

PERFIL MICROBIOLÓGICO DE PEIXES E ÁGUA DE CULTIVO EM PESQUE-PAGUES SITUADOS NA REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO

C.S. Lorenzon, P. Gatti Junior, A.P. Nunes, F.R. Pinto, C. Scholten, S.N. Honda, L.A. do Amaral

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: cintia.lorenzoni@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar o número de coliformes totais, termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positivo e a presença de bactéria do gênero *Salmonella* no músculo, no tecido superficial, no trato gastrointestinal de peixes e na água de cultivo de pesque-pagues situados na microbacia do Córrego Rico, SP. Não foi detectado *Staphylococcus* coagulase positivo em nenhuma amostra de água e peixe. O número mais provável (NMP) de coliformes totais no peixe variou de $2,0 \times 10^4$ a $>1,1 \times 10^4$ NMP.100 mL⁻¹, na água de cultivo variou de $4,2 \times 10^4$ a $> 2,4 \times 10^5$ NMP.100 mL⁻¹. A contagem de coliformes termotolerantes no peixe variou de < 3 a $5,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹, na água de cultivo variou de $3,8 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$ NMP.100 mL⁻¹. Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre as populações de micro-organismos pesquisados na água, pele e trato gastrointestinal, o que reflete uma relação entre a presença dos micro-organismos na água e nesses dois locais analisados. Foi isolada *Salmonella* sp. em uma amostra de músculo e em duas amostras de trato gastrointestinal. O pescado pode ser veículo de contaminação cruzada, tendo como fonte dos micro-organismos a pele e o trato gastrointestinal para sua própria musculatura. Portanto, o monitoramento da qualidade da água é de suma importância para garantir a produção de peixes com boa qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: Pesque-pague, coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positivo.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL PROFILE OF FISH AND POND WATER IN FEE-FISHING LOCATED IN THE NORTHEAST REGION OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL. The objective of this study was to determine the number of total and thermotolerant coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus*, and the presence of bacteria of the genus *Salmonella* in the muscle, surface tissue, and gastrointestinal tract of fish, and in the pond water of fee-fishing establishments located in the Córrego Rico microwatershed in the state of São Paulo, Brazil. Coagulase-positive *Staphylococcus* was not detected in any sample of pond water or fish. The most probable number (MPN) of total coliforms in fish ranged from 2.0×10^4 to $> 1.1 \times 10^4$ NMP.100 mL⁻¹, while in pond water it ranged from 4.2×10^4 to $> 2.4 \times 10^5$ NMP.100 mL⁻¹. The count of thermotolerant coliforms in fish ranged from < 3 to 5.1×10^3 NMP.g⁻¹, while in pond water it ranged from 3.8×10^2 to 2.0×10^4 NMP.100 mL⁻¹. There was no statistical difference ($P > 0.05$) among the studied populations of microorganisms in pond water, surface tissue and gastrointestinal tract, which reflects a relationship between the presence of microorganisms in the water and in the two tissues analyzed. *Salmonella* sp. was isolated in one sample of muscle and in two samples of gastrointestinal tract. The fish can be a vehicle for cross contamination, having the gastrointestinal tract and the surface tissue as a source of microorganisms for its muscles. Therefore, monitoring the water quality is important to ensure the production of fish with good quality.

KEY WORDS: Fee-fishing, total and thermotolerant coliforms, *Salmonella*, coagulase-positive *Staphylococcus*.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui condições hidrográficas e climáticas favoráveis para o desenvolvimento da piscicultura. No Estado de São Paulo, ocorreu um aumento expressivo no número de propriedades

que se dedicam a essa atividade. Além de polos de produção, tornaram-se também áreas de lazer para a população, já que muitos deles promovem a atividade da pesca. São os chamados “pesque-pagues”, muito difundidos na região (CASTAGNOLLI, 1995).

O sucesso econômico dessa atividade recreativa depende de boa manutenção da qualidade da água. No entanto, em muitas situações, estes estabelecimentos não têm o aporte tecnológico adequado e vêm gerando diversos problemas, notadamente ambientais e até mesmo de saúde pública.

A qualidade microbiológica da água dos viveiros pode influenciar na qualidade microbiológica do peixe e de seus produtos (PAL; DASGUPTA, 1992). Esses alimentos têm sido associados a doenças humanas e são veículo de transmissão de micro-organismos patogênicos e intoxicações, constituindo-se em problema de saúde pública.

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, 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).

Em alimentos crus, a presença de *Staphylococcus aureus* é comum e pode não estar relacionada com contaminação humana, as enterotoxinas produzidas por *S. aureus* são outra causa séria de intoxicações após o consumo de peixe e seus produtos e representam um risco para a saúde pública (GERMANO *et al.*, 1993).

Registros epidemiológicos em todo o mundo mostram a importância da *Salmonella* spp. como a maior causadora de doenças bacterianas de origem alimentar no ser humano, o qual se infecta mediante a ingestão de alimentos contaminados.

A presença de diversas bactérias entéricas, tais como coliformes termotolerantes, *Salmonella* e *Staphylococcus*, nos tanques de aquicultura sugerem a necessidade de um controle rígido de higiene durante o manejo e a evisceração do peixe, a fim de prevenir a transferência de bactérias da água ou do trato gastrointestinal dos animais para a musculatura dos peixes.

Pouco se conhece a respeito do tipo de manejo realizado em muitos pesque-pagues e suas consequências sobre a qualidade da água e sanidade dos peixes pescados e destinados ao consumo. Estes problemas indicam a necessidade de estudos que possam assegurar a sustentabilidade desta atividade.

Diante desta situação o presente trabalho teve como objetivo determinar o número de coliformes totais, termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positivo e a presença de bactéria do gênero *Salmonella* no músculo, no tecido superficial, no trato gastrointestinal de peixes e na água de cultivo de pesque-pagues

situados na microbacia do Córrego Rico, região nordeste do Estado de São Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local, colheita e transporte das amostras de água e de peixe

As amostras de água do viveiro e os peixes foram colhidos entre abril e junho de 2008, no período da manhã, durante a semana, sendo utilizados para este fim cinco pesque-pagues situados na microbacia do Córrego Rico, região nordeste do Estado de São Paulo. As amostras de água do viveiro foram colhidas em cinco pontos distintos (total de amostras de água foi de 25), em frascos estéreis para as análises microbiológicas.

Foram colhidos aleatoriamente dez exemplares de peixes adultos no tanque com o auxílio de tarrafas e/ou varas de pescas (total de amostras de peixe foi de 50). Em seguida os peixes capturados foram colocados em sacos plásticos esterilizados e em imersão em gelo para serem sacrificados e analisadas as diferentes partes.

As amostras foram transportadas em caixa isotérmica com gelo reciclável para o Laboratório de Microbiologia localizado no Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP-FCAV).

Preparação das amostras

Água de enxaguadura da pele (APHA, 2001)

Foram adicionados 200 mL de água peptonada 0,1% esterilizada no saco plástico contendo o peixe. Em seguida, o peixe foi massageado durante um minuto para transferir os micro-organismos da pele para a água peptonada. Desta maneira, foi obtida uma amostra da água de enxaguadura que foi utilizada nas análises microbiológicas.

Tecido muscular (APHA, 2001)

Antes de serem dissecados, a pele dos peixes foi lavada com álcool 70% para evitar contaminação do seu interior. Em seguida, os peixes foram dissecados com o auxílio de instrumentos esterilizados, tomando-se devido cuidado para que não ocorresse rompimento do trato gastrointestinal. Foram utilizados 25 g de músculo de cada peixe, que foram pesados em placas de Petri estéreis, procedendo-se então a diluição do músculo com a adição de 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1% que foi homogeneizado por um minuto, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} .

Trato gastrointestinal (APHA, 2001)

Todo o conteúdo do trato gastrointestinal do peixe foi retirado e pesado. Foi adicionada a quantidade de

água peptonada 0,1% em volume proporcional para obtenção da diluição 10^{-1} . Novas diluições decimais foram realizadas transferindo-se 1 mL da diluição anterior para tubos contendo 9 mL do diluente até obter-se a diluição 10^{-4} .

Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes na água e no peixe (APHA, 1998)

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos (série de 5 tubos para a água do viveiro e série de 3 tubos para o peixe). A avaliação dos coliformes totais e termotolerantes foram baseadas nas recomendações do APHA (1998).

Contagem de *Staphylococcus* coagulase positivos (APHA, 1998).

Volumes de 100 mL das amostras de água e suas diluições decimais foram filtrados em membrana com porosidade de $0,45\ \mu\text{m}$ e transferidos para placas de Petri contendo Ágar Baird Parker (HIMEDIA). Para as diferentes partes do peixe, foi transferido 0,1 mL das diluições obtidas das amostras da água de enxaguadura da pele, do músculo e trato gastrointestinal para placas de Petri, contendo Ágar Baird Parker. O inóculo foi espalhado com auxílio da alça de Drigalsky. As placas de Baird Parker foram incubadas a 36°C por 48 horas.

As colônias características do gênero *Staphylococcus* foram quantificadas, o cálculo para estimativa de UFC.g⁻¹ ou UFC.mL⁻¹ foi feito multiplicando o número de colônias pela diluição da amostra. Em seguida, foram coradas pelo método de Gram e submetidas ao teste da catalase e coagulase (MAC FADDIN, 1976).

Pesquisa da presença de bactérias do gênero *Salmonella* (APHA, 2001).

Foi feito um pré-enriquecimento primário, diluindo 450 mL da amostra de água em 50 mL de água peptonada tamponada 1%, e a incubação foi realizada a 37°C por 24 horas. As amostras do músculo, do trato gastrointestinal e da água de enxaguadura dos peixes obtidas em água peptonada a 0,1% foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas.

No enriquecimento seletivo foi inoculado 1 mL de cada cultura do pré-enriquecimento em 10 mL de caldo selenito cistina e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, adicionados de 0,1 mL de uma solução de novobiocina a 0,4%. A incubação foi realizada a 37°C por 24 horas. A partir da cultura em caldo de enriquecimento, foi retirada uma alíquota de cada e inoculada em ágar verde brilhante e ágar MacConkey (plaquemaento seletivo), seguido de incubação a 37°C por 24 horas.

A identificação presuntiva foi realizada inoculando as colônias com características sugestivas do gênero *Salmonella* em tubos contendo ágar TSI inclinado ("Triple Sugar Iron") que foi incubado a 37°C por 24 horas. As colônias que se presumiram ser de *Salmonella* foram submetidas ao teste de aglutinação com soro antissalmonela polivalente somático O e soro antissalmonela polivalente flagelar H.

Análise estatística

Os resultados microbiológicos foram analisados utilizando-se valores em logaritmo e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (SAS, 1991).

Foram feitas comparações de médias de coliformes (totais e termotolerantes) e *Staphylococcus* coagulase entre os tecidos nos peixes e na água de cultivo dentro de cada pesque-pague.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais, termotolerantes e contagem de *Staphylococcus* sp. nas diferentes partes do peixe e na água de cultivo dos cinco pesque-pagues analisados estão apresentado na Tabela 1.

Não foi detectado *Staphylococcus* coagulase positivo em nenhuma amostra de peixe e de água. Para a contagem de *Staphylococcus* sp. não houve diferença significativa entre as diferentes partes do peixe e na água de cultivo ($P > 0,05$), com exceção do pesque-pague 1 (Tabela 1), onde a contagem de *Staphylococcus* sp. na água do viveiro difere significativamente quando comparado com aquelas encontradas nas amostras de peixe ($P < 0,05$). Na contagem de *Staphylococcus* sp. a água de enxaguadura da pele apresentou médias que variam de $1,0 \times 10^2$ a $3,3 \times 10^5$ UFC. mL⁻¹; no músculo de $1,0 \times 10^2$ a $6,7 \times 10^3$ UFC. g⁻¹; no trato gastrointestinal de $1,0 \times 10^3$ a $2,9 \times 10^5$ UFC. g⁻¹; e na água do viveiro de < 20 a $3,3 \times 10^2$ UFC. mL⁻¹.

Em Zâmbia (África), tanques de pisciculturas apresentaram contagens de *Staphylococcus* spp. na ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹ (NTENGWE; EDEMA, 2008), ou seja, maiores que os encontrados neste trabalho.

A ausência de *Staphylococcus* coagulase positivo pode ser explicada pelo fato de que essas bactérias geralmente são encontradas no corpo humano (trato respiratório, mucosas nasais e pele) e transferida ao alimento por pessoas com precários hábitos de higiene durante o manuseio e/ou armazenamento do produto. No presente estudo, os peixes foram coletados diretamente dos viveiros, ou seja, não receberam nenhum tipo de manipulação.

Tabela 1 - Média dos resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais (CT), termotolerantes (CTer) e contagem de *Staphylococcus* sp. nas diferentes partes do peixe e na água do viveiro dos pesque-pagues localizados na região nordeste do Estado de São Paulo, no período de abril a junho de 2008.

Pesque-pague	Amostras	CT (NMP.100mL ⁻¹ ou g ⁻¹)	CTer (NMP.100mL ⁻¹ ou g ⁻¹)	<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC. mL ⁻¹ ou g ⁻¹)
1	Pele	1,5 x 10 ³ b*	1,2 x 10 ³ ab	3,3 x 10 ⁵ a
	Músculo	2,0 x 10 ³ c	0,6 x 10 ³ b	6,7 x 10 ³ a
	Trato gastrointestinal	5,8 x 10 ³ b	5,1 x 10 ³ a	2,9 x 10 ⁵ a
	Água do viveiro	4,2 x 10 ⁴ a	0,8 x 10 ³ a	2,0 x 10 ³ b
2	Pele	1,8 x 10 ³ b*	< 3,0 x 10 ³ b	1,0 x 10 ⁴ a
	Músculo	4,9 x 10 ³ c	< 0,3 x 10 ³ b	5,5 x 10 ² a
	Trato gastrointestinal	2,6 x 10 ³ b	2,9 x 10 ³ a	2,5 x 10 ⁴ a
	Água do viveiro	5,3 x 10 ⁴ a	4,4 x 10 ² a	< 2,0 x 10 ³
3	Pele	3,1 x 10 ³ b*	9,5 x 10 ² a	2,2 x 10 ⁴ a
	Músculo	2,4 x 10 ³ c	0,7 b	1,0 x 10 ² a
	Trato gastrointestinal	5,0 x 10 ³ ab	2,1 x 10 ³ a	2,0 x 10 ³ a
	Água do viveiro	5,1 x 10 ⁴ a	3,8 x 10 ² a	< 2,0 x 10 ³
4	Pele	> 1,1 x 10 ⁴	1,4 x 10 ³ a*	1,0 x 10 ² a
	Músculo	> 1,1 x 10 ³	0,6 x 10 ³ b	3,7 x 10 ² a
	Trato gastrointestinal	> 1,1 x 10 ⁴	1,2 x 10 ³ a	1,0 x 10 ³ a
	Água do viveiro	> 2,4 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁴ a	3,3 x 10 ² a
5	Pele	> 1,1 x 10 ⁴	3,6 x 10 ³ b*	3,3 x 10 ³ a
	Músculo	> 1,1 x 10 ³	0,1 x 10 ³ c	1,0 x 10 ² a
	Trato gastrointestinal	> 1,1 x 10 ⁴	2,5 x 10 ³ a	3,4 x 10 ⁴ a
	Água do viveiro	> 2,4 x 10 ⁵	2,5 x 10 ³ a	< 2,0 x 10 ³

*Médias seguidas da mesma letra, em cada coluna e dentro do mesmo pesque-pague, não diferem estatisticamente, no nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Resultados semelhantes foram obtidos por COSTA *et al.* (2007) ao analisar amostras de *sushi* de salmão comercializados na Cidade de Sobral, CE. Também não detectaram *Staphylococcus* coagulase positivo, sendo que a contagem de *Staphylococcus* spp. variou de < 10² a 3,0 x 10² UFC.g⁻¹.

Porém, pesquisas indicam que *Staphylococcus* coagulase negativo pode produzir enterotoxinas, contribuindo para a intoxicação alimentar. A esse respeito CUNHA *et al.* (2006) verificaram a capacidade toxigênica de linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativo e identificaram por PCR ("Polymerase Chain Reaction") os genes responsáveis pela produção de enterotoxinas. Dentre os alimentos analisados 22,7% foram positivos para *Staphylococcus* coagulase negativo com crescimento entre 10² a 10⁶ UFC.g⁻¹. Vale ressaltar que esses alimentos foram processados, portanto, ficaram sujeitos à contaminação pelos manipuladores.

Em Taiwan, *S. epidermidis* foi responsável pela morte de várias tilápias (*Oreochromis* spp.) entre 1992 e 1996. Este foi o primeiro relato sobre o isolamento de estafilococos patogênico em tilápias (HUANG *et al.*, 1999). Nos pesque-pagues, várias pessoas ficam em contato direto com os peixes. Isto se torna um fator de risco tanto para o peixe como para o ser humano, uma vez que o *S. epidermidis* é responsável por 50 a 80% das infecções causadas por estafilococos coagulase negativo (LANCELLOTTI, 2006).

Nos cinco pesque-pagues, o número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes na água de cultivo e no trato gastrointestinal não apresentou diferenças significativas entre si ($P > 0,05$). Nos pesque-pagues 1 e 2 (Tabela 1) o NMP dessas bactérias não difere estatisticamente ($P > 0,05$) na pele e no músculo.

Nos pesque-pagues o NMP de coliformes totais na pele variou de 1,5 x 10³ a > 1,1 x 10⁴ NMP.100 mL⁻¹; no músculo variou de 2,0 x 10³ a > 1,1 x 10³ NMP.g⁻¹; no trato gastrointestinal variou de 2,6 x 10³ a > 1,1 x 10⁴ NMP.g⁻¹; e na água de cultivo variou de 4,2 x 10⁴ a > 2,4 x 10⁵ NMP.100 mL⁻¹.

A grande concentração de coliformes totais na água dos pesque-pagues não representa necessariamente problemas para a saúde, uma vez que não é um indicativo de contaminação fecal. Porém, de acordo com EL-SHAFI *et al.* (2004), a composição microbiológica da água de cultivo reflete a variedade de bactérias presentes na pele do peixe.

No presente estudo, a pele e o trato gastrointestinal dos peixes apresentaram contagens de coliformes totais semelhantes entre si, enquanto que no músculo a concentração permaneceu baixa, com exceção dos pesque-pagues 4 e 5. A sua presença nas diferentes partes do peixe não indica diretamente a presença de patógenos, no entanto, serve como indicativo da qualidade higiênica e informa sobre o grau de poluição microbiana a que está exposto o alimento em estudo (LIUSON, 2003).

MARTINS *et al.* (2002) verificaram uma variação de 40 até $2,3 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ de coliformes totais em filés de carpas (*Cyprinus carpio*) e tilápias (*Oreochromis niloticus*) evisceradas provenientes de pesque-pagues em Toledo, PR.

LIUSON (2003) analisou tilápias (*Oreochromis spp.*) inteiras oriundas de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo, SP, os resultados obtidos apresentaram uma variação de < 0,3 até $4,6 \times 10^7$ NMP.g⁻¹ de coliformes totais, bem superiores comparados com o que foi encontrado no presente trabalho.

Para coliformes termotolerantes a água de enxaguadura da pele variou de < $3,0 \times 10$ a $1,4 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹; no músculo variou de < 3 a 6 NMP.g⁻¹; no trato gastrointestinal variou de $1,2 \times 10^3$ a $5,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹; e na água de cultivo variou de $3,8 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$ NMP.100 mL⁻¹.

De acordo com o CONAMA 357/05 (CONSELHO..., 2005), para águas destinadas à aquicultura e à atividade de pesca (classe 2), a concentração de coliformes termotolerantes não deverá exceder 10³ NMP.100 mL⁻¹ em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano. Como realizamos apenas uma coleta no ano não é possível concluir qual pesque-pague está em desacordo com a legislação vigente.

Porém, três pesque-pagues (pesque-pague 1, 4 e 5) apresentaram valores superiores a 10³ NMP. 100 mL⁻¹ de coliformes termotolerantes. Segundo BOYD; TANNER (1998), a contaminação dos viveiros por coliformes termotolerantes pode ocorrer pelo aporte de fezes humanas e de animais homeotérmicos.

Durante o experimento foi possível observar vários animais, tais como caprinos, bovinos, cães e aves circulando no entorno dos viveiros. Outra possível via de contaminação por coliformes termotolerantes é a água de abastecimento. Fato observado por GATTI JUNIOR (2008) que encontrou variação de 2,19 a 4,14 log NMP.100 mL⁻¹ de *Escherichia coli* na água de abastecimento dos viveiros dos pesque-pagues.

Como a qualidade microbiológica da água dos viveiros influencia na qualidade microbiológica do peixe (PAL; DASGUPTA, 1992), pode-se observar que a concentração de coliformes termotolerantes na água foi similar ao encontrado no trato gastrointestinal dos peixes.

Resultados similares encontrados neste experimento foram obtidos por AL-HARBI (2003) que, ao estudar tilápias híbridas (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*), verificou que coliformes termotolerantes na água e no trato gastrointestinal do peixe, que variaram de $2,87 \times 10^2$ a $\geq 1,6 \times 10^3$ NMP.100 mL⁻¹ e $2,37 \times 10^2$ a $\geq 1,1 \times 10^3$ NMP.g⁻¹, respectivamente, estavam correlacionados.

No presente estudo as altas concentrações de coliformes termotolerantes na água dos viveiros foram precedidas pelos altos números de colifor-

mes no trato gastrointestinal e na pele dos peixes. Ordenando os níveis de contaminação de coliformes termotolerantes nos diferentes órgãos dos peixes em ordem decrescente temos: trato gastrointestinal > pele > músculo.

Resultados semelhantes foram obtidos por EL-SHAFI *et al.* (2004) na qual tilápias criadas em diferentes viveiros contaminados com efluentes obtiveram uma contaminação dessa bactéria ordenada em trato gastrointestinal > brânquias > pele > fígado, enquanto no músculo não foi detectado coliforme termotolerante. Neste experimento o NMP de coliformes termotolerantes na água do viveiro variou de $1,7 \times 10^2$ a $9,4 \times 10^3$ UFC.100mL⁻¹, o trato gastrointestinal variou de $5,3 \times 10^3$ a $3,8 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ e a pele variou de $6,0 \times 10^2$ a $6,5 \times 10^3$ UFC.cm⁻¹.

Com relação ao músculo analisado, todos apresentaram contagem de coliformes termotolerantes abaixo de 10² NMP.g⁻¹.

LIRA *et al.* (2001), ao estudar peixe-serra (*Pristis pectinata*) comercializado em Maceió, AL, encontraram desde < 3 até 43 NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes. RALL *et al.* (2008), ao analisarem peixe fresco comercializado na Cidade de Botucatu, SP, verificaram variações de < 3 a 93 NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes. TAVARES *et al.* (2008) observaram uma variação de < 3 a 3,6 NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes em tilápias cultivadas em sistemas de reúso de efluentes domésticos. Todos os resultados citados, anteriormente, corroboram com os achados do presente trabalho.

O risco envolvido no consumo de peixe contaminado não é necessariamente associado apenas à presença de bactérias no tecido utilizado para alimentação humana. A infecção humana pode ocorrer quando a parte comestível é contaminada durante o manuseio do pescado, veiculando micro-organismos para musculatura do peixe, equipamentos, outros alimentos, ambiente de preparo por micro-organismos presentes em outras partes do peixe (contaminação cruzada), geralmente vísceras, pele e brânquias (ESPOSTO *et al.*, 2007). Esses autores advertiram para o cuidado na manipulação no momento da retirada das vísceras e no preparo do produto, pois esta é uma via potencial de transmissão de bactérias patogênicas.

Em pesque-pagues, MARTINS *et al.* (2002) verificaram que 67% e 50% das amostras dos filés de tilápia e de carpa, respectivamente, estavam acima de 10² NMP.g⁻¹ de coliformes termotolerantes. Os autores acreditam que estes valores excessivos podem ter ocorrido devido a uma manipulação inadequada do filetagem/eviscerador, permitindo o contato do músculo com as vísceras.

VIEIRA *et al.* (2000) estudaram a influência das condições higiênico-sanitárias do processo de produção de filés de tilápias em Campina Grande, PB. Os resultados mostraram contaminação crescente de

coliformes totais e termotolerantes ao longo da cadeia produtiva. Peixes coletados no açude apresentaram 3 NMP.g⁻¹ de coliformes totais e termotolerantes, enquanto que no filé congelado coletado no frigorífico encontraram valores de 4,6 x 10³ NMP.g⁻¹. Os autores concluíram que houve deficiências higiênicas por parte dos manipuladores e que o local de processamento dos peixes eram inadequado.

No pesque-pague 2, ocorreu presença de *Salmonella* sp. em 25 g de músculo em um peixe e também foi isolada em uma amostra de trato gastrointestinal. No pesque-pague 5, houve presença de *Salmonella* sp. em apenas uma amostra de trato gastrointestinal.

A presença de *Salmonella* sp. na musculatura do peixe encontrada no presente estudo está em desacordo com o parâmetro preconizado pela RDC n° 12 (AGÊNCIA..., 2001), que prevê ausência desse agente em 25 g de pescado *in natura*. Sabe-se que, em alguns casos, são necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* (1-10 células para alguns sorotipos) para causar sintomas clínicos no ser humano (LINDER, 2002; MARTINS, 2006).

Segundo EKPERIGIN; NAGAJARA (1998), vários sorovars de *Salmonella* são potencialmente patogênicos para o ser humano, podendo causar desde leves sintomas, como também levar o indivíduo até a morte. A cocção do alimento elimina o risco deste patógeno, porém, a maior preocupação é quando este é consumido cru, como nos casos de “sushi” e “sashimi” (MARTINS, 2006).

VIEIRA *et al.* (2000) verificaram que *Salmonella* spp. esteve presente ao longo da cadeia de produção de filés de tilápias. Foi isolada desde o peixe capturado no açude até no filé congelado coletado no posto de venda.

A presença de *Salmonella* sp. em duas amostras do trato gastrointestinal (4,44%) é preocupante, pois essa bactéria pode contaminar o músculo durante sua manipulação. Como a maioria dos frequentadores dos pesque-pagues leva para casa o peixe eviscerado pelos funcionários, MARTINS *et al.* (2002) advertiram para a má manipulação e o baixo nível de processamento dos pescados nesses estabelecimentos.

No Egito, YOUSSEF *et al.* (1992) verificaram a presença de *Salmonella* em tilápias em 3,9% das amostras de trato gastrointestinal. Em Botucatu, SP, LINDER (2002) analisou o conteúdo intestinal de peixes provenientes de pesqueiros e obteve presença desse patógeno em 5,66% das amostras. LIUSON (2003) também relatou a presença de *Salmonella* em peixes oriundos de pesqueiros e encontrou 7,8% das amostras positivas.

A presença dessa bactéria nos peixes pode ser atribuída à presença de mamíferos e aves no entorno dos viveiros.

Observa-se que não houve diferença estatística entre os números de micro-organismos pesquisados na água, pele e trato gastrointestinal o que reflete a

relação direta entre a presença dos micro-organismos na água e nos dois locais analisados. No que se refere à musculatura, verifica-se que houve diferença significativa entre os números de micro-organismos na água e na musculatura, sendo que na musculatura os valores foram sempre menores. Este fato se relaciona com a proteção da musculatura à contaminação, o que não ocorre na pele e no trato gastrointestinal.

Uma análise, do ponto de vista sanitário, da relação direta entre a presença de micro-organismos na água, na pele e no trato gastrointestinal, coloca o pescado como veículo de contaminação cruzada. Sendo a pele e o trato gastrointestinal fontes de micro-organismos para sua própria musculatura e outros alimentos direta ou indiretamente. Assim, a qualidade da água deve ser monitorada e medidas de controle da sua contaminação aplicadas, no sentido de minimizar o risco de doenças transmitidas pelo consumo do peixe produzido nos pesque-pagues.

Diante do exposto, é evidente que a presença de enterobactérias nos diferentes órgãos dos peixes representa um risco potencial à saúde do consumidor. É certo também que estas bactérias são eliminadas pelo cozimento, porém, é importante frisar que a contaminação cruzada e o consumo de peixe cru podem ocorrer, e que constituem fatores importantes na infecção e/ou intoxicação alimentar. Portanto, o monitoramento da qualidade da água é de suma importância, pois, além de garantir a produção de peixes com boa qualidade, garante também a preservação do ecossistema local.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro para realização da pesquisa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Brasil. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 2001.
- AL-HARBI, A.H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. *Aquaculture Research*, v.34, p.517-524, 2003.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20.ed. Washington DC: APHA, 1998.

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4.ed. Washington DC: APHA, 2001.
- BOYD, C.E.; TANNER, M. Coliform organisms in waters of channel catfish ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.29, p.74-78, 1998.
- CASTAGNOLLI, N. Status of aquaculture in Brazil. *World Aquaculture*, v.26, n.4, p.35-39, 1995.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (Brasil). 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, DF, 2005.
- COSTA, R.A.; VIEIRA, G.H.F.; SILVA, G.C.; PEIXOTO, J.R.O.; BRITO, M.V. Bactérias de interesse sanitário em *sushi* comercializado em Sobral – Ceará. *Boletim Técnico-Científico do CEPENE*, v.15, n.1, p.15-19, 2007.
- CUNHA, M.R.L.S.; PERESI, P.; CALSOLARI, R.A.O.; ARAÚJO JUNIOR, J.P. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.37, p.70-74, 2006.
- EKPERIGIN, H.E.; NAGAJARA, K.V. Microbial foodborne pathogens. *Salmonella. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v.14, n.1, p.17-29, 1998.
- EL-SHAFAL, S.A.; GIJZEN, H.J.; NASR, F.A.; EL-GOHARY, F.A. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. *Environmental Research*, v.95, p.231-238, 2004.
- 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*, v.27, n.4, p.144-148, 2007.
- GATTI JUNIOR, P. *Qualidade microbiológica e físico-química da água em pesque-pagues durante a estação seca*. 2008. 44f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. *Higiene Alimentar*, v.7, n.28, p.40-45, 1993.
- GUZMÁN, M.C.; BISTONI, M.A.; TAMAGNINI, L.M.; GONZÁLEZ, R.D. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. *Water Research*, v.38, p.2368-2374, 2004.
- HUANG, S.L.; CHEN, W.C.; SHEI, M.C.; LIAO, I.C.; CHEN, S.N. Studies on Epizootiology and Pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*Oreochromis spp.*) cultured in Taiwan. *Zoological Studies*, v.38, n.2, p.178-188, 1999.
- LANCELLOTTI, M. *Estudo epidemiológico de Staphylococcus spp. em ambientes, água e portadores sadios e determinação da sensibilidade a antimicrobianos*. 2006. 126f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- LINDER, C.E. *Salmonella spp. em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce*. 2002. 61f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- LIRA, G.M.; PEREIRA, W.D.; ATHAYDE, A.H.; PINTO, K.P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. *Higiene Alimentar*, v.15, n.84, p.67-74, 2001.
- LIUSON, E. *Pesquisa de coliformes totais, fecais e Salmonella spp. em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo*. 2003. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- MAC FADDIN, J.F. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1976. 312p.
- MARTINS, F.O. *Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações (sushi e sashimi) a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo*. 2006. 142f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- MARTINS, C.V.B.; VAZ, S.K.; MINOZZO, M.G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em "pesque-pagues" de Toledo (PR). *Higiene Alimentar*, v.16, n.98, p.51-56, 2002.
- NTENGWE, F.W; EDEMA, M.O. Physico-chemical and microbiological characteristics of water for fish production using small ponds. *Physics and Chemistry of the Earth*, v.33, p.701-707, 2008.
- 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: 15 dez. 2008.
- PAL, D.; DASGUPTA, C. Microbial pollution in water and its effect on fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, v.4, p.32-39, 1992.
- RALL, V.L.M.; CARDOSO, K.F.G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes termotolerantes em pescados frescos e congelados. *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, Londrina, v.2, n.39, p.1-8, 2008.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT. *Procedures guide for personal computers*. Version 5 ed. SAS Institute: 1991.

TAVARES, F.A.; LAPOLLI, F.R.; BATISTA, C.R.V.; MAIA, I.S.; JUNGLES, M.K. Reuso de efluentes domésticos na produção de tilápias - aspectos sanitários. In: CONGRESSO INTERAMERICANO AIDIS, 21., 2008, Santiago, Chile. *Anais*. Santiago: 2008. p.1-6.

VIEIRA, K.V.M; MAIA, D.C.C.; JANEIRO, D.I.; VIEIRA, R.H.S.F.; CEBALLOS, B.S.O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de

tilápias (*Oreochromis niloticus*) em filé congelados. *Higiene Alimentar*, v.14, n.74, p.37-40, 2000.

YOUSSEF, H.; EL-TIMAWY, A.K.; AHMED, S. Role of aerobic intestinal pathogens of freshwater fish in transmission of humans diseases. *Journal of Food Protection*, v.55, n.9, p.739-740, 1992.

Recebido em 22/6/09

Aceito em 27/10/10