para as brânquias, o período das chuvas evidenciou maiores estimativas para os microrganismos aeróbios mesófilos, para microrganismos aeróbios psicrótróficos e para bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., quando comparado ao período da seca. Uma das justificativas para este fato é que no período das chuvas ocorre aumento da contaminação da água. As brânquias apresentam-se em contato direto com a água de cultivo, além de funcionar como um importante sistema fisiológico dos peixes e, nessa tarefa, podem reter grandes quantidades de microrganismos. Todavia, enquanto o animal está vivo e em equilíbrio com seu habitat, desde que o mesmo apresente boas condições sanitárias, seu sistema imunológico o protege e controla tais portas de entrada de modo a impedir a multiplicação dos microrganismos que lhe seria prejudicial.

Todavia, quando os peixes são submetidos à despesca, geralmente estressante e extenuante, e são abatidos, ocorre a perda destas defesas permitindo a multiplicação dos microrganismos com reflexos sobre a rapidez e intensidade dos processos deteriorativos, principalmente quando as brânquias não são retiradas ou são removidas de forma incorreta. Para tanto, é importante que, quando for realizada a despesca, se faça o descabeçamento e, consequente, a retirada das brânquias, impedindo que os microrganismos possam permanecer e contaminar outros tecidos.

Em contrapartida, quando realizado o processo de descabeçamento juntamente com a evisceração, o consumidor não pode avaliar a qualidade do produto por tais parâmetros, porém ainda existem outras formas de realizar avaliações complementares, visto que os benefícios da retirada das brânquias podem ser favoráveis ao produto final, garantindo-lhe qualidade sensorial e microbiológica e desde que não tenha sido realizada com o intuito de mascarar evidências de autólise.

No período das chuvas a contaminação da água pode se apresentar aumentada e alterar de forma indesejável as características físicas, químicas e microbiológicas do pescado nela mantido ou criado. Em decorrência, poderá ocorrer estresse desnecessário do animal, debilitar seu sistema imunológico e aumentar a multiplicação dos microrganismos oportunistas, patogênicos e deterioradores, principalmente do grupo dos mesófilos. No país, os peixes são produzidos em clima tropical e, além dos microrganismos mesófilos, não se exime a contaminação por microrganismos psicrótrófos, além das bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. No período da seca também foram relatadas contaminações por esses mesmos citados, porém em menor concentração, quando comparado ao período das chuvas, possivelmente pelas próprias características ambientais do período da seca.

Microbiologia da lavagem da cavidade abdominal

Para as estimativas de microrganismos aeróbios mesófilos, de microrganismos aeróbios psicrótrófos e de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., foram constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos resultados das

amostras da água de lavagem da cavidade abdominal, após a evisceração, entre os períodos analisados. Esses resultados encontram-se detalhados na Tabela 9.

Tabela 9. Médias dos valores das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas, de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. Do líquido da lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	n	Mesófilos (Log10)	Psicrotróficos (Log10)	<i>Pseudomonas</i> spp. (Log10)	<i>Aeromonas</i> spp. (Log10)
Seca	30	5,07 ^a	2,95 ^a	2,62 ^a	2,28 ^a
Chuva	30	5,89 ^b	3,46 ^b	3,07 ^b	2,25 ^a

Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna e dentro do mesmo pesque-pague, não diferem estatisticamente, 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Na quantificação dos microrganismos aeróbios mesófilos observou-se que a menor média encontrada foi referente ao período da seca (5,07 Log UFC/g) e, conseqüentemente, a maior registrada no período das chuvas (5,89 Log UFC/g). Para bactérias aeróbias psicrotróficas e na estimativa de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. também foram observadas menores médias no período da seca, com valores de 2,95 Log UFC/g e 2,62 Log UFC/g, respectivamente, com valores médios maiores no período das chuvas, de 3,46 Log UFC/g para o grupo dos psicrotróficos e 3,07 Log UFC/g para as *Pseudomonas* spp. (Figura 10).

Na pesquisa para as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os períodos analisados para as amostras da água de lavagem da cavidade abdominal das tilápias do Nilo, diferindo dos resultados evidenciados para o limo superficial, mas concordando com os dados obtidos para guelras. Nessas estimativas, contagem das bactérias do gênero *Aeromonas* spp., pode-se observar que os valores médios entre os períodos foram próximos, com valores de 2,28 Log UFC/g para o período da seca e 2,25 Log UFC/g para o período das chuvas.

Mesmo adotando-se rigorosos procedimentos no processo de evisceração, verifica-se ainda que foi considerável a presença dos microrganismos, principalmente no período das chuvas, o que pode ser explicado pelo fato que nesse período foram maiores as concentrações da maioria dos microrganismos pesquisados, o que pode ser associado à

qualidade da água e ao aumento da contaminação da mesma, principalmente pelas enxurradas das chuvas que carregam dejetos e detritos, os quais estariam ao redor dos tanques de cultivo, considerando que o animal é reflexo do meio em que vive. Guzmán et al. (2004) sugerem que a maioria das bactérias entéricas presentes na água geralmente é recuperada no trato gastrointestinal dos peixes.

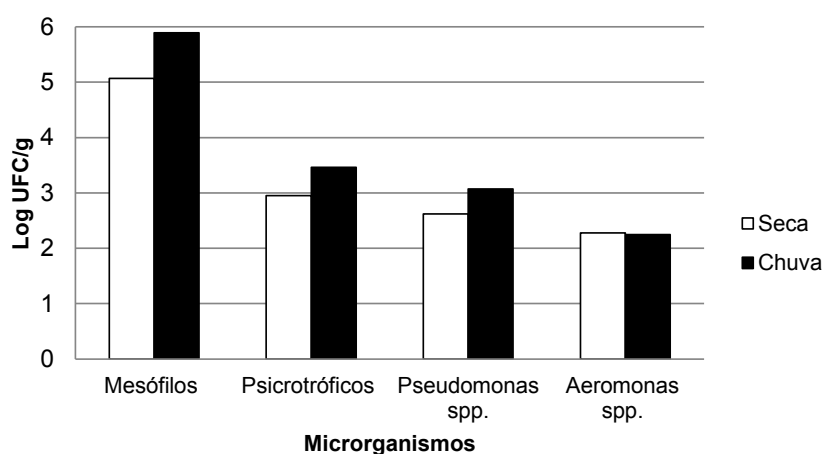


Figura 10. Distribuição das médias das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. da água da lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues (PP), do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Além dos fatos anteriormente citados, salienta-se que a cavidade abdominal dos peixes é preenchida por órgãos que podem estar repletos de microrganismos. Embora uma boa evisceração seja aquela na qual esses tecidos e órgãos se mantenham intactos durante todo o processo, para evitar ou minimizar a contaminação das paredes abdominais e consequentemente a musculatura do animal, nem sempre isso pode ser garantido.

Mello et al. (2010), ao analisarem a contaminação dos fígados de Piraputanga (*Brycon microleppis*) capturados de pontos de cultivo no rio Cuiabá e de amostras cultivadas em pisciculturas, verificaram o efeito da sazonalidade (mês de coleta) sobre a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, de coliformes termotolerantes e de *Aeromonas* spp., tanto nos exemplares de

peixes cultivados no rio como nos cultivados em viveiro. As maiores contagens foram observadas no final do período seco e no início do período chuvoso, ou seja, nos meses mais quentes do ano, entre agosto e março. Nota-se que houve semelhança dos resultados relatados nesse trabalho com os aqui encontrados, uma vez que as maiores contagens foram registradas no período das chuvas, que também corresponde às temperaturas mais elevadas.

Também semelhante aos resultados do presente estudo foram os relatados na pesquisa realizada por Boari et al. (2008), na qual os autores observaram 100% de presença para *Aeromonas* spp. e para *Pseudomonas* spp. nas amostras de tegumento e no trato gastrointestinal de 20 tilápias.

Deve-se então salientar que, quando a evisceração não é realizada adequadamente, esses microrganismos podem contaminar o produto e prejudicar a qualidade do mesmo, estabelecendo precocidade do processo de deterioração e reduzindo a vida útil do produto. O produto pode tornar-se veiculador de patógenos para o ser humano, principalmente no período das chuvas, por conter uma maior quantidade de microrganismos e aumento da contaminação do produto final.

Quando se estimou a quantidade dos coliformes termotolerantes no líquido da lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo foi possível observar que, no período da seca, 100% (30/30) das amostras apresentaram-se com valores de até $1,0 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹. Já, para o período das chuvas, apenas 80% (24/30) das amostras apresentaram valores de até $1,0 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹ e, portanto atendendo ao limite de qualidade da água de cultivo, enquanto que, apesar de todo o cuidado técnico, 20% das amostras (6/30) apresentaram valores superiores a 10^3 NMP.100 mL⁻¹ (Tabela 10).

Segundo Strauss (1985), algumas evidências sugerem que existem poucos organismos entéricos patogênicos nos peixes quando a concentração de coliformes termotolerantes na água é $<10^3/100$ ml. Entretanto, mesmo em baixos níveis de contaminação, pode haver alta concentração de patógenos no trato digestivo ou fluidos peritoniais do peixe, podendo contaminar a carne e outras partes comestíveis se os padrões de higiene das operações forem inadequados, constituindo um fator de risco ao consumidor, o que torna o trabalho de evisceração uma tarefa importante.

Tabela 10. Porcentagem (%) dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes da água de lavagem da cavidade abdominal de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues (PP), do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

NMP.100 mL ⁻¹	% - Coliformes Termotolerantes	
	Seca	Chuva
0 – 1,0 x 10 ³	100% (30/30)	80% (24/30)
>1,0 x 10 ³	0% (0/30)	20% (6/30)

Microbiologia da musculatura com pele

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para as quantificações de microrganismos aeróbios mesófilos, de microrganismos aeróbios psicrotróficos e para a contagem das bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. com valores médios de 3,45 Log UFC/g, 2,52 Log UFC/g e 1,88 Log UFC/g, respectivamente, no período da seca, e de 4,09 Log UFC/g, 2,65 Log UFC/g e 2,23 Log UFC/g, respectivamente, no período das chuvas. No período das chuvas os valores médios foram mais elevados, levando a crer que esse período exerce influência no aumento dos microrganismos pesquisados (Tabela 11).

Tabela 11. Médias dos valores das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp., da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	n	Mesófilos (Log10)	Psicrotróficos (Log10)	<i>Pseudomonas</i> spp. (Log10)	<i>Aeromonas</i> spp. (Log10)
Seca	30	3,45 ^a	2,52 ^a	1,88 ^a	1,23 ^a
Chuva	30	4,09 ^b	2,65 ^b	2,23 ^b	1,21 ^a

Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna e dentro do mesmo pesque-pague, não diferem estatisticamente, 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Embora a ANVISA (BRASIL, 2001) não estabeleça limites para microrganismo mesófilos e psicrotróficos como indicadores da qualidade do pescado, é importante que se façam tais análises, uma vez que níveis elevados podem reduzir a vida útil do pescado (KIRSCHNIK; VIEGAS, 2004) e até mesmo representar risco para a saúde do consumidor.

O limite máximo aceitável de segurança para as estimativas de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas na musculatura com pele do pescado,

adotadas conforme padrões internacionais são de 10^7 UFC/g (ICMSF, 1986). Neste sentido, observou-se que todas as amostras atendiam a esta especificação, independente do período, mas isso reflete apenas o esperado, pois a citada cifra constitui um limite que não deve ser ultrapassado.

Borges et al. (2006), avaliando a musculatura com pele de corvinas (*Micropogonias furnieri*) recém capturadas, observaram contagem de 2,9 Log UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas, média esta menor que a detectada neste trabalho. Para os microrganismos aeróbios psicrótróficos houve concordância com os resultados encontrados neste trabalho, com estimativas muito próximas, de a 2,0 Log UFC/g,

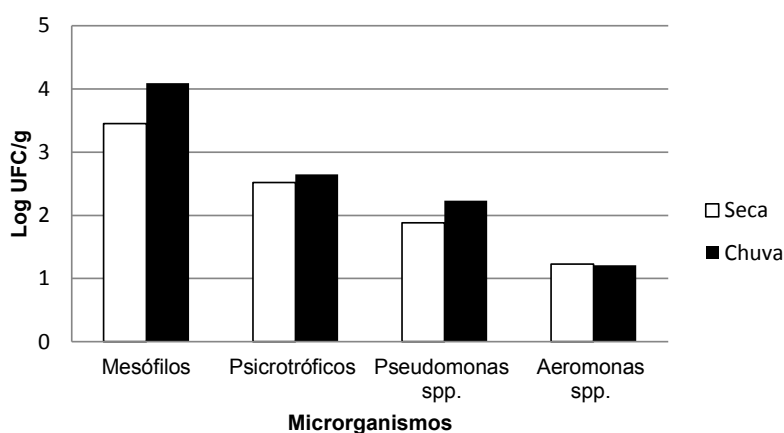


Figura 11. Distribuição das médias das populações de bactérias aeróbias mesófilas, de psicrótróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Já, para as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os períodos analisados para os resultados das amostras da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, porém no período da seca o valor médio foi um pouco mais elevado (1,23 Log UFC/g) que o observado para o período das chuvas (1,21 Log UFC/g) (Figura 11).

Castilho (2012), ao avaliar a qualidade microbiológica da superfície e musculatura de tilápia do Nilo produzidas no sistema de tanque rede, no período do verão e do inverno, verificou que 12,5% (81/650) das amostras

estavam contaminadas com *Aeromonas* spp., sendo que no inverno foram registradas 15,1% (53/350) e no verão foram identificadas 9,3% (28/300) de amostras contaminadas. Esse mesmo autor, investigando a presença de *Pseudomonas* spp., constatou que entre as 650 amostras de pescado avaliadas, 5,2% (34/4,6) estavam contaminadas com essa bactéria, sendo que no inverno foram identificadas 5,3% (16/300) e no verão 5,14(18/350) amostras.

Assim, tais resultados são completamente discordantes encontrados neste trabalho, uma vez que foram identificadas bactérias dos gêneros *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp. em 100% das amostras. Essas diferenças podem, em parte, serem atribuídas à forma de criação dos peixes, visto no sistema de tanques-rede ocorre maior controle da qualidade da água, assim como o fornecimento adequado de ração e o acompanhamento técnico em relação à sanidade dos animais, além do controle da densidade populacional; situações que se contrapõem às observadas na realidade dos pesque-pagues.

Rodrigues et al. (2010) pesquisaram a ocorrência de *g* spp. em tilápias cultivadas em três diferentes pisciculturas do Rio de Janeiro. Seus resultados evidenciaram a presença dessas bactérias em 62,9% das amostras da piscicultura A, 25,5% de B e 11,5% de C, sendo que o resultado da piscicultura A foi o mais próximo ao obtido no presente estudo.

Nos trabalho realizados por Ali; Karunasagar (1992), Rall et al. (1998) e Britto et al. (2007) fica evidenciada a importância das bactérias o gênero *Aeromonas* spp. como agentes diretos atuantes no processo de deterioração de peixes.

De acordo com Tripathy et al. (2007), as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. estão frequentemente associadas aos peixes e têm sido isoladas a partir de amostras de pele, guelras e intestino. A sua carga é explicada pela densidade da população em água, diretamente proporcional a essa.

Na avaliação da presença de coliformes termotolerantes nas amostras da musculatura com pele notou-se que, tanto para o período da seca quanto no período das chuvas, 100% (30/30) das amostras estavam com valores de até

$1,0 \times 10^3$ NMP. 100 g^{-1} , portanto, abaixo do limite recomendável para a qualidade da água (Tabela 12).

Tabela 12. Porcentagem dos resultados do NMP de coliformes termotolerantes da musculatura com pele de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

NMP.100 g^{-1}	% - Coliformes Termotolerantes	
	Seca	Chuva
0 – $1,0 \times 10^3$	100% (30/30)	100% (30/30)
> $1,0 \times 10^3$	0% (0/30)	0% (0/30)

Os resultados aqui encontrados concordam com os obtidos por Jasset et al. (2011), que avaliaram a eficiência da lavagem do atum para o controle microbiológico, evidenciando que após esse processo houve redução de 100% de coliformes termotolerantes, com ênfase para resultados mais satisfatórios e seguros para a comercialização do produto. Os dados de Bartolomeu et al. (2011), analisando a contaminação da água de recepção e lavagem de tilápias para a presença de coliformes totais e *Escherichia coli* observaram valores variando de 2,2 a $> 23,0 \text{ NMP.100 mL}^{-1}$, demonstrando ser esse um ponto importante de contaminação do pescado caso não sejam realizados procedimentos adequados.

De acordo com Boari et al. (2008) a ecologia bacteriana dos produtos da pesca está ligada a fatores ambientais, como a poluição da água, a qualidade da alimentação dos peixes, aos procedimentos de higiene do abate, manipulação, transporte, comercialização e às condições de armazenamento. Na aquicultura de água doce, a carga microbiana na água utilizada para o cultivo está estreitamente ligada a vários fatores, tais como a ecologia bacteriana de abastecimento de água, o ambiente (ar e contaminação por dejetos animais), aos alimentos fornecidos para os peixes, do solo e do lençol freático. Assim, a carga microbiana do intestino de peixes e tegumento depende também desses fatores.

Pode-se observar que, comparada a outros resultados, houve redução nas estimativas microbiológicas das amostras de musculatura com pele das tilápias do Nilo. Esse fato pode ser explicado principalmente pela lavagem da superfície corporal dos peixes com solução tampão para obtenção das

amostras anteriores. Mesmo assim, os resultados foram consideráveis e merecem a devida atenção no sentido de que evidenciam que o processo de lavagem do pescado com água de boa qualidade interferiu positivamente na qualidade do produto final.

Microbiologia dos filés

Observou-se que, na quantificação dos microrganismos aeróbios mesófilos o momento zero hora foi o que apresentou a maior contagem, tanto no período das chuvas quanto na seca. Com o decorrer das horas de estocagem refrigerada dos filés, ocorreu redução de 3,12 Log UFC/g em zero hora para 2,77 Log UFC/g em 72 horas para o período das chuvas, e de 2,98 Log UFC/g para 2,41 Log UFC/g para o período da seca (Tabela 13).

Para os microrganismos aeróbios psicotróficos, como esperado em função da temperatura de refrigeração, ocorreu inversão do que foi descrito para os aeróbios mesófilos, ou seja, no momento zero hora de avaliação os valores encontrados foram de 2,66 Log UFC/g aumentando para 3,45 Log UFC/g em 72 horas para o período das chuvas, e de 2,28 Log UFC/g para 2,87 Log UFC/g para o período da seca. Comportamento semelhante ocorreu com as estimativas para as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., verificando-se no momento de análise designado como zero o valor encontrado no período das chuvas foi de 1,70 Log UFC/g. Com o passar das horas, ou seja, às 72 horas, houve multiplicação que resultou na contagem de 3,02 Log UFC/g, enquanto que no período da seca o valor médio no primeiro momento foi de 1,62 Log UFC/g e para 72 horas de armazenamento em gelo sob refrigeração foi de 2,53 Log UFC/g.

Tabela 13. Médias dos valores das populações de Bactérias Aeróbias Mesófilas, de Psicotróficas e de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. dos filés de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período	Tempo (horas)	n	Mesófilos (Log10)	Psicotróficos (Log10)	<i>Pseudomonas</i> spp. (Log10)	<i>Aeromonas</i> spp. (Log10)
Seca	0	30	2,98	2,28	1,62	0
	24	30	2,82	2,48	2,10	0
	48	30	2,62	2,68	2,31	0
	72	30	2,41	2,87	2,53	0
Chuva	0	30	3,12	2,66	1,70	0,57
	24	30	2,97	2,98	2,33	0,25
	48	30	2,86	3,25	2,79	0,14
	72	30	2,77	3,45	3,02	0,11

Para as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. houve uma redução de 0,57 Log UFC/g no momento zero hora para 0,11 Log UFC/g em 72 horas no período das chuvas, enquanto que, para o período da seca não foi detectada sequer a presença desses microrganismo nos filés.

A legislação brasileira não determina valor padrão para microrganismos aeróbios mesófilos nem para microrganismos aeróbios psicotróficos, mas, quando esses valores se encontram no intervalo entre 6 Log e 8 Log UFC/g, de acordo com FRANCO; LANDGRAF; 2008, podem aparecer alterações organolépticas detectáveis nos alimentos.

Martins et al. (2002) estudaram aspectos sanitários de pescados comercializados em pesque-pagues da cidade de Toledo (PR). Observaram que a contagem de microrganismos psicotróficos para filé de tilápia variou de 3,01 Log UFC/g a 5,76 Log UFC/g, valores semelhantes aos encontrados neste trabalho, enquanto que Bartolomeu et al. (2011), verificando esses mesmos microrganismos em filés de tilápias, encontraram variação de 6,63 a 7,41 Log UFC/g, valores esses muito superiores ao registrados neste trabalho.

Embora as bactérias do gênero *Pseudomonas* não sejam contempladas na RDC nº12 (BRASIL, 2001), com padrões microbiológicos para alimentos, a *International Commission on Microbiological Specification for Food - ICMSF* (1996) preconiza como valor máximo até 7 Log UFC/g para o pescado in natura, estando os resultados dentro desse parâmetro, mais uma vez

ressaltando que tal cifra refere-se a limite superior indesejável.

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 (secos ou salgados, em conserva, defumados, pré-cozidos, refrigerados ou congelados), considera-se aceitável um valor de até NMP.100 g^{-1} .

Bartolomeu (2011), analisando amostras de filé de tilápias observaram valores de 5×10^1 a $4,5 \times 10^3$, enquanto Alvares et al. (2008) pesquisaram amostras de atum e de pescado em diferentes estabelecimentos da cidade de São Paulo e verificaram coliformes totais entre 3,6 a $>1.100/\text{g}$. Tais resultados diferiram dos observados neste trabalho, pois não se evidenciou a presença de coliformes termotolerantes nos filés. Há que se ressaltar que as condições de manipulação e filetagem deste trabalho foram extremamente controladas, possivelmente diferindo muito da realidade do processamento usual do pescado.

Para a avaliação dos microrganismos aeróbios mesófilos, notou-se que ocorreu uma diminuição ao longo do tempo de armazenamento dos filés, mas esse fato pode ser explicado principalmente pela temperatura ótima de multiplicação desses microrganismos, uma vez que o produto foi mantido em gelo e sob refrigeração. Pelos mesmos motivos, o contrário foi observado para os microrganismos aeróbios piscicróticos que se adaptam bem em baixas temperaturas (7°C), ou seja, condições em que o produto foi armazenado, proporcionando condições para a multiplicação desses microrganismos ao longo do tempo.

A contaminação inicial, associada às altas temperaturas, podem resultar no aumento da população de bactérias mesofílicas, as quais podem ser deteriorantes ou patogênicas, o que não ocorreu neste trabalho, confirmando a importância do uso de baixas temperaturas na conservação do produto.

As bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. têm relação direta com o processo de deterioração no pescado e nos seus produtos. De acordo com Nickeson, McCarthy e Finne (2001) o prazo de vida comercial dos peixes é determinado pela quantidade e pelo tipo de bactérias presentes. Grande parte

do processo de deterioração do pescado ocorre pela ação destes microrganismos e, de acordo com esses autores, as *Pseudomonas* possuem grande capacidade de multiplicação ou de metabolização de moléculas proteicas.

As bactérias do gênero *Aeromonas* spp. são capazes de sobreviver e se multiplicar em uma variedade de produtos alimentícios armazenados entre -2 e 10°C. Devido a essa característica psicrófila, o armazenamento sob refrigeração não é um método suficiente para a prevenção da transmissão dessa bactéria pelos alimentos (CASTRO-ESCARPULLI et al., 2003; FRANCO; LANDGRAF, 2008). Nesta pesquisa essa bactéria esteve presente no limo, nas brânquias, na água da lavagem de cavidade abdominal, na musculatura com pele e nos filés (nos tempos 0, 24, 48 e 72 horas), principalmente no período das chuvas, enquanto que se conseguiu inibir a contaminação e consequente multiplicação nos filés no período da seca.

A presença de coliformes termotolerantes é indicativa da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, incluindo a poluição por material fecal. Percentuais elevados podem significar matéria-prima contaminada, limpeza e sanitização deficiente de equipamentos, contaminação pós-processamento, tratamento térmico ineficiente ou multiplicação durante o processamento ou estocagem, fatos que não correspondem a esta pesquisa em que todas as amostra não apresentaram contaminação, deduzindo-se que o processamento foi adequado.

Segundo Pacheco et al. (2004), populações bacterianas mesófilas e psicrófilas elevadas são indicativo de contaminação durante a captura e beneficiamento, podendo indicar condições relacionadas ao frescor, levando a alterações sensoriais. Nos filés de peixes existe um grande potencial de contaminação em todas as etapas, desde a despesca, o abate, o processamento e o armazenamento, principalmente por instalações inadequadas e manipuladores despreparados. Normas de boas práticas existentes devem ser seguidas, assim como novos estudos devem sempre ocorrer para diagnosticar, constatar e propiciar a resolução de eventuais problemas detectados, uma vez que a carga microbiana e a qualidade do produto final é resultante direto dos processos citados.

Populações microbianas de diferentes partes de tilápias oriundas de pesque-pagues do Estado de São Paulo

Tanto no período da seca quanto no período das chuvas, maiores populações de microrganismos em Tilápias do Nilo, foram observadas em ordem decrescente a partir de amostras do limo superficial do corpo dos peixes, água da lavagem de cavidade abdominal, brânquias e musculatura com pele, o que pode sugerir possível contaminação cruzada na obtenção dos produtos (Tabela 14, Figura 12).

Tabela 14. Médias das populações microbianas de diferentes amostras de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues, do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Período da seca					Log UFC/g			
Microrganismos	Limo	Brânquias	LCA	MP	Filé			
					Zero hora	24 horas	48 Horas	72 horas
Mesófilos	5,57	4,61	5,07	3,45	2,98	2,82	2,62	2,41
Psicrotróficos	3,41	2,83	2,95	2,52	2,28	2,48	2,68	2,87
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,75	2,48	2,62	1,88	1,62	2,10	2,31	2,53
<i>Aeromonas</i> spp.	2,61	2,21	2,28	1,23	0	0	0	0
Período das chuvas								
Mesófilos	5,99	5,41	5,89	4,09	3,12	2,97	2,86	2,77
Psicrotróficos	3,91	3,46	3,46	2,65	2,66	2,98	3,25	3,45
<i>Pseudomonas</i> spp.	3,22	2,99	3,07	2,23	1,70	2,33	2,79	3,02
<i>Aeromonas</i> spp.	2,10	1,82	2,25	1,21	0,57	0,25	0,14	0,11

Junior (2011), quando avaliou amostras de tilápias do Nilo “in natura” estocadas em gelo, provenientes de supermercados da região nordeste do Estado de São Paulo, relatou que a carga bacteriana foi maior na pele em relação ao trato gastrointestinal e ao músculo, dados estes que concordam com os obtidos neste trabalho.

Baixos índices de contaminantes encontrados nas brânquias e pele de pescado normalmente são associados às águas limpas e frias. Os índices mais elevados são registrados para as águas tropicais e áreas poluídas (WARD, 1994; CARDOSO; ANDRÉ; SERAFINI, 2003; MORITA, 2005), enquadrando os resultados encontrados nesse trabalho, visto que os peixes são oriundos de áreas que são caracterizadas como de clima tropical.

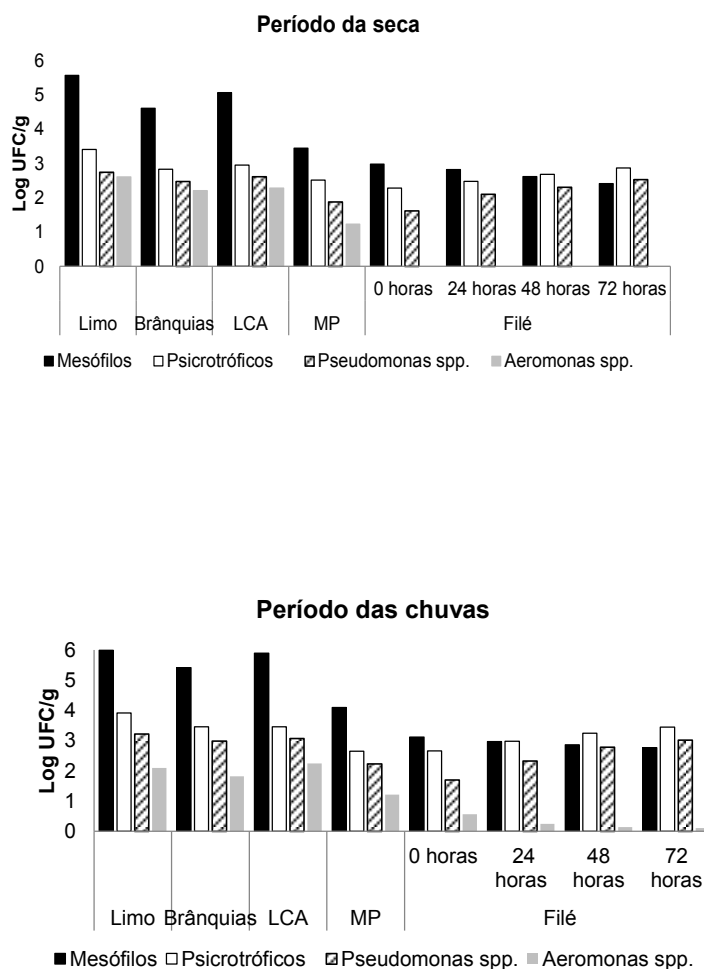


Figura 12. Distribuição das populações microbianas de diferentes amostras de tilápias do Nilo provenientes de pesque-pagues do Estado de São Paulo, nos períodos de seca (2013) e das chuvas (2014).

Independente do período notou-se que ocorre comportamento semelhante dos diferentes microrganismos analisados (Figura 13), no qual ficou evidente que no período das chuvas ocorreu maior contaminação quando comparado ao período da seca nos diferentes materiais analisados. Por mais que se tomem cuidados nos processos de captura, abate, processamento e armazenamento, de acordo com LISTON (1980), toda contaminação encontrada nos produtos pode ser atribuída a falhas em algum dos pontos da cadeia produtiva, podendo carrear patógenos e resultar em doenças

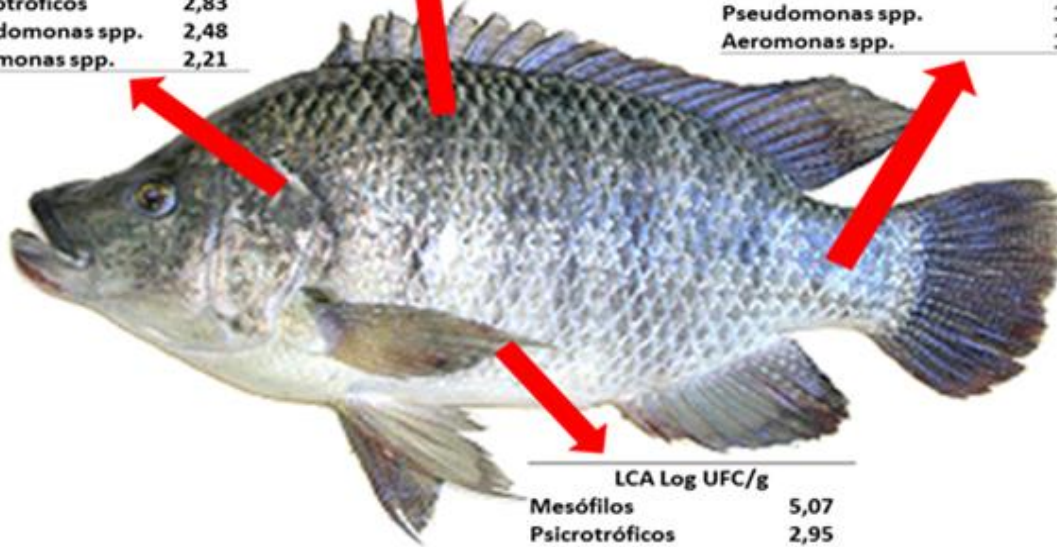
transmitidas por alimentos (DTAs).

Período da seca

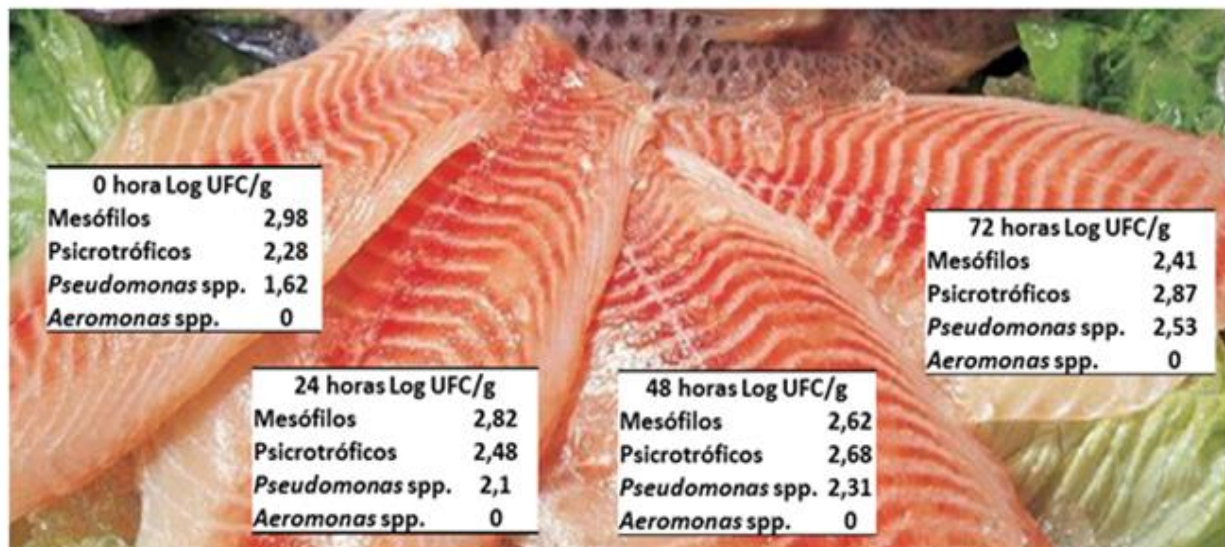
BRÂNQUIAS Log UFC/g	
Mesófilos	4,61
Psicrotróficos	2,83
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,48
<i>Aeromonas</i> spp.	2,21

LIMO Log UFC/g	
Mesófilos	5,57
Psicrotróficos	3,41
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,75
<i>Aeromonas</i> spp.	2,61

MUSCULATURA COM PELE Log UFC/g	
Mesófilos	3,45
Psicrotróficos	2,52
<i>Pseudomonas</i> spp.	1,88
<i>Aeromonas</i> spp.	1,23



LCA Log UFC/g	
Mesófilos	5,07
Psicrotróficos	2,95
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,62
<i>Aeromonas</i> spp.	2,28



0 hora Log UFC/g	
Mesófilos	2,98
Psicrotróficos	2,28
<i>Pseudomonas</i> spp.	1,62
<i>Aeromonas</i> spp.	0

24 horas Log UFC/g	
Mesófilos	2,82
Psicrotróficos	2,48
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,1
<i>Aeromonas</i> spp.	0

48 horas Log UFC/g	
Mesófilos	2,62
Psicrotróficos	2,68
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,31
<i>Aeromonas</i> spp.	0

72 horas Log UFC/g	
Mesófilos	2,41
Psicrotróficos	2,87
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,53
<i>Aeromonas</i> spp.	0

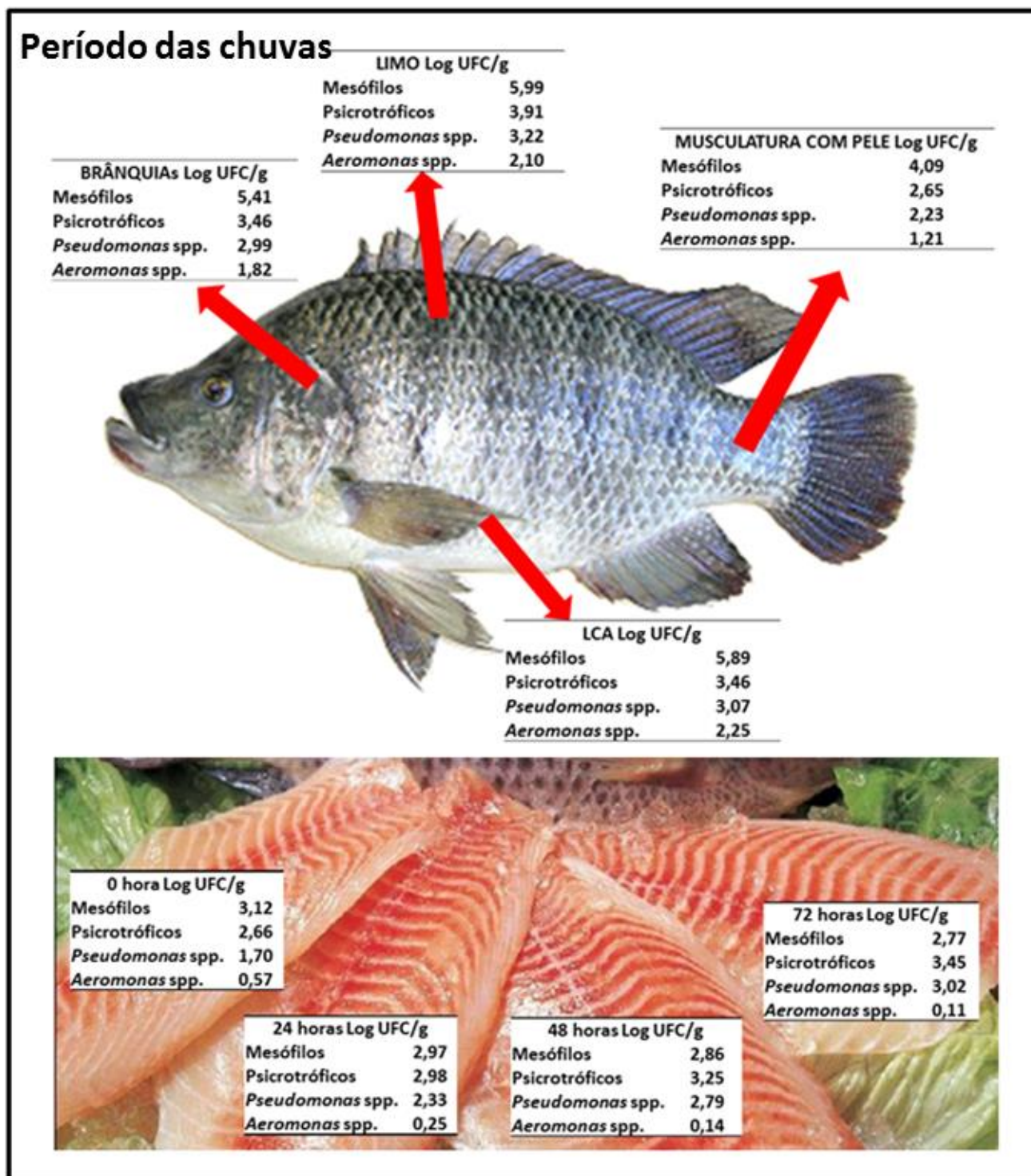


Figura 13. Populações microbianas de diferentes partes de tilápias do Nilo oriundas de pesque-pagues do Estado de São Paulo, no período da seca (2013) no período das chuvas (2014).

As DTAs podem causar danos à saúde do consumidor, assim como grande perda econômica na cadeia produtiva de alimentos e aos sistemas de saúde. Esses agravos são frequentemente noticiados e, mesmo assim, ainda ocorrem muitos casos que não são diagnosticados nem notificados, gerando a subnotificação, principalmente no Brasil, onde o sistema de saúde é despreparado em relação às tomadas de medidas corretivas e preventivas das DTAs. O aparecimento das infecções e intoxicações alimentares associadas aos serviços de alimentação está ligado às condições higiênicas e sanitárias e ao baixo índice de conhecimento de boas práticas de manipulação. A maioria das doenças transmitidas por alimentos não é notificada, assim, surtos de doenças transmitidas por alimentos podem assumir proporções gigantescas (WHO, 2010).

O consumo de comida preparada de acordo com cultura oriental tem crescido muito, principalmente a partir do ano 2000 no Brasil. Entre os diferentes pratos, destaca-se o consumo de peixe cru, podendo ser de diferentes espécies, entre elas a tilápia do Nilo. O presente estudo demonstrou que existe a contaminação de diferentes microrganismos em diferentes etapas do processo, e que esses resultados estão diretamente relacionados com a contaminação cruzada, podendo resultar em agravos à saúde do consumidor, tornando-se uma preocupação à saúde pública, visto que tais tipos de comida não passam por processamento pelo calor, que entre outras funções destroem células vegetativas de microrganismos.

Na análise de diversos alimentos, como queijo, frango, peixe, camarão, salame, salsicha e presunto, Kingombe et al. (2004) verificaram que a maior contaminação por *Aeromonas* spp. foi observada em alimentos crus - de 63%, e em especial os peixes - com 83%. Nesta pesquisa, apesar dos cuidados, foram detectadas amostras de filé contaminadas com *Aeromonas* spp., sendo que esse microrganismo pode ser patogênico para o ser humano.

Itoh et al. (1999) descreveram um caso, em 1998, ocorrido no Japão, em um homem de 49 anos, com cirrose hepática por abuso de álcool, que apresentou febre repentina e dor nos músculos esqueléticos, sendo então internado. Após três dias o paciente teve morte por falência de múltiplos órgãos, provavelmente devido a uma septicemia. Os exames de sangue e

fluidos corporais detectaram a presença de *Aeromonas sobria*. O paciente havia consumido sushi que continha peixe cru um dia antes de apresentar os primeiros sintomas, considerando essa a provável via de contaminação.

Na pesquisa realizada por Resende (2004), avaliando 87 pratos de sushi ou sashimi preparados a partir de salmão, robalo e atum adquiridos de oito restaurantes de Brasília/DF, verificou-se contaminação com coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação brasileira, 10^2 NMP.100 g⁻¹ (BRASIL, 2001) em 25% das amostras.

Neste trabalho nenhum dos filés apresentou-se contaminado por coliformes termotolerantes, concordando com os resultados de BASTI et al. (2006) que não observaram contaminação termotolerantes em peixes recém capturados, concordando também com a assunção de que esses microrganismos não fazem parte da microbiota natural de peixes, sendo sim decorrentes de falhas no processo de higiene durante a manipulação.

Em abril de 2012, o CDC anunciou que no mínimo 100 pessoas ficaram doentes devido a um surto de *Salmonella* e que o enteropatógeno foi associado a pratos de sushi em vários estados americanos. Ressaltou ainda que vítimas desses episódios não são computadas nos casos oficiais, fazendo com que haja a possibilidade do número de casos ou surtos ser bem maior.

De acordo com o Serviço de Vigilância Sanitária /MS (2009), entre os anos de 1999 a 2008 foram diagnosticados, no Brasil, 6.602 surtos de DTAs, com um total de 117.330 casos e 64 óbitos. De acordo com esse relato o pescado estaria associado à 1,05% (69/6.602) desses casos, com 84% causados por bactérias patogênicas e suas toxinas. Deve-se enfatizar a importância do pessoal que realiza a despesca, o abate, a manipulação e que armazena o pescado pois, muitas vezes, são os responsáveis pela contaminação do produto em função do despreparo para a atividade que desenvolvem.

6. CONCLUSÃO

A maior parte dos resultados obtidos neste estudo permitiu concluir que o período das chuvas, por suas características, foi capaz de exercer influência negativa de modo significativo na qualidade da água e, conseqüentemente, na qualidade do pescado criado ou mantido em tanques de pesque-pagues do estado de São Paulo, quando comparada a essas mesmas características ou parâmetros avaliados nos mesmos locais, mas no período da seca.

O abate por destruição cerebral mostrou-se como uma boa técnica de abate, mostrando-se capaz de reduzir o sofrimento e esgotamento do peixe no pré-abate, evidenciada pelo tempo relativamente longo para espécie bastante ativa, de cinco horas após a despesca para instalação plena do rigor-mortis, independentemente do período avaliado.

A detecção ou quantificação de diferentes grupos ou gêneros de bactérias nesse estudo, incluindo potenciais agentes patogênicos em diferentes partes ou etapas do processamento do pescado, sugere possível transferência e contaminações cruzadas, também correlacionadas aos diferentes períodos das chuvas e da seca, reafirmando que rigorosos códigos de práticas e procedimentos devem qualificar todos os responsáveis por atividades que permeiam toda a cadeia produtiva, desde o alojamento e manutenção na origem, a captura, o abate, a manipulação e o processamento de peixes oriundos de pesque-pagues, antes do consumo, para assegurar a qualidade dos mesmos, diminuir a probabilidade de eventuais riscos e evitar a transferência de bactérias potencialmente patogênicas aos seres humanos.

7. REFERÊNCIAS

ADEWOYE, S. O.; ADEGUNLOLA, G. A. Microbiological investigation of selected organs of *Clarias gariepinus* exposed to wastewater from a detergent factory. **Advances in Applied Science Research**. Rajasthan. v.1, p. 9-13. 2010.

AL-HARBI, A. H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. **Aquaculture Research**, Malden, v. 34, n. 7, p. 517 - 524, 2003.

AL-HARBI, A. H.; UDDIN, M. N. Microbiological quality changes in the intestine of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis. Aureus*) in fresh and frozen storage condition. **Letters in Applied Microbiology**. Arábia Saudita, v. 40, p. 486-490, 2005.

ALI, A.; KARUNASAGAR, I. Bacteriological changes during iced storage of the tropical fresh water carp *Labeo rohita*. **Fisheries Research**. Salt Lake Cit, v.13, p.189-197, 1992

ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; VAL, A. L.; LESSI, E. Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p.698-704, 2005.

ANGELOCCI, L. R.; VILLA NOVA, N. A. Variações da temperatura da água de um pequeno lago artificial ao longo de um ano em Piracicaba-SP. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n.3, p. 431-438, 1995.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20 ed., Washington, DC: Apha, 1998. 110p.

ANDREWS, W. H.; HAMMACK. T. S. **Pseudomonas**. In: Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual On-line. Chapter5, June, 2006.

ARANA, L. V. **Fundamentos de aquicultura**. Florianópolis: Editora Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 349p.

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciências Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2250 - 2255, 2008.

BARBIERI, P. R. B.; RAO, V. B.; FRANCHITO, S. H. **Estudo do Início e Fim da Estação Chuvosa na Região Sudeste do Brasil**. INPE: São José dos Campos, 2003.

BARCELLOS, C. M.; ROCHA, M.; RODRIGUES, L. S.; COSTA, C. C.; OLIVEIRA, P. R.; SILVA, I. J.; JESUS, E. F. M.; ROLIM, R. G. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999-2000. **Caderno de. Saúde Pública**, v.22, n.9, p.1967-1978, 2006.

BARTOLOMEU, D.A.F.S.; DALLABONA, B.R.; MACEDO, R.E.F.; KIRSCHNIK, P.G. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science**. Paraná. v.16, n.1, p.21-30, 2011.

BASTI, A.A.; MISAGHI, A.; SALEHI, T.Z.; KAMKAR, A. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. **Food Control**. v.17, p.183-188.2006.

BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M. **Processamento e industrialização de moluscos**. In: Seminário e Workshop “Tecnologia para Aproveitamento Industrial de pescado”, Campinas, Resumos, Campinas, ITAL, p. 38-84, 2000.

BERKEL, B. M., BOOGAARD, B., HEIJNEN, C. **Conservação de peixe e carne**. 1^o ed. Fundação Agromisa: Wageningen, 2005., 97p.

BITO, M.; YAMADA, K.; MIKUMO, Y.; AMANO, K. Studies on rigor mortis of fish. I. Difference in the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's method. Bull. **Tokai Regional Fisheries Research Laboratory**. v. 109, p. 89-96, 1983.

BOARI, C.A.; PEREIRA, G.I.; VALERIANO, C.; SILVA, B.C.; MORAIS, V.M.; CESAR, P.; PICCOLI, R.H. Ecologia bacteriana de filés frescos de tilápia e alguns fatores que podem influenciar a sua qualidade microbiana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.28, n.4, p.863-867, 2008.

BORGES, A.; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R.M. et al. Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) inteira em diferentes períodos de estocagem à temperatura de 0°C. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. Niterói. v.13, p.194-196, 2006.

BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. A cadeia produtiva da aquicultura brasileira. In: VALENTI, W. C. et al. **Aqüicultura no Brasil**, Brasília: CNPq, 2000. p. 107-142.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Pond aquaculture water quality anagement**. Massachussets: Kluwer Academic Publishers. 1998.

BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. A cadeia produtiva da aquicultura brasileira. In: VALENTI, W. C. et al. **Aqüicultura no Brasil: bases para um**

desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq. Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000, p. 106.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária.** 3. ed. São Paulo: CETESB/ASCETESB, 1986, p. 640.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto 30691 de 29 de março de 1952 que aprovou o **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**, alterado pelos Decretos nº 29093 de 30 de abril de 1956, nº Decreto 1255 de 25 de junho de 1962, nº 1236 de 2 de setembro de 1994, nº 1812 de 8 de fevereiro de 1996 , nº 2244 de 4 de junho de 1997, nº 6385 de 27 de fevereiro de 2008 e nº 7216 de 17 de junho de 2010; Brasília. 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria 185 de 13 de maio de 1997 que aprova o **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)**. Brasília, 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº12, 2 jan. 2001. Aprova o **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 15 out. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária de Abastecimento. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Oficializado pela Instrução Normativa DAS nº62 de 26 de agosto de 2003. Brasília-DF, 2003.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Panorama da qualidade das águas superficiais no Brasil** / Agência Nacional de Águas, Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos. – Brasília, 2005a.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Turismo e o Lazer e sua interface com os Recursos Hídricos/** Agência Nacional de Águas, Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos. – Brasília, 2005b.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA (2005c). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.** Diário Oficial da União, Brasília. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/>. Acesso em 05 de jan. de 2015.

BRASIL. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. **Boas práticas de manipulação de pescado.** Brasília: SEAP, 2007. BRASIL. Ministério da Pesca. Disponível em: http://www.mpa.gov.br/#imprensa/2010/AGOSTO/nt_AGO_19-08-Producao-de-pescadoaumenta.consultado>. Acesso em: 23 dez. 2014.

BRASIL. SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA (SEAP). **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer.** 2008. Disponível em: http://tuna.seap.gov.br/legislacao/AQUICULTURA_COMPLETO.pdf. Acesso em 25/01/2014.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Produção de Pescado Aumenta 25% nos últimos oito anos.** 2010a- Disponível em: http://www.mpa.gov.br/#imprensa/2010/AGOSTO/nt_AGO_19-08-Producao-de-pescado-aumenta> Acesso em: 27/09/2014.

BRASIL. Ministério do Turismo. **Turismo de pesca: Orientações básicas.** 2010b. Disponível em: http://www.turismo.gov.br/export/sites/default/turismo/o_ministerio/publicacoes/downloads_publicacoes/Turismo_de_Pesca_Versxo_Final_IMPRESSxO_.pdf > Acesso em: 06/01/2015.

BREMER P.J., FLETCHER C.G.; OSBORNE C. *Aeromonas* spp. in seafood. New Zealand. **Institute for Crop & Food Research**, Christchurch. 6p.2003.

BRITTO, E.N.; LESSI, E.; CARDOSO, A.L. et al. Deterioração bacteriológica do jaraqui, *Semaprochilodus* spp. capturado no Estado do Amazonas e conservado em gelo. **Acta Amazonica**. Manaus. v.37, p.457-464, 2007

CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M. C. D. P .B.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia-GO. **Revista Higiene Alimentar**. Mirandópolis: v.17, n. 109, p. 81 - 87, 2003.

CASTILHO, I.G. **Qualidade microbiológica do ambiente e da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzida em sistema de tanques-rede no reservatório de Chavantes, SP**. 57 F. Dissertação (Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, 2012.

CASTRO-ESCARPULLI, G.; FIGUEIRAS, M. J.;AGUILERA-ARREOLA, G.; SOLER, L.; FERNÁNDEZRENDÓN,E.; APARICIO, G. O.; GUARRO, J.;CHACÓN, M. R. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. **International Journal of Food Microbiology**, v.84, p.41-49, 2003.

CAVALCANTI, I. F. A.; FERREIRA, N. J.; KOUSKY, V. E. **Análise de um caso de atividade convectiva associada a linhas de instabilidade na Região Sul e Sudeste do Brasil**. INPE-2574-PRE/222, 1982.

COCHE, A.G. Cage culture of tilapia. In: Pullin, R.S.V. and R.H. Lowe McConnel (Ed.). **Biology and culture of tilapias**. Manila: ICLARM. p. 205-246. 1982.

COLAVITTI, F.. Paixões nacionais. **Revista Galileu**, Nacional, Vol. 187, Número do Fascículo, Fev. 2007. Disponível em: <http://revistagalileu.globo.com/Galileu/0,6993,ECT816433-3570,00.html>.

Acesso em: 21 dez. 2014.

ÇELIK, M.; DILER, A.; KÜÇÜKGÜLMEZ, A. A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. **Food Chemistry**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 637-641, 2005.

COLWELL, R.R.; MACDONELL, M.T.; DELEY, J. Proposal to recognize the family Aeromonadaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v 36, n. 3, p. 473 – 477, 1986

CONTRERAS, E. S. G. **Bioquímica de Pescados e Derivados**. FUNEP, Jaboticabal, 1994.

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. **Psychrotrophic microorganisms**. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 14^{ed}. American Public Health Association, 2001. Cap. 13, p. 159- 166.

CYRINO, J. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: Editora TecArt, 2004. 533 p.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4rd. ed., Washington, American Public Health Association, 2001. 676 p.

ELER, M.N.; CECCARELLI, P.S.; BUFON, A.G.M.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Mortandade de peixes (matrinxã, *Brycon cephalus*, e pacu, *Piaractus mesopotamicus*) associada a uma floração de cianobactérias em pesque-

pague, município de Descalvado, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim Técnico do CEPTA**, v. 14, p. 35-45, 2001.

ELER, M. N.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ESPÍNDOLA, E. A.; NOGUEIRA, A. M.; MILANI, T. J. Avaliação sócio econômica dos empreendimentos de pesque-pague. In: ELER, M. N.; ESPÍNDOLA, E. L. G. (Ed.). **Avaliação dos impactos de pesque-pague: uma análise da atividade na bacia hidrográfica do rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: Rima, p. 29-77, 2006.

ESPOSTO, E. M.; SILVA, W. C. P.; REIS, C. M. F.; REIS, E. M. F.; RIBEIRO, R. V.; RODRIGUES, D. P.; LÁZARO, N. S. Enteropatógenos bacterianos em peixes criados em uma estação de reciclagem de nutrientes e no ecossistema relacionado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro. v. 27, n. 4, p. 144-148, 2007.

FIRETTI, R.; SALES, D. S. Anualpec. São Paulo: FNP Consultoria e Agro Informativos. São Paulo, Brasil. **Anualpec**, p. 320-328, 2002.

FONTES, M.C; ESTEVES A.; CALDEIRA F.; SARAIVA, C; VIEIRA-PINTO, M; MARTINS, C. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte v.59, n.5, p.1308-1315, 2007.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M., DESTRO, M. T. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2005.p 27-171.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 182p., 2008.

FRESCO, J. P. **Ingeniería, autocontrol y auditoría de la higiene en la industria alimentaria**. Mundi-Prensa Libros.2004.

GALVÃO, J.A. **Boas práticas de fabricação: da despesca ao beneficiamento do Pescado 2010.** Disponível em: <http://www.simcope.com.br/II_Simcope/pdf/oficina_juliana_galvao.pdf>.

Acesso em: 15 Jan., 2015.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo: Varela, 2003. p. 204-208.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado:** Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. Ed. Atheneu, 2011, p. 7.

GUAHYBA, A. S. **Microrganismos Deteriorantes.** Centro Universitário - UNIVATES, Lajedo, RS. 2003. (Apostila Técnico em Química).

GUZMÁN, M. C.; BISTONI, M. A.; TAMAGNINI, L. M.; GONZÁLEZ, R. . Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. **Water Research**, v. 38, n. 9, p.2368-2374, 2004.

HUBER, I.; SPANGGAARD, B.; APPEL, K.F.; ROSSEN, L.; NIELSENAND, T.; GRAM, L. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). **Journal of Applied Microbiology**. Amsterdam v.96, n.1, p.117.2004.

HOLANDA, E. D.; RIBEIRO, L. P.; LIMA, L. C. Estresse e sua importância para a piscicultura. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 203, p. 2368 -2374, 2000.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMFS). **Microorganisms in Foods. Sampling for microbiological analysis:Principles and specific applications.** 2 ed, London: Blackwell Scientifc Publications, 1986. p.127-278.

ITOH , H.; KUWATA , G.; TATEYAMA , S.; YAMASHITA , K.; INOUE , T.; KATAOKA , H.; IDO , A.; OGATA , K.; TAKASAKI , M. *Aeromonas sobria*

infection with severe soft tissue damage and segmental necrotizing gastroenteritis in a patient with alcoholic liver cirrhosis. **Pathology International**. Japão. v.49 , p.541 - 546 . 1999

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6^a ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre:Artmed, 2005. 712p.

JUNIOR, P.G. **Qualidade higiênica e sanitária de tilápias provenientes de cultivo, comercializadas no varejo**. 58 f. Dissertação (Mestre em aquicultura) – Centro de aquicultura da Unesp de Jaboticabal, São Paulo, 2011.

KING, G.E; WERNER, S.B; KIZER, K.W. Epidemiologia das infecções de *Aeromonas* em Califórnia, **Clinical Infectious Diseases** , 15 , 449-452, 1992.

KINGOMBE, C.I.B.; HUYS, G.; HOWARD, D.; LUTHI, E.; SWINGS, Y.; JEMMI, T. The usefulness of molecular techniques to assess the presence of *Aeromonas* spp. harboring virulence markers in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p.113-121, 2004.

KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.24, n.3, p.407-412, 2004.

KOZINSKA, A.; FIGUERAS, M. J.; CHACON, M. R.; SOLER, L. Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio*). **Journal of Applied Microbiology**, Amsterdam, n. 93, p. 1034-1041, 2002.

KUBITZA, F. Qualidade da Água na Produção de Peixes - Parte III (Final). **Panorama da Aquicultura**, vol.8, n.47, maio/junho, 1998. Disponível em:

<<http://projetopacu.com.br/public/paginas/206-panorama-da-aquicultura-qualidade-de-gua-parte-3.pdf>>. Acesso em 15 mar.. 2015.

KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de camarões e peixes**. 1.ed. Jundiaí: CIP-USP, 2003. 229 p.

LISTON, J. **Microbiology in fishery science**. CONNEL, J.J. Advances in fishery science and technology. Farnham, England. P.138-157. 1980.

LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e Salmonella spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo. 2003**. 93 f. Dissertação (Mestrado em epidemiologia experimental e aplicada às zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

LORENZON, C.S; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A.P; PINTO, F.R; SCHOLTEN, C.; HONDA, S.N; AMARAL, L.A. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em Pesque-pagues situados na Região Nordeste do Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v.77, n.4, p. 617-624, 2010.

MASSER, M. P.; CICHRA E.; GILBERT, R. J. Fee-fishing ponds: management of food fish and water quality. **Southern Regional Aquaculture Center**, v. 480, p. 1 - 8, 1993.

MELLO, C.A.; MENDES, E.S.; ALMEIDA FILHO, E.S.; LANZARIN, M.; LIRA, S.F.; AMERICANO, M.M.S. Qualidade microbiológica do *Brycon microlepis* (piraputanga) de cativeiro e capturado no rio Cuiabá-MT. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. Niterói. v.17, n.1, p.46-51. 2010.

MERCANTE, C. T. J.; COSTA, S. V.; SILVA, D.; CABIANCA, M. A.; ESTEVES, K. E. Qualidade da água em pesque-pague da região metropolitana de São Paulo (Brasil): avaliação através de fatores abióticos (período seco e chuvoso). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2005.

MATSUZAKI, M.; MUCCI, J. L. N.; ROCHA, A. A. Comunidade fitoplanctônica de um pesqueiro na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 679 - 686, 2004.

MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H.; SATO, M. I. Z.; SANCHEZ, P. S.; RIVERA, I. G.; MARTINS, M. T. Potentially pathogenic vibrios associated with mussels from a tropical region on the coast of Brazil, **Journal of Applied Bacteriology**, v. 77, p. 218 - 227, 1994.

MORITA, M. **Avaliação da qualidade sanitária e ocorrência de *Aeromonas* spp. em lagoas de pesque-pague da Região Metropolitana de São Paulo**. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Saúde Pública, USP- São Paulo, 2005.

NATARO J. P.; KAPER, J. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NICKELSON, R.; MCCARTHY, S.; FINNE, G. **Fish, crustaceans and precooked seafoods**. DOWNES, F. P>; ITO, K. Compendium of methods for microbiological examination of foods. 4 ed. Washington. APHA. 676 p.c. 48, p. 497-505. 2001.

NIMER, E. 1979. **Climatologia do Brasil**. v. 4, Superintendência de Recursos naturais e Meio Ambiente. 1979. 421 p.

OETTERER, M. Da piscicultura à comercialização- Técnicas de beneficiamento do pescado de água doce. **Série Produtor Rural**. n.7, 30p. 2002.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca. Ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Ed. Varela, v. 1, 430p, 1999.

OKURA, M. H.; SIQUEIRA, K. B. Enumeração de coliformes totais e coliformes termotolerantes em água de abastecimento e de minas. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 19, n. 135, p. 86 - 91, 2005.

OSTRENSKV, A.; W.A. BOEGER. **Piscicultura Fundamentos e Técnicas de Manejo**. Guaíba, Agropecuária (Ed.), 211 p. 1998.

PACHECO, T. A., LEITE, R. G. M., ALMEIDA, A. C., SILVA, N. M. O., FIORINI, J. E.. Análise de coliformes e bactérias mesófilas em pescado de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis. n.18, v. 116/117, p.68-72, 2004.

PÁDUA, H.B. **Informações sobre os coliformes totais/ fecais e alguns outros organismos indicadores, em sistemas aquáticos**. 2003. 19p. Disponível em: <www.pescar.com.br/helcias>. Acesso em: 13 dez. 2014.

PAL, D.; DASGUPTA, C. Microbial pollution in water and its effect on fish. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bethesda, v.4, n. 1, p.32–39, 1992.

PASQUALE, V.; BADOLA, S. B.; DUMONTET, S.; KROVACEK, K. Outbreak of *Aeromonas hydrophila* infection in turtles (*Pseudemys scripta*). **Applied Environmental Microbiology**., Washington, v. 60, n. 5, p. 1678 – 80, 1994.

PEZZATO, L.E.; SCORVO FILHO, J.D. **Situação atual da aquicultura na região sudeste**. In: VALENTI, W.C. (Ed.) Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq/Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. p.303-322

PIRES, A.V.; PEDREIRA, M. M.; PEREIRA, I.G.; JÚNIOR, A.F.; ARAÚJO, C.V. SILVA, L.H.S. Predição do rendimento e do peso do filé da tilápia-do-Nilo. **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 3, p. 315-319. 2011.

PIRNAY, J. P. et al. *Pseudomonas aeruginosa* biodiversity as reflected in a Belgian river. **Environmental Microbiology**, Malden, v. 7, n. 7, p. 969-980, 2005.

POLI, B.M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by preslaughter and slaughter management. **Aquaculture**

International, v.13, p.29- 49, 2005

POPOFF, M.; GENUS, I.I.I. *Aeromonas*. In: Bergey's **Manual of Systematic Bacteriology**, vol. 1. Baltimore (MD): Williams and Wilkins Co.; 1984. p. 545-8.

PROENÇA, E.C.M.; BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de piscicultura tropical. Brasília**: IBAMA. 195 p; 1994.

QUADRO, M.F.L.; ABREU, M.L. **Estudos de Episódios de Zonas de Convergência do Atlântico Sul sobre a América do Sul**. Congresso Brasileiro de Meteorologia, 8:620-623. Belo HorizonteMG..Anais II. 1994.

RALL, V.L.M.; PEDROSO, D.M.M.; HEIDTMANN, S. *Aeromonas* species isolated from fish (*Pseudoplatystoma* sp.), virulence factors and drug susceptibility. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.29, p.222-227, 1998.

REPORTAGEM LOCAL. **Como montar um pesqueiro**. Folha de São Paulo. São Paulo, 28 jan. 1997.

RESENDE, A. **Análise microbiológica, de metais contaminantes (Hg e Pb), e metais nutricionais (Zn e Cu) em sushis e sashimis comercializados em restaurantes de Brasília**. Brasília, 2004. (Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília, Instituto de Química).

RODRIGUES, E. **Pesquisa de *Aeromonas* spp. em tilápia (*Oreochromis niloticus*), cultivada no Estado do Rio de Janeiro- Brasil: isolamento, identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana**. Tese (Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Universidade Federal Fluminense – Niterói, 2007.

SÃO PAULO (Estado). Secretária de Saúde. Código sanitário. Decreto n° 12.342 de 27 de setembro de 1978: **Regulamento da promoção e recuperação da saúde no como da competência da Secretaria de Estado**

de Saúde (revisto e atualizado até dezembro de 1990). 5 ed. São Paulo: IMESP, 1992, 412p.

SCHALACH S.H.C.,; MORAES F.R.; MORAES J.R.E. 2005. Efeitos do parasitismo sobre a estrutura branquial de *Leporinus macrocephalus* Garavello e Britsk, 1988 (*Anastomidae*) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (*Osteichthyes, Characidae*). **Revista Brasileira. Parasitologia. Vet.** 15:110-115.

SEN, K.; RODGERS, M. Distribution of six virulence factores in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification. **Journal Applied Microbiology.**, Malden, v. 97, n. 5, p. 1077 – 86, 2004.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. **Suplementação de vitamina e melhora a qualidade de carnes e derivados.** In: SHIMOKOMAKI, M. et al. (Ed.). Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo: Varela, 2006. cap. 11, p. 115-121.

SILVA , N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** Valéria Christina Amstalden - São Paulo : Livraria Varela,1997, p31.

SILVEIRA, N.F.A.; LEITÃO, M.F.F.; BALDINI, V.L.S.; FILHO, A.R.T. Histamine Producing Bacteria and Potencial for its Formation in Fresh River Fishes. **Brazilian Journal of Food Technology.** Campinas. v.4. p.19-25.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura.** São Paulo: FUNEP Editora, 1994.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ALVARES, E. J. S.; BRAGA, F. M. S. Water quality and zooplankton in tanks with larvae of *Brycon orbygnianus* (Valenciennes, 1949). **Brazilian Journal Biology.** São Carlos, v. 68, n. 1, p. 77- 86, 2008.

SKJERVOLD, P.O.; FJÆRA, S.O.; ØSTBY, P.B.; EINEN, O. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**. Amsterdam 192, 267 – 282. 2001.

SOARES, V.M.; PEREIRA, J.G.; IZIDORO, T.B.; MARTINS, O.A; PINTO, J.P.A.N.; BIONDI, G.F. Qualidade microbiológica de filés de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu - SP. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**. Paraná. v.13, n.2, p.85-88. 2011.

SOUZA, A. T. S. Certificação da qualidade de pescados. **Biológico**. São Paulo v. 65, n. 1, p. 11 - 13, 2003.

STRAUSS M. **Health Aspects of Nightsoil and Sludge in Agriculture and Aquaculture**. Part II. Pathogen Survival. Int. Ref. Center of Waste Disposal (IRCWD), No.4/85, 87p.1985.

SUSSEL, F. R. Tilapicultura no Estado de São Paulo. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, 2011.

TRIPATHY, S. et al. Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from freshwater culture systems. **Microbiological Research**, v.162, n. 4, p. 391-396, 2007.

VALLE JUNIOR, R.F.; ABDALA, V.L.; GUIDOLINI, J.F.; SIQUEIRA, H.E.; CANDIDO, H.G. Diagnóstico temporal e espacial da qualidade das águas superficiais do rio Uberaba-MG. **Caminhos de Geografia**. Uberlândia. v.14, n.45, p. 01 – 11, 2013.

VARNAM, A.H.; EVANS, M.G. Bacillus. In: VARNAM, A.H.; EVANS, M.G. **Foodborne Pathogens**. London: Mosby Year Book, 1991, p. 267- 288.

VELLOSO, E. A. **Avaliação Sensorial e Físico- Química de filés de Tilápia tailandesa(*Oreochromis niloticus*) refrigerados e submetidos à radiação**

gama. Monografia do curso de especialização em irradiação de alimentos. Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2004.

VENTURIERI, R. Pesque-pague no Estado de São Paulo. São Paulo. **Eco Associação para Estudos do Ambiente**, 2002. 170p.

VIÉGAS, E. M. M.; SOUZA, M. L. R. **Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura.** In: CYRINO, J.E.P. et al. (Ed.) Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 2004, p. 405-481.

VILA NOVA, C. M. V. M.; GODOY, H. T.; ALDRIGUE, M. L. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, n. 3, p. 430-436, 2005.

ZIMMERMANN, S. Incubação Artificial. Técnica Permite a Produção de Tilápias do Nilo Geneticamente Superiores. **Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, n. 54, v. 9, p. 15 - 21, 1999.

ZUCCARI, M. L. **Determinação de fatores abióticos bióticos do Ribeirão Lavapés (Botucatu-SP).** Botucatu, 1992. 113p. Dissertação- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

WARD, D. R. Microbiological quality of fishery products. In: MARTIN, A. M. **Fisheries processing biotechnological application.** London: Chapman and Hall, p. 1-17, 1994.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION: **Food safety and foodborne illness.** Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en> . Acesso em 18 de jan. 2015.

WLASOW, T.; ZMYSLOWSKA, I.; LEVANDOWSKA, D.; MIERZEJEWSKA, K.; IDZIKOWSKI, R. ZIOMEK, E. Bacteria and parasites on the gills of pike *Esox lucius* and Tench *Tinca tinca* as indices of the trophic level of oswin lake (Northeastern Poland). **Archives of Polish Fisheries**. Reino Unido. v.11. fasc.2, p. 225-235, 2003.