

MARINA CORRÊA DA COSTA ABREU

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA, BIOQUÍMICA E PERFIL DE
RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Aeromonas* spp. ISOLADAS DE
PIAVUÇU (*Leporinus macrocephalus*)**

Cuiabá, MT

2018

MARINA CORRÊA DA COSTA ABREU

**Caracterização microbiológica, bioquímica e perfil de resistência a antimicrobianos de
Aeromonas spp. isoladas de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso para a
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Higiene e Tecnologia Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Marilu Lanzarin

Cuiabá, MT

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

A162c Abreu, Marina Corrêa da Costa.
Caracterização microbiológica, bioquímica e perfil de resistência a antimicrobianos de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) / Marina Corrêa da Costa Abreu. -- 2018
57 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Edivaldo Sampaio de Almeida Filho.
Co-orientadora: Marilu Lanzarin.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Cuiabá, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Peixe. 2. Microbiologia. 3. Antibiótico. 4. *Aeromonas* spp.. 5. Resistência. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Discente: Marina Corrêa da Costa Abreu.

Título: Caracterização microbiológica, bioquímica e perfil de resistência a antimicrobianos de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

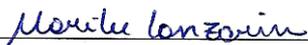
Aprovado em 09 de março de 2018.

Banca examinadora:



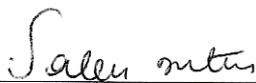
Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho (Presidente da Banca/Orientador)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso



Profª. Dra. Marilu Lanzarin (Coorientadora)

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso



Profª. Dra. Valéria Dutra (Membro-FAVET)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso



Profª. Dra. Cleise de Oliveira Sgarini (Membro-FANUT)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso



Prof. Dr. Daniel Oster Ritter (Membro externo)

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Dedico este trabalho ao meu esposo Mayckon, minha mãe Élem e minha filha de quatro patas Mia, os quais com suas particularidades contribuíram com muito amor para que este trabalho fosse possível. A vocês, minha gratidão e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por nortear a minha vida, me conceder saúde e proteção.

A meu esposo Mayckon por me compreender, apoiar e amar.

A minha filha de quatro patas Mia, minha fiel companheira.

Aos meus pais Élem e Edmir que me deram subsídios para que eu chegasse até aqui.

Aos meus irmãos Guilherme, Iule e Julia por todo carinho e atenção.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edivaldo pela oportunidade, por acreditar e confiar em mim e me fazer apaixonar pela microbiologia.

A minha co-orientadora Profa. Dra. Marilu por toda ajuda, ensinamento, compreensão e amizade.

Aos professores do Nepes que me acompanharam em todo mestrado: Profa. Dra. Luciana Kimie, Profa. Dra. Janessa Ribeiro e Prof. Dr. Márcio Hoshiba.

Aos professores do PGCA pela contribuição em minha carreira profissional.

Aos meus companheiros de Laboratório: Ma. Greika, Letícia, Kátia, Marci, Gabriel e Patricia por toda ajuda durante o experimento, vocês foram essenciais!

A banca: Profa. Dra. Valéria, Profa. Dra. Cleise e Prof. Dr. Daniel pela contribuição no presente trabalho.

A Universidade Federal de Mato Grosso e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal pela oportunidade de cursar o mestrado.

A Fundação de Apoio da Universidade Federal de Mato Grosso pela ajuda financeira no experimento.

A CAPES pela bolsa concedida.

RESUMO

Abreu, M.C.C. **Caracterização microbiológica, bioquímica e perfil de resistência a antimicrobianos de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)**. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Faculdade de Agronomia e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2018.

O conhecimento do valor nutricional do pescado pela população mundial tem motivado, nos últimos anos, a maior procura por esse alimento. No estado de Mato Grosso, uma das espécies mais encontradas tanto em rios quanto em pisciculturas é o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), um peixe muito apreciado pela população matogrossense devido a sua carne saborosa, todavia, faz-se necessário o conhecimento de sua qualidade microbiológica, que inclui coliformes, Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas, *Salmonella* spp e *Aeromonas* spp. Além disso, tem-se dado maior atenção a doenças em peixes causadas por *Aeromonas* spp. e o tratamento destas com antimicrobianos, que, se feito de forma errônea pode ocasionar resistência aos mais diversos princípios ativos. O objetivo deste trabalho foi investigar a qualidade higiênico-sanitária e verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., caracterização bioquímica e resistência a antimicrobianos de piavuçus capturados em rio e piscicultura. Foram avaliados 11 exemplares de piavuçu de pesca extrativa oriundos do rio Cuiabá e 22 exemplares da mesma espécie cultivada em cativeiros de duas pisciculturas diferentes (A e B), 11 de cada propriedade. As análises microbiológicas consistiram em: contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), contagem de coliformes totais e termotolerantes, detecção de *Salmonella* spp. e ocorrência de *Aeromonas* spp., bem como sua caracterização bioquímica e resistência a antimicrobianos. Para BHAM, coliformes e *Salmonella* spp, os resultados foram positivos, uma vez que estes se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação e literatura. Em relação às bactérias do gênero *Aeromonas* spp., houve ocorrência em 81,82% nos piavuçus de rio, 18,19% nos da piscicultura A e 72,72% nos da piscicultura B, sendo as espécies encontradas: *A. trola*, *A. veronii bivar sóbria*, *A. veronii bivar veronii* e *A. hydrophila*. Nos peixes de rio, 100% das colônias de *Aeromonas* spp. isoladas foram resistentes a cefalotina, 13,33% foram resistentes para cefoxitina 26,66% foram intermediárias para o mesmo antimicrobiano e 6,67% apresentaram-se intermediárias para

sulfazotrim. Nos isolados da piscicultura A, 100% apresentaram-se resistentes a cefalotina e nos da piscicultura B, esse número foi de 35,72% para o mesmo composto. A qualidade higiênico-sanitária dos peixes dos três locais analisados apresentou-se de forma positiva, entretanto, para *Aeromonas* spp. os resultados demonstraram maior ocorrência em piavuços de rio, assim como sua maior resistência aos antimicrobianos. Isso evidencia um risco a saúde pública uma vez que a população da região cuiabana tem por cultura, e maior acessibilidade, piavuços capturados em rio.

Palavras-chave: peixe; microbiologia; patógeno; antibiótico; *Aeromonas* spp; resistência.

ABSTRACT

Abreu, M.C.C. **Microbiological quality, biochemical characterization and antimicrobial resistance profile of *Aeromonas* spp. isolated from piavuçu (*Leporinus macrocephalus*).** 57f. Dissertation (Master in Animal Science), Faculty of Agronomy and Zootechny, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, 2018.

Knowledge of the nutritional value of fish by the world population has motivated, in the last years, the greater demand for this food. In the state of Mato Grosso, one of the species most found in both rivers and fish farms is the piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), a fish very appreciated by the population of Mato Grosso because of its tasty meat, however, it is necessary to know its microbiological quality, which includes coliforms, Mesophilic Aerobic Heterotrophic Bacteria, *Salmonella* spp and *Aeromonas* spp. In addition, greater attention has been given to diseases in fish caused by *Aeromonas* spp. and the treatment of these with antimicrobials, which, if done in an erroneous way can cause resistance to the most diverse active principles. The objective of this work was to investigate the hygienic-sanitary quality and verify the occurrence of *Aeromonas* spp. Bacteria, biochemical characterization and antimicrobial resistance of piavuçus captured in river and fish culture. Eleven specimens of extractive fishery from the Cuiabá river and 22 specimens of the same species cultivated in captivity of two different fish farms (A and B) were evaluated, 11 of each property. Microbiological analyzes consisted of: count of Mesophilic Aerobic Heterotrophic Bacteria (BHAM), counts of total and thermotolerant coliforms, detection of *Salmonella* spp. and occurrence of *Aeromonas* spp., as well as its biochemical characterization and antimicrobial resistance. For BHAM, coliforms and *Salmonella* spp, the results were positive, since these were within the limits established by legislation and literature. In relation to the bacteria of the genus *Aeromonas* spp., 81.82% occurred in the river piavuçus, 18.19% in the A fishery and 72.72% in the B fishery. The species found were: *A. trota*, *A. veronii* bivar sober, *A. veronii* bivar veronii and *A. hydrophila*. In the river fish, 100% of the colonies of *Aeromonas* spp. were resistant to cephalothin, 13.33% were resistant to cefoxitin 26.66% were intermediate for the same antimicrobial and 6.67% were intermediates for sulfazotrim. In the isolates of fish culture A, 100% were resistant to cephalothin and in fish B, this number was 35.72% for the same compound. The hygienic-sanitary quality of the fish of the three analyzed sites was

positive, however, for *Aeromonas* spp. the results showed greater occurrence in river piavuços, as well as their greater resistance to antimicrobials. This shows a risk to public health since the population of the Cuiabana region has by culture, and greater accessibility, piavuços caught in the river.

Keywords: fish; microbiology; pathogen; antibiotic; *Aeromonas* spp; resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Piavuços capturados no rio Cuiabá, na cidade de Barão de Melgaço-MT.....20

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultados das contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), coliformes totais, coliformes termotolerantes e ocorrência de *Salmonella* spp em peixes capturados no rio Cuiabá e cultivados em duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá.....42
- Tabela 2.** Espécies de *Aeromonas* spp. de ocorrência em peixes do rio Cuiabá e de duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá.....46
- Tabela 3.** Número (N) e frequência (%) de comportamento resistente, intermediário e sensível de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu do rio Cuiabá e duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá, frente aos antimicrobianos.....48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Frequência de resistência de <i>Aeromonas</i> spp. para cefalotina.....	49
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Produção de pescado	16
2.1.1 Pesca extrativa.....	16
2.2.2 Aquicultura.....	17
2.2 Piavuçu (<i>Leporinus macrocephalus</i>)	19
2.3 Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária: coliformes, Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e <i>Salmonella</i> spp	20
2.4 Caracterização do gênero <i>Aeromonas</i> spp	22
2.5 Uso de antimicrobianos em piscicultura	23
2.6 Resistência aos antimicrobianos	25
3. REFERÊNCIAS	26
4. CAPÍTULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO	37
4.1 Introdução	39
4.2 Material e Métodos	40
4.3 Resultados e Discussão	41
4.4 Conclusão	51
4.5 Agradecimentos	51
4.6 Referências	51

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento do valor nutricional do pescado e a divulgação de estudos que o associam com melhorias para a saúde tem causado, nos últimos anos, um aumento de interesse por esse alimento (BURGER, 2008).

Há mais de cinco décadas, a única forma de se adquirir o pescado era através de pesca extrativa e/ou artesanal, o que até hoje ainda é de importância em alguns países por estar diretamente ligado à cultura. Todavia, segundo Cardoso (2001), devido à sobrepesca de algumas espécies, a pesca predatória de outras e a destruição de ecossistemas, a pesca extrativa está em decadência.

No Brasil e em especial no estado de Mato Grosso, ainda há uma grande variedade de espécies nativas encontradas nos rios, com destaque para o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) também conhecido popularmente como Piauçu e Piau-Açu. Dentro do gênero *Leporinus*, esta espécie apresenta maior porte, razão pela qual é considerada de grande importância econômica para a pesca na área do Pantanal Matogrossense. Contudo, esta espécie também tem sido amplamente criada em pisciculturas por ser rústico, possuir hábito alimentar onívoro e apresentar ótimos índices zootécnicos (GARAVELLO E BRITSK, 1988; SOARES et al., 2000;).

A aquicultura tem apresentado um interessante potencial como alternativa para substituição parcial da estagnação da pesca extrativa (SHIROTA; SONADA, 2004). Todavia, com a intensificação dessa atividade, também tem crescido a ocorrência de bacterioses em peixes.

Bactérias como as heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM), coliformes totais e termotolerantes e *Salmonella* spp., indicam as condições higiênico-sanitárias da matriz alimentícia e conseqüentemente da água ao qual era seu *habitat*, podendo sugerir se esse alimento poderá ou não ser um veiculador de enfermidades.

Aeromonas spp., tem sido relatada como uma das principais bactérias associadas a doenças em peixes cultivados em pisciculturas. Além disso, estas bactérias são importantes agentes de gastroenterites transmitidas aos seres humanos pelo contato e consumo de carne e água contaminadas (ABDULLAH et al., 2003).

Não obstante, há a necessidade de um maior controle na atividade de criação de peixes, em destaque, a utilização descomedida de antibióticos para tratamento de doenças, podendo causar grande impacto por seus efeitos colaterais (SEBRAE, 2015) principalmente na questão ambiental e de resistência aos fármacos.

De um modo geral, a resistência a antimicrobianos é uma preocupação quando se trata de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., tendo em vista os elevados percentuais desses isolados resistentes aos mais diversos princípios ativos (SILVA, 2010).

O objetivo deste trabalho foi investigar a qualidade higiênico-sanitária das matrizes alimentícias, bem como verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., caracterização bioquímica e sua resistência a antimicrobianos em piavuços de rio e tanque.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção de pescado

O aumento da oferta mundial de pescado para consumo humano superou o crescimento da população nas últimas cinco décadas, aumentando a uma taxa anual média de 3,2% no período de 1961 a 2013, duas vezes a taxa de crescimento da população, contribuindo para o aumento da disponibilidade per capita média (FAO, 2016).

Este aumento tem relação direta com a crescente procura mundial por pescado em virtude da informação de suas características nutricionais e também com seu atual beneficiamento, facilitando o preparo e conseqüentemente, aumentando consumo desse alimento (SILVA, 2010).

Devido ao contínuo crescimento da exploração da pesca e a demanda mundial de pescado, esse recurso natural tem estado próximo do limite máximo de exploração. Nesse mesmo período, a aquicultura apresentou um interessante potencial como alternativa para substituição parcial da estagnação da pesca extrativa (SHIROTA; SONADA, 2004).

2.1.1 Pesca extrativa

A pesca se baseia na retirada de recursos pesqueiros do seu *habitat* natural (BRASIL, 2017a). A pescaria está presente desde a pré-história da humanidade, como atividade extrativa, compôs a dieta alimentar dos grupos humanos ancestrais (CARDOSO, 2001).

Além de fazer parte da dieta, a pesca extrativa possui outros diversos fins, tais como o entretenimento (pesca recreativa) a ornamentação (captura de espécies ornamentais), ou para beneficiamento industrial, incluindo a fabricação de rações para alimentação de animais de

criação e produção de substâncias de grande interesse para a saúde da população. Exerce também um papel importante na economia mundial, gerando empregos. Além disso, é visto de forma cultural em diversas regiões (SEBRAE, 2015). Segundo Staples e colaboradores (2004), nas regiões tropicais e nos países em desenvolvimento, os recursos pesqueiros representam uma importante fonte de proteína e renda para a população; sua importância é econômica e social para populações ribeirinhas.

Os pescadores brasileiros estão presentes oficialmente em 60,6% dos municípios brasileiros, totalizando 693.705 profissionais formalmente cadastrados no Registro Geral da Pesca (RGP) em 2008, dos quais 65,7% são homens e 34,3% são mulheres (ALENCAR; MAIA, 2011).

Como visto, há um número considerável de profissionais da pesca, aliado a isso, a procura pelo pescado é muito grande, o que está acarretando numa sobrepesca, levando assim, a diminuição dos estoques pesqueiros (VASCONCELOS et al., 2007; HAIMOVICI, 2011; MARCHESINI E CRUZ, 2014).

Este conflito que a pesca extrativa mundial tem enfrentado fica claramente demonstrado pela situação de estagnação ou mesmo, pela queda da produção a partir de meados dos anos de 1980 e também pela situação de calamidade em que se encontra a exploração dos principais recursos pesqueiros, principalmente por causa da sobrepesca e poluição das águas (DIAS-NETO, 2010).

2.1.2 Aquicultura

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (BRASIL, 2017a) a aquicultura tem como base o cultivo de organismos aquáticos geralmente em um espaço confinado e com rígido controle, resultando em produtos mais homogêneos, tendo rastreabilidade durante toda a cadeia, dentre outras inúmeras vantagens que contribuem para a segurança alimentar, no sentido de gerar alimento de qualidade, regular e com planejamento.

Em todos os segmentos da aquicultura se têm como objetivo alcançar a produção em grande escala em menor período de tempo e com rígido controle, o que implica algumas estratégias de manejo no processo de criação como, por exemplo, o povoamento correto, alimentação balanceada, monitoramento sanitário, qualidade de água, entre outros (SEBRAE, 2015).

Em 2011 a aquicultura foi responsável 40,1% de toda produção mundial de pescado (FAO, 2013). Todavia, em 2014 foi atingido um marco mundial (cerca de 70%) quanto à contribuição do setor da aquicultura, pela primeira vez superou a dos peixes capturados no ambiente natural. Isso se deve a crescente procura mundial de pescado como alimento humano e a consequente estagnação na pesca extrativa (FAO, 2016).

No Brasil, a aquicultura teve uma produção de 593.881.925 toneladas de pescado no ano de 2016, sendo o Centro Oeste responsável por 63.996.927 toneladas e o estado de Mato Grosso por 40.479.613 toneladas, e deste, a produção de Piau e Piauçu representou 502.393 toneladas (BRASIL, 2017b).

Tendo em vista isso, o Brasil se destaca como um dos países com maior potencial para expansão da aquicultura uma vez que possui condições climáticas favoráveis, grande quantidade de recursos hídricos disponíveis, facilidade na adaptação de tecnologias e também na importação de insumos e equipamentos (SCORVO-FILHO, 2004).

Em detrimento disso, o Brasil vem ganhando posição no “*ranking*” internacional, atualmente está entre os 16 maiores produtores. Estima-se que a produção deve crescer mais de 100% até 2025 (FAO, 2016).

A atividade é praticada em todas as regiões do Brasil e abrange, principalmente, as modalidades: piscicultura (criação de peixes), carcinicultura (camarões), ranicultura (rãs) e malacocultura (moluscos: ostras, mexilhões, *escargot*). O cultivo de algas é praticado em menor escala. A piscicultura de água doce é o único setor presente em todos os Estados do Brasil, sendo o maior responsável por aumentar a receita produzida da aquicultura (CYRINO et al., 2004).

A criação de peixes é a forma mais comum de aquicultura. Ela envolve a criação de peixes comercialmente em tanques, lagoas, lagos, rios e oceano, em grande parte para a alimentação humana. No entanto, há grandes preocupações com a atividade, incluindo o tratamento de resíduos, a concorrência entre espécies cultivadas e espécies nativas, o uso de outras espécies para alimentação dos peixes carnívoros, colonização de espécies invasoras, os resíduos orgânicos compostos por nutrientes que são excretados pelos peixes, o bem estar animal e os efeitos colaterais dos antibióticos utilizados para prevenir e tratar doenças (SEBRAE, 2015).

Com o crescimento da aquicultura, principalmente da piscicultura intensiva e semi-intensiva no país, tem-se observado um aumento dos casos de problemas de ordem microbiológica nas criações. Grande parte dos agentes bacterianos ainda não foi identificada ou foram pouco explorados em diversas regiões. Faz-se necessário conhecê-los para que não

haja queda nos índices da produção e também para fazer o uso correto dos fármacos para impedir a resistência a estes (SILVA, 2010).

2.2 Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)

O *Leporinus macrocephalus*, piavuçu ou piaçu, foi descrito como uma nova espécie no final da década de 1980. Prevalece em toda bacia do Paraguai e Paraná, sendo, porém, menos frequente no Alto Rio Paraná. Apresenta um comprimento de até 60 cm (BRITSKI et al., 1999). É uma espécie com hábito alimentar onívoro (GARAVELLO; BRITSKI, 1988), que consome uma ampla variedade de alimentos, sendo os vegetais e as sementes os itens mais frequentes de sua dieta (BOSCOLO et al, 2005). Além disso, é um peixe que apresenta rápido crescimento em cativeiro e carne saborosa. Dentro do gênero *Leporinus*, apresenta maior porte, razão pela qual é considerada de grande importância econômica para a pesca na área do Pantanal Matogrossense (GARAVELLO E BRITSKI, 1988; SOARES, 2000;).

O piavuçu é uma espécie considerada migradora, pois durante seu período pré-reprodutivo, realiza longos deslocamentos ascendentes (REYNALTE-TATAJE, 2001). Esta espécie realiza a desova total, ou piracema, onde se reproduz na cabeceira dos rios de novembro a janeiro (BRITSKI et al., 1999).

Pertencente à família *Anostomidae* possui boca pequena, com 8 a 6 dentes em cada maxila, portanto com 4 ou 3 dentes no pré maxilar e 4 ou 3 no dentário. Os dentes, geralmente assimétricos, nunca ocorrem no osso maxilar. O padrão de colorido geralmente é caracterizado pela presença de listras longitudinais, barras transversais ou máculas arredondadas ou ovaladas sobre o corpo, nadadeira caudal com escamas apenas na base e sem manchas (BRITSKI et al., 2007).

Na figura 1 verificam-se os piavuços capturados no rio Cuiabá, na cidade de Barão de Melgaço.



Figura 1. Piavuços capturados no rio Cuiabá, na cidade de Barão de Melgaço-MT.

De forma geral, o piavuçu apresenta grande aceitação no mercado e é muito conhecido pelos pescadores comerciais, esportivos e colecionadores de peixes ornamentais. Além da grande beleza dos juvenis, apresentam excelente qualidade de carne e os adultos são caracterizados como peixes ágeis quando são capturados em anzol (BALDISSEROTTO; GOMES, 2005), podendo atingir peso de até 7kg (BEZERRA; SILVA, 1997). É considerada a espécie de *Leporinus* mais intensamente cultivada para fins comerciais (RIBEIRO et al, 2001).

Com vistas nisso, este peixe além de ser encontrado em rios, também tem sido amplamente criado em pisciculturas por ser rústico, possuir hábito alimentar onívoro e apresentar ótimos índices zootécnicos (SOARES et al., 2000).

2.3 Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária: coliformes, Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e *Salmonella* spp.

O peixe, por sua natureza, é o alimento de origem animal que sofre deterioração mais rapidamente, uma vez que uma série de alterações se inicia imediatamente após a despesca. Possui rápida instalação da fase de rigidez *post-mortem*, liberação de muco, alta quantidade de água nos tecidos, constituição frouxa do tecido conjuntivo e tecido rico em proteínas, fofolipídios e ácidos graxos polinsaturados que servem de substratos para as bactérias. Além disso, seu músculo é altamente precível devido à rápida degradação causada pelas enzimas

proteolíticas do seu organismo que utilizam as substâncias nitrogenadas, principalmente as não proteicas, resultando na elevação do pH, favorecendo o crescimento microbiano. (BATISTA et al., 2004; AL-HARBI E UDDIN, 2005; GHALY, et al., 2010).

Pesquisadores relatam a contaminação primária do peixe, a partir de ecossistemas aquáticos, todavia o manuseio após a captura, representado pelas etapas de beneficiamento, conservação e armazenamento é referido como o fator determinante da qualidade do produto final (BARROS, 2003; FARIAS E FREITAS, 2008; SILVA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009; MACHADO et al., 2010; MOL E TOSUN, 2011).

Em consequência do inevitável contato dos peixes com a água, a microbiota presente na superfície corporal, brânquias e no trato gastrointestinal desses animais também está relacionada qualitativa e quantitativamente com aspectos microbiológicos do seu *habitat*. Assim, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos e fezes podem albergar microrganismos patogênicos, como coliformes e *Salmonella* spp. e também grande parte das Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (PAL E DAS GUPTA, 1992; GUZMÁN, et al., 2004).

Os coliformes, sobretudo os termotolerantes, apontam uma grande probabilidade da presença de contaminação fecal, ou seja, a possível presença de organismos que ocorrem em grande número na microbiota intestinal humana ou de animais homeotérmicos, uma vez que não fazem parte da microbiota do pescado (FRAZIER E WESTHOFF, 1998).

Outro representante da família *Enterobacteriaceae*, a *Salmonella* spp. também não faz parte da microbiota natural do peixe. Quando presente pode estar associada à manipulação inadequada em qualquer uma das etapas da cadeia produtiva ou por contato com águas contaminadas, através das bacias pesqueiras e pelas descargas de efluentes de esgotos que representa importante via de transmissão destas bactérias para os peixes (MARTINS et al., 2002a; NOVOTNY et al., 2004; MELLO et al., 2010).

Bactérias Heterotróficas Mesófilas Aeróbias podem indicar a existência de diversos grupos de microrganismos patogênicos e oportunistas que constituem risco aos peixes e à saúde pública, e também podem ser indicadores de qualidade bacteriológica da água (CAHILL, 1990; AMARAL, et al., 1992).

Por isso, se faz necessária à conscientização referente a não poluição dos rios, assim como o controle da qualidade de água em pisciculturas, uma vez que esse fator está diretamente ligado ao seu sucesso econômico. Porém, em muitas situações, a população em geral e os proprietários não têm dado a devida atenção a isso, o que vem gerando diversos problemas, notadamente ambientais e até mesmo de saúde pública (SILVA, 2010).

2.4 Caracterização do gênero *Aeromonas* spp.

Aeromonas spp. são bactérias caracterizadas por bastonetes Gram negativos, anaeróbios facultativos, na sua maioria móveis, sua ocorrência pode ser isolada, em pares ou em pequenas cadeias, medindo 0,3-1,0 µm de diâmetro x 1,5-3,5 µm de comprimento (MARTINS et al., 2002b; EPA, 2006). E, possui família própria - *Aeromonadaceae* (GHENGHESH et al., 2008).

Em 1980, apenas quatro espécies de *Aeromonas* spp. eram conhecidas na nomenclatura (*A. hydrophila*, *A. punctata*, *A. salmonicida* e *A. sobria*). Já em 2008, segundo a mais recente edição do Manual Bergeys, os autores descreveram que o gênero *Aeromonas* compreende as seguintes espécies: *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii* (biovar *sobria* e *veronii*), *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila*, *A. encheleia*, *A. popoffii* e dois grupos DNA homólogos, *Aeromonas* sp. (HG11), e *Aeromonas* sp. (HG13, formando o grupo entérico 501). E ainda, *A. ichthiosmia* e *A. enteropelogenes*, consideradas como sinônimas de *A. veronii* e *A. trota*. Mais cinco novas espécies foram descritas: *A. simiae*, *A. molluscorum*, *A. bivalvium*, *A. aquariorum* e a espécie *A. culicicola* que foi sugerida como sinônima de *A. veronii* (DEMARTA et al, 2008; JANDA e ABBOT, 2010).

Além disso, essas bactérias podem ser divididas em dois grupos. O primeiro é formado por bactérias heterogênicas, mesófilas e móveis, com temperatura ótima de multiplicação de 28°C, podendo crescer de 5 a 45°C, como por exemplo: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, entre outras, sendo consideradas patogênicas para humanos e peixes. Já o segundo grupo, são caracterizadas como imóveis e psicrófilos, sendo exemplo as espécies *A. salmonicida* e *A. media*., aos quais se multiplicam em temperaturas menores que 25°C. *A. salmonicida* causa furunculose em peixes marinhos, porém é encontrada apenas em águas profundas, sua detecção é rara (POPOFF, 1984; CASTRO-ESCARPULLI, et al., 2003; RODRIGUES E RIBEIRO, 2004; AMADOR, 2007).

A espécie *A. hydrophila* é uma das mais encontradas em ambientes aquáticos, é potencial produtora de exoenzimas termoresistentes, como lipases e proteases, e estes produtos, mesmo tendo sua estrutura terciária danificada durante o processo de altas temperaturas, são capazes de reorganizar a estrutura tridimensional, tornando-se novamente ativos e passíveis de deteriorar os produtos finais (CHEN, et al., 2003; BRAUN E SUTHERLAND, 2005).

As *Aeromonas* spp., de forma geral, são patógenos emergentes encontrados em uma grande diversidade de *habitats* além da água, tais como solo, fezes de animais e esgoto. Todavia, possuem uma ampla distribuição em meios aquáticos, principalmente dulcícolas e, por essa razão são descritos por alguns autores como componentes da microbiota associada a animais pecilotérmicos e, por outros, como patógenos de peixes e do ser humano em enfermidades de veiculação hídrica (HÄNNINEN et al., 1997; VIVEKANANDHAN et al., 2002; HIRSCH et al., 2006). Estão presentes em grandes quantidades em águas de baixa qualidade, principalmente com baixos níveis de oxigênio, altos níveis de matéria orgânica e poluentes e embora o tratamento de água proporcione uma redução significativa do número de *Aeromonas* spp., há evidências de que estas bactérias exibem mecanismos adaptativos que permitem a sua sobrevivência e proliferação nos sistemas de distribuição de água (FIGUEIRA et al., 2011)

Levando em consideração o aumento do risco de surgimento de doenças em pisciculturas intensivas, as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. têm assumido, nos últimos anos, uma maior importância nos diagnósticos de doenças de peixes, muitas vezes aparecendo como agente primário causador de lesões ulcerativas e septicemia hemorrágica em peixes de água doce (GHENGHESH et al., 2001; SOUSA E SILVA-SOUZA, 2001; SAHA E PAL, 2002).

Em humanos, várias espécies de *Aeromonas* spp. são consideradas patógenos causadores de gastroenterites, apresentando relevância epidemiológica em casos de infecções oportunistas em pacientes imunodeprimidos. Apesar desta ser a mais comum forma de infecção em humanos, a *Aeromonas* spp. também é causadora de outras doenças, tais como: septicemias, endocardites, meningites e pneumonias, tendo um maior risco em pacientes com baixa imunidade. Infecções de pele, do trato urinário, oculares e síndrome urêmica hemolítica também têm sido associadas à contaminação por bactérias desse gênero (JANDA E ABBOTT, 2010; SILVA, 2010).

2.5 Uso de antimicrobianos em piscicultura

O sucesso na piscicultura depende da utilização de boas práticas de manejo nos viveiros, como: controle da qualidade da água, realização de quarentena na aquisição de novos lotes, fornecimento de alimentação de qualidade e balanceada, garantindo assim a

saúde dos animais e, conseqüentemente, prevenindo doenças. Muitas destas são provocadas por agentes infecciosos e podem tornar a atividade onerosa e pouco lucrativa para os piscicultores, devido ao alto índice de contaminação e mortalidade excessiva (TAVECHIO et al, 2009).

Os surtos de doenças em sistema de produção se deve principalmente pela intensificação da aquicultura no Brasil (WOO,2006; XU et al.,2012). Quando epizootias ocorrem, a utilização de antimicrobianos e quimioterápicos é a maneira mais efetiva de controlar as enfermidades e reduzir a oportunidade de transmissão de patógenos para todo o local (GOZI, 2016).

Os antibióticos ou antimicrobianos são substâncias que podem ser extraídas de plantas, produzidas por microrganismos ou em laboratórios de maneira artificial (FIGUEIREDO et al., 2008), são capazes de inibir o desenvolvimento e a proliferação de bactérias, exercendo para tal efeito bactericida mesmo quando presentes em pequenas quantidades (KÜMMERER, 2009; MANAIA et al., 2012).

Utilizados na prevenção e tratamento de infecções bacterianas, os antibióticos são empregados nas pisciculturas através da sua mistura com a ração a ser ofertada (MOTA et al., 2005; CABELLO et al., 2013), além disso, podem ser usados também sub terapêuticamente como promotores de crescimento (VASEEHARAN et al., 2005).

Todavia, os antibióticos tem efeito tóxico aos tecidos dos peixes, principalmente o das brânquias, do tegumento e do fígado e podem acumular resíduos na musculatura, oferecendo risco potencial ao consumidor, caso não sejam respeitados os tempos de carência pós-tratamento (TAVECHIO et al, 2009).

Esses impactos podem ser mais graves se a mudança da água não for efetuada adequadamente, levando assim, a um aumento de riscos em termos de segurança alimentar, devido à presença de resíduos de antibióticos em peixes (BURRIDGE et al, 2010). O consumo destes fármacos não detectados em alimentos também podem gerar problemas de alergia e toxicidade, que são difíceis de diagnosticar devido à falta de esclarecimento na sua ingestão (CABELLO, 2006).

Além disso, o uso desenfreado de antimicrobianos ocasiona a contaminação do ambiente aquático e terrestre e também causa impactos adversos em organismos não-alvo e, principalmente, na seleção de microrganismos resistentes (BILLA E DEZOTTI, 2003; PILARSKI E SAKABE, 2009; CABELLO et al., 2013).

2.6 Resistência aos antimicrobianos

A pressão seletiva causada pelo uso intensivo de antimicrobianos em medicina humana, veterinária e aquicultura, associada a vários mecanismos de transferência genética entre bactérias pode ter contribuído para o surgimento e propagação da resistência em diferentes grupos de bactérias (GOLD, 2001).

O uso de antibióticos na aquicultura tornou uma preocupação mundial por representar um risco potencial à saúde pública, seja pelo desenvolvimento da resistência bacteriana em ambiente aquático que pode infectar seres humanos, ou mesmo pela transferência de genes de resistência até a sua incorporação a patógenos humanos (LAPATRA; MACMILLAN, 2008), o que resultaria em uma vulnerabilidade em relação às infecções bacterianas, uma vez que determinados antibióticos, não teriam mais efeito (CAUMO et al., 2010; CANTAS et al., 2013).

Devido à pressão seletiva que exercem sob as bactérias, os antibióticos agem como indutores da expressão de genes bacterianos que codificam mecanismos de resistência, sendo o poder de seleção proporcional ao tempo de exposição das bactérias ao antibiótico (BUTAYE et al., 2003).

A obtenção de resistência por uma bactéria sensível que provém de uma alteração genética se expressa bioquimicamente. Essa alteração pode ser decorrente de mutações cromossômicas ou pela aquisição de plasmídios de resistência (BILLA E DEZOTTI, 2003; MOTA et al., 2005; TRABULSI E ALTERTHUM, 2008), sendo a última forma a mais preocupante, uma vez que um plasmídio pode conter genes de resistência para vários antibióticos de diferentes composições, como também uma bactéria pode conter um ou mais plasmídios de resistência distintos (TRABULSI E ALTERTHUM, 2008). E, a transferência gênica entre bactérias permite a passagem de material genético entre outras espécies e até gêneros diferentes (GOZI, 2016).

A organização internacional Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) é a responsável pela padronização das metodologias de determinação da susceptibilidade bacteriana a antimicrobianos, como também fornece os parâmetros de avaliação de resistência pelos métodos de disco difusão (antibiograma) e da concentração mínima inibitória (MIC). Entretanto, para bactérias provenientes de animais aquáticos, os parâmetros ainda não estão bem definidos, sendo *Aeromonas salmonicida* a única a possuir um valor de corte epidemiológico (SMITH e KRONVALL, 2014).

Todavia, a resistência aos antibióticos apresenta uma grande preocupação quando se trata de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., tendo em vista os elevados percentuais desses isolados resistentes aos mais diversos princípios ativos (SILVA, 2010).

3. REFERÊNCIAS

ABDULLAH, A.I.; HART, C.A.; WINSTANLEY, C. Molecular characterization and distribution of virulence associated genes amongst *Aeromonas* isolates from Libya. *Journal of Applied Microbiology*, v.95, p.1001-1007, 2003.

ALENCAR, C.A.G; MAIA, L.P. Perfil socioeconômico dos pescadores brasileiros. *Arquivos de Ciências do Mar* . 44(3). 2011.

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

AMADOR , L. V. Estudio taxonômico de aeromonas móviles y salicilina naegativas. **Tese (Doutorado)** Faculdade de Ciencias Biológicas da Universidade de Valência, Valência, 2007.

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSSI JÚNIOR, O.D. Redução dos números de bactérias indicadoras de poluição e microrganismos mesófilos nas diferentes fases de tratamento da água na Estação de tratamento de água da cidade de Jaboticabal/SP. *Ciência Veterinária*, Jaboticabal, v. 6, p. 08-09,1992.

BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editora da UFSM, Santa Maria-RS, 2005. 470pp. UFSM, 2005.

BARROS, C.G. Perda da qualidade do pescado, deterioração e putrefação. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, v. 2, n. 30, p. 59-66, 2003.

BATISTA, G.M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P.T. Alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 24, n. 4, p. 573-581, out./dez. 2004.

BEZERRA, J. E SILVA, W. **Desova e seleção de peixes de água quentes, temperadas e frias**. Fortaleza: UFC. 89 p. 1997.

BILA D.M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova* 26:523-530. 2003.

BOSCOLO, W.R; SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.A.; SCHAEFER, A.; REIDEL, A.; Farinha de resíduo da filetagem de tilápia em rações para alevinos de piavuçu (*Leporinus Macrocephalus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.6, p. 1819-1827, 2005.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Disponível em: < <https://www.embrapa.br/tema-pesca-e-aquicultura/nota-tecnica/>>. Acesso em: 30 set. 2017. Brasília, DF. 2017a.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Tabela 3940 - Produção da aquicultura, por tipo de produto Brasil, Grande Região e Unidade da Federação. Ano-2016. Disponível em < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/2041-np-producao-da-pecuaria-municipal/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>> acesso em: 02 out 2017. 2017b.

BRAUN, P.; SUTHERLAND, J.P. Predictive modeling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of selected Enterobacteriaceae and *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.125, p. 257-266, 2005.

BRITSKI H.A.; SILIMON, K.Z.S.; BALZAC, L.S. Peixes do Pantanal: manual de identificação. Brasília: **Embrapa; SPI**, 184p.1999.

BRITSKI, H. A; SILIMON, K.Z.S; LOPES, B.S. *Peixes do Pantanal. Manual de identificação*. 2ª Ed. Brasília: **Embrapa-SPI**, 2007.

BURGER, J. Fishing, fish consumption, and awareness about warnings in a university community in central New Jersey in 2007, and comparisons with 2004. *Environmental Research*, v. 108, n. 1, p. 107-116, 2008.

BURRIDGE L, WEIS JS, CABELLO F, PIZARRO J, BOSTICK K. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*; 306(1-4):7–23, 2010.

BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A.; HAESEBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clin Microbiol Rev* 16(2): 175-188, 2003.

CABELLO, F.C.; GODFREY, H.P.; TOMOVA, A.; IVANOVA, L.; DÖLZ, H.; MILLANAO, A.; BUSCHMANN, A.H. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol* 15:1917-1942. 2013.

CABELLO, F.C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol*.8(7):1137–44, 2006.

CAHILL, M. M. Bacterial flora of fishes: a review. *Microbial Ecology*, v.19, p. 21-14, 1990.

CANTAS L.; SYED Q.A.S.; CAVACO L.M; MANAIA C.M; WALSH F.; POPOWSKA M.; GARELIK H.B; SORUM, H. A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. *Front Microbiol* 4:1-14.2013.

CARDOSO, E.S. Pescadores artesanais: natureza, território, movimento social. São Paulo, v. 139, 2001.

CASTRO-ESCARPULLI, G.; FIGUERAS, M. J.; AGUILERA-ARREOLA, G.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-RENDÓN, E.; APARICIO, G. O.; GUARRO, J.; CHACÓN, M. R. Characterization of *Aeromonas spp.* isolated from frozen fish intended for consumption in México. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 84, p.41-49, 2003.

CAUMO K.; DUARTE M.; CARGNIN, S.T.; RIBEIRO, V.B.; TASCA, T.; MACEDO, A.J. Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. *Rev Liberato*. 11:183-190. 2010.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milkpowders. *International Dairy Journal*, Amsterdam, v.7, p.255-275, 2003.

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

DEMARTA, A.; KUPFERA, M.; RIEGELB, P.; HARF-MONTEILB, C.; TONOLLA, M.; PEDUZZI, R.; MONERA, A.; SAAVEDRA, M. J.; MARTÍNEZ-MURCIA, A. *Aeromonas tecta* sp. nov., isolated from clinical and environmental sources. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, n. 31, p. 278–286, 2008.

DIAS-NETO, J. Pesca no Brasil e seus aspectos institucionais-um registro para o futuro. *Revista CEPSUL-Biodiversidade e Conservação Marinha*, v. 1, n. 1, p. 66-80, 2010.

Environmental Protection Agency (EPA). *Aeromonas: human health criteria document*. Washington, 2006.

FARIAS, M.C.A.; FREITAS, J.A. Qualidade microbiológica de pescado beneficiado em indústrias paraenses. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 67, n. 2, p. 113-117, 2008.

FIGUEIREDO, H. C. P.; GODOY, D. T.; GOMES, C. A. Sanidade aquícola: antibióticos na aquíicultura. *Panorama da Aquíicultura*, v. 16, n. 105, p. 42-49, 2008.

Fisheries and Aquaculture topics (FAO). Fisheries statistics and information. Topics Fact Sheets. In: **FAO Fisheries and Aquaculture Department**. Rome, 2013.

Fisheries and Aquaculture topics (FAO). Fisheries statistics and information. Topics Fact Sheets. In: **FAO Fisheries and Aquaculture Department**. Rome, 2016.

FIGUEIRA, V., VAZ-MOREIRA, I., SILVA, M., MANAIA, C. M.. Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants. **Water research**, v. 45, n. 17, p. 5599-5611, 2011.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. *Food microbiology*, New York: Mc Graw – Hill. 681 p. 1998.

GARAVELLO, J.C.; BRITSKI, H.A. *Leporinus macrocephalus* sp. n. da Bacia do Rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). *Naturalia*, São Paulo, v.13, p.67-74, 1988.

GHALY, A.E; DAVE, D.; BUDGE, S.; BROOKS, M.S. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*, v. 7, n. 7, p. 859-877, 2010.

GHENGHESH, K.S.; AHMED, S.F.; EL-KHALEK, R.A.; AL-GENDY, A.; KLENA, J. *Aeromonas*-associated infections in developing countries. *Journal Infect Developing Countries*, v.2, n.2, p.81-98, 2008.

GHENGHESCH, K.S.; EL-GHODBAN, A.; DKAKNI, R.; ABEID, S.; ALTOMI, A.; TARHUNI, A.; MARIALIGETI, K. Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* in untreated well water. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.96, n.2, p. 169-173, 2001.

GOLD, H. S. Vancomycin resistant enterococci: mechanisms and clinical observations. *Clin Infect Dis* 33(2): 210-219, 2001.

GOZI, K.S. Perfil de resistência à antimicrobianos de *Aeromonas* sp. e *Streptococcus* sp. isolados de tilápia-do-Nilo e detecção dos genes envolvidos na resistência à tetraciclina. VII, 52 f. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/141997>>. Acesso em: 22 nov 2017.

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*, Exeter, v. 38, p. 2368–2374, 2004.

HAIMOVICI, M. Sistemas pesqueiros marinhos e estuarinos do Brasil: caracterização e análise da sustentabilidade. Rio Grande: Ed. FURG. 104p. 2011.

HÄNNINEN, M. L.; OIVANEN, P.; HIRVELÄ-KOSKI, V. *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimps and freshwater. *Food Microbiology*, London, v. 34, p. 17-26, 1997.

HIRSCH, D.; PEREIRA JÚNIOR, D. J.; PICCOLI, R. H.; LOGATO, P. V. R.; FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, n.6, p.1211-1217, 2006..

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

KÜMMERER, K. «Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I». *Chemosphere* 75, 417–434. 2009.

LAPATRA S.E.; MACMILLAN J.R. Fish health management and the environment. *In*: Tucker CS, Hargreaves JA (eds). Environmental best management practices for aquaculture. Ames, Iowa, USA, 487-518. 2008.

MACHADO, T.M.; FURLAN, E.F.; NEIVA, C.R.P.; CASARINI, L.M.; ALEXANDRINO DE PÉREZ, A.C.; LEMOS NETO, M.J.; TOMITA, R.Y. Fatores que afetam a qualidade do pescado na pesca artesanal de municípios da costa sul de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 3, p. 213-223, 2010.

MANAIA, C. M.; VAZ-MOREIRA, I.; NUNES, O. C. «Antibiotic Resistance in Waste Water and Surface Water and Human Health Implications». 20, 173–212. 2012.

MARCHESINI, R.; CRUZ, R.A. Turismo de base comunitária em estuário e manguezal: uma alternativa para o pescador artesanal. *Revista Brasileira de Ecoturismo*, 6(5): 896-909. 2014.

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, 2002a.

MARTINS, L.; MARQUEZ, R.F.; YANO, T.; Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, Baltimore, v.32, p 237-242, 2002b.

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

MOL, S.; TOSUN, Y. The quality of fish from retail markets in Istanbul, Turkey. *Journal of Fisheries Sciences*, v. 5, n. 1, p. 6-25, 2011.

MOTA R.A.; SILVA K.P.C.; FREITAS M.F.L.; PORTO W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Braz J vet Resanim Sci* 42:465-470. 2005.

NEWMAN, S. G. Bacterial vaccines for fishers. *Annual Review of Fish Diseases*, New York, v.3, p.145-185, 1993.

NOVOTNY, L.; DVORSKA, L.; LORENCOVA, A.; BERAN, V. Fish: a potencial source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinárni Medicína*, v. 49, n. 9, p. 343-358, 2004.

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

PILARSKI, F.; SAKABE, R. Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: Profilaxia ou Tratamento? In: PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M.; CYRINO, J. E. P.; FERNANDES JÚNIOR, A.C. (Ed). Anais do 3º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes, Botucatu, p.101-130. 2009.

POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyer and Van Niel 1936. In: DRIEG, N. R. (Ed). **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Baltimore: Willians and Wilkins, v.1, p.545-584.1984.

REYNALTE-TATAJE, D.A. Reproducción inducida, desarrollo embrionario y alevinaje de la lisa, *Leporinus macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988). 2001, 92f. **Tese (licenciatura)**, Universidade Ricardo Palma, Lima 2001.

RIBEIRO, A.L.M.S.; OLIVEIRA, G. M.; FERREIRA, V.M.; PEREIRA, M. M. D.; SILVA, P. P. O.. Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 109-112, 2009.

RIBEIRO, R.P.; HAYASHI,C.; MARTINS, E.N.; NIETO L.M.; SUSSEL, F.R. Hábito e seletividade alimentar de pós larvas de piavuçu, *Leporinus Macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988), submetidas a diferentes dietas em cultivos experimentais. *Acta Scientiarum*, v.23, n.4, p. 829-834, 2001.

RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V.; *Aeromonas*. In: VIEIRA, R. H. F. **Microbiologia , higiene e qualidade do pescado- teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004, 380 p.

SAHA, D.; PAL, J. In vitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from EUS-affected fishes in India. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, v. 34, p. 311-316, 2002.

SCORVO-FILHO, J. D. Agronegócio da aquicultura: perspectivas e tendências. Textos técnicos do Instituto de Pesca de São Paulo. 2004. Disponível em: http://www.pesca.sp.gov.br/agronegocio_aquicultura.pdf, Acesso em 02 out 2017.

SEBRAE. Aquicultura no Brasil: série estudos mercadológicos. Disponível em <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)> . Acesso em 16 jun 2017. Brasília, 2015.

SHIROTA, R.; SONADA, D. Y. Comercialização de pescados no Brasil: caracterização dos mercados. In: CYRINO, et al, Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 533p. 2004.

SMITH P.; KRONVAL G. How many strains are required to set an epidemiological cut-off value for MIC values determined for bacteria isolated from aquatic animals. *Aquacult Int* 23:465-470. 2014.

SILVA, M.L.; MATTÉ, G.R.; MATTÉ, M.H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil, *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 67, n. 3, p. 208-214, 2008.

SILVA, R.M.L. Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense. 2010. XVI, 75 f. **Tese (doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103814>>. Acesso em: 14 fev 2018.

SOARES, C.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, R.R.B; FURUYA, W.M.; GALDIOLI, E.M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela do farelo de canola na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.29, n.1, p. 109-117, 2000.

SOUSA, J. A.; SILVA-SOUZA, A. T. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 373-381, Dec. 2001.

STAPLES, D.; SATIA, B.; GARDINER, P.R. A research agenda for small-scale fisheries. Bangkok. FAO RAP Publication N° 2004/21. 42p. 2004.

TAVECHIO, W.L.G; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *Boletim Instituto da Pesca*, v. 35, n. 2, p. 335-41, 2009.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, 718p. 2008.

VASCONCELOS, M.; DIEGUES; A.C.S.A; SALES, R.R. Limites e possibilidades na gestão da pesca artesanal costeira. In: COSTA, A.L. (Org.) Nas Redes da Pesca Artesanal. Brasília, IBAMA – MMA. p.15-83. 2007.

VASEEHARAN, B.; RAMASAMY, P.; MURUGAN, T.; CHEN, J. C. In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(4), 285-291. 2005.

VIVEKANANDHAN, G.; SAVITHAMANI, K.; HATHA, A.A.M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawns of South India. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 76, p. 165-168, 2002.

WOO, P.T.K. Fish Diseases and Disorders. Volume1: Protozoan and Metazoan Infections. 2a. ed. Canadá: University of Guelph, 2006.

XU, D.; SHOEMAKER, C.A.; MARTINS, M.L.; PRIDGEON, J.W.; KLESIOUS, P.H. Enhanced Susceptibility of channel catfish To the Bacterium *Edwardsiella ictaluri* after Parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Microbiology* ,158:216-219,2012.

4. CAPÍTULO 1: ARTIGO CIENTÍFICO

Caracterização microbiológica, bioquímica e perfil de resistência a antimicrobianos de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar a qualidade higiênico-sanitária e verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., caracterização bioquímica e resistência a antimicrobianos de piavuçus capturados em rio e piscicultura. Foram avaliados 11 exemplares de piavuçu de pesca extrativa oriundos do rio Cuiabá e 22 exemplares da mesma espécie cultivada em cativeiros de duas pisciculturas diferentes (A e B), 11 de cada propriedade. As análises microbiológicas consistiram em: contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), contagem de coliformes totais e termotolerantes, detecção de *Salmonella* spp. e ocorrência de *Aeromonas* spp., bem como sua caracterização bioquímica e resistência a antimicrobianos. Para BHAM, coliformes e *Salmonella* spp, os resultados foram positivos, uma vez que estes se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação e literatura. Em relação às bactérias do gênero *Aeromonas* spp., houve ocorrência em 81,82% nos piavuçus de rio, 18,19% nos da piscicultura A e 72,72% nos da piscicultura B, sendo as espécies encontradas: *A. trola*, *A. veronii bivar sóbria*, *A. veronii bivar veronii* e *A. hydrophila*. Nos peixes de rio, 100% das colônias de *Aeromonas* spp. isoladas foram resistentes a cefalotina, 13,33% foram resistentes para cefoxitina 26,66% foram intermediárias para o mesmo antimicrobiano e 6,67% apresentaram-se intermediárias para sulfazotrim. Nos isolados da piscicultura A, 100% apresentaram-se resistentes a cefalotina e nos da piscicultura B, esse número foi de 35,72% para o mesmo composto. A qualidade higiênico-sanitária dos peixes dos três locais analisados apresentou-se de forma positiva, entretanto, para *Aeromonas* spp. os resultados demonstraram maior ocorrência em piavuçus de rio, assim como sua maior resistência aos antimicrobianos. Isso evidencia um risco a saúde pública uma vez que a população da região cuiabana tem por cultura, e maior acessibilidade, piavuçus capturados em rio.

Palavras-chave: pescado; microbiologia; *Aeromonas* spp.; antibiótico; resistência.

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the hygienic-sanitary quality and verify the occurrence of *Aeromonas* spp. Bacteria, biochemical characterization and antimicrobial resistance of piavuços captured in river and fish culture. Eleven specimens of extractive fishery from the Cuiabá river and 22 specimens of the same species cultivated in captivity of two different fish farms (A and B) were evaluated, 11 of each property. Microbiological analyzes consisted of: count of Mesophilic Aerobic Heterotrophic Bacteria (BHAM), counts of total and thermotolerant coliforms, detection of *Salmonella* spp. and occurrence of *Aeromonas* spp., as well as its biochemical characterization and antimicrobial resistance. For BHAM, coliforms and *Salmonella* spp, the results were positive, since these were within the limits established by legislation and literature. In relation to the bacteria of the genus *Aeromonas* spp., 81.82% occurred in the river piavuços, 18.19% in the A fishery and 72.72% in the B fishery. The species found were: *A. trota*, *A. veronii* bivar sober, *A. veronii* bivar veronii and *A. hydrophila*. In the river fish, 100% of the colonies of *Aeromonas* spp. were resistant to cephalothin, 13.33% were resistant to cefoxitin 26.66% were intermediate for the same antimicrobial and 6.67% were intermediates for sulfazotrim. In the isolates of fish culture A, 100% were resistant to cephalothin and in fish B, this number was 35.72% for the same compound. The hygienic-sanitary quality of the fish of the three analyzed sites was positive, however, for *Aeromonas* spp. the results showed greater occurrence in river piavuços, as well as their greater resistance to antimicrobials. This shows a risk to public health since the population of the Cuiabana region has by culture, and greater accessibility, piavuços caught in the river.

Keywords: fish; microbiology; *Aeromonas* spp .; antibiotic; resistance

4.1 Introdução

O *Leporinus macrocephalus*, piavuçu ou piauçu, é um peixe considerado de grande importância econômica para a pesca extrativa na área do Pantanal Matogrossense. Além disso, essa espécie também tem sido cultivada em pisciculturas por ser rústica, de hábito alimentar onívoro, apresentar rápido crescimento, ótimos índices zootécnicos e carne saborosa (GARAVELLO E BRITSKI, 1988; SOARES, 2000).

Apesar de todos esses pontos positivos, para que o piavuçu continue sendo de grande aceitabilidade no mercado, é necessário também o controle de sua qualidade higiênico-sanitária. A matriz alimentícia refletirá o local onde foi capturada, ou seja, quanto mais poluído for seu *habitat*, mais rica será a sua microbiota. Como consequência da poluição fecal dos mananciais aquáticos, este peixe pode ser potencialmente capaz de transmitir microrganismos patogênicos, como, por exemplo, as bactérias da família *Enterobacteriaceae*: coliformes e *Salmonella* spp. (GONÇALVES, 2011) e grande parte das Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas.

Além dessas bactérias, *Aeromonas* spp também se destaca por possuir alta patogenicidade . Em humanos, algumas espécies são consideradas patógenos causadores de gastroenterites, septicemias, endocardites, meningites, pneumonias, infecções de pele, do trato urinário, oculares e síndrome urêmica hemolítica, tendo um maior risco em pacientes com baixa imunidade (JANDA; ABBOTT, 2010).

Em peixes de água doce, *Aeromonas* spp. tem sido considerada agente primário de doenças causadoras de lesões ulcerativas e septicemia hemorrágica. Os surtos geralmente ocorrem em instalações de aquicultura pois essas bactérias são altamente onipresentes em corpos de água doce de baixa qualidade (SOUSA E SILVA-SOUZA, 2001; NOGA, 2011; IGBINOSA et al., 2014).

Quando doenças de ordem bacteriológica ocorrem em pisciculturas, o tratamento é realizado através de antimicrobianos e este também é utilizado para impedir a sua disseminação. Além disso, o uso profilático de antimicrobianos na produção de peixes é generalizado devido à crença de que esta prática melhora o crescimento e reduz a mortalidade, aumentando assim a produção (PRIDGEON; KLESIUS, 2012).

Entretanto, o uso excessivo de antimicrobianos na piscicultura pode afetar negativamente a saúde animal e humana, bem como o meio aquático, podendo veicular resíduos do fármaco utilizado e causar resistência aos mais diversos compostos através da descarga de água e do consumo de peixe (ICMSF, 2011; PATIL et al., 2016).

O objetivo deste trabalho foi investigar a qualidade higiênico-sanitária e verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* spp., caracterização bioquímica e sua resistência a antimicrobianos de piavuços capturados em rio e pisciculturas.

4.2 Material e Métodos

Para a realização do estudo, foram avaliados 11 exemplares de piavuço de pesca extrativa, capturados no rio Cuiabá, na cidade de Barão de Melgaço – Mato Grosso (MT) e 22 exemplares da mesma espécie cultivada em cativeiros de duas pisciculturas diferentes (11 de cada propriedade), ambas localizadas na região da grande Cuiabá-MT.

Os peixes foram adquiridos inteiros, diretamente com pescadores e piscicultores, sendo acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo na proporção 2:1 (peixe: gelo) e transportados imediatamente ao laboratório de Higiene e Tecnologia do pescado pertencente à faculdade de Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, localizada em Cuiabá-MT. Foi utilizado 25g da musculatura dos peixes como unidade analítica, obtida em ambiente de cabine de segurança microbiológica.

As análises microbiológicas consistiram em: Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas, contagem de coliformes totais e termotolerantes, pesquisa de *Salmonella* spp. e ocorrência de *Aeromonas* spp., bem como sua caracterização bioquímica e resistência aos antimicrobianos.

Em relação à avaliação da qualidade higiênico sanitária dos peixes, a contagem de aeróbios Mesófilos Totais foi realizada pelo método da American Public Health Association (APHA) para análise de alimentos (MORTON 2001), a contagem de coliformes totais e termotolerantes foram realizadas conforme a Instrução Normativa nº62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL 2003) e para análise de *Salmonella* spp. foi utilizado o método da International Organization for Standardization (ISO 6579:2007 (E)) (SILVA, 2010) adaptado.

Já para a análise de ocorrência de *Aeromonas* spp, foram utilizadas as metodologias descritas por Majeed et al. (1990) e Palumbo et al.(1991). Para a confirmação do gênero foram utilizadas as metodologias de Saad et al. (1995). E, para identificação das espécies, foi utilizada a chave de classificação Aerokey II (CARNARHAN et al. 1991). Após a identificação das espécies, foram realizados os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos: amicacina, cefalotina, cefoxetina, cefepime, ceftazidima, florfenicol, sulfazotrin e tetraciclina conforme o método de difusão de discos com o ágar Müller Hinton (NCCLS, 2004).

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com três tratamentos que consistiram em: rio, piscicultura A e piscicultura B e 11 repetições para cada tratamento, perfazendo um total de 33 amostras. Para os testes microbiológicos foi realizada a análise descritiva dos dados através de tabelas e porcentagem, já para o teste de susceptibilidade das amostras de *Aeromonas* spp. frente aos antimicrobianos foi realizada avaliação pelo teste de Kruskal-Wallis. Foram atribuídos valores para as respostas ao teste de sensibilidade (sensível = 2, intermediário = 1, resistente = 0). As análises foram realizadas pelo programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS).

4.3 Resultados e Discussão

Os Resultados das contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), coliformes totais, coliformes termotolerantes e ocorrência de *Salmonella* spp. em peixes capturados no rio Cuiabá e cultivados em duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), coliformes totais, coliformes termotolerantes e ocorrência de *Salmonella* spp em peixes capturados no rio Cuiabá e cultivados em duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá.

Análise	Local		
	Rio	Piscicultura A	Piscicultura B
BHAM	3,29 ± 0,96*	3,93 ± 0,99*	5,06 ± 0,93*
(log UFC/g)	(0 – 4,52)**	(0 – 5,23)**	(3,69 – 6,47)**
Coliformes Totais	2,77 ± 0,69*	3,50 ± 1,03*	4,26 ± 1,15*
(log UFC/g)	(<2 – 3,90)**	(<2 – 5,40)**	(2,48 – 5,62)**
Coliformes Termotolerantes	0±0*	0±0*	0±0*
(log UFC/g)	(0-0)**	(0-0)**	(0-0)**
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente/ 25g	Ausente/ 25g	Ausente/ 25g

*Média ± desvio padrão; **Valor mínimo - máximo; BHAM = Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, através da RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL 2001), não estabelece padrão para BHAM em peixe fresco, porém a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 2011) recomenda o valor máximo de 7,0 log UFC/g. Diante disso, 100% das amostras dos três locais analisados estavam conformidade com a literatura para este grupo de bactérias. No entanto, alguns pesquisadores (AGNESE et al., 2001;

PACHECO et al., 2004) relatam que contagens acima de 6,0 log UFC/g em pescado podem comprometer a inocuidade do alimento. Diante disso, na piscicultura B houve duas matrizes alimentícias (18,18%) com contagens acima do limite de segurança alimentar recomendado por esses autores. De forma geral, os peixes da piscicultura B apresentaram maiores contagens, mesmo que dentro do limite aceitável.

A contagem de BHAM se faz necessária para estimar o nível de higiene do alimento, uma vez que esta é inversamente proporcional à qualidade higiênica dele. Além disso, segundo Silva (2010), BHAM são oportunistas e podem constituir risco aos peixes e a saúde de quem os consome. Diante disso, a piscicultura B se destaca por deixar a desejar na higiene de suas matrizes alimentícias se comparada com os outros dois locais analisados, isso pode ter ocorrido por diversos fatores, como: baixa qualidade de água, forma de abate e manuseio incorreto do piscicultor.

Os resultados encontrados para BHAM se assemelham aos de Soares et. al (2014) onde em um trabalho realizado com musculatura de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em gaiolas, estes pesquisadores obtiveram contagem média de 2,89 log UFC/g no dia do abate, não ultrapassando assim o limite preconizado pela ICMSF (2011). Todavia, observa-se que as contagens obtidas por esses autores foram menores, isso se deve porque eles tiveram controle na hora do abate, o que não ocorreu no presente estudo, uma vez que adquirimos as matrizes alimentícias já abatidas pelos pescadores e piscicultores.

Entre as bactérias BHAM estão os do grupo coliforme. Assim como BHAM, a legislação brasileira vigente (BRASIL 2001), não estabelece limite para a contagem de coliformes totais, todavia, Franco e Landgraf (1996) trazem um valor de contagem aceitável de até 6,0 log UFC/g para não comprometer a inocuidade no alimento. Sendo assim, verifica-se que 100% das amostras dos três locais analisados apresentaram contagens dentro do aceitável pela literatura, sendo estas de 0 log UFC/g a 5,62 log UFC/g. Viana et. al (2016) em um estudo realizado com tambaqui (*Colossoma macropomum*) verificou contagens entre 1,63 log UFC/g a 3,04 log UFC/g, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo uma vez que estes autores também obtiveram contagens dentro do limite de segurança alimentar estabelecido por Franco e Landgraf (1996).

Segundo Silva (2010), a presença de coliformes totais, mesmo com contagens dentro do limite estabelecido pela literatura, apresenta certa preocupação, pois várias cepas de coliformes podem crescer em alimentos refrigerados, a qual é a forma de conservação mais comumente utilizada para peixes recém-abatidos.

Ressalta-se ainda que a conformidade na contagem de coliformes totais não anula a possibilidade de que o consumo dos peixes analisados pode colocar em risco à saúde do consumidor, uma vez que Franco e Landgraf (1996) não estabelecem um limite específico para este microrganismo em peixe fresco, mas sim um limite geral para microrganismos patogênicos presentes em produtos de origem animal.

Dentro do grupo de coliformes totais estão os termotolerantes, que podem ser patogênicos, sendo assim, os principais indicadores de condições higiênico-sanitárias de alimentos. A legislação brasileira atual, RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL 2001), não preconiza limite para coliformes termotolerantes em peixe fresco, porém em peixe já processado, o limite máximo é de 2,0 log UFC/g, portanto, 100% das amostras de rio, piscicultura A e B estão em conformidade para esse grupo de bactérias.

Altos valores de coliformes termotolerantes em peixe fresco podem ocorrer devido à manipulação inadequada ou em decorrência do local de captura pois quanto mais próximo ao centro urbano maior é a contaminação em virtude de receber maior carga de dejetos. Os peixes de rio são os únicos em que seu *habitat* era próximo à cidade, mesmo assim, não houve diferença nas contagens se comparadas com os das pisciculturas A e B, isso se deve provavelmente porque coliformes termotolerantes são pouco competidor e os peixes foram analisados imediatamente após a captura, com isso, estavam frescos dificultado assim a proliferação desse grupo de bactérias. Além disso, foi realizado mínimo manuseio do animal e evisceração de forma higiênica o que inibe o crescimento de termotolerantes.

Assim como os coliformes, *Salmonella* spp. faz parte do subgrupo *Enterobacteriaceae*. Este microrganismo é o principal agente de doenças de origem alimentar em várias partes do mundo (WHO, 2005) e também no Brasil (SILVA, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), do Ministério da Saúde preconiza através da RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL 2001), parâmetros microbiológicos para peixe fresco, onde determina que *Salmonella* spp. deve estar ausente em 25g do alimento.

Diante disso, verificou-se que 100% das amostras estão de acordo com a legislação vigente, uma vez que apresentaram ausência de *Salmonella* spp em 25g do alimento.

Gonçalves (2011) descreve que normalmente o músculo e a parte interna do pescado recém-capturado são estéreis. Tendo em vista isso, se a matriz alimentícia apresentar presença de *Salmonella* spp e valores elevados de BHAM e coliformes é porque não foram tomados os devidos cuidados com a higiene e controle de tempo e temperatura durante o manuseamento, neste caso, este peixe entrará num processo gradativo e irreversível de deterioração. Todavia, pelos resultados apresentados anteriormente, observa-se que, de forma

geral, a higiene durante a coleta dos peixes, o transporte, a evisceração das matrizes alimentícias foram eficientes, evidenciando assim, resultados microbiológicos confiáveis.

A ocorrência de *Aeromonas* spp. foi verificada em 81,82% nos piavuços capturados no rio Cuiabá. Lanzarin e colaboradores (2011) identificaram *Aeromonas* spp. em 26,7% das amostras de Pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) capturados neste mesmo rio, entretanto, essa diferença de ocorrência deste microrganismo provavelmente se deve a altura do rio Cuiabá em que foi capturado os peixes, uma vez que os piavuços foram capturados no entorno da cidade de Barão de Melgaço-MT, onde os níveis de matéria orgânica e poluentes na água tendem a ser maior.

Em relação aos peixes de cativeiro, houve ocorrência de *Aeromonas* spp em 18,19% nos peixes da piscicultura A e 72,72% nos da piscicultura B. Rodrigues et al. (2010) em um trabalho realizado com tilápias cultivadas em três pisciculturas (A, B e C) do estado do Rio de Janeiro, verificou ocorrência de *Aeromonas* spp. em 62,9% na piscicultura A, 25,5% na B e 11,5% de C. Esses autores relatam ainda que essa diferença de presença deste microrganismo nas três pisciculturas avaliadas indica possível manejo diferenciado entre os produtores e/ou cuidados distintos quanto à origem e qualidade da água de cultivo, o se assemelha aos resultados encontrados no presente trabalho.

Pavanelli et al. (2008) relatam que em peixes, *Aeromonas* spp. são oportunistas, manifestam-se em hospedeiros enfraquecidos, sendo considerados invasores secundários, estabelecendo-se ao mesmo tempo em que outras infecções bacterianas, virais, parasitárias ou em decorrências de problemas nutricionais ou de estresse, entretanto, é importante destacar que mesmo com elevada ocorrência de *Aeromonas* spp. nos piavuços dos três locais avaliados, não foi detectado nenhum sinal clínico (lesões cutâneas) em nenhum dos peixes analisados, evidenciando assim que essas matrizes alimentícias eram portadoras assintomáticas.

Outro ponto de destaque é que segundo Figueira e colaboradores (2001), embora o tratamento de água proporcione uma redução significativa do número de *Aeromonas* spp., há evidências de que estas bactérias exibem mecanismos adaptativos que permitem a sua sobrevivência e proliferação nos sistemas de distribuição de água, sendo assim, de grande impacto na saúde pública quando detectada a presença de espécies patogênicas.

Na Tabela 2 verificam-se as espécies de *Aeromonas* spp. de ocorrência neste estudo, de acordo com a chave de identificação Aerokey II (CARNAHAN et al., 1991) utilizada para espécies móveis.

Tabela 2. Espécies de *Aeromonas* spp. de ocorrência em peixes do rio Cuiabá e de duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá.

Espécie	Local					
	Rio (N=15)		Piscicultura A (N=2)		Piscicultura B (N=14)	
	N	%	N	%	N	%
<i>Aeromonas schubertii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas hydrophila</i>	13	86,67	0	0	4	28,57
<i>Aeromonas jandei</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas caviae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas veronii</i> <i>bivar sobria</i>	1	6,66	0	0	1	7,14
<i>Aeromonas veronii</i> <i>bivar veronii</i>	0	0	0	0	3	21,43
<i>Aeromonas trota</i>	1	6,66	2	100	6	42,86

N= número de isolados.

Todas as espécies de ocorrência neste estudo podem ser patogênicas para seres humanos e peixes. Em destaque, a *A. hydrophila* que é uma das mais encontradas em ambientes aquáticos e foi a de maior ocorrência no presente estudo, nos peixes de rio e da piscicultura B. É um dado alarmante uma vez que esta espécie é considerada potencialmente patogênica. Além disso, alguns autores (CHEN, et al., 2003; BRAUN E SUTHERLAND, 2005) afirmam que *Aeromonas hydrophila* é uma grande produtora de exoenzimas termorresistentes, como lipases e proteases, e esses produtos, mesmo tendo sua estrutura terciária danificada durante processos que utilizam altas temperaturas, são capazes de reorganizar a estrutura tridimensional, tornando-se novamente ativos e passíveis de deteriorar os produtos finais, colocando em risco a saúde do consumidor.

Verificou-se também a presença de *A. veronii bivar sóbria* e *A. veronii bivar veronii* nos peixes de rio e piscicultura B. Villa et al. (2003) relacionam essas espécies com sintomas de diarreia aquosa e febre com dor abdominal em humanos.

Na piscicultura B, houve ocorrência de *Aeromonas trota* em 100% dos isolados. Dallagassa e colaboradores (2018) associaram essa espécie com meningites em humanos e os isolados foram resistentes a cefalotina, corroborando assim com o presente estudo uma vez que 100% dos isolados de *A.trota* dos peixes da piscicultura A foram resistentes a este mesmo composto, como se pode verificar na Tabela 3.

Na tabela 3 verifica-se o número (N) e frequência (%) de comportamento resistente, intermediário e sensível de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu do rio Cuiabá e duas pisciculturas distintas, frente aos antimicrobianos.

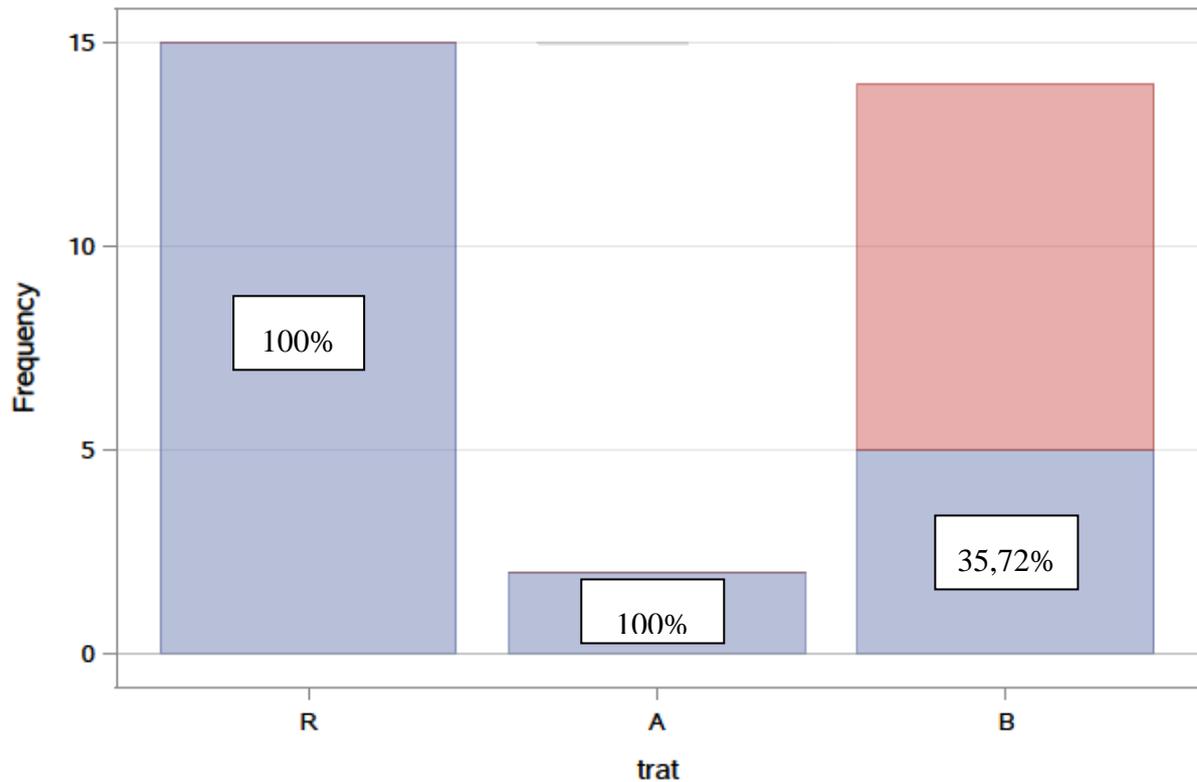
Tabela 3. Número (N) e frequência (%) de comportamento resistente, intermediário e sensível de *Aeromonas* spp. isoladas de piavuçu do rio Cuiabá e duas pisciculturas distintas localizadas na grande Cuiabá, frente aos antimicrobianos.

Antimicrobianos	Comportamento																		
	Resistente						Intermediário						Sensível						
	Rio		P1		P2		Rio		P1		P2		Rio		P1		P2		
N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Florfenicol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	100	2	100	14	100
Cefalotina	15	100	2	100	5	35,71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	64,29
Sulfazotrim	0	0	0	0	0	0	1	6,67	0	0	0	0	14	93,33	2	100	14	100	
Cefoxitina	2	13,33	0	0	0	0	4	26,67	0	0	0	0	9	60	2	100	14	100	
Cefepime	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	100	2	100	14	100	
Tetraciclina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	100	2	100	14	100	
Amicacina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	100	2	100	14	100	
Ceftazidima	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	100	2	100	14	100	

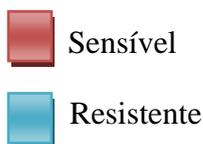
N= número de isolados; %= frequência; P1= piscicultura 1; P2= piscicultura 2.

A Cefalotina foi o único antimicrobiano que diferiu estatisticamente, ao nível de 0,05 de significância (probabilidade de erro de 5%), em relação à resistência nos três tratamentos, como observado no gráfico 1.

Gráfico 1. Frequência de resistência de *Aeromonas* spp. para cefalotina.



R= rio; A= piscicultura A; B= piscicultura B; trat= tratamento



Verifica-se no gráfico 1, pela cor azul, que 100% das colônias de *Aeromonas* spp. isoladas dos peixes de rio e piscicultura A apresentaram-se resistentes a cefalotina, já na piscicultura B este número foi de 35,72%.

A cor vermelha do gráfico simboliza sensibilidade a este mesmo antimicrobiano, o que em termos numéricos, representou 64,28% das colônias isoladas dos peixes da piscicultura B.

A cefalotina é uma cefalosporina de primeira geração, sua eficiência é maior em bactérias gram (+), portanto é uma possibilidade para ter apresentado alto índice de resistência

já que *Aeromonas* spp. é uma bactéria gram (-), principalmente nas colônias isoladas dos peixes de rio. Caso piscicultores estejam utilizando esse antibiótico para tratamento de doenças causadas por *Aeromonas* spp. ou por outras bactérias, isso além de ser ilegal uma vez que esse fármaco não é permitido para uso em pisciculturas pela legislação brasileira, também não deveria ser o antibiótico de eleição, uma vez que de forma geral, foi o de maior resistência aos isolados.

Além da cefalotina, nos peixes de rio, 6,67% das colônias isoladas de *Aeromonas* spp. apresentaram-se intermediárias para sulfazotrim, 13,33% foram resistentes para cefoxitina e 26,66% foram intermediárias para o mesmo antimicrobiano, todavia estatisticamente não houve diferença significativa se comparado com os outros tratamentos.

Antimicrobianos pertencentes ao grupo das tetraciclinas são amplamente utilizados para tratar e prevenir bacterioses em pisciculturas (TENDÊNCIA E DELA PEÑA, 2002; HATHA et al., 2005) por conta do baixo custo e facilidade na compra. Alguns trabalhos (HIRSCH et.al, 2006; CARNEIRO et al., 2007; SANTOS et al., 2014) realizados com isolados de *Aeromonas* spp. em peixes identificaram resistência a esse composto, todavia no presente estudo, não foi detectado nenhum isolado resistente a tetraciclina, provavelmente os produtores das pisciculturas analisadas não utilizavam esse composto para o tratamento de bacterioses.

É importante destacar também que, segundo Figueiredo (2008), o único antimicrobiano permitido pela legislação brasileira em aquicultura é o florfenicol e este se apresentou como sensível em todas as colônias isoladas de *Aeromonas* spp de peixes capturados nas pisciculturas A e B, o que confirma a eleição desse antimicrobiano para tratamento de bacterioses em pisciculturas, sendo imprescindível o uso deste seguindo o protocolo e aos cuidados de um médico veterinário.

Verificou-se que a maior ocorrência de resistência aos fármacos, de forma geral, foi nos isolados de *Aeromonas* spp. dos peixes provenientes do rio Cuiabá, todavia, em rios não se utiliza antibióticos para tratamento de bacterioses em peixes. Hatha et al. (2005) relatam que a presença de fezes no ambiente aquático infelizmente é uma realidade no Brasil e que elas frequentemente estão acompanhadas de bactérias patogênicas ao qual poluem as águas, podendo não só contaminar peixes e outros organismos aquáticos que vivem nelas como também tem uma grande possibilidade de trocar facilmente plasmídeos, o que pode resultar no aumento da frequência de amostras multirresistentes e que a pressão de seleção local também pode influenciar o perfil de resistência aos antimicrobianos.

Oliveira e Pinto (2017) realizaram análise microbiológica da água do rio Cuiabá em quatro pontos do perímetro urbano e verificaram contagens de Coliformes Totais e *Escherichia coli* acima do permitido pela Resolução nº 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) em 100% das amostras coletadas. Portanto, a alta carga de microrganismos patogênicos na água do rio Cuiabá teve direta relação com a frequência de resistência aos antimicrobianos encontrada no presente estudo.

4.4 Conclusão

A qualidade higiênico-sanitária dos peixes dos três locais analisados foi positiva, uma vez que os resultados obtidos encontraram-se dentro do limite estabelecido pela literatura e legislação. Todavia, nestas mesmas matrizes alimentícias, houve elevada ocorrência de *Aeromonas spp.*, sendo os peixes provenientes de rio os que apresentaram maior prevalência e resistência aos antimicrobianos. Isso evidencia um risco à saúde pública uma vez que a população da região cuiabana tem por cultura, e maior acessibilidade, piavuços capturados em rio.

4.5 Agradecimentos

Ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) pela aquisição dos meios de cultura.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

4.6 Referências

AGNESE, A.P.; OLIVEIRA, V.M.; SILVA, P.P.O.; OLIVEIRA, G.A. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Seropédica –RJ. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 15 n. 88p. 67-70, 2001.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC N°12, de 02 de Janeiro de 2001 que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**, 2001.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n° 357/2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, 2005.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa n°62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003.

BRAUN, P.; SUTHERLAND, J.P. Predictive modeling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of selected Enterobacteriaceae and *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.125, p. 257-266, 2005.

CARNAHAN, A. M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical aeromonas species. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v.29, p. 2843-2849, 1991.

CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P; PEREIRA JÚNIOR, D.J; LEAL, C.A.G; LOGATO, P.V.R. Profile of antimicrobial resistance in bacterial populations recovered from different Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture systems. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 869-876, 2007.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milkpowders. *International Dairy Journal*, Amsterdam, v.7, p.255-275, 2003.

DALLAGASSA, C. B.; SUREK, M.; VIZZOTTO, B.S.; PREDIGER, K.C; MORIEL, B.; WOLF, S. WEISS, V.; CRUZ, L.M; ASSIS, F.E.A; PALUDO, K.S REGO, F.G.M; FARAH, S.M.S.S. Characteristics of an *Aeromonas* trota strain isolated from cerebrospinal fluid. *Microbial pathogenesis*, 2018.

FIGUEIREDO, H. C. P.; GODOY, D. T.; GOMES, C. A. Sanidade aquícola: antibióticos na aquíicultura. *Panorama da Aquíicultura*, v. 16, n. 105, p. 42-49, 2008.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. Fatores intrínsecos e extrínsecos que controlam o desenvolvimento microbiano nos alimentos.. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 13-26, 1996.

GARAVELLO, J.C.; BRITSKI, H.A. *Leporinus macrocephalus* sp. n. da Bacia do Rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). *Naturalia*, São Paulo, v.13, p.67-74, 1988.

GONÇALVES, A. A. Tecnologia do pescado: **Ciência, Inovação e Legislação**, v. 608, 2011.

HATHA, A. A. M.; VIVEKANANDHAN, A. A.; JOICE, G. J.; CHISTOL. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.98, p. 131-134, 2005.

HIRSCH, D.; PEREIRA JÚNIOR, D. J.; PICCOLI, R. H.; LOGATO, P. V. R.; FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, n.6, p.1211-1217, 2006.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods 8 - Use of data for assessing process control and product acceptance. Nova York: Springer, 2011

IGBINOSA, Isoken H. Antibigram profiling and pathogenic status of *Aeromonas* species recovered from Chicken. *Saudi journal of biological sciences*, v. 21, n. 5, p. 481-485, 2014.

ISSO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp., 4th ed. 2002. The international Organization for Standardization, amendment 1: 15/07/2007.

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

LANZARIN, M.; ALMEIDA-FILHO, E.S.; RITTER, D.O; MELLO, C.A.; CORRÊA, G.S.S; IGNÁCIO, G.M.S. Ocorrência de espécies do gênero *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotróficos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. vol.63 no.6 Belo Horizonte dez. 2011

MAJEED, K. N.; EGAN, A. F.; MacRAE, I. C. Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal. *Journal of Applied bacteriology*, Oxford, v.67, p.165-170, 1990.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P., and K.IITO (ed.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. American Public Health Association,. Chapter 7, p. 63-67. Washington, D.C,2001.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STUDIES PERFORMANCE STANDARDS FOR ANTIMICROBIAL DISK SUSCEPTIBILITY TESTS. 4th ed. NCCLS document M2-A4. Villanova, USA, 2004.

NOGA, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, 2011.

OLIVEIRA, W.F., PINTO, O.B. Análise Microbiológica da Qualidade das Águas do Rio Cuiabá Perímetro Urbano, a Partir de 4 Pontos de Amostragem. **UNICIÊNCIAS**, v. 21, n. 2, p. 56-59, 2017.

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**, v. 18 n. 116/117, p. 68-72. 2004.

PALUMBO, S. A.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; PHILLIPS, J.G. Model for anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. **Journal of Food Protection**. Amsterdam, v.55, n.4, p.260-265, 1991.

PATIL, H. J.; BENELT-PERELBERG, A.B; NAOR, A.; SMIRNOV, M.; OFEK, T.; NASSER, A.; MINZ, D.; CYTRYN, E. Evidence of increased antibiotic resistance in phylogenetically-diverse *Aeromonas* isolates from semi-intensive fish ponds treated with antibiotics. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1875, 2016.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. 3.ed. Maringá: Eduem, 311p. 2008.

PRIDGEON, J.W.; KLESIUS, P. H. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. **Animal Science Reviews**, v. 7, p. 1-16, 2012.

RODRIGUES, E; FONSECA, A.B; FERNANDES, M.L; CASTAGNA, A.A. Diversidade na ocorrência de *Aeromonas* spp. em Tilápias cultivadas em três diferentes Pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro. **Pub Vet**, v. 4 No. 12 p. Art. 788-794. 2010.

SANTOS, F.G.B; GOUVEIA, G.V; FRANÇA, C.A; SOUZA, M.G; COSTA, M.M. Microbiota bacteriana com potencial patogênico em pacamã e perfil de sensibilidade a antimicrobiano. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 2, 2014.

SILVA N, JUNQUEIRA VCA, SILVEIRA, NFA, TANIWAKI, M.H, SANTOS, R.FS, GOMES RAR. Manual de Métodos de Análise Microbiológicas de Alimentos e Água. Varela, São Paulo. 2010.

SOARES, C.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, R.R.B; FURUYA, W.M.; GALDIOLI, E.M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela do farelo de canola na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p. 109-117, 2000.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A.; SOUZA, L. B. Microbiological quality of the Nile tilápia (*Oreochromis niloticus*) fillets in ice storage. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2273-2278, 2014.

SOUSA, J. A.; SILVA-SOUZA, A. T. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 373-381, Dec. 2001.

TENDENCIA, E.A.; dela PEÑA, D.P. Level and percentage recovery of resistance to oxitetracycline and oxolinic acid of bacteria from shrimp ponds. **Aquaculture**, v.213, p.1-13, 2002.

VIANA, I. C. L. A., VALIATTI, T. B., SOBRAL, F. D. O. S., ROMÃO, N. F., FONSECA, C. X., OLIVEIRA, U. A. D.. Análise microbiológica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na feira municipal de Ariquemes, Estado de Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 67-73, 2016.

VILA, J. Ruiz, J., GALLARDO, F., VARGAS, M., SOLER, L., FIGUERAS, M. J., GASCON, J. *Aeromonas* spp. and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. **Emerging infectious diseases**, v. 9, n. 5, p. 552, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Drug-resistant *Salmonella*. **Fact Sheet n° 139**, Revised April, 2005.