



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL



**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A
ANTIMICROBIANOS DAS BACTÉRIAS ISOLADAS DE TAMBAQUI (*Colossoma
macropomum*) COMERCIALIZADO NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA**

SÃO LUÍS – MA

2016

ELDO JOSÉ RODRIGUES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A
ANTIMICROBIANOS DAS BACTÉRIAS ISOLADAS DE TAMBAQUI (*Colossoma
macropomum*) COMERCIALIZADO NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina
Veterinária Preventiva

Orientadora: Prof. Dra. Francisca Neide
Costa

SÃO LUÍS – MA

2016

ELDO JOSE RODRIGUES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A
ANTIMICROBIANOS DAS BACTÉRIAS ISOLADAS DE TAMBAQUI (*Colossoma
macropomum*) COMERCIALIZADO NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina
Veterinária Preventiva

Qualificação defendida e aprovada em: ____/____/____ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Professora. Dra. Lúcia Maria Coelho Alves

1º membro

Professora. Dra. Isabel Azevedo Carvalho

2º membro

Professora Dra. Francisca Neide Costa – UEMA

Orientadora

À minha família e em especial meus pais,
À minha esposa,
Por tudo que vocês fizeram por mim
Com muita gratidão
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, pelo amor incondicional, pela sabedoria, por me abençoar e iluminar durante esta jornada.

Aos meus pais, José Rodrigues dos Santos e Maria dos Anjos Pimentel dos Santos, pelo carinho, respeito, paciência e compreensão.

A todos os irmãos Manoel Batista, Diomedes, João, Antônio José, Elson e Emerson, pelo contínuo incentivo e apoio nesta caminhada.

Ao meu avô Elói Rodrigues dos Santos, (*in memoriam*), por ter me ensinado a ser uma pessoa honesta e humilde, meu eterno obrigado.

Agradeço em especial, minha esposa Marluce Pereira Damasceno Lima, pelo carinho, respeito, amor e companheirismo de todas as horas.

Agradeço à Prof^a. Dra. Francisca Neide Costa pela oportunidade, ensinamentos, orientação e amizade, meu muito obrigado.

Ao Grupo de Estudo em Medicina Veterinária e Saúde Pública – GEMVESP (Prof^a. Isabel Azevedo, Karina Cordeiro, Fabiana Borralho e aos demais pelo companheirismo e amizade de todos.

A toda equipe do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da UEMA, dona Ruthe Ferreira, Célia Fonseca, Thaliane França pelo apoio e carinho durante minha pesquisa.

Aos bolsistas de iniciação científica, em especial Lygia Galeno e a mestre Luciana Bastos que tanto me ajudaram na realização deste trabalho, principalmente nos momentos mais difíceis ao longo dessa caminhada, meu muito obrigado.

A todos os meus amigos do Mestrado em Ciência Animal por compartilharam os momentos de alegria, dificuldades, angústias e por proporcionarem momentos inesquecíveis durante esse período.

SANTOS, E. J. R.; COSTA, F. N. **Avaliação microbiológica e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – MA.** [Microbiological evaluation and profile of susceptibility to antimicrobials of isolated bacteria of tambaqui (*Colossoma macropomum*) marketed in the city of São Luís - MA]. 2016. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2016.

RESUMO

O pescado é um produto rico em proteína animal, possui nutrientes essenciais, e é utilizado como fonte de alimento em numerosas regiões do mundo. Com o objetivo de se avaliar a qualidade microbiológica e verificar o perfil de susceptibilidade antimicrobiano das bactérias isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – Maranhão. Foram submetidas a análises 60 amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) obtidas de supermercados e feiras livres da cidade. As amostras coletadas foram analisadas quanto à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C; pesquisa de *Escherichia coli*; contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positivo; pesquisa de *Salmonella* sp, *Aeromonas* spp e *Listeria* sp e perfil de resistência antimicrobiana. Detectou-se uma elevada contaminação por coliformes a 35°C e a 45°C, além de bactérias patogênicas como *Aeromonas* spp. em 56 (93,3%) amostras e *E. coli*, presente em 13 (21,66%) amostras. Não foram detectados, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Salmonella* sp e *Listeria* sp. Para o perfil de resistência antimicrobiana foram verificados que os isolados de *E. coli* apresentaram baixos percentuais de resistência aos antimicrobianos testados e para as cepas de *Aeromonas* isoladas foram verificados elevados percentuais de resistência e aos antimicrobianos, principalmente à ampicilina, amoxilina clavulanato, cefuroxima, cefoxitina, e Cefotaxima. O tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em feiras e supermercados da cidade de São Luís – MA apresentou condições higienicossanitária inadequadas para o consumo humano, podendo veicular patógenos de importância para saúde pública.

Palavras-chave: peixe de água doce, microbiologia, feira livre, supermercado

SANTOS, E. J. R.; COSTA, F. N. **Microbiological evaluation and profile of susceptibility to antimicrobials of isolated bacteria of tambaqui (*Colossoma macropomum*) marketed in the city of São Luís - MA** [Avaliação microbiológica e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – MA]. 61f. Dissertation (Master of Animal Science) - University of Maranhão, São Luís, 2016.

ABSTRACT

Fish is a product rich in animal protein, has essential nutrients, and is used as a food source in many regions of the world. In order to evaluate the microbiological quality and to verify the antimicrobial susceptibility profile of tambaqui (*C. macropomum*) isolates commercialized in the city of São Luís - Maranhão. Sixty samples of tambaqui fillets (*C. macropomum*) obtained from supermarkets and free fairs of the city were analyzed. The collected samples were analyzed for the Most Likely Number (NMP) of coliforms at 35°C and 45°C; Search for *Escherichia coli*; Counting and identification of *Staphylococcus* coagulase positive; Research of *Salmonella* sp, *Aeromonas* spp and *Listeria* sp, and antimicrobial resistance profile. High coliform contamination at 35 ° C and 45 ° C was detected in addition to pathogenic bacteria such as *Aeromonas* spp. In 56 (93.3%) samples and *E. coli* present in 13 (21.66%) samples. No coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella* sp and *Listeria* sp. For the antimicrobial resistance profile, it was verified that the *E. coli* isolates showed low percentages of antimicrobial resistance tested and for the *Aeromonas* strains isolated, high percentages of antimicrobial resistance were verified, mainly to ampicillin, amoxiline clavulanate, cefuroxime, cefoxitin, and cefotaxime. The tambaqui (*C. macropomum*) commercialized in fairs and supermarkets of the city of. Presented hygienic sanitary conditions inadequate for the human consumption, being able to transport pathogens of importance for public health.

Key words: freshwater fish, microbiology, fair, supermarket

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localização da cidade de São Luís – MA.....	41
Figura 2 Preparação das amostras de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) para análises microbiológicas em laboratório, São Luís – MA, 2016.....	42
Figura 3 Condições dos locais de comercialização de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) em feiras livres da cidade de São Luís – MA, 2016.....	50
Figura 4 Condições dos locais de comercialização de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) em supermercados da cidade de São Luís – MA, 2016.....	50
Figura 5. Número e frequência de espécies de <i>Aeromonas</i> isoladas de 60 amostras filés de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) coletadas em supermercados e feiras livres da cidade de São Luís – MA, 2016	52
Figura 6. Susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de <i>E. coli</i> isoladas de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) comercializado em São Luís – MA, 2016	55
Figura 7. Percentuais de resistência de <i>Aeromonas</i> spp. isoladas tambaqui (<i>C. macropomum</i>) comercializado em São Luís – MA, 2016	57

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variação mínima e máxima do numero mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de *E. coli* em 30 amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em feiras da cidade de São Luís - MA, 2016 46
- Tabela 2.** Variação mínima e máxima do numero mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de *E. coli* em 30 amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em supermercados da cidade de São Luís - MA, 2016 47
- Tabela 3.** Contagem de *Staphylococcus* sp em amostras de filé de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em feiras da cidade de São Luís – MA, 2016 48
- Tabela 4.** Contagem de *Staphylococcus* sp em amostras de filé de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em supermercados da cidade de São Luís – MA, 2016 49
- Tabela 6.** Susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Aeromonas spp.* isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em São Luís – MA, 2016 56

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

ADA	Ágar Dextrina-ampicilina
AN	Ágar Nutriente
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATP	Adenosina Trifosfato
AVS	Ágar Vermelho de Fenol-amido-ampicilina
BHI	Caldo Infusão de Cérebro e Coração
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
BP	Baird Parker
BPF	Boas Práticas de Fabricação
C	Citrato
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
cm	Centímetros
DHA	Ácido Docosaexanoico
DNA	Ácido Desoxibonucleico
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
EC	<i>Escherichia coli</i>
BEM	Eosina Azul de Metileno
EFSA	European Food Safety Authority
EIEC	Patótipo Enteroinvasiva
EHEC	Patótipo Enterohemorrágica
EPA	Ácido Eicosapentanoico
ETEC	Patótipo Enterotoxigênica
FAO	Food and Agriculture Organization
FAPEMA	Fundação e Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão
HE	Ágar Entéric Hektoen
I	Indol
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LST	Caldo Lauril Sulfato Triptose
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg/L	Miligramas por Litro
ml	Mililitro
MV	Vermelho de Metila
NMP	Número Mais Provável
NUGEO	Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RVS	Caldo Rappaport-Vassiladis

SEBRAE	Serviço de Apoio às Micros e Pequenas Empresas
SC	Caldo Selenito Cistina
sp.	Espécie
spp.	Subespécie
TSA	Ágar Trypticase Soja
TSB	Caldo Trypticase Soja
TSI	Ágar Tríplice Açúcar Ferro
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UVM	Caldo Universidade de Vermont
VP	Voges-Proskauer
XLD	Ágar Xilose Lisina Desoxicolato
WHO	World Health Organization
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma

SUMÁRIO

CAPITULO I.....	13
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específicos.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Importância do peixe para a alimentação humana.....	17
3.2 Produção e consumo de pescado no Brasil.....	19
3.3 Tambaqui (<i>C. macropomum</i>).....	21
3.4 Qualidade higiênicossanitária do pescado.....	21
3.5 Microrganismos patogênicos no pescado.....	22
3.5.1 Coliformes a 35°C, a 45°C e <i>Escherichia coli</i>	23
3.5.2 <i>Staphylococcus</i> spp.....	24
3.5.3 <i>Salmonella</i> sp.....	25
3.5.4 <i>Aeromonas</i> spp.....	25
3.5.5 <i>Listeria</i> sp.....	26
3.5.6 Resistencia bacteriana a antibióticos.....	27
REFERÊNCIAS.....	29
CAPITULO II – Artigo I.....	37

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O pescado é considerado como todo produto retirado do meio aquático podendo ser utilizado como alimento para o ser humano. Deste modo, o termo pescado é genérico e envolvem peixes, crustáceos, moluscos, rãs, anfíbios, quelônios, mamíferos de águas doces ou salgadas e cefalópodes (BRASIL, 1997a; BARROS, 2003).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), o consumo médio de pescado no planeta chega a aproximadamente 18,8 quilos *per capita* por ano. No ano de 2011, a produção mundial atingiu os 154 milhões de toneladas, das quais 131 milhões foram designadas para o consumo humano, tornando o pescado de grande valor alimentar e econômico para o país (BRASIL, 2013).

Nos últimos anos, o Brasil se estruturou para se tornar um dos grandes produtores de pescado do mundo, assim como já possui liderança em outros seguimentos da pecuária como: carne bovina, suína e de frango. O país, conta ainda com a maior reserva de água doce do mundo (13%) e um extenso litoral banhando vários estados (BRASIL, 2013; ROCHA, 2013).

O peixe é a fonte de proteína animal que está sendo mais consumida no mercado internacional e a que encontra um vasto espaço para crescer. As principais espécies cultivadas no país nos últimos anos foram tilápia (*Tilapia rendalli*) e tambaqui (*C. macropomum*) atingindo uma produção de 198 e 139 milhões de kg, respectivamente no ano de 2014. Outras espécies como: Tambacu (*C. macropomum*), Tambatinga (*C. macropomum*), Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e Carpa (*Cyprinus carpio*), também conquistaram um lugar de destaque neste cenário (IBGE, 2014).

O tambaqui (*C. macropomum*) é originário da América do Sul, Bacia do Rio Amazonas e pertence à família *Characidae*, sendo considerado um dos maiores peixes da bacia amazônica chegando a atingir, aproximadamente 90 cm de comprimento e peso em torno de 30 kg (ARAÚJO, 2012). Esta espécie tem boa aceitabilidade pelo mercado consumidor de peixes e desperta grande interesse para a piscicultura no Brasil.

Sendo um produto rico em proteína animal e nutrientes essenciais, o peixe vem sendo utilizado como fonte de alimento em numerosas regiões do mundo (FAO, 2006). Sob o ponto de vista nutricional, o grande atrativo desta carne, em relação às demais, é conter proteínas de alta qualidade e rápida digestibilidade, aminoácidos essenciais, alto teor de lisina e ainda possuir vitaminas lipossolúveis e do complexo B. Possui na sua composição excelente

fonte de ferro, fósforo e cálcio, apresenta alta insaturação de ácidos graxos (ômega 3), e baixo teor de colesterol. Outra qualidade é a de poder ser indicado para pessoas de qualquer idade, principalmente crianças, adolescentes e idosos, além de pacientes convalescentes (LEDERER, 1991; OETTERER, 2002).

Apesar da importância do pescado em todo o mundo, e do seu alto valor nutricional, é considerado um alimento altamente perecível e susceptível à deterioração (RIBEIRO et al., 2009). O peixe exige alguns cuidados especiais para que suas características microbiológicas, sensoriais, físico-químicas e nutricionais permaneçam viáveis ao consumo humano (SILVA; CARVALHO, 2006).

As Boas Práticas de Manipulação permeiam todas essas características e baseiam-se numa série de procedimentos, tais como: higiene do manipulador, da instalação e utensílios; uso de gelo de qualidade e em quantidade adequada; controle de tempo e temperatura de manuseio, armazenamento e transporte; controle de pragas, animais domésticos e contaminantes, entre outros. Essas ações também agregam valor ao produto (CODEX, 2003).

No Brasil, os Ministérios da Saúde e da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceram para as indústrias de alimentos o uso de programas que contemplam a inspeção higienicossanitária da produção de alimentos, como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) os quais objetivam eliminar ou reduzir os riscos de contaminação microbiológica, química e física (CARDOSO; TESSARI, 2008). Entretanto, ainda é comum no Brasil a comercialização de produtos de origem animal sem qualquer tipo de inspeção ou mesmo alguns casos de inspeções inadequadas.

Para que o pescado tenha sua qualidade assegurada, é necessário que haja uma inter-relação entre tempo, higiene e temperatura (PEREDA et al., 2005). A falha em algum destes fatores pode favorecer o desencadeamento de reações autolíticas e/ou bacterianas, interferindo na qualidade e segurança do produto (VIEIRA, 2004).

No contexto de Saúde Pública, estudos que determinem ou estimem os padrões de qualidade sanitária de tambaqui (água doce), peixe popularizado e muito comercializado na cidade de São Luís e no Estado do Maranhão, são necessários para definir o atual padrão de utilização desse produto na alimentação humana.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a qualidade microbiológica e verificar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís – MA.

2.2. Específicos

- Quantificar coliformes a 35°C/g e a 45°C/g em filés de tambaqui;
- Pesquisar *Escherichia coli* nas amostras de filés de tambaqui;
- Realizar a contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positivo nas amostras analisadas;
- Isolar e identificar *Salmonella* sp. nas amostras;
- Isolar e identificar as espécies de *Aeromonas* spp. e *Listeria* sp.;
- Avaliar a susceptibilidade “in vitro” aos antimicrobianos dos microrganismos isolados.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância do peixe para a alimentação humana

Os peixes são uma fonte saudável de proteínas de alto valor biológico e de ácidos graxos poli-insaturados (BURGER, 2008; FURUYA, 2010). Além de serem de rápida digestibilidade, os peixes apresentam baixa taxa de gordura e fornecem ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, que reduzem os níveis de colesterol e a incidência de doenças cardiovasculares como a insuficiência cardíaca em adultos de meia idade, diminuindo a morbi-mortalidade cardiovascular (YAMAGISHI; NETTLETON; FOLSOM, 2008; MOZAFFARIAN et al., 2013).

O organismo humano é capaz de produzir ácidos graxos de cadeia muito longa, como os poli-insaturados, a partir dos ácidos linoléico e alfa-linolênico. No entanto, esse processo de síntese é afetado por diversos fatores, o que torna essencial para a manutenção de uma condição saudável, a ingestão desses ácidos graxos (ALMEIDA; FRANCO, 2006).

Assim como os ácidos graxos poli-insaturados, o ácido alfa-linolênico também está presente nos peixes, principalmente, aqueles oriundos de águas marítimas, por adquirir esses ácidos graxos no fitoplâncton, bem como, os peixes criados em cativeiro, que tiveram ácido alfa-linolênico incorporado nas rações possibilitando a conversão enzimática desse ácido precursor em ácido graxo poli-insaturado (MARTIN et al., 2006).

Os ácidos graxos essenciais ômega-3 presentes nos peixes são do tipo eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA) (SARTORI; AMANCIO, 2012). Esse último, desempenha importantes funções no desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina. Estudos confirmam que o consumo de peixe aumenta a função cognitiva e evita o baixo peso ao nascer (MARTIN et al., 2006). De forma geral, o DHA, seguido do EPA e α -linolênico são as maiores fontes de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, enquanto os ácidos linoléico e araquidônico são os que mais contribuem como fonte de ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 (ALMEIDA; FRANCO, 2006).

Segundo Reiffel & McDonald (2006), a ingestão de ácidos graxos ômega-3 presente em peixes, reduz o risco de morte por doenças cardiovasculares, contribui para a diminuição da pressão sanguínea e do ritmo cardíaco, diminui o teor de triglicerídeos e pode interromper o desenvolvimento de arteriosclerose.

SCHER et al. (2015) mostram que peixes de ambientes marinhos apresentam maior quantidade de ácidos graxos poli-insaturados do que peixes de "habitat" natural. No entanto, existem evidências de que peixes de água doce, cultivados em cativeiro, também apresentaram excelentes valores nutricionais. Isso se deve ao fornecimento de rações suplementadas com fonte de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3, como o óleo de linhaça que aumentam o valor nutricional do conteúdo lipídico de peixes de água doce (ALMEIDA; FRANCO, 2006).

Apesar das vantagens de consumo de peixe para o sistema cardiovascular, atribuídos, principalmente, ao aumento dos níveis de ácidos graxos poli-insaturados, as concentrações de ácidos graxos e ômega-3 podem variar de acordo com a espécie de peixe e a região (SCHER et al., 2015). A variação lipídica entre indivíduos de mesma espécie pode estar associada a fatores como época e local de captura, habitat, sexo, idade, entre outros (PESCADOR, 2006). Andrade, Bispo & Druzian (2009) relataram a variabilidade na composição nutricional das diferentes espécies de pescado no estado da Bahia.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o consumo, de pelo menos, 12 de pescado kg *per capita* por ano (WHO, 2007). O valor diário de referência *per capita* para consumo de ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa EPA e DHA é de 0,25 g para populações saudáveis (EFSA, 2009). Estudando o mercado de pescado da Região Metropolitana de Manaus, Gandra (2010) estimou que o consumo médio anual per capita naquela região foi de 33,7 kg em 2009.

O pescado também se destaca nutricionalmente devido à presença de vitaminas e minerais (SARTORI; AMANCIO, 2012). Além disso, enzimas glutathione peroxidase dependente de selênio 1 e 4 presentes na carne de peixes marinhos, inibem o início da oxidação lipídica e repara os fosfolipídios oxidados (GRIM et al., 2011).

Também são relatados efeitos positivos sobre o metabolismo de lipoproteínas, rigidez arterial, função endotelial e função plaquetária de coagulação (VRABLÍK et al., 2009).

Os benefícios nutricionais provenientes do consumo regular de pescado reforçam a necessidade de investimentos e incentivos por meio de políticas públicas para o aumento da disponibilidade e consumo deste alimento no Brasil, assim como a manutenção do padrão de ingestão nas regiões Norte e Nordeste (SARTORI; AMANCIO, 2012).

3.2 Produção e consumo de pescado no Brasil

A produção de pescado vem aumentando nos últimos anos, de forma que a piscicultura é uma das atividades que mais crescem no mundo. Em 2012, o Brasil ocupava a 12^a posição no ranking mundial de produção aquícola (SEBRAE, 2015). Já no ano de 2014, a produção total da piscicultura brasileira apresentou um aumento de 20,9% em relação à registrada no ano anterior, com uma produção total de 474,33 mil toneladas (IBGE, 2014).

A piscicultura é particularmente importante em países em desenvolvimento, pois, garante a subsistência de pequenos produtores, sendo um fator gerador de renda, além de apoiar as economias regionais e os valores sociais e culturais (SUMAILA; BELLMANN; TIPPING, 2016). O Brasil apresenta potencial para produção pesqueira e uma grande diversidade de peixes nativos.

De forma geral, peixes criados em cativeiro consomem ração balanceada. A otimização da formulação de rações é realizada considerando-se as exigências nutricionais para as diferentes fases de desenvolvimento, para garantir um adequado desempenho produtivo, higidez e retorno econômico (SILVA; GALICIO, 2012). Diversos estudos apontam fontes alternativas de alimento que garanta o desenvolvimento da piscicultura em várias regiões do Brasil, como a utilização de farinha de mandioca em substituição do milho contido na ração (SOUZA et al., 2009; PEREIRA-JÚNIOR et al., 2013).

Em alguns estados da Região Norte, essa tendência é fortemente evidenciada, sendo o Estado de Rondônia, líder nacional em produção, em cativeiro, de peixes nativos de água doce. A produção passou de 11 mil toneladas no ano de 2010 para 75 mil em 2014. Desta, 90% da produção de pescado em Rondônia é da espécie tambaqui (BURGER, 2008; ANCONI, 2015). O tambaqui produzido na Região Norte possui um mercado consumidor concentrado principalmente na região de Manaus. Entretanto, o produto é enviado para outras capitais do Brasil, visando melhores preços em mercados, nos quais a oferta é menor que a demanda (SEBRAE, 2015).

Na Região Nordeste, o Estado do Maranhão é o maior produtor de peixe atualmente, com pouco mais de 17,717 mil toneladas de peixe produzidas no ano de 2014 (IBGE, 2014). O estado possui abundantes recursos hídricos, sendo a pesca uma das atividades econômicas mais importantes, por constituir a base de sustentação alimentar e de renda. Em virtude da diminuição dos estoques naturais de peixes, principalmente devido à captura predatória e introdução de espécies exóticas nos lagos e rios, a aquicultura se mostra

como uma promissora alternativa de elevar a renda principalmente da agricultura familiar (MELLO et al., 2010).

Além disso, fatores como práticas alimentares mais saudáveis, controle de peso, prevenção de doenças e globalização cultural, dentre outros, vêm contribuindo para que o consumo de peixe tenha aumentado nos últimos anos (BAUDET; DAUGAREIL, 2014).

Existem evidências dos benefícios da ingestão de uma ou duas porções de peixe por semana (FAO, 2009; SARTORI; AMANCIO, 2012). Jaime et al. (2015) descreveram as prevalências de marcadores de consumo alimentar saudável e sua distribuição segundo variáveis sociodemográficas na população adulta brasileira, evidenciando elevada prevalência de consumo de peixe na dieta.

No entanto, mesmo com a constante divulgação associada aos benefícios para a saúde, o consumo de peixe é ainda dificultado por fatores como preços elevados e falta de padronização do produto, além de questões de controle de qualidade na cadeia de produção (MACIEL et al., 2013).

Existem algumas barreiras para o consumo de pescados no Brasil, tais como dificuldade de percepção e escolha do produto fresco, preço e ausência de atributos de controle de qualidade (SEBRAE, 2015). Maciel et al. (2013) observaram uma correlação entre o preço do peixe e os atributos de qualidade. Visando garantir melhor qualidade ao produto final, percebe-se que a cadeia de produção do pescado requer maior investimento, visto que os consumidores estão cada vez mais exigentes. Quando se trata de produção de todo tipo de pescado, é recomendado o uso de água com alto padrão de qualidade evitando o *stress* em peixes e o uso de práticas operacionais de produção que respeitem o meio ambiente (WANG; LU, 2016; SUMAILA; BELLMANN; TIPPING, 2016).

Outro fator preocupante quanto ao consumo de pescado é possibilidade de contaminação por produtos tóxicos provenientes de atividades antrópicas que afetam os ecossistemas aquáticos (WHO, 2008). Algumas comunidades ribeirinhas das regiões Norte e Nordeste estão expostas a níveis consideráveis de exposição ao mercúrio associados à ingestão de pescado, influenciados por fatores contaminantes do ambiente, como as atividades mineradoras e de hidrelétricas e possíveis queimadas da floresta nessas regiões (MILHOMEM-FILHO et al., 2016).

3.3 Tambaqui (*C. macropomum*)

O tambaqui (*C. macropomum*) é um peixe de origem na Bacia Amazônica, com hábito alimentar caracterizado pela ingestão de frutos e sementes em época de cheia e de zooplâncton no período de seca. Podem atingir até 90 cm de comprimento e chegar a 30 kg (GOMES; SIMÕES; ARAÚJO-LIMA, 2010; LOPERA-BARRERO et al., 2011).

A espécie está entre os peixes nativos da região Norte do Brasil, com maior potencial para cultivo em cativeiro (PEREIRA-JÚNIOR et al., 2013). O sistema mais utilizado para o cultivo dessa espécie é o viveiro escavado, mas também pode ser cultivado em tanques-rede (SANTOS et al., 2013; SEBRAE, 2015).

Em todo o país, o tambaqui manteve a segunda posição no ranking de peixes produzidos, com a despesca de 139,21 mil toneladas, ou 29,3% do total nacional (IBGE, 2014).

3.4 Qualidade higiênicossanitária do pescado

Os peixes podem ser contaminados em várias fases desde a captura até a sua comercialização principalmente durante o transporte, manuseio e processamento. Esta contaminação pode estar relacionada com as matérias-primas, pessoal e ferramentas de manipulação (SANJEE; KARIM, 2016). Gomes (2009) salienta que cuidados higiênicossanitários devem ser tomados desde o processo de captura, manutenção e armazenamento do pescado na embarcação até o momento da venda. Dessa forma, o pescado deve ser desembarcado e transportado em tempo hábil (máximo de 20 dias) para garantir a manutenção de suas características organolépticas e nutricionais.

O risco de contaminação aumenta com a lavagem incorreta das mãos (MURATORI et al., 2007), bem como, tossir, falar próximo ao produto sem a utilização de equipamentos de higiene e a má higienização dos utensílios usados na manipulação dos peixes (SILVA et al., 2015).

Silva, Matté & Matté (2008) compararam análises microbiológicas de vinte amostras de pescado comercializado em feiras livre de São Paulo - SP aos aspectos higiênico-sanitários das respectivas feiras, constatando a ocorrência de coliformes a 45°C. Os autores indicam que a contaminação do pescado se deve a maus hábitos de higiene do próprio feirante.

Viana et al. (2016) salientam que as autoridades governamentais devem investir em cursos e orientações para manipulação e conservação do pescado, bem como, em melhorias estruturais para o comércio, a fim de garantir a oferta de um produto com segurança alimentar, minimizando riscos à população.

O consumo de peixes contaminados pode causar distúrbios que vão desde uma gastroenterite leve até casos mais sérios, com possível risco de morte (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012). Dessa forma, a análise microbiológica de amostras de peixe, bem como, de materiais de processamento de peixe, atua como o indicador de determinação da qualidade do peixe (SANJEE; KARIM, 2016).

Outro fator que contribui para a perda da qualidade higiênicossanitária do pescado é a exposição deste nos pontos de venda, sem nenhum tipo de embalagem ou proteção. De forma geral, os supermercados são os estabelecimentos que mais se enquadram com as exigências higiênicossanitárias de venda de pescado (SILVA; MATTÉ; MATTÉ, 2008). Devido à falta de informação acerca de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos, a comercialização em feiras ou mercados públicos apresenta índices críticos de inadequação à legislação (BARRETO et al., 2012).

Pode acontecer perda da qualidade do pescado, geralmente relacionada com processos oxidativos que afetam lipídios e proteínas (BINSI et al., 2015). Considerando que a exposição do pescado nos pontos de venda, sem nenhum tipo de embalagem ou proteção, também contribui para o aumento da carga microbiológica, métodos que melhoram o tempo de conservação e qualidade global dos alimentos a um custo relativamente baixo, têm sido amplamente utilizados na indústria alimentar (BARRETO et al., 2012). Um exemplo disso, são as embalagens a vácuo que representam uma forma hipobárica estática de armazenamento, diminui o fornecimento de oxigênio para as bactérias aeróbias no pescado e, consequentemente, reduz o crescimento microbiano e reações oxidativas (BINSI et al., 2015).

3.5 Microrganismos patogênicos no pescado

O crescimento bacteriano nos peixes é uma das principais causas de deterioração de alimentos ou contaminação de peixes (SANJEE; KARIM, 2016). Alguns microrganismos presentes no pescado quase sempre não alteram a aparência do peixe, de forma que conceitualmente, esses microrganismos são patogênicos ao homem e não deterioradoras do produto (SANTIAGO et al., 2013). Segundo Oliveira et al. (2010) a maioria dos surtos

diarreicos tem sido relacionados à ingestão de alimentos com boa aparência, odor e sabor normais, sem qualquer alteração sensorial visível. Isso se deve ao fato de que a dose infectante de patógenos alimentares é geralmente menor que a quantidade de micro-organismos necessária para degradar os alimentos.

Segundo Barreto et al., (2012), o pescado sofre rápida deterioração por apresentar pH quase neutro (6,6 a 7,0), o que favorece o crescimento microbiano e a acelerada putrefação. Alguns destes agentes patogênicos estão naturalmente presentes no ambiente aquático, como as bactérias do gênero *Aeromonas*, enquanto outros podem ser introduzidos através de animal ou excreção fecal humana e a poluição de águas residuais, como as bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Escherichia* e *Staphylococcus* (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012).

Dentre os principais patógenos associados ao pescado, nos últimos vinte anos, pode-se destacar *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp como de grande preocupação para a saúde pública (SOARES; GONÇALVES, 2012).

3.5.1 Coliformes a 35°C, a 45°C e *Escherichia coli*

A contaminação ambiental pode ser responsável pela adição de microrganismos de origem fecal à superfície do pescado. Essa contaminação é proveniente de despejos de esgotos domésticos nas águas dos reservatórios, lagos, rios e mar, em consequência da poluição dos grandes centros e das desembocaduras de redes de esgoto próximo à costa (CARDOSO-FILHO, 2010).

Utilizados como indicadores da qualidade higiênicossanitária, os coliformes a 35°C estão incluídos em um grupo com cerca de 20 bactérias que fermentam lactose de 24h a 48h, com formação de gás, a 35°C de temperatura. Tais microrganismos podem se originar de bactérias entéricas e não entéricas do trato gastrointestinal humano e de animais (VIANA et al., 2016).

E. coli é uma bactéria comensal resistente aos antimicrobianos (BARRETO et al., 2012). Produtos de origem animal constituem uma importante fonte de contaminação fecal relacionada a essa bactéria. Esses microrganismos e seus genes de resistência antimicrobiana podem ser transmitidos aos humanos se os alimentos forem mal cozidos (VAN et al., 2008).

Patotipos de *E. coli* como Enterotoxigênica (ETEC), Enterohemorrágica (EHEC) e Enteroinvasiva (EIEC) invadem enterócitos do epitélio intestinal, multiplica-se e espalha-se

por células adjacentes, provocando ulcerações que resultam em diarreia aquosa e sanguinolenta (SILVA, 2007).

Barreto et al., (2012) avaliando a qualidade do pescado comercializado em Cruz das Almas – BA, constataram a presença de *E. coli* em mais de 70% das amostras de peixe analisadas.

3.5.2 *Staphylococcus* spp

Pertencentes à família *Micrococcaceae* as bactérias do gênero *Staphylococcus* são encontradas naturalmente na pele, mucosa, trato respiratório superior e intestino humano. São bactérias imóveis, esféricas (0,5 – 1,5µm), não esporuladas, anaeróbios facultativos, Gram-positivas, que podem ser encontradas isoladas, aos pares ou em grupamentos irregulares (GATTI-JÚNIOR, 2011). *Staphylococcus* são microrganismos sensíveis à altas temperaturas, de forma que sua patogenicidade está em suas toxinas, que são conhecidas como enterotoxinas estafilocócicas (SILVA; MATTÉ; MATTÉ, 2008). Estas possuem características termoestáveis e podem ser encontradas no alimento mesmo após o processo de cozimento (GERMANO; GERMANO, 2008).

As toxinas produzidas por *Staphylococcus* causam diarreia por induzir uma mudança no transporte de íons das células do epitélio intestinal, resultando na perda de eletrólitos, principalmente sódio e potássio, bem como a perda de água (SILVA, 2007).

Viana et al. (2016) analisaram 16 amostras de *C. macropomum* provenientes de quatro boxes da feira municipal de Ariquemes, no Estado de Rondônia. Os cortes de peixes analisados (costela, lombinho e posta), estavam frescos, com ausência de odor e características de estágio de putrefação. Os resultados mostraram que todas as amostras estavam contaminadas por coliformes totais e, 37,5% das amostras apresentaram índice *S. aureus* acima do permitido.

Dentre as espécies do gênero *Staphylococcus*, as coagulase positivas são apontadas como patogênicas para humanos, sendo responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, decorrentes da formação de toxinas estafilocócicas no alimento consumido. São bactérias mesófilas e anaeróbias facultativas (FRANCO; LANDGRAFF, 2008). Rocha et al. (2013) detectaram populações de *S. aureus*, uma espécie coagulase positiva, em 100% das amostras de peixe analisadas em Currais Novos – RN, evidenciando a baixa qualidade do pescado comercializado naquela região.

3.5.3 *Salmonella* sp

Caracterizadas por serem bastonetes Gram-negativos, as bactérias do gênero *Salmonella* são anaeróbios facultativos, móveis, não formadores de esporos (normalmente com dimensões de 0.7-1.5 x 2-5 μm), pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. São frequentemente encontradas no trato intestinal de diversos animais (NORHANA et al., 2010).

Salmonella sp é um patógeno bacteriano intracelular que apresenta o fator de virulência MgtC responsável pela multiplicação bacteriana dentro dos macrófagos, alterando sua capacidade para translocar prótons para o local de síntese de ATP (BELON et al., 2015).

De forma geral, *Salmonella* sp é pouco detectada em peixes (TERENTJEVA et al., 2015; TRAORÉ et al., 2015; BUDIATI et al., 2016). Apesar da baixa incidência de infecções por *Salmonella* devido ao consumo do pescado quando comparada com a salmonelose associada com outros alimentos, ela é responsável pela maioria das doenças transmitidas por alimentos ou gastroenterite caracterizada por diarreia, cólicas abdominais, vômitos, náuseas e febre (SANJEE; KARIM, 2016).

De acordo com Tessari et al. (2012) regiões tropicais e subtropicais são os pontos mais favoráveis à transmissão de *Salmonella*, visto que a multiplicação destes microrganismos fora do corpo dos hospedeiros é facilitada por temperaturas favoráveis no ambiente. No entanto, essas bactérias podem ser encontradas, também, em produtos refrigerados a 2°C, além de permanecer viável em produtos congelados por longos períodos.

Surtos de *Salmonella* relacionados a frutos do mar foram relatados em diversas regiões do mundo como na União Europeia e nos Estados (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012).

3.5.4 *Aeromonas* spp

As bactérias do gênero *Aeromonas* são bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos e de vida livre. Recentemente, sua classificação taxonômica foi revista, baseado em estudos genéticos, passando a constituir uma família própria, *Aeromonadaceae* (GHENGHESH et al., 2008).

São considerados como patógenos oportunistas. Pavanelli et al., (2008) enfatizam que esses microrganismos manifestam-se em hospedeiros enfraquecidos e/ou atacados por outros agentes etiológicos. Por isso, são considerados invasores secundários, estabelecendo-se

de forma concomitante a outras infecções bacterianas, virais e parasitárias. Essas bactérias são importantes agentes patogênicos para peixes por multiplicar-se e produzir exotoxinas mesmo em temperaturas de refrigeração.

Aeromonas spp. são carreadores de múltiplas proteínas extracelulares configuradas como fatores de virulência, tais como, amilase, quitinase, elastase, aerolisina, nuclease, gelatinase, lecitinase, lipase e protease (NAM; JOH, 2007; PEIXOTO et al., 2012).

Apesar dos testes bioquímicos de identificação de bactérias deste gênero serem eficazes, é possível detectar estes microrganismos, através de seus produtos de secreção utilizando técnicas de amplificação de DNA por PCR (BEAZ-HIDALGO et al., 2010; NAM; JOH, 2007).

A espécie *Aeromonas hydrophila* é uma das mais frequentemente relatadas nas enfermidades causadas por contaminação microbiológica de pescado. Os sinais clínicos iniciais em peixe são necroses, furúnculos ou ulcerações no pedúnculo caudal, que evoluem para descamações cutâneas, formando-se lesões ulcerativas na região corpórea, com exposição da musculatura, culminando em quadros típicos de sepse (BHARADWA et al., 2013). Almeida et al. (2013) observaram, mediante análise macroscópica dos órgãos externos de peixes cultivados em tanque- rede, no município de Paulo Afonso-BA, a presença de manchas ou pontuações na pele, nadadeiras com erosão (desfiadas/necrosadas), congestão, olhos com cataratas e hemorragias. Os autores reforçam que a espécie é potencialmente produtora de toxinas para os humanos, o que torna o pescado um possível veiculador de toxinas bacterianas para o próximo nível trófico, caso seja ingerido.

Silva (2007) buscando investigar a presença de cepas potencialmente patogênicas de *Aeromonas* spp. Em peixes comercializados em feiras livres da cidade de São Paulo-SP, isolou *A. hydrophila* em 50% das amostras de peixe analisadas.

3.5.5 *Listeria* spp

As bactérias desse gênero são facultativamente anaeróbias e apresentam características psicotrópicas e mesófilas (NORHANA et al., 2010). A *Listeria monocytogenes* é um micro-organismo patogênico que também pode ser encontrada no pescado. Apresenta resistência ao congelamento e descongelamento, tendo como característica a capacidade de formação de biofilmes e biotransferência. Esses biofilmes estão organizados em estruturas tridimensionais, de forma que, tem sido demonstrado que nesta forma *L. monocytogenes* é

mais resistente à processos de higienização (PAN; BREIDT-JR; KATHARIOU, 2006; TRAVAGIN, 2010).

Além disso, *L. monocytogenes* possui a capacidade de se adaptar a pH entre 4,5 e 9,0, de forma que vários métodos de assepsia (esterilização, desinfecção e antissepsia) se tornem ineficientes (ALESSANDRIA et al., 2010). No entanto, Norhana et al. (2010) listaram alguns métodos físicos e químicos para controlar a contaminação por *Listeria* em pescado.

Nos últimos anos, métodos tradicionais de análise microbiológica de *L. monocytogenes* têm sido apoiados por técnicas modernas baseadas em biologia molecular, tais como PCR, capaz de complementar os resultados obtidos por contagem de placa e isolamento, permitindo assim uma melhor compreensão da presença e propagação de agentes patogênicos nos alimentos. Esse método torna possível a quantificação direta de *L. monocytogenes* em alimentos sem que seja necessário o seu cultivo (RANTISIOU et al., 2008; O'GRADY et al., 2009).

3.5.6 Resistência bacteriana a antibióticos

Para o controle de patologias causadas por bactérias são frequentemente utilizadas substâncias antimicrobianas com ação bactericida ou bacteriostática. Porém, o uso contínuo e excessivo de antibióticos pode promover a seleção de bactérias resistentes que se distribuem amplamente em populações humanas e outros animais (MADIGAN et al., 2010).

A resistência aos antibióticos resulta da seleção de mutantes espontâneos no meio ambiente e por transferência horizontal de genes (BAQUERO et al., 2008; MARTINEZ, 2009). De forma geral, quanto mais um antibiótico é utilizado, maior será o risco de surgimento e propagação da resistência contra ele como resultado do aumento da pressão seletiva, o que torna o fármaco cada vez menos eficaz (SCHWARZ et al., 2006; AARESTRUP, 2006).

Existe considerável semelhança entre determinantes genéticos de resistência aos antibióticos entre bactérias do ambiente marinho e do ambiente terrestre, incluindo peixes e patógenos humanos, o que sugere a ocorrência de transferência horizontal de genes mutantes (WELCH et al., 2007 , BAQUERO et al., 2008; ROBERTS, 2009). De acordo com McEwen et al (2006) a resistência antimicrobiana de bactérias zoonóticas são diretamente perigosas para a saúde humana por aumentar a frequência, a duração e a severidade das infecções. Além disso, bactérias comensais podem funcionar como um reservatório de genes de resistência podendo transferir a sua resistência para bactérias patogênicas.

Um fator que deve ser considerado é o uso de antibióticos adicionados à ração de peixes provenientes da aquicultura, com o objetivo de diminuir os prejuízos econômicos causados por doenças bacterianas. No entanto, grande parte das drogas não são metabolizadas, o que pode favorecer o desenvolvimento de bactérias resistentes, reduzir a efetividade do tratamento, causar efeitos colaterais nos peixes cultivados, chegar a outros organismos aquáticos e afetar piscicultores e consumidores finais (FORTT et al., 2007; GASTALHO et al, 2014; ROMERO et al., 2012).

Existem três possíveis mecanismos de resistência aos antibióticos, que incluem a inativação do antibiótico por ação enzimática, a diminuição da concentração intracelular do fármaco (por redução da permeabilidade da membrana externa em Gram-negativos ou bombas de efluxo) e a alteração do sítio ativo (KOCSIS et al, 2013).

Vários gêneros bacterianos isolados de aquicultura têm sido reportados como resistentes a diversos antibióticos, sendo mais isoladas as do gênero *Aeromonas* e da família Enterobacteriaceae, dado o potencial patogênico que apresentam (GASTALHO et al, 2014).

REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F. M., 2006. The origin, evolution, and local and global dissemination of antimicrobial resistance. In: Aarestrup, F.M. (Ed.), *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press, Washington, DC, pp. 339–359.
- ALESSANDRIA, V.; RANTSIOU, K.; DOLCI, P.; COCOLIN, L. Molecular methods to assess *Listeria monocytogenes* route of contamination in a dairy processing plant. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, p.S156–S162, 2010.
- ALMEIDA, N. M.; FRANCO, M. R. B. Influência da dieta alimentar na composição de ácidos graxos em pescado: aspectos nutricionais e benefícios à saúde humana. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.65, n.1, p.7-14, 2006.
- ALMEIDA, C. K. L.; LAGE, S. A. G.; OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M.; ESPINOLA, M. A.; SANTOS, D. M. DA. S. *Aeromonas hydrophila* em diferentes órgãos de Tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1785). In: **XIII Jornada de Ensino, Pesquisa de Extensão – Jepex** – UFRPE: Recife, 09 a 13 de dezembro, 2013.
- AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v.45, p.780–788, 2012.
- ANCONI, M. A. **Rondônia é líder nacional em produção de peixe nativo de água doce em cativeiro** [Internet]. Porto Velho: Secom-RO; 2015 out 14 [citado 2016 mar 3]. Disponível em: <http://www.rondonia.ro.gov.br/2015/10/87341>.
- ANDRADE, G. Q.; BISPO, E. S.; DRUZIAN, J. I. Avaliação da qualidade nutricional em espécies de pescado mais produzidas no Estado da Bahia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.4, p.721-726, out.-dez. 2009.
- ARAÚJO, E. C.; MOURA, L. L.; MARTINS, A. G. L. A.; CARVALHO, A. S. S. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado no mercado municipal em Açailândia-Ma. In: **VII Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação**, 2012.
- BAQUERO, F., MARTÍNEZ, J.-L., CANTÓN, R., 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19, 260–265
- BARRETO, N. S. E.; MOURA, F. C. M.; TEIXEIRA, J. A.; ASSIM, D. A.; MIRANDA, P. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas, Bahia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.3, p.86-95, jul.-set., 2012.
- BARROS, C. G. Perda da Qualidade do Pescado, Deterioração e Putrefação. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Brasília, v.2, n.30, p.59–66, set / out / nov/ dez. 2003.
- BAUDET, M.; DAUGAREIL, C. Therapeutic education in primary cardiovascular prevention. **Annales de Cardiologie et d'Angéiologie** (Paris), v.63, n.4, p.235-9, Sep 2014.

BEAZ-HIDALGO, R.; ALPERI, A.; BUJÁN, N.; ROMALDE, J. L.; FIGUERAS, M. J. Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. **Systematic and Applied Microbiology**, v.33, p.149-153, 2010.

BHARADWA, J.; ABRAHAM, T. J.; JOARDAR, N. S. Immune effector activities in challenged rohu, *Labeo rohita* after vaccinating with *Aeromonas* bacterin. **Aquaculture**, v.392–395, p.16–22, 2013.

BINSI, P. K.; VIJI, P.; VISNUVINAYAGAM, S.; NINAN, G.; SANGEETA, G.; TRIVENI, A.; RAVISHANKAR, C. N. Microbiological and shelf life characteristics of eviscerated and vacuum packed freshwater catfish (*Ompok pabda*) during chill storage. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.3, p.1424–1433, March 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997**. Institui o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Peixe Fresco (Inteiro ou Eviscerado). Diário Oficial da União, Brasília, 19 de maio de 1997b.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 368 de 10 de setembro de 1997**. Aprova Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico – Sanitária e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de alimentos. Brasília (DF), 1997a.

_____. Ministério da Pesca e Aquicultura (2013) - **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/ultimas-noticias/832-consumo-de-pescado-no-brasil-aumenta-23-7-em-dois-anos>>, Acesso em 20 de agosto de 2015.

BURGER, A. J. Fishing, fish consumption, and awareness about warnings in a university community in central New Jersey in 2007, and comparisons with 2004. **NIH Public Access**, v.108, n.1, p107–116, 2008.

BUDIATI, T.; RUSUL, G.; WAN-ABDULLAH, W. N.; CHUAH, L. O.; AHMAD, R.; THONG, K. L. Genetic Relatedness of *Salmonella* Serovars Isolated from Catfish (*Clarias gariepinus*) and Tilapia (*Tilapia mossambica*) Obtained from Wet Markets and Ponds in Penang, Malaysia. **Journal of Food Protection**, v.79, n.4, p.659-65, Apr. 2016.

CARDOSO-FILHO, F. C. Aspectos higiênicosanitários de peixes comercializados em mercados públicos de Teresina, PI. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 24, n. 183, p.116-120, 2010.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Salmonela na segurança dos alimentos. Divulgação técnica: salmonela na segurança dos alimentos. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, jan./jun., 2008.

CODEX. **Código de práticas para el pescado y los productos pesqueros**, CAC/RCP v.52, 146p., 2003. Disponível em: <www.fao.org/docrep/011/a1553s/a1553s00.htm> Acesso em: 27 de novembro de 2013.

EFSA – EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to labeling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. **The EFSA Journal**, v.1176, p.1- 11, 2009.

FAO – Food and Agriculture Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture. **Fisheries and Aquaculture Department**. Rome: FAO; 2009.

FORTT, Z. A.; CABELLO, F. C.; BUSCHMANN, R. A. Resíduos de tetraciclina y quinolonas en peces silvestres en una zona costera donde se desarrolla la acuicultura del salmón en Chile. **Revista chilena de infectología**, v. 24, n. 1, p. 14-18, 2007.

FRANCO, B. D. G. de; LANDGRAFF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 99p. 2008.

FURUYA, W. M. **Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010.

GANDRA, A. L. O mercado de pescado da região metropolitana de Manaus, Relatório INFOPESCA. Série: **O mercado de pescado nas grandes cidades latino-americanas**. 91p. Montevideu: INFOPESCA; 2010.

GASTALHO, S.; SILVA, G. J.; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquicultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública, **Acta Farmacêutica Portuguesa**, vol. 3, n. 1, p. 29-45, 2014.

GATTI-JUNIOR, P. Qualidade higiênica e sanitária de tilápias provenientes de cultivo, comercializadas no varejo. **Dissertação de Mestrado**, Centro de Aqüicultura, UNESP, 47 p., Jaboticabal, 2011.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3ed. São Paulo: Manole; 2008.

GHENGESH, K. S.; AHMED, S. F.; EL-KHALEK, R. A.; AL-GENDY, A.; KLENA, J. Aeromonas-Associated Infections in Developing Countries. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v.2, n.2 p.81-98, 2008.

GOMES, D. A. V. Identificação de microrganismos presentes nos pescados de compartimentos de armazenamento de embarcações. 92f. **(Dissertação de mestrado)** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*), p.175-204. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª. Ed. Editora UFSM, Santa Maria. 2010.

GRIM, J. M.; HYNDMAN, K. A.; KRISKA, T.; GIROTTI, A. W.; CROCKETT, E. L. Relationship between oxidizable fatty acid content and level of antioxidant glutathione peroxidases in marine fish. **The Journal of Experimental Biology**, v.214, p.3751-3759, 2011.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal, 2014**. Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014.

JAIME, P. C.; STOPA, S. R.; OLIVEIRA, T. P.; VIEIRA, M. L.; SZWARCOWALD, C. L.; MALTA, D. C. Prevalência e distribuição sociodemográfica de marcadores de alimentação saudável, Pesquisa Nacional de Saúde, Brasil 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v.24, n.2, p.267-276, abr-jun 2015.

KOCSIS B, MAZZARIOL A, KOCSIS E, KONCAN R, FONTANA R, CORNAGLIA G. Prevalence of plasmid- mediated quinolone resistance determinants in Enterobacteriaceae strains isolated in North-East Italy. **Antimicrobial Original Research Paper**. 2013;21:36–40.

LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. São Paulo, Manole Dois, t.II, 224 p. 1991.

LOPERA-BARRERO, N. M.; RIBEIRO, R. P.; POVH, J. A.; VARGAS, L. D. M.; POVEDA-PARRA, A. R.; DIGMAYER, M. As principais espécies produzidas no Brasil. In: Lopera-Barrero, N. M.; Ribeiro, R. P.; Povh, J. A.; Vargas, L. D. M.; Poveda-Parra, A. R.; Digmayer, M.; organizadores. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros; p.143-215, 2011.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Microbiologia de Brock. Porto Alegre: Artmed. 12. ed, 2010, 1160 p.

MACIEL, E. da S.; SAVAY-DA-SILVA, L. K.; VASCONCELOS, J. S.; SONATI, J. G.; GALVÃO, J. A.; LIMA, L. K. F.; OETTERER, M. Relationship between the price of fish and its quality attributes: a study within a community at the University of São Paulo, Brazil. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, n.3, p.451-456, July-Sept. 2013.

MCEWEN, M. AF, DAVID J. Monitoring of antimicrobial resistance in animals: principles and practices. In: Frank M. Washington, editor. **Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin**. Washington, D. C.; 2006. 397–413.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L. MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.6, p.761-770, nov./dez., 2006.

MARTINEZ, J.L., 2009. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. **Proc. R. Soc. B** 276, 2521–2530.

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

MILHOMEM-FILHO, E. O.; OLIVEIRA, C. S. B.; SILVEIRA, L. C. L.; CRUZ, T. M.; SOUZA, G. S.; COSTA-JUNIOR, J. M. F.; PINHEIRO, M. C. N. A ingestão de pescado e as

concentrações de mercúrio em famílias de pescadores de Imperatriz (MA). **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.19, n.1, p.14-25, 2016.

MOZAFFARIAN, D.; LEMAITRE, R. N.; KING, I. B.; SONG, X.; HUANG, H.; SACKS, F. M.; RIMM, E. B.; WANG, M.; SISCOVICK, D. S. Plasma Phospholipid Long-Chain Omega-3 Fatty Acids and Total and Cause-Specific Mortality in Older Adults: the Cardiovascular Health Study. **Annals of Internal Medicine**, v.158, n.7, p.515–525, 2013.

MURATORI, M. C. S.; COUTO-FILHO, C. C. DE C.; ARARIPE, M. DE N. B. DE A.; LOPES, J. B.; COSTA, A. P. R. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em manipuladores de piscicultura. **Revista Científica de Produção Animal**, v.9, n.2, 2007.

NAM, I.; JOH, K. Rapid Detection of Virulence Factors of *Aeromonas* Isolated from a Trout Farm by Hexaplex-PCR. **The Journal of Microbiology**, v.45, n.4, p.297-304, August 2007.

NORHANA, M. N. W.; POOLE, S. E.; DEETH, H. C.; DYKES, G. A. Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. **Food Control**, v.21, p.343–361, 2010.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Editora Agropecuária. 200p. 2002.

O'GRADY, J.; RUTTLEDGE, M.; SEDANO-BALBA, S.; SMITH, T. J.; BARRY, T.; MAHER, M. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food using culture enrichment combined with real-time PCR. **Food Microbiology**, v.26, p.4–7, 2009.

OLIVEIRA, A. B. A.; PAULA, C. M. D.; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M. R. I.; TONDO, E. C. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**, v.30, n.3, p.279-285, 2010.

PAN, Y.; BREIDT-JUNIOR, F.; KATHARIOU, S. Resistance of *Listeria monocytogenes* Biofilms to Sanitizing Agents in a Simulated Food Processing Environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.12, p. 7711–7717, Dec. 2006.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. **Doença de peixes, profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Eduem, Maringá. 311p. 2008.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. DE F.; PERALES, L. DE LA H.; CORTECERO, M. D. S. (org.) **Tecnología de alimentos**. v.2: Alimentos de origem animal. Porto Alegre: ARTMED, cap.13, p.241-267, 2005.

PEREIRA JUNIOR, G; PEREIRA, E. M. O.; PEREIRA-FILHO, M.; BARBOSA, P. S.; SHIMODA, E.; BRANDÃO, L. V. Desempenho produtivo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) alimentados com rações contendo farinha de crueira de mandioca (*Manihot esculenta*, CRANTZ) em substituição ao milho (*Zea mays*). **Acta Amazonica**, v.43, n.2, p.217-226, 2013.

PESCADOR, R. Aspectos nutricionais dos lipídios no peixe: uma revisão de literatura. Universidade de Brasília Centro de Excelência em Turismo. **Monografia**. Brasília - DF, Setembro/2006.

RANTSIOU, K.; ALESSANDRIA, V.; URSO, R.; DOLCI, P.; COCOLIN, L. Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. **International Journal of Food Microbiology**, v.121, p.99–105, 2008.

REIFFEL, J. A.; MCDONALD, A. Antiarrhythmic effects of omega-3 fatty acids. **American Journal of Cardiology**. v.98, n.4^a, p.50i-60i, 2006.

RIBEIRO, A. L. M. S. dos; OLIVEIRA, G. M. de; 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 Ciências Veterinárias**, v.16, n. 3, p.109-112, set./dez. 2009.

ROCHA, C. M. C.; RESENDE, E. K.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTED, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.8, p.iv-vi, ago. 2013.

ROBERTS, M.C., 2009. The evolution of antibiotic-resistant microbes in foods and host ecosystems. In: Jaykus, L.-A., Wang, H.H., Schlesinger, L.S. (Eds.), **Food-Borne Microbes**. Shaping the Host Ecosystem. ASM Press, Washington, D.C, pp. 213–229.

ROMERO, J.; FEIJÓO, C. G. NAVARRETE, P. Antibiotics in Aquaculture – Use, Abuse and Alternatives. In: Carvalho, E.D.; David, G.S.; Silva, R. (Ed.) **Health and Environment in Aquaculture**. InTech, 2012, p.159-198.

SANJEE, S. A.; KARIM, MD. E. Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Bangladesh. **International Journal of Food Science**, v.2016, Article ID 8605689, p.1-6, 2016.

SANTIAGO, J. A. S.; ARAÚJO, P. F. R.; SANTIAGO, A. P.; CARVALHO, F. C. T.; VIEIRA, R. H. S. F. Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados- revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v.46, n.2, p.92-103, 2013.

SANTOS, E. F.; TAVARES-DIAS, M.; PINHEIRO, D. A.; NEVES, L. R.; MARINHO, R. das G. B.; DIAS, M. K. R. Fauna parasitária de tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae) cultivado em tanque-rede no estado do Amapá, Amazônia oriental. **Acta Amazônica**, v.43, n.1, p.105 – 112, 2013.

SARTORI, A. G. DE O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.19, n.2, p.83-93, 2012.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Aquicultura no Brasil. Série: **Estudos mercadológicos**. 76p. 2015.

SCHERR, C.; GAGLIARDI, A. C. M.; MINAME, M. H.; SANTOS, R. D. Concentração de Ácidos Graxos e Colesterol de Peixes Habitualmente Consumidos no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.104, n.2, p.152-158, 2015.

SCHWARZ, S., CLOECKAERT, A., ROBERTS, M.C., 2006. Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: Aarestrup, F.M. (Ed.), **Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin**. ASM Press, Washington, D.C., pp. 73–98.

SILVA, E. M. M.; CARVALHO, L. M. J. Armazenamento de pescados: exigências da padronização, cuidados e técnicas de adequação para restaurantes. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.141, p.50-54, maio-jun. 2006.

SILVA, M. L. Pesquisa de *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. e da qualidade sanitária de peixes comercializados na cidade de São Paulo. 146f. (**dissertação de mestrado**). Programa de Pós-Graduação em saúde Pública, São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP, 2007.

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, L. E. S.; GALÍCIO, G. S. Alimentação de peixes em piscicultura intensiva. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15, p.48, 2012.

SILVA, E. P.; COSTA, R. A. M.; SOARES, M. A.; PAULINO, E. J.; MURTA, N. M. G.; MORAIS, H. A. Aspectos higiênico-sanitários de feirantes e análise parasitológica de hortifrúteis comercializados em feiras livres de municípios do estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.13, n.2, p.591-602, 2015.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.71, n.1, p.1-10, 2012.

SOUZA A. S.; SOUZA, R. A. L.; MELO, N. F. A.; MOURÃO-FILHO, M. M.; PALHETA, G. D. A.; NASCIMENTO, A. M. Desenvolvimento do tambaqui, *Colossoma macropomum*, Cuvier 1818 (*Pisces, Serrasalminidae*) em área de várzea utilizando-se massa de mandioca branca, manihot esculenta, como alimentação alternativa. In: **Seminário Internacional - Amazônia e Fronteiras do Conhecimento**, 2009, Belém. Belém: Naea, 2009. p.1-21.

SUMAILA, U. R.; BELLMANN, C.; TIPPING, A. Fishing for the future: An over view of challenges and opportunities. **Marine Policy**, v.69, p.173–180, 2016.

TERENTJEVA, M.; EIZENBERGA, I.; VALCIŅA, O.; NOVOSLAVSKIJ, A.; STRAZDIŅA, V.; BĒRZIŅŠ, A. Prevalence of Foodborne Pathogens in Freshwater Fish in Latvia. **Journal of Food Protection**. v.78, n.11, p.2093-8, Novembro, 2015.

TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P. Important Aspects of Salmonella in the Poultry Industry and in Public Health, Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen, Dr. Barakat S. M. Mahmoud (Ed.), **InTech**, Available from: <http://www.intechopen.com/books/salmonella-a-dangerous-foodborne-pathogen/important-aspects-of-salmonella-in-the-poultry-industry-and-in-public-health>, 2012.

TRAORÉ, O.; NYHOLM, O.; SIITONEN, A.; BONKOUNGOU, I. J. O.; TRAORÉ, A. S.; BARRO, N.; HAUKKA, K. Prevalence and diversity of *Salmonella enterica* in water, fish and lettuce in Ouagadougou, Burkina Faso. **BMC Microbiology**, v.15, n.151, 2015.

TRAVAGIN, B. N. F. S. Estudo da formação de biofilmes de *Listeria monocytogenes* frente a diferentes condições encontradas em laticínios. 98p. **Dissertação de Mestrado**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

VAN, T. T.; CHIN, J.; CHAPMAN, T.; TRAN, L. T.; COLOE, P. J. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. **International Journal of Food Microbiology**, v.124, p.217-223, 2008.

VIANA, I. C. L. A.; VALIATTI, T. B.; SOBRAL, F. O. S.; ROMÃO, N. F.; FONSECA, C. X.; OLIVEIRA, U. A. 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.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 370p., 2004.

VRABLÍK, M.; PRUSÍKOVÁ, M.; ŠNEJDRLOVÁ, M.; ZLATOHLÁVEK, L. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease Risk: Do We Understand the Relationship? **Physiological Research**, v.58, (Suppl. 1), p.S19-S26, 2009.

YAMAGISHI, K.; NETTLETON, J. A.; FOLSOM, A. R. Plasma fatty acid composition and incident heart failure in middle-aged adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **American Heart Journal**, v.156, n.5, p.965-74, Nov. 2008.

WANG, M; LU, M. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture Research**, v.47, p.2363–2374, 2016.

WELCH, T.J., FRICKE, W.F., MCDERMOTT, P.F., WHITE, D.G., ROSSO, M.-L., RASKO, D.A., MAMMEL, M.K., EPPINGER, M., ROSOVITZ, M.J., WAGNER, D., RAHALISON, L., LECLERC, J.E., HINAHAW, J. M., LINDLER, L.E., CEBULA, T.A., CARNIEL, E., RAVEL, J., 2007. Multiple antimicrobial resistance in plague: an emerging public health risk. **PLoS ONE** 2 (3), e309.doi.1371/journal.pone.0000309.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Protein and aminoacid requirements in human nutrition. Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation, United Nations University. **Technical Report Series**, 935, 2007.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure**. Issued by UNEP DTIE Chemicals Branch and WHO Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases. Geneva, Switzerland, 2008.

CAPITULO II

Artigo segundo as normas da Revista Ciência Animal Brasileira – ISSN 1809-6891

QUALIDADE HIGIENICOSSANITARIA DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) COMERCIALIZADO NA CIDADE DE SÃO LUÍS – MA

Eldo José Rodrigues dos Santos¹,
Lygia Silva Galeno²,
Luciana da Silva Bastos³,
Thaliane França Costa⁴,
Isabel Azevedo Carvalho⁵,
Francisca Neide Costa^{6*}

¹Mestrando em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão, São Luiz, MA, Brasil.

²Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, MA

³Mestre em Saúde e Ambiente pela Universidade Federal do Maranhão - UFMA, MA

⁴Médica Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luiz, MA, Brasil.

⁵Profa. Dra. Bolsista de fixação à doutor do Departamento de Patologia CCA/UEMA

⁶Profa. Dra. Adjunto IV do Departamento de Patologia CCA/UEMA

*Autora para correspondência: francisca.cca.uema@gmail.com

Resumo

Considerando a importância da identificação das condições higiênicossanitárias do pescado, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e verificar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados na cidade de São Luís, Maranhão. As amostras de tambaqui (*C. macropomum*) foram obtidas nos principais supermercados e feiras livres que comercializam esta espécie na cidade. Após a coleta as amostras foram analisadas quanto à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C; pesquisa de *Escherichia coli*; contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positivo; pesquisa de *Salmonella* sp, *Aeromonas* spp e *Listeria* sp, e perfil de resistência antimicrobiana. Detectou-se uma elevada contaminação por coliformes a 35°C e a 45°C, além de bactérias patogênicas como *Aeromonas* spp. em 56 (93,3%) amostras e *E. coli*, presente em 13 (21,66%) amostras. Não foram detectados, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Salmonella* sp e *Listeria* sp. Para o perfil de resistência antimicrobiana foram verificados que os isolados de *E. coli* apresentaram baixos percentuais de resistência aos antimicrobianos testados e para as cepas de *Aeromonas* isoladas foram verificados elevados percentuais de resistência e aos antimicrobianos, principalmente à ampicilina, amoxilina clavulanato, cefuroxima, cefoxitina e cefotaxima.

Palavras-chave: microbiologia, pescado, saúde pública, antibiograma

SANITARY HYGIENIC QUALITY OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) MARKETED IN THE CITY OF SÃO LUÍS – MA

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the microbiological quality and to verify the antimicrobial susceptibility profile of tambaqui (*C. macropomum*) isolates commercialized in the city of. The samples of tambaqui (*C. macropomum*) were obtained in the main supermarkets and free markets that commercialize this species in the city. After collection, the samples were analyzed for the most probable number (MPN) of coliforms at 35°C and 45°C; Search for *Escherichia coli*; Counting and identification of *Staphylococcus* coagulase positive; Research of *Salmonella* sp, *Aeromonas* spp and *Listeria* sp, and antimicrobial resistance profile. High coliform contamination at 35 ° C and 45 ° C was detected in addition to pathogenic bacteria such as *Aeromonas* spp. In 56 (93.3%) samples and *E. coli* present in 13 (21.66%) samples. No coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella* sp and *Listeria* sp. For the antimicrobial resistance profile, it was verified that the *E. coli* isolates showed low percentages of antimicrobial resistance tested and for the *Aeromonas* strains isolated, high percentages of antimicrobial resistance were verified, mainly to ampicillin, amoxiline clavulanate, cefuroxime, cefoxitin, and cefotaxime.

KEY-WORDS: microbiology, fish, public health, antibiogram

Introdução

O consumo de pescado no Brasil vem aumentando nos últimos anos, principalmente devido à grande preocupação com a saúde e a busca por dietas mais saudáveis⁽¹⁾. Além de ser de fácil digestibilidade, esse alimento é rico em proteínas e aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e nutrientes solúveis em água, possuindo baixo teor de colesterol⁽²⁾.

Diversos estudos relatam benefícios à saúde humana em mecanismos relacionados ao desenvolvimento fetal⁽³⁾, prevenção de hipertensão, doença coronária e doença cardiovascular, devido à presença de grande quantidade de lipídios que contêm elevadas taxas de ácidos graxos poli-insaturados⁽⁴⁾. Por essa razão são referenciadas recomendações médias de consumo de 245 g de peixe por semana⁽⁵⁾.

Os produtos da pesca apresentam elevada taxa de perecibilidade em comparação com outros de origem animal, devido à presença de grande quantidade de água nos seus tecidos, pH próximo da neutralidade e acentuado teor de fosfolipídios e nutrientes. Tais fatores intensificam a proliferação microbiana que, na maioria das vezes, não altera a aparência do pescado, entretanto decorre em patogenicidade ao homem⁽²⁾.

Dentre as bactérias patogênicas contaminantes do pescado destacam-se *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Aeromonas* spp. por causarem sérios riscos à saúde humana mesmo em níveis baixos nos alimentos⁽⁶⁾. A manutenção da qualidade e inocuidade do pescado é imprescindível para se obter um alimento seguro, havendo a necessidade de cuidados em todas as etapas da cadeia produtiva⁽⁷⁾. Visando a melhoria da qualidade dos produtos da pesca, deve-se ressaltar a importância do uso constante de boas práticas de manipulação, procedimentos padrões de higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle⁽⁸⁾.

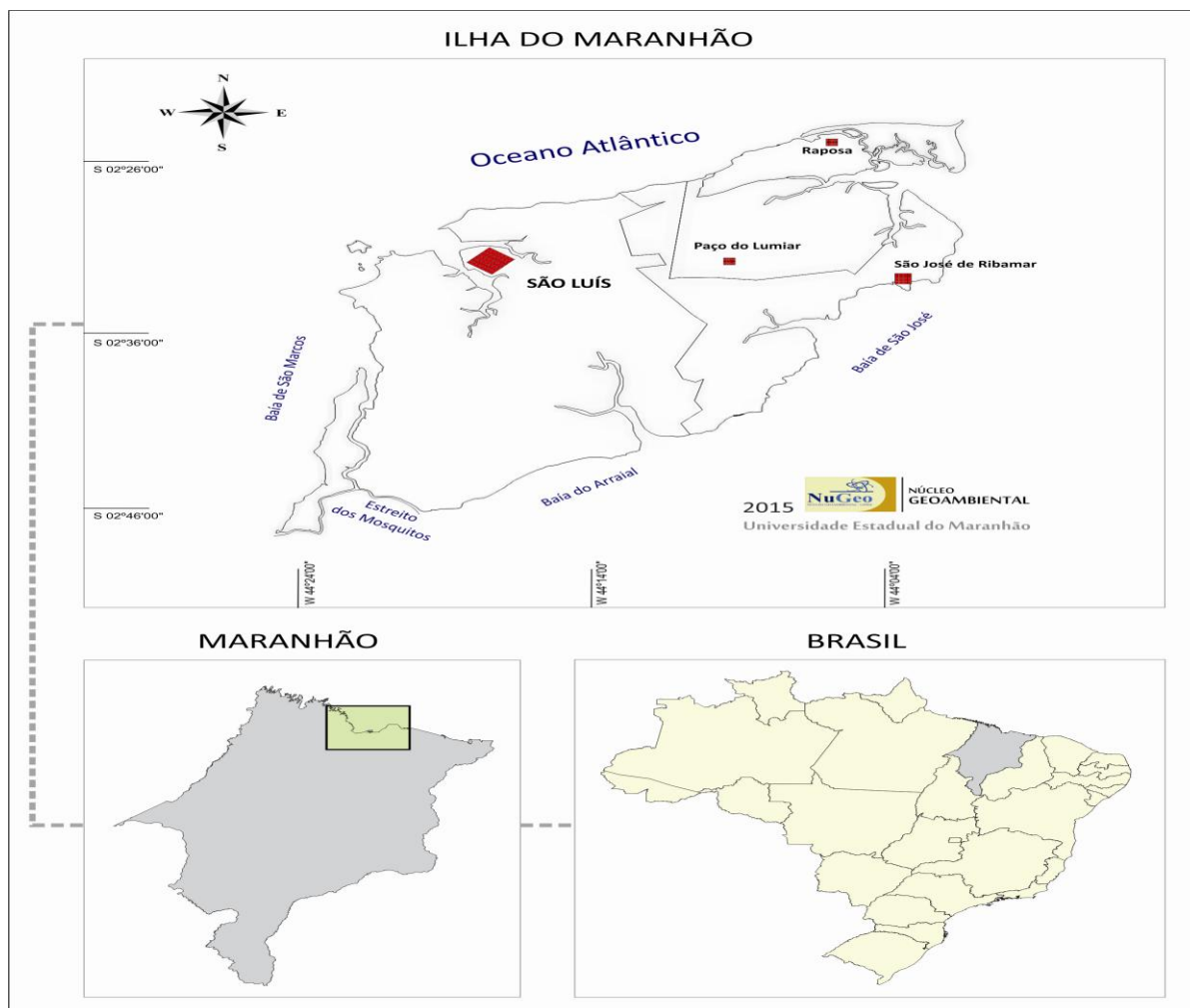
Dessa forma, considerando a importância da identificação das condições higiênicossanitárias do pescado, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e verificar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados na cidade de São Luís, Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

O presente estudo foi realizado no município de São Luís, que ocupa mais da metade da ilha, sendo limitado com os municípios de Paço do Lumiar, São José de Ribamar, Raposa e com o oceano Atlântico (Figura 1). Sua área é de 831,7 km², e desse total 157,56 km² estão em perímetro urbano. O município faz parte da Mesorregião do Norte Maranhense e da Microrregião da Aglomeração Urbana de São Luís, localizadas a norte do Estado do Maranhão. A região está compreendida entre as coordenadas geográficas (02° 31' 47"S; 44° 18' 10"W), com uma população estimada de 1 082 935 habitantes segundo IBGE⁽⁹⁾.

Figura 1: Mapa de localização da cidade de São Luís – MA



Fonte: IBGE/NUGEO⁽⁹⁾

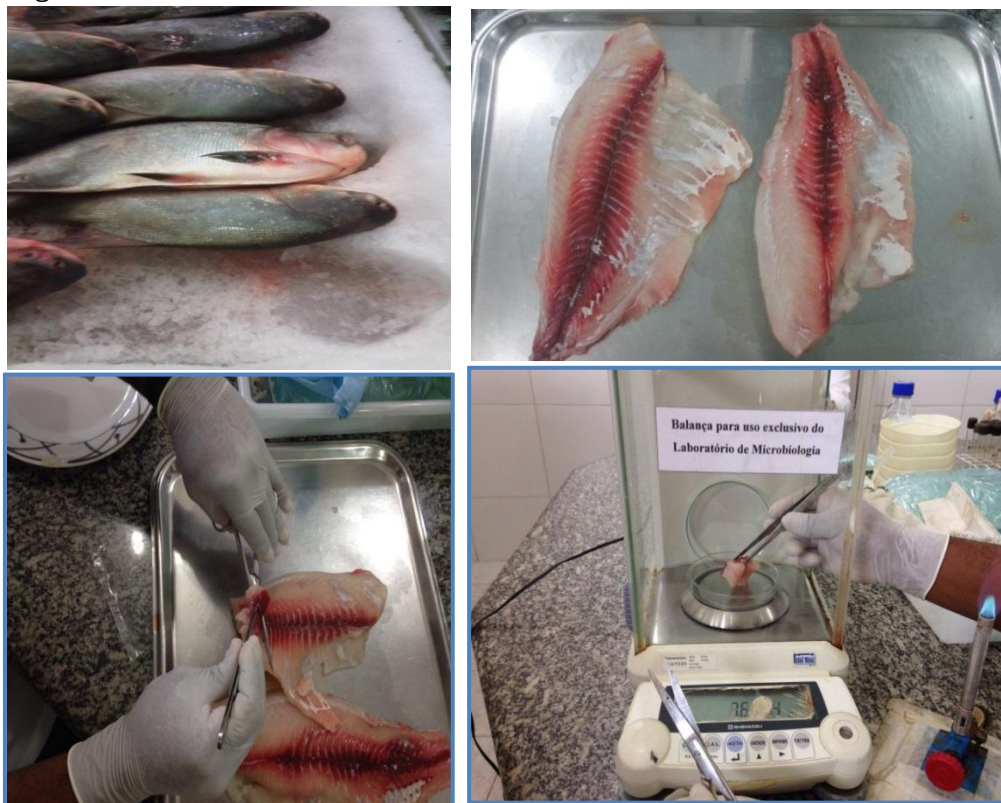
Obtenção das amostras e amostragem

As amostras de tambaqui (*C. macropomum*) foram obtidas nos principais supermercados e feiras livres que comercializam esta espécie na cidade de São Luís, no período de maio a agosto de 2016. Nos estabelecimentos selecionados foram coletadas 30 amostras de três supermercados, sendo 10 de cada supermercado, e 30 amostras de três feiras livres, 10 amostras de cada feira, perfazendo um total de 60 amostras analisadas. Cada amostra foi representada por 500g de filé de peixe, acondicionada em embalagens estéreis e transportada em caixas isotérmicas até ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram analisadas.

Análises Microbiológicas

No laboratório as amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) foram retiradas de suas embalagens e em seguida colocadas sobre uma bandeja de inox previamente desinfetada com solução de álcool 70%, para posteriormente serem analisadas (Figura 2).

Figura 2 - Preparação das amostras de tambaqui (*C. macropomum*) para análises microbiológicas em laboratório, São Luís – MA, 2016



Amostra de tambaqui (A); Filé de tambaqui (B); Realização de cortes para pesagem dos filés (C); pesagem dos cortes de filés (D).

Pesou-se 25 gramas de cada amostra a ser analisada (Figura 2), adicionando-se a 225 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se a primeira diluição (10^{-1}). A partir desta primeira diluição, foi obtida a diluição 10^{-2} , transferindo 1 mL da diluição anterior e inoculado em 9mL de água peptonada a 0,1% e assim até a diluição 10^{-3} . Com as diluições prontas foram realizadas as análises microbiológicas para Coliformes totais e termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positivo. As análises foram realizadas conforme a metodologia recomendada pela Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos^(10, 11).

Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*

Das diluições decimais foi inoculado 1mL de cada amostra em três séries de tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) todos com tubos de Durham invertidos no seu interior. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 a 48 horas, foram considerados como positivos na prova presuntiva, aqueles que apresentarem turvação e produção de gás.

Para confirmação, dos testes de coliformes a 35°C, alíquotas das culturas positivas do Caldo LST foram transferidas para tubos contendo Caldo verde-brilhante bile a 2% (VB) e os tubos foram incubados em estufa a 35°C por 48 horas, sendo considerados positivos os tubos que apresentaram turvação e formação de gás. Para a confirmação de coliformes a 45°C, alíquotas das culturas positivas foram transferidas para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) e Incubados em banho-maria a 45,5°C por 24 horas. Foram considerados positivos para coliforme a 45°C, os tubos que apresentaram produção de gás e turvação do meio.

Para a pesquisa de *E. coli* foram semeadas alíquotas de cada tubo positivo no caldo EC, em placas contendo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) que foram incubadas em estufa bacteriológica de 35°C por 24h. Após este período, foram selecionadas 3 colônias sugestivas (azul escura com brilho metálico) e transferidas para tubos de Ágar Tripticase Soja (TSA) inclinado, incubadas em estufa de 37°C/24h. Em seguida, realizaram-se esfregaços corados pelo método de Gram, para a verificação de sua morfologia. Após a constatação da presença de bacilos Gram-negativos, estes foram submetidos à confirmação bioquímica, onde se realizou os seguintes testes: produção de indol (I), Vermelho de metila (MV), Voges-Proskauer (VP) e do citrato (C), segundo a técnica descrita por Vanderzant & Splittsoesser⁽¹²⁾.

Contagem e identificação de *Staphylococcus coagulase positivo*

A partir das diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), anteriormente preparadas em água peptonada, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas sobre a superfície de placas contendo Agar Baird-Parker (BP), adicionado de telurito de potássio e gema de ovo, distribuído em toda a placa com auxílio de alça de Drigalski e incubadas em estufa bacteriológica invertidas a 35°C durante por 24 a 48 horas. Após este período, realizou-se a contagem do número de colônias que apresentaram características típicas do gênero, como: cor negra brilhante, zona de precipitação branca ao seu redor e circundada por um halo

transparente, assim como a contagem das atípicas. Os resultados foram expressos em UFC/g e calculados em função do número de colônias contadas e diluição inoculada.

As colônias típicas de *Staphylococcus* coagulase positiva, foram repicadas em tubos contendo TSA e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, após crescimento fez-se prova de catalase. As colônias positivas para catalase foram transferidas para os tubos contendo caldo cérebro-coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas para posteriormente ser realizada a prova de coagulase.

Pesquisa de *Salmonella* sp

Da diluição (10^{-1}) foram transferidos 1mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Selenito Cistina (SC), e 0,1 mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis (RVS). Ambos os meios foram adicionados de 0,1 mL de solução de novobiocina a 0,4%, e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

A partir do crescimento nos meios de enriquecimento, foram realizadas sementeiras sobre a superfície de Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Enteric Hektoen (HE) para plaqueamento seletivo, As placas foram incubadas em estufa bacteriológica invertidas a 37°C por 24 horas. Após este período foram selecionadas três colônias típicas de *Salmonella* sp. de cada placa, que foram repicadas em tubos contendo Ágar Nutriente (AN) e incubadas a 37°C por 24 horas para posterior realização das provas bioquímicas e sorológica.

Pesquisa de *Aeromonas* spp

Foram pesados 25 gramas da amostra e adicionados em 225 mL do Caldo Trypticase Soja (TSB) adicionado de ampicilina (30 mg/L) e em seguida incubadas a 28°C por 24 horas em estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD). Após este período, foram semeadas alíquotas do crescimento bacteriano em placas contendo Ágar Vermelho de Fenol-amido-ampicilina (AVF)^(13, 14) e Ágar Dextrina-ampicilina (ADA), segundo Havelaar & Vonk⁽¹⁵⁾, adicionadas com ampicilina (10mg/L) e incubadas a 28°C por 24 horas.

Para o isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero, foram selecionadas três colônias típicas (cor amarela, rodeadas por um halo transparente), para cada um dos meios utilizados. As colônias típicas foram semeadas em Ágar Trypticase Soja (TSA), inclinado e incubados a 28°C por 24 h. Após a incubação, foi realizada a coloração pelo método de Gram e selecionadas as culturas que se apresentaram-se na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas e repicadas em Ágar

Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e incubadas a 28°C por 24 h⁽¹⁶⁾. As culturas positivas foram submetidas à prova de catalase e oxidase para a caracterização do gênero.

Os cultivos positivos nessas provas foram considerados como pertencentes ao gênero *Aeromonas* e submetidas às provas bioquímicas para a identificação das espécies segundo a chave de identificação Aerokey II⁽¹⁷⁾.

Pesquisa de *Listeria* sp

Para a pesquisa de *Listeria* sp foram pesados 25g da amostra de filé de peixe e adicionados em 225 mL de Caldo UVM e incubadas em estufa a 30 ± 1°C por 24 horas. Após a incubação, foram transferidos 0,1 mL da cultura para tubos contendo 10 mL de caldo Fraser com suplemento (citrato de amônio e ferro III) e, incubados a 30 ± 1°C por 24 a 48 horas⁽¹⁰⁾.

Após este período, os tubos que apresentaram resultados sugestivos para *Listeria* sp foram repicados com auxílio de uma alça bacteriológica, em placas contendo ágar Oxford. As colônias típicas no plaquamento foram caracterizadas fenotipicamente através de provas bioquímicas baseadas na metodologia proposta por McClain & Le⁽¹⁸⁾, para identificação da espécie.

Análise Estatística dos Dados

Os dados foram submetidos à análise estatística do tipo descritiva, calculando-se as prevalências absolutas e relativas e os parâmetros de média e alta proporção⁽¹⁹⁾.

Susceptibilidade *in vitro* dos microrganismos isolados frente aos antimicrobianos

O teste de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos foi realizado pelo método de difusão em discos⁽²⁰⁾, as cepas bacterianas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 1ml de solução fisiológica e homogeneizado até obter uma turbidez equivalente a 0,5 da escala de Mac Farland. Em seguida realizou-se a semeadura, com *swab* estéril sobre a superfície do meio Ágar Müeller Hinton. Em seguida depositou-se sobre a superfície do meio os seguintes discos antimicrobianos: Ampicilina (10µg), Amicacina (30µg), Amoxilina Clavulanato (30µg), Gentamicina (10µg), Cefuroxima (30µg), Cefepime (30µg), Cefoxitina (30µg), Cefotaxima (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Piperaciclina (110µg), Sulfa Trimetropin (25µg) e incubados à temperatura de 35°C por 24 horas, para posterior leitura dos diâmetros das zonas de inibição, que foram mensurados com régua e interpretados de acordo com a

tabela padrão para testes de susceptibilidade a antimicrobianos e classificados como resistentes, intermediários ou sensíveis⁽²¹⁾.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados microbiológicos das 30 amostras provenientes de feiras livres. Observou-se ausência de coliformes a 35°C (<3 NMP/g) em apenas uma (3,33%) amostra analisada; 17 (56,66%) amostras estavam num intervalo de 3 a 460 NMP/g e 12 (40%) apresentaram resultados ≥ 1.100 NMP/g. Para coliformes a 45°C foram verificadas ausência (<3NMP/g) em cinco (16,66%) amostras, 17 (56,66%) amostras estavam entre 3 a 460 NMP/g e em oito (26,66%) amostras observou-se valores ≥ 1.100 NMP/g.

Tabela 1. Variação mínima e máxima do numero mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de *E. coli* em 30 amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em feiras da cidade de São Luís - MA, 2016

NMP/g	Coliformes a 35°C		Coliformes a 45°C		<i>E. coli</i>	
	N	%	N	%	N*	%
< 3	01	3,33	05	16,66	-	-
3 a 460	17	56,66	17	56,66	08	26,66
≥ 1100	12	40,00	08	26,66	05	16,66
TOTAL	30	100%	30	100%	13	43,33%

NMP/g = Número Mais Provável por grama; N*= Número de amostras presentes

Foi detectado *E. coli*, em 13 (21,66%) das amostras analisadas, todas provenientes de peixes comercializados nas feiras livres. Embora a legislação não tenha ainda estabelecido um padrão para a presença desses microrganismos em pescado, trabalhos como estes servem como grandes aliados para alertar os órgãos fiscalizadores sobre o aspecto higienicossanitário pelo qual este pescado esta sendo capturado e manipulado para o consumo humano.

Uma alta contagem de coliformes e de bactérias como *E. coli*, está principalmente relacionada a condições precárias de higiene desse alimento no seu local de comercialização, o que o torna também um dos grandes responsáveis pela deterioração desses produtos. O grande número de coliformes totais observado nas análises desses peixes serve como um indicativo para a qualidade higiênica e sanitária, além de fornecer informações sobre o grau de contaminação a qual está sendo exposto este alimento.

Lorezon et al.⁽²²⁾ também encontram resultados semelhantes em seu estudo com peixes de cultivo: foram verificados números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes, numa variação de $2,0 \times 10$ a $1,1 \times 10^4$ e <3 a $5,1 \times 10^3$ NMP/g, respectivamente.

Para Doi et al.⁽²³⁾, a presença de *E. coli* no alimento representa em grandes escalas a presença de matéria fecal, pois esse microrganismo tem como um dos habitat natural o trato intestinal do homem e de vários outros animais que possuem sangue quente. Portanto tanto, de acordo com o observado nos estabelecimentos que comercializam esta espécie em feiras da cidade de São Luís – MA, observou-se a ausência de higiene desses locais em todas as etapas de comercialização, além do manuseio do alimento de forma inadequada, presença de animais no local e sem armazenamento adequado.

Na Tabela 2, estão expressos os dados microbiológicos das amostras adquiridas nos principais supermercados da cidade de São Luís – MA, onde foi observada que em 11 (36,66%) amostras não foram detectados coliformes a 35°C, em 16 (53,33%) amostras apresentaram contagens relativamente baixas e 03 (10%) apresentaram valores elevados (≥ 1.100 NMP/g). Quanto aos coliformes a 45°C foi verificada ausência (<3 NMP/g) em 23 (76,66%) amostras analisadas, em 06 (20%) observaram-se contagens que variaram de 3 a 460 NMP/g e apenas uma (3,33%) das amostras analisadas apresentou valores ≥ 1.100 NMP/g. Não foi detectada a presença de *E. coli* nas amostras obtidas nesses estabelecimentos, atendendo, portanto as normas e a legislação que estabelece a presença ou ausência desse microrganismo em 25g de alimento⁽²⁴⁾.

Tabela 2. Variação mínima e máxima do numero mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C e pesquisa de *E. coli* em 30 amostras de filés de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em supermercados da cidade de São Luís - MA, 2016

NNP/g	Coliformes a 35°C		Coliformes a 45°C		<i>E. coli</i>	
	N	%	N	%	N*	%
< 3	11	36,66	23	76,66	-	-
3 a 460	16	53,33	06	20,00	-	-
≥ 1100	03	10,00	01	3,33	-	-
TOTAL	30	100%	30	100%	13	43,33%

NNP/g = Número Mais Provável por grama; N*= Número de amostras presentes

Microrganismos como coliformes são ótimos indicadores das condições higienicossanitárias e de eventual presença de enteropatógenos em alimentos. De acordo com o que foram observados nesses locais de comercialização, os supermercados são os estabelecimentos que estão mais próximos de um padrão desejado, fato estes que podem estar ligados à baixa contagem de coliformes e ausência de *E. coli*.

Durante as coletas das amostras observou-se manipulação inadequada durante o processamento deste alimento como, falhas no acondicionamento, beneficiamento e comercialização desses produtos. Embora os supermercados atendam alguns requisitos de manipulação, mesmo assim, carecem de melhorias no comércio desses alimentos.

Mesmo com menor contaminação do tambaqui proveniente de supermercados por Coliformes e *E. coli* alguns trabalhos afirma que pode ocorrer contaminação cruzada principalmente pelo o gelo utilizado nesses estabelecimentos, uma vez que já foi detectada a presença destes microrganismos em amostras analisadas.

Lopes et al.⁽²⁵⁾, ao analisar a qualidade microbiológica de gelo provenientes de fábricas localizadas em Cedral - MA, destaca que a presença de coliformes em amostras de pescados, embora encontradas em baixas concentrações, podem ser decorrentes da contaminação do gelo utilizado durante a conservação do produto, além de outras fontes de contaminação durante o manuseio desse alimento.

Na Tabela 3, verifica-se os resultados da pesquisa de *Staphylococcus* sp, onde foi constatada uma variação de 10 a 10² UFC/g em 10 (33,33%) e de 10³ a 10⁴ UFC/g em 13 (43,33%) amostras de tambaqui (*C. macropomum*), provenientes de feiras da cidade de São Luís – MA. As outras sete (23,33%) não apresentaram resultados significativos (<20 UFC/g). Dentre as amostras analisadas, nenhuma apresentou contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo, sendo que a legislação brasileira (RDC 12/2001 da Agência de Vigilância Sanitária) estabelece como contagem máxima 10³ UFC/g.

Tabela 3. Contagem de *Staphylococcus* sp em amostras de filé de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em feiras da cidade de São Luís – MA, 2016

UFC/g	F1		F2		F3		TOTAL
	N	%	N	%	N	%	
<20	01	10	02	20	04	40	07
10 — 10 ²	03	30	04	40	03	30	10
10 ³ — 10 ⁴	06	60	04	40	03	30	13
TOTAL	10	100%	10	100%	10	100%	30

F – Feira; UFC/g: Unidade Formadora de Colônia

Já para as amostras de tambaqui (*C. macropomum*) comercializadas em supermercados da cidade de São Luís – MA, a Tabela 4 mostra valores de *Staphylococcus* sp que também variaram de 10 a 10² UFC/g em apenas três (10%) amostras e de 10³ a 10⁴ UFC/g em oito (26,66%), amostras analisadas e uma elevada porcentagem de amostras, 19 (63,33%) com valores não significativos (<20 UFC/g). Em nenhuma das amostras analisadas foi detectado contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo.

Tabela 4. Contagem de *Staphylococcus* sp em amostras de filé de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados em supermercados da cidade de São Luís – MA, 2016

UFC/g	S1		S2		S3		Total
	N	%	N	%	N	%	
<20	05	50	08	80	06	60	19
10 — 10 ²	00	00	00	00	03	30	03
10 ³ — 10 ⁴	05	50	02	20	01	10	8
TOTAL	10	100%	10	100%	10	100%	30

S – supermercado; UFC/g: Unidade Formadora de Colônia

Neste estudo apesar de ser observada grande manipulação do tambaqui, não se verificou a presença de *Staphylococcus* coagulase positivo, o que as tornam, dentro do padrão exigido pela legislação brasileira para este microrganismo.

Embora a microbiologia de alimentos atribua maior importância às bactérias *Staphylococcus* coagulase positivo, a presença de *Staphylococcus* coagulase negativo indica falta de cuidados em relação às boas práticas de manipulação. Dessa forma, são necessárias medidas de controle que possam melhorar a qualidade higienicossanitária desse produto aumentando assim a sua vida útil de exposição. Foi observado que a maioria das amostras contaminadas foram proveniente das feiras livres com 23 (67,6%) destas apresentando valores de 10 a 10⁴ e apenas 11 (32,4%) provenientes de supermercados.

A maior contaminação em feiras livres pode estar relacionada à manipulação inadequada, falta de higiene do local, refrigeração inadequada e recomendada para este produto, contato do peixe com superfície suja, falta de indumentária apropriada dos manipuladores desse alimento, além da falta de boas práticas de comercialização por parte desses comerciantes, conforme demonstra a Figura 3.

Duarte et al.⁽⁸⁾ ao analisarem 143 amostras de pescado provenientes dos Estados da Região Nordeste do Brasil, comprovaram uma considerável ocorrência de *Staphylococcus*

em peixes submetidos a uma intensa manipulação e expostos a altas temperaturas, que corrobora os achados deste estudo, pois o elevado índice de contaminação pode estar associado aos equipamentos, superfícies e infraestrutura do local que contribuem de forma significativa para a multiplicação desse microrganismo no alimento.

Figura 3 - Condições dos locais de comercialização de tambaqui (*C. macropomum*) em feiras livres da cidade de São Luís – MA, 2016



(A e B feiras) Evisceração sem qualquer forma de higiene e expostos sem qualquer forma de conservação.

Figura 4 - Condições dos locais de comercialização de tambaqui (*C. macropomum*) em supermercados da cidade de São Luís – MA, 2016



(A e B supermercados) peixes expostos sobre uma camada de gelo, em temperaturas adequadas.

Staphylococcus coagulase positivo não é identificado com frequência ou em baixas contagens em pescado⁽²⁶⁻²⁸⁾. Lorenzon et al.⁽²²⁾, em análises microbiológicas de peixes e água de pesque pagues localizados na região nordeste do Estado de São Paulo não

detectaram em nenhuma das 50 amostras de peixe e 25 de água analisadas, a presença desse microrganismo. Também Farias & Freitas⁽²⁹⁾, ao analisarem 133 amostras de pescado beneficiados em 20 indústrias com inspeção federal, localizadas no estado do Pará, verificaram contagens de *Staphylococcus aureus* em apenas uma (2,0%) das 51 amostras de peixe eviscerado congelado e uma (1,9%) de 54 amostras de filé de peixe congelado estavam acima de 10^3 UFC/g.

Soares et al.⁽²⁸⁾, trabalhando com filés de tilápia conservados em gelo, provenientes do município de Apodi (RN) também relatam a não detecção de *Staphylococcus aureus* nesse alimento. Em uma pesquisa realizada por Ferreira et al., (2014) com 60 amostras de peixes serra também não observou-se a presença *Staphylococcus* coagulase positivo nas amostras analisadas.

Existem também resultados divergentes que foram verificados por Viana et al.⁽³⁰⁾, em uma pesquisa realizada com 16 amostras de tambaqui (*C. macropomum*) que constatou que 37,5% das amostras analisadas estavam fora do recomendado pela legislação vigente para *S. aureus*, pois apresentaram contagens superiores a 10^3 UFC/g. Também Silva-Junior et al.⁽³¹⁾, detectaram *Staphylococcus* coagulase positiva, em 80% das 40 amostras analisadas, todas provenientes da feira do Pescado em Macapá estado do Amapá.

Para que se tenha um alimento livre da contaminação por microrganismos como *Staphylococcus* spp. devem-se adotar hábitos de higiene durante todo o processo de manipulação do pescado no intuito de evitar a presença deste e de outros patógenos que são específicos da microbiota humana, podendo ser encontrado em encontrados em varias regiões do corpo.

Salmonella sp. não foi isolada em nenhuma das amostras analisadas, o que do ponto de vista sanitário torna o produto próprio para o consumo ou seja, o peixe atendeu aos padrões microbiológicos legais, que é a ausência de salmonela em 25g de pescado *in natura*.

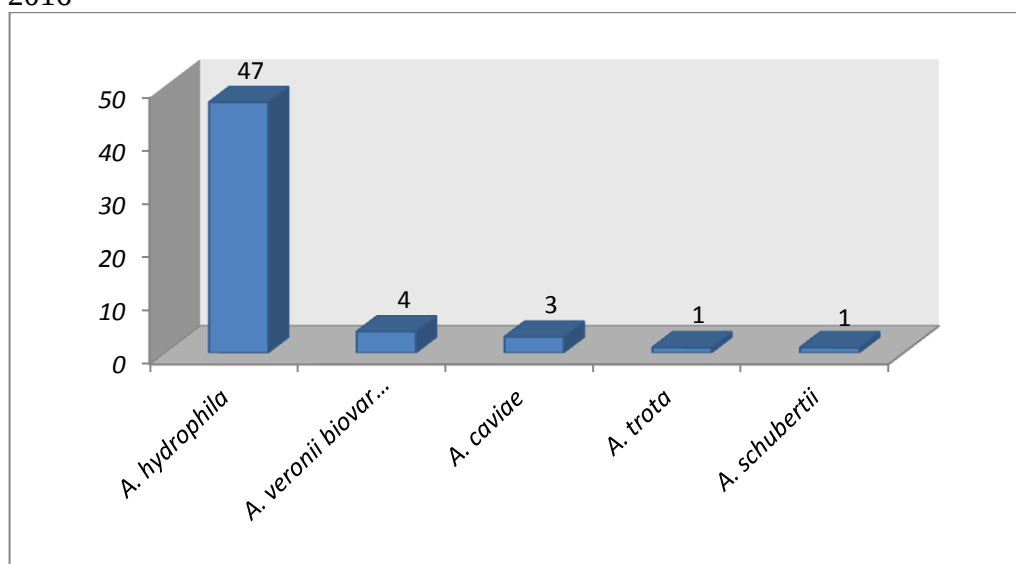
A ausência de *Salmonella* spp. também foi verificada em estudo realizado por Ferreira et al.⁽²⁷⁾, que ao analisarem 60 amostras de peixe serra recém capturados e desembarcados no município de Raposa (MA), não encontraram a presença dessa bactéria. Também Farias & Freitas⁽²⁹⁾, ao avaliarem 133 amostras de pescado beneficiado por 20 indústrias do estado do Pará não identificaram *Salmonella* sp. nas amostras analisadas. Ainda, Lopes et al.⁽²⁵⁾, ao analisarem 42 amostras de pescada amarela e 11 amostras do gelo utilizado na conservação desses peixes desembarcados no município de Cedral – MA, também não encontraram a presença desse microrganismo nas amostras analisadas.

Todos esses resultados corroboram o que afirmou Ahmed⁽³²⁾, sobre o pescado e seus derivados serem veículos pouco frequentes para *Salmonella* sp. em relação a outros produtos alimentares, sendo o peixe e os mariscos responsáveis por apenas uma mínima percentagem de todos os casos envolvendo *Salmonella*.

O não isolamento deste microrganismo no referido estudo pode estar relacionado com o fato de essa bactéria não fazer parte integral da microbiota natural do pescado, e sim ser encontrada no trato intestinal do ser humano e dos animais. Portanto, a sua presença em pescado ocorre em consequência da alta contaminação do local em que estes são capturados e em toda a manipulação pós-captura, que de forma inadequada pode aumentar as chances de ocorrência desse patógeno.

Na Figura 5 estão expressos os resultados quanto à pesquisa de *Aeromonas*, sendo que, 56 (93,3%) amostras apresentaram-se positivas para o gênero, destas foram isoladas *A. hydrophila* em 47 (84%) amostras, *A. veronii* biovar *veronii* em quatro (6,66%), *A. caviae* em três (5,3%) e *A. trota* e *A. schubertii* em uma (4,7%) amostra.

Figura 5- Número e frequência de espécies de *Aeromonas* isoladas de 60 amostras filés de tambaqui (*C. macropomum*) coletadas em supermercados e feiras livres da cidade de São Luís – MA, 2016



Considerando os pontos de coletas em que houve maior índice de contaminação, foi observado que 30 (100%) das amostras analisadas eram provenientes de feiras e 26 (86,6%) foram de supermercados.

A elevada ocorrência dessa bactéria neste estudo está de acordo com outras pesquisas envolvendo peixes ou produtos do pescado como mostra a Figura 5. Foram isoladas

e identificadas cinco espécies de *Aeromonas* spp em uma elevada frequência, tanto para feiras quanto supermercados, sendo que, merece um destaque especial a espécie *A. hydrophila*, que está comumente associada à deterioração do pescado, além de ser de grande importância para a saúde pública.

Esses achados corroboram os de Silva et al.⁽³³⁾, que ao analisarem 48 amostras de água de viveiros na Região da Baixada Ocidental Maranhense, confirmaram a presença de *Aeromonas* spp. em todas (100%) das amostras. Outras pesquisas destacam a presença desses microrganismos no ambiente aquático, especialmente em água doce^(34, 35).

Fato este que pode explicar o elevado índice de amostras contaminadas por este patógeno, além de possível contaminação cruzada em toda a sua cadeia de distribuição.

De acordo com Figueira et al.⁽³⁶⁾, peixes e outros frutos do mar podem se tornar fontes de contaminação para seres humanos devido ao fato de algumas vezes, abrigarem espécies potencialmente patogênicas como, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* e *A. media*. Bactérias do gênero *Aeromonas* spp fazem parte da microbiota autóctone de ecossistemas aquáticos, tanto de água doce como de água salgada podendo sobreviver nas mais diversas faixas de temperaturas.

Lanzarin et al.⁽³⁷⁾, em uma pesquisa realizada com filé de pintado, confirmaram que a temperatura não é um fator limitante para crescimento desse microrganismo. Ao estocarem filé de pintado, a uma temperatura de 0°C a 3°C, demonstraram que o crescimento de *Aeromonas* spp até o 26º dia de estocagem continuou com uma multiplicação acentuada durante todo este período.

Segundo Peixoto et al.⁽³⁸⁾ espécies de *A. hydrophila* estão entre as cinco de grande relevância clínica principalmente por serem patogênicas para os peixes e também para os seres humanos, e por possuírem capacidade de produzir exotoxinas. Outras pesquisas evidenciaram um maior isolamento dessa espécie.

Silva et al.⁽³⁹⁾, nos municípios de Raposa e Humberto de Campos – MA, isolaram e identificaram mediante métodos bioquímicos e moleculares, as espécies *A. hydrophila* e *A. caviae* em 15 (100%) amostras de água de cultivo e 38 (65,51%) em 60 amostras de ostras analisadas. Essa elevada contaminação foi justificada pela ausência de tratamento dos bivalves antes da comercialização e uma grande parte das águas costeiras estarem contaminadas.

Ribeiro et al.⁽⁴⁰⁾ analisando 64 amostras de ostras em dois períodos de coleta (chuvoso e estiagem), encontraram a contaminação de 30 (47%) amostras por bactérias do

gênero *Aeromonas* spp, sendo todas *A. hydrophila*. O grande número de contaminação desse alimento está relacionado principalmente às falhas de manipulação e conservação, o que coloca em risco a saúde dos consumidores.

Quanto a pesquisa de *Listeria* sp foi detectada ausência em todas as amostras analisadas, portanto quanto a este patógeno, as mostras de peixes analisadas apresentam condições sanitárias satisfatórias. A legislação em vigor não estabelece valor de referência para *Listeria* sp em pescado, mas vale lembrar que a presença desse patógeno em pescado representa grande risco à saúde do consumidor, principalmente de *L. monocytogenes* que vem se destacando cada vez mais dentre as bactérias que são capazes de provocar doenças transmitidas por alimentos (DTAs).

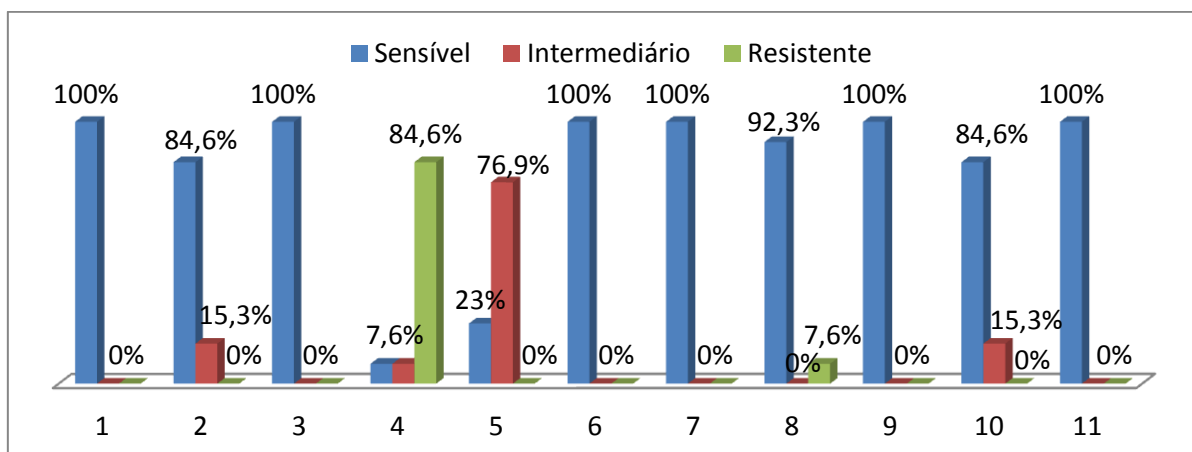
Esses resultados são semelhantes aos de Viana et al.⁽³⁰⁾, que ao analisarem 16 amostras de tambaqui (*C. macropomum*) comercializados na feira municipal de Ariquemes, Rondônia, também não encontraram *Listeria* sp em nenhuma das amostras analisadas. Souza et al.⁽⁴¹⁾, ao pesquisarem esse microrganismo em 33 amostras de surubim fresco e defumado não detectaram *Listeria* sp nas amostras analisadas. Dados estes que indicam baixo grau de contaminação por *Listeria* sp. nesses alimentos.

De acordo com Jay⁽⁴²⁾, embora esse microrganismo esteja relacionado com todos os alimentos de origem animal, não se tem relatos de listeriose ocorridos no Brasil. Mesmo assim não pode ser descartada a possibilidade desses microrganismos estarem presentes em pescados ou produtos da pesca.

Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

De acordo com a Figura 6, para os isolados de *E. coli* provenientes de tambaqui (*C. macropomum*) comercializado na cidade de São Luis – MA, os resultados mostraram elevados percentuais de sensibilidade destas cepas para nove dos 11 antimicrobianos testados. Sendo que, apenas em dois antimicrobianos tiveram a resistência desse microrganismo. Foram 11 isolados para gentamicina e apenas um para cefotaxima. Além disso, as cepas isoladas mostraram percentuais de resistência intermediária para quatro dos antimicrobianos testados.

Figura 6. Susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em São Luís – MA, 2016



Antimicrobianos: 1- Ampicilina, 2- Amicacina, 3- Amoxilina Clavulanato, 4- Gentamicina, 5- Cefuroxima 6- Cefepime, 7- Cefoxitina, 8- Cefotaxima, 9- Ciprofloxacina, 10- Piperaciclina, 11- Sulfa Trimetropin.

No presente estudo, foram verificados (84,6%) e (7,6%) das cepas isoladas de *E. coli* resistentes à gentamicina e a cefotaxima respectivamente. Em (100%) dos isolados verificou-se sensibilidade à Ampicilina, Amoxilina Clavulanato, Cefepime, Cefoxitina, Ciprofloxacina e Sulfa Trimetropin. Além destes, apresentaram sensibilidade de (84,6%) para amicacina e piperaciclina. Sendo, portanto, esses antimicrobianos de eleição pra tratamento de infecções provocadas por essa bactéria.

Os resultados do presente estudo são semelhantes aos de Dias et al.⁽⁴³⁾, que ao avaliarem 44 cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras cárneas de mexilhões capturados no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, verificaram uma resistência de apenas 4,16% dos 24 antimicrobianos testados e uma elevada sensibilidade a estes. Em Evangelista-Barreto, et al.⁽⁴⁴⁾, em nenhuma das cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (BA) apresentaram resistência aos antimicrobianos amicacina, e ciprofloxacina.

Ainda, segundo Vieira et al.⁽⁴⁵⁾ ao analisarem 43 cepas de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio (Fortaleza, CE), observaram que em oito dos antimicrobianos testados obtiveram em 67,4% destes resultados apresentado sensibilidade a todos.

A Tabela 5, mostra que de um modo geral, as cepas isoladas de *Aeromonas* spp., oriundos de tambaqui (*C. macropomum*), apresentaram elevados percentuais de resistência aos 11 antimicrobianos testados, cinco acima de 50%. Observou-se que 55 isolados apresentaram resistência a ampicilina, 52 à amoxilina clavulanato e a cefuroxima, 51 à cefoxitina, 36 à cefotaxima, 23 à sulfa trimetropin, 9 à amicacina, 8 à ciprofloxacina, 4 à piperaciclina e 3 à gentamicina e cefepime. Além disso, mostraram percentuais de

sensibilidade bastante significativos, em seis dos antimicrobianos testados com valores acima de 50% e para perfis intermediários apresentaram baixos percentuais.

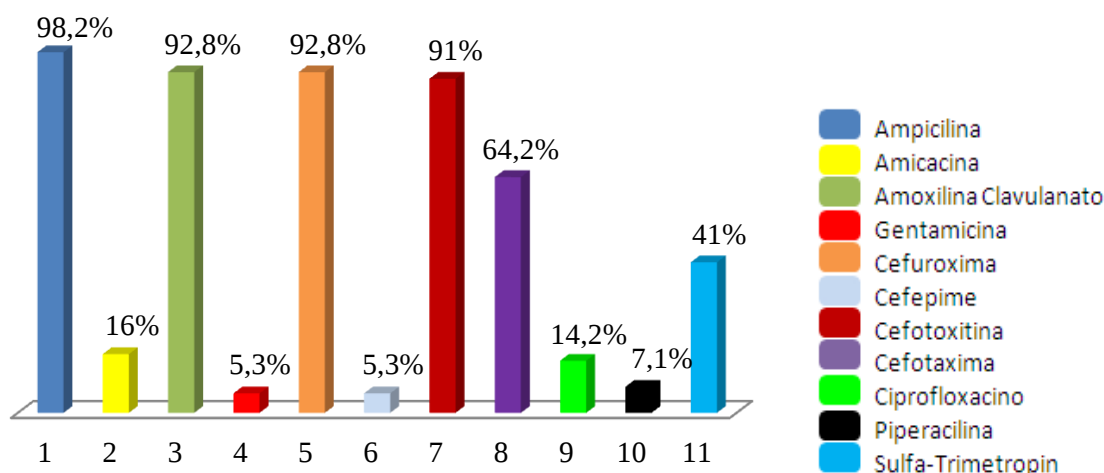
Tabela 5. Susceptibilidade a antimicrobianos de cepas de *Aeromonas spp.* isoladas de tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em São Luís – MA, 2016

Antimicrobianos	Numero de cepas			Total
	Resistente	Intermediário	Sensível	
Ampicilina	55 (98,2%)	1 (1,7%)	0	56
Amicacina	9 (16%)	8 (14,2%)	39 (69,6%)	56
Amoxilina Clavulanato	52 (92,8%)	3 (5,3%)	1 (1,7%)	56
Gentamicina	3 (5,3%)	6 (10,7%)	47 (83,9%)	56
Cefuroxima	52 (92,8%)	4 (7,1%)	0	56
Cefepime	3 (5,3%)	1 (1,7%)	52 (92,8%)	56
Cefoxitina	51 (91%)	1 (1,7%)	4 (7,1%)	56
Cefotaxima	36 (64,2%)	7 (12,5%)	13 (23,2%)	56
Ciprofloxacina	8 (14,2)	7 (12,5%)	41 (73,2)	56
Piperaciclina	4 (7,1%)	1 (1,7%)	51 (91%)	56
Sulfa Trimetropin	23 (41%)	3 (5,3%)	30 (53,5%)	56

A elevada resistência de cepas de *Aeromonas spp* isoladas de tambaqui à ampicilina neste estudo, está de acordo com pesquisa realizada por Silva et al.⁽³³⁾, que ao analisarem cepas de *Aeromonas spp* isoladas de peixes oriundos de pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense, observaram que em todas as amostras apresentaram resistência à ampicilina. Segundo Ghenghesh et al.⁽⁴⁶⁾, na grande maioria das espécies de *Aeromonas spp* apresentam resistência à ampicilina, sendo este antimicrobiano utilizado nos meios de cultura seletivo para isolamento deste microrganismo.

Na figura 7, são observados os percentuais de resistência antimicrobiana das cepas de *Aeromonas spp*. Além de elevada resistência à ampicilina (98,2%), foram observadas elevada resistência a amoxilina clavulanato e cefuroxima (92,8%), cefoxitina (91%) e Cefotaxima (64,2%). De acordo com Silva et al.⁽³³⁾, foram encontrados valores de 89,9% e 78,6% de cepas de *Aeromonas spp* resistentes à amoxilina clavulanato e cefuroxima respectivamente. A resistência antimicrobiana para a cefoxitina também foi observada por Cereser et al.⁽⁴⁷⁾, com percentual de 75% das de *Aeromonas spp* isoladas, resultado bem próximo ao do presente estudo. Segundo Jacobs & Chenia⁽⁴⁸⁾, A resistência de *Aeromonas spp* aos β - lactâmicos (ampicilina e amoxilina) é explicada, pois são produtoras naturais de β -lactamase ou induzem sua atividade enzimática.

Figura 7. Percentuais de resistência de *Aeromonas spp.* isoladas tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em São Luís – MA, 2016



Os antimicrobianos em que as bactérias evidenciaram menores percentuais de resistência foram amicacina (16%), gentamicina e cefepime (5,3%) ciprofloxacina (14,2%) e piperaciclina (7,1%) (Figura 7). Portanto em caso de enfermidades ocasionadas por esse microrganismo, seriam esses os antimicrobianos de eleição para o tratamento das infecções. Dados como o do presente estudo, servem como grandes ferramentas para escolha correta do princípio ativo, a ser indicado. Akinbowale et al.⁽⁴⁹⁾ também verificaram baixa resistência de *Aeromonas* spp. a ciprofloxacina ao analisarem amostras de trutas provenientes de pisciculturas. Silva et al.⁽³³⁾, verificaram pouca resistência desses microrganismos frente à gentamicina e ao ciprofloxacina em 14,9% e 19,14% respectivamente.

De acordo com Smith et al.⁽⁵⁰⁾, o uso abusivo ou irracional de antimicrobianos na aquicultura favorece o surgimento de bactérias cada vez mais resistentes aos princípios ativos, o que pode gerar um serio problema no seu efeito terapêutico futuro.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- 1) O tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em feiras e supermercados da cidade de São Luís – MA apresenta condições higienicossanitárias inadequadas, além de representar um importante veículo de transmissão de coliformes e *E. coli*;
- 2) As amostras de peixes analisadas apresentam riscos de veicular espécies de bactéria do gênero *Aeromonas*, principalmente *A. hydrophila*;
- 3) As amostras analisadas não apresentam riscos de veicular *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp e *Listeria* sp, estando dentro dos padrões da legislação para estes microrganismos.

- 4) Os isolados de *E. coli* apresentaram baixos percentuais de resistência aos antimicrobianos testados, com resistência apenas para gentamicina e a cefotaxima.
- 5) As cepas de *Aeromonas* isoladas exibiram elevados percentuais de resistência e aos antimicrobianos utilizados, principalmente à ampicilina, amoxilina clavulanato, cefuroxima, cefoxitina, e Cefotaxima.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo, à FAPEMA pelo financiamento da pesquisa à UEMA e ao Mestrado em Ciência Animal por estarem sendo os responsáveis pela minha formação profissional.

REFERÊNCIAS

1. TAYEL, A. A. Microbial chitosan as a biopreservative for fish sausages. **International Journal of Biological Macromolecules** 93 (2016) 41–46.
2. SOARES, K. M. P.; GONCALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz** (Impr.), v.71, n.1, 2012.
3. CARWILE, J. L.; BUTLER, L. J.; JANULEWICZ, P. A.; WINTER, M. R.; ASCHENGRAU, A. Childhood Fish Consumption and Learning and Behavioral Disorders. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2016, 13, 1069.
4. BURGER, J., GOCHFELD, M., BATANG, Z., ALIKUNHI, N., AL-JAHDALI, R. ET AL. (2014). Fish consumption behavior and rates in native and non-native people in Saudi Arabia. **Environmental Research**, (133): 141-148.
5. THURSTAN, R. H.; ROBERTS, C. M. The past and future of fish consumption: Can supplies meet healthy eating recommendations? **Marine Pollution Bulletin**. 89 (2014) 5–11.
6. GREIG, J.D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology** 130 (2009) 77–87.
7. CICERO, L. H.; FURLAN, E. F.; PRISCO, R. C. B.; NEIVA, C. R. P. Estudo das metodologias de destilação na quantificação do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais em pescada, tilápia e camarão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 192-197, 2014.
8. DUARTE, A. R.; RIBEIRO, A. M. M.; VASCONCELOS, J. V. D.; SILVA, P. L. A.; SANTANA, A. A. P. Ocorrência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva

- em pescado no nordeste, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v.77, n.4, p.711-713, out./dez., 2010.
9. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal, 2014.** Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014.
 10. SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 3.ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.
 11. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.62, 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, de 18 de setembro de 2003. Seção I, p.14.
 12. VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of Methods for the microbiological.** Examination of food, American Public Health Association, 1992.
 13. PALUMBO, S. A.; MAXINO, F.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; THAYER, D. W. Starch-ampicilin Ágar for the quantitative detection of Aeromons hydrophila. **Applied and Environmental Microbiology.** v.50, p.1027-1030, 1985
 14. MAJEED, K. N.; EGAN, A. F.; MACERA, I. C. Production of exotoxins by *Aeromonas* spp. at 5°C. **Journal of Applied Microbiology**, v.69, p.332-337, 1990.
 15. HAVELAAR, A. H.; VONK, M. The preparation of ampicillin dextrin Ágar for the enumeration of Aeromonas in water. **Letters in Applied Microbiology.** v.7, n.6, p.169-171, 1988.
 16. SAAD, S. M. I.; IARIA, S. T.; FURLANETO, S. M. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, v.26, n.1, p.22-27, 1995.
 17. CARNAHAN, A. M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 2843-2849, 1991.
 18. MCCLAIN, D.; LE, W. H. Developmente of USDA-FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistis**, v.17, n.3, p.660-664, 1988.
 19. SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
 20. BAUER, A. W.; KIRK, M. M.; SHERRIS, J. C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-6, 1966.
 21. CLSI publication M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories, 2013.

22. LORENZON, C. S.; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A. P.; PINTO, F. R.; SCHOLTEN, C.; HONDA, S. N.; AMARAL, L. A. do. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.4, p.617-624, 2010.
23. DOI, S. A., OLIVEIRA, A. J. F. C., BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v.20, n.1, jan/mar, p.111-118, 2015.
24. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus Anexos I e II. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Distrito Federal, n. 7, 10 Jan.2001. Seção 1, 43-53.
25. LOPES, I. S.; FERREIRA, E. M.; PEREIRA, D. M.; PEREIRA, L. S.; CUNHA, M. C. S.; COSTA, F. N. Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada: características microbiológicas e qualidade do gelo utilizado na sua conservação. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.71, n.4, p.677-84, 2012.
26. 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.
27. FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PEREIRA, D. M.; RODRIGUES, L. C.; COSTA, F. N. Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.81, n.1, p.49-54, 2014.
28. SOARES, K. M. P; GONCALVES, A. A; SOUZA, L. B. Qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.12, p.2273-2278, dez, 2014.
29. 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.
30. VIANA, I. C. L. A.; VALIATTI, T. B.; SOBRAL, F. O. S.; ROMÃO, N. F.; FONSECA, C. X.; OLIVEIRA, U. A. 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.
31. SILVA-JUNIOR, A. C. S.; SILVA, A. S. S.; BRITO, T. P.; FERREIRA, L. R. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em Jaraqui, *Semaprochilodus brama* (Valenciennes, 1850) comercializado na Feira do Pescado, Macapá-AP. **Biota Amazônia**. Macapá, v.5, n.1, p.32-36, 2015.
32. AHMED, F. E. (Ed.). **National Academy Press**, Washington D. C., USA, Seafood safety, 1981.

33. SILVA, R. M. L. Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense. **Tese (doutorado)** Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 75 f. 2010.
34. AKINBOWALE, O. L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M. D. Antibiotic resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.30, p.177-182, 2007.
35. PRAVEEN. P. K.; DEBNATH, C.; SHEKHAR, S.; DALAI, N.; GANGULY, S. Incidence of *Aeromonas* spp. infection in fish and chicken meat and its related public health hazards: A review. **Veterinary World**, v.9, n.1, p.6-11, 2016.
36. FIGUEIRA, V. M.; 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.
37. LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTER, D. O.; MELLO, C. A.; CORRÊA, G. S. S.; IGNÁCIO, C. M. S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotóxicos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. **Arquivo. Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1541-1546, 2011.
38. PEIXOTO, L. J. S.; SÁ, M. C. A.; GORDIANO, L. A.; COSTA, M. M. *Aeromonas* spp.: fatores de virulência e perfis de resistência a antimicrobianos e metais pesados. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.3, p.453-461, jul./set., 2012.
39. SILVA, A. C. M. DE M.; NASCIMENTO, D. L. DO; MACHADO, R. Z.; COSTA, F. N. Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de amostras de ostras e água por método microbiológico e molecular. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.15, n.3, p.362-368, Sept. 2014.
40. RIBEIRO, E. B.; BASTOS, L. S.; GALENO, L. S.; MENDES, R. S.; GARINO JR, F.; CARVALHO-NETA, R. N. F.; COSTA, F. N. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, xxx, xxx-xxx, 2016.
41. SOUZA, V. M.; ALVES, V. F.; DESTRO, M. T.; DE MARTINIS, E. C. P. Quantitative evaluation of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed surubim fish (*Pseudoplatystoma* sp) **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, n.3, p.527-528, 2008.
42. JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª edição, editora Artmed, p.517-542, Porto Alegre, 2005.
43. DIAS, M. T.; SANTOS, P. C. R. F.; OLIVEIRA, L. A. T.; MARIN, V. A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 30(2): 319-324, abr.-jun. 2010.

44. EVANGELISTA-BARRETO, N. S. PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R.; FERREIRA, L. T. B. Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguaape, Maragogipe (Bahia). **Revista Acadêmica Ciências. Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 25-34, jan./mar. 2014.
45. VIEIRA, R. H. S. F.; VASCONCELOS, F. R.; REBOUÇAS¹, R.H.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SOUSA, O.V. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.405-410, jul./set., 2010.
46. 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.
47. CERESER, N. D.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; MARTINELI, T. M.; SOUZA, V.; RODRIGUES, L. B.; KERKHOFF, J. Perfil de resistência de *Aeromonas* spp. isolada no fluxograma de produção do queijo minas frescal industrial e artesanal. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v.29, n.1, 030-036, 2013.
48. JACOBS, L.; CHENIA, Y. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. Isolated from South African aquaculture systems. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 114, p- 295-306, 2007.
49. AKINBOWALE, O.L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M.D. Antibiotic and heavy metal resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.30, p.177-182, 2007.
50. SMITH, P. R.; BRETON, A. L.; HORSBERG, T. E.; CORSIN, F. Guidelines for antimicrobial use in aquaculture. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. (Ed.). **Guide to antimicrobial use in animals**. Oxford: WilleyBlackwell, 2008. p.207-216.