

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
DOUTORADO EM HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO  
TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

ELIANE RODRIGUES

PESQUISA DE *Aeromonas* spp. EM TILÁPIA  
(*Oreochromis niloticus*), CULTIVADA no ESTADO  
do RIO DE JANEIRO-BRASIL: ISOLAMENTO,  
IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES E AVALIAÇÃO DA  
SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE

NITERÓI-RJ  
2007

**ELIANE RODRIGUES**

**PESQUISA DE *Aeromonas* spp. EM TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*), CULTIVADA NO ESTADO do RIO DE JANEIRO - BRASIL: isolamento, identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. ELIANA DE FÁTIMA MARQUES DE MESQUITA

Co-orientador: Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO

Niterói-RJ  
2007

R 696

Rodrigues, Eliane.

Pesquisa de *Aeromonas spp.* em tilápia (*Oreochromis niloticus*), cultivada no Estado do Rio de Janeiro – Brasil: isolamento, identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana / Eliane Rodrigues. - Niterói: UFF, 2007  
208 f.

Orientador: Eliana de Fátima Marques de Mesquita  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Fluminense.  
Bibliografia: f. 161-183.

1. Pescado – Microbiologia. 2 Tilápia. 3. Isolamento de Bactéria. 4. *Aeromonas spp.* – Contaminação. 5. Saúde Coletiva. 6. Pescado – Toxicologia. I. Rodrigues, Eliane. II. Universidade Federal Fluminense. Faculdade de Veterinária. III. Título.

CDD 664.94

ELIANE RODRIGUES

**Título: PESQUISA DE *Aeromonas* spp. EM TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*),  
CULTIVADA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - BRASIL: isolamento,  
identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana.**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor. Área de concentração em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em 19 de setembro de 2007.

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ELIANA DE FÁTIMA MARQUES DE MESQUITA  
Universidade Federal Fluminense – UFF

---

Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO  
Universidade Federal Fluminense – UFF

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. AGAR COSTA ALEXANDRINO DE PEREZ  
Instituto de Pesca de São Paulo -IPSP

---

Prof. Dr. Mauro Carlos Lopes Souza  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

---

Prof. Dr. LUIZ ANTÔNIO TRINDADE DE OLIVEIRA  
Universidade Federal Fluminense – UFF

---

Prof. Dr. ZANDER BARRETO MIRANDA  
Universidade Federal Fluminense

Niterói  
2007

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Carlos Rodrigues e Edimir Villas Boas Rodrigues, pelo apoio e incentivo em todos os momentos por mais difíceis que fossem.

À minha filha Mariana, por sempre estar ao meu lado nas horas difíceis.

Aos meus amigos Maria Leonor Fernandes pela incansável ajuda nas correções e organização do texto final, Márcia Feijó pelas sugestões e correções de texto e Marcelo Figueiredo, pelo carinho, amizade, lealdade e companheirismo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Eliana de Fátima Marque de Mesquita, pela orientação, e amizade nos 4 anos de curso.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Robson Maia Franco, pela atenção, paciência, orientação e amizade durante todo o período do curso.

Aos membros da Banca de Qualificação Prof. Dr. Luiz Antonio Trindade de Oliveira, Prof. Dr. Robson Maia Franco e Prof. Dr. Zander Barreto Miranda, que com os questionamentos apresentados em muito contribuíram na orientação e organização deste trabalho.

Especialíssimo agradecimento a competente profissional Prof. Dra. Ana Beatriz Monteiro Fonseca, do Departamento de Estatística da UFF, não só pela perfeita e detalhada análise estatística, orientação no

planejamento do experimento e interpretação de tantos dados, mas sobretudo pelo imenso carinho, atenção e dedicação.

A todos os professores do curso que se tornaram grandes amigos.

Aos colegas da PESAGRO-RIO, que contribuíram de alguma maneira para este resultado final, em especial aos técnicos de laboratório Edemir de Oliveira dos Santos, Artur dos Santos Filho e Edson Faria. e a Newton Moreno Vidal pelo belíssimo projeto de apresentação, sem esquecer as bibliotecárias e auxiliares no empenho e agilidade na recuperação do material bibliográfico, a Airton Antonio Castagna pelo incentivo e a Jurandir Oscar de Lima pela imensurável ajuda na coleta do material. À estagiária Marisol Antony Velloso dos Santos pelo empenho e dedicação no desempenho das atividades laboratoriais.

Especial agradecimento à Coopercrãma e à Associação dos Piscicultores de Piraí, pela confiança e apoio.

A todos que de alguma forma, com as contribuições ao presente trabalho, se tornaram parte da história minha vida.

“O segredo é não correr atrás das borboletas....  
É cuidar do jardim para que elas venham até você”

Mario Quintana.

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, f.13	
LISTA DE TABELAS, f.14	
LISTA DE QUADROS, f.16	
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS, f.17	
RESUMO, f. 20	
ABSTRACT, f. 22	
<b>1 INTRODUÇÃO, f. 24</b>	
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA, f. 28</b>	
2.1 LEGISLAÇÃO, f. 28	
<b>2.1.1 Importância na Alimentação e Hábitos de Consumo Humano, f. 29</b>	
<b>2.1.2 Microbiota do Pescado, f. 32</b>	
<b>2.1.3 Riscos a Saúde do Consumidor, f.33</b>	
<b>2.1.4 Manipulação do Pescado, f.34</b>	
2.2 TILÁPIA, f. 35	
<b>2.2.1 Taxonomia e Definição f. 35</b>	
<b>2.2.2 Histórico, f. 37</b>	
<b>2.2.3 Condições do Cultivo de Tilápia, f.39</b>	
2.2.3.1 Aspectos Físicos, f. 40	
2.2.3.2 Aspectos Químicos, f. 41	
2.2.3.3 Aspectos Biológicos, f. 42	
<b>2.2.4 Reprodução da Tilápia, f. 44</b>	
<b>2.2.5 Alimentação da Tilápia, f. 47</b>	
<b>2.2.6 Rendimento da Tilápia, f. 49</b>	
<b>2.2.7 Aspectos Econômicos da Produção de Tilápia, f. 50</b>	

**2.2.8 Aproveitamento da Tilápia( Sub-produtos da Tilápia), f. 55**

2.3 BACTÉRIAS DO GÊNERO *Aeromonas* spp., f. 58

**2.3.1 Taxonomia e Definição, f. 59**

**2.3.2 Características Físicas, Químicas e Biológicas das *Aeromonas* spp., f. 63**

2.3.2.1 Temperatura, f. 63

2.3.2.2 Atividade de água (Aa), f. 64

2.3.2.3 Tolerância ao sal, f. 64

2.3.2.4 pH, f. 65

2.3.2.5 Atmosfera modificada, f. 66

**2.3.3 Características Bacteriológicas, f. 67**

2.3.3.1 Morfológicas, f. 67

2.3.3.2 Seletividade, f. 67

2.3.3.3 Bioquímica, f. 70

2.3.3.4 Patogenicidade e virulência, f. 72

**2.3.4 Tipo de Alimentos e Reservatórios Envolvidos, f. 78**

2.3.4.1 Água, f. 78

2.3.4.2 Animais, f. 81

2.3.4.3 Alimentos, f. 83

2.3.4.4 Infecções em humanos, f. 85

**2.3.4.4.1. Intestinais, f. 85**

**2.3.4.4.2 Extra-intestinais, f. 87**

**2.3.5 Sensibilidade aos Agentes Antimicrobianos, f. 88**

**3 MATERIAL E MÉTODO, f. 93**

3.1 MATERIAL, f. 93

**3.1.1 Planejamento Experimental, f. 93**

**3.1.2 Preparo da amostra, f. 94**

3.2 MÉTODO, f. 94

**3.2.1 Metodologia I, f. 95**

3.2.1.1 Enriquecimento da amostra, f. 95

3.2.1.2 Plaqueamento direto, f. 95

**3.2.1.2.1 Características dos meios seletivos, f. 95**

**3.2.2 Metodologia II, f. 97**

3.2.2.1 Enriquecimento da amostra, f. 97

3.2.2.2 Plaqueamento, f. 97

<b>3.2.2.2.1</b>	<b>Características dos meios seletivos</b> , f. 97
<b>3.2.2.2.2</b>	<b>Seleção de colônias características</b> , f. 98
<b>3.2.3</b>	<b>Triagem</b> , f. 98
<b>3.2.4</b>	<b>Identificação do gênero <i>Aeromonas</i></b> , f. 100
3.2.4.1	Teste de oxidase: citocromo-oxidase, f. 100
3.2.4.2	Resistência ao Agente Vibriostatic O/129, f. 101
<b>3.2.5</b>	<b>Provas bioquímicas</b> , f. 101
3.2.5.1	Teste da catalase, f. 102
3.2.5.2	Prova da motilidade, f. 103
3.2.5.3	Prova da produção de indol, f. 103
3.2.5.4	Prova de oxidação e fermentação (O/F- Hugh-Leifson), f. 104
3.2.5.5	Prova de utilização do citrato como única fonte de carbono, f. 105
3.2.5.6	Teste da arginina diidrolase, lisina e ornitina descarboxilase, f. 106
3.2.5.7	Prova da fermentação de carboidratos (VM), f. 107
3.2.5.8	Prova da fermentação da arabinose, f. 108
3.2.5.9	Deteção da produção de acetoina - VP ou Vogues-Proskauer, f. 108
3.2.5.10	Hidrólise da esculina, f. 108
<b>3.3</b>	<b>TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA</b> , f. 109
<b>3.4</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> , f. 110
<b>4</b>	<b>RESULTADO</b> , f. 112
<b>4.1</b>	<b>RESULTADOS TOTAIS</b> , f. 112
<b>4.1.1</b>	<b>Microbiota bacteriana isolada</b> , f. 112
<b>4.1.2</b>	<b>Resultado por espécies de <i>Aeromonas</i> spp.</b> , f. 115
<b>4.1.3</b>	<b>Isolamento de espécies de <i>Aeromonas</i> spp. nos meios seletivos utilizados</b> , f. 116
<b>4.1.4</b>	<b>Teste de sensibilidade antimicrobiana</b> , f. 119
<b>4.2</b>	<b>POR REGIÃO</b> , f. 124
<b>4.3</b>	<b>POR PISCICULTURA</b> , f. 127
<b>4.3.1</b>	<b>Bactérias identificadas por piscicultura</b> , f. 128
<b>4.3.2</b>	<b>Espécies de <i>Aeromonas</i> spp. identificadas por piscicultura</b> , f. 131
<b>4.4</b>	<b>POR METODOLOGIA</b> , f. 140
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> , f. 143
<b>5.1</b>	<b>BACTÉRIAS ISOLADAS</b> , f. 143
<b>5.2</b>	<b>ESPÉCIES DE <i>Aeromonas</i> spp. ISOLADAS</b> , f. 144

5.3 METODOLOGIAS UTILIZADAS, f. 146

5.4 SELETIVIDADE DOS MEIOS, f. 148

5.5 TESTE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA, f. 152

**6 CONCLUSÃO**, f. 158

**7 SUGESTÕES**, f. 160

**8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, f.161

**9 APÊNDICES**, f. 184

9.1 ASPECTO DAS COLÔNIAS DE *Aeromonas* spp. NOS MEIOS DE CULTIVO UTILIZADOS, f.184

9.1.1 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp no Ágar *Aeromonas* com ampicilina, f.184

9.1.2 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp no Ágar MacConkey com ampicilina, f. 184

9.1.3 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp no Ágar Sangue com ampicilina, f. 185

9.1.4 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp no Ágar GSP com ampicilina, f. 185

9.1.5 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp no Ágar Desoxicolato Citrato com cloreto de sódio, f.186

9.2 GRÁFICOS ESTATÍSTICOS, f. 186

9.2.1 Freqüência de placas de Ágar Sangue com hemólise, f. 186

9.2.2 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a oxacilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 187

9.2.3 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a estrptomicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f.187

9.2.4 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a trimetoprim com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 188

9.2.5 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a ampicilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 188

9.2.6 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a lincomicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 189

9.2.7 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a tetraciclina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 189

- 9.2.8** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a cloranfenicol com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 190
- 9.2.9** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a kanamicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 190
- 9.2.10** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a gentamicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 191
- 9.2.11** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a rifampicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 191
- 9.2.12** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a sulfametoxazol+trimetropim com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas , f.192
- 9.2.13** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a amoxicilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 192
- 9.2.14** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a eritromicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 193
- 9.2.15** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a novobiocina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 193
- 9.2.16** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a penicilina G com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f. 194
- 9.2.17** Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a nitrofurantoína com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas, f.194
- 9.3** TABELAS ESTATÍSTICAS, f. 195
- 9.3.1** Resultado da coloração pelo método de GRAM, f. 195
- 9.3.2** Resultado do teste de Oxidase, f. 195
- 9.3.3** Resultado do teste de Catalase, f. 195
- 9.3.4** Resultado do teste de sensibilidade ao O/129, f. 195
- 9.3.5** Ocorrência de hemólise em Ágar Sangue, f. 195
- 9.3.6** Análise estatística da distribuição das bactérias isolados no pescado de acordo com a origem, f. 196
- 9.3.7** Distribuição da freqüência das bactérias isoladas por meio de cultivo, f. 196
- 9.3.8** Distribuição da freqüência das bactérias isoladas por método, f. 196
- 9.3.9** Distribuição da freqüência das espécies de *Aeromonas* isoladas por piscicultura, f. 197

- 9.3.10 Distribuição da frequência total das espécies de *Aeromonas* isoladas, entre os meios seletivos, f. 197**
- 9.3.11 Distribuição da frequência das espécies isoladas por método, f. 197**
- 9.3.12 Sensibilidade antimicrobiana à oxacilina por espécies isoladas, f. 198**
- 9.3.13 Sensibilidade antimicrobiana à estreptomicina das espécies isoladas, f. 198**
- 9.3.14 Sensibilidade antimicrobiana ao trimetropim das espécies isoladas, f. 198**
- 9.3.15 Sensibilidade antimicrobiana à ampicilina das espécies isoladas, f. 199**
- 9.3.16 Sensibilidade antimicrobiana à lincomicina das espécies isoladas, f. 199**
- 9.3.17 Sensibilidade antimicrobiana à tetraciclina das espécies isoladas, f. 199**
- 9.3.18 Sensibilidade antimicrobiana ao cloranfenicol das espécies isoladas, f. 200**
- 9.3.19 Sensibilidade antimicrobiana à kanamicina das espécies isoladas, f. 200**
- 9.3.20 Sensibilidade antimicrobiana à gentamicina das espécies isoladas, f. 200**
- 9.3.21 Sensibilidade antimicrobiana à rifampicina das espécies isoladas, f. 201**
- 9.3.22 Sensibilidade antimicrobiana ao sulfamethoxazol + trimetoprim das espécies isoladas, f. 201**
- 9.3.23 Sensibilidade antimicrobiana à amoxicilina das espécies isoladas, f. 201**
- 9.3.24 Sensibilidade antimicrobiana à eritromicina das espécies isoladas, f. 202**
- 9.3.25 Sensibilidade antimicrobiana à novobiocina das espécies isoladas, f. 202**
- 9.3.26 Sensibilidade antimicrobiana à penicilina G das espécies isoladas, f. 202**
- 9.3.27 Sensibilidade antimicrobiana à nitrofurantoína das espécies isoladas, f. 203**
- 9.3.28 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à oxacilina, f.203**
- 9.3.29 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à estreptomicina, f. 203**
- 9.3.30 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* ao trimetropim, f. 204**
- 9.3.31 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à ampicilina, f. 204**
- 9.3.32 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à lincomicina, f. 204**
- 9.3.33 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* a tetraciclina, f. 205**
- 9.3.34 Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* ao cloranfenicol, f. 205**

- 9.3.35** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à kanamicina, f. 205
- 9.3.36** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à gentamicina, f. 206
- 9.3.37** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à rifampicina, f. 206
- 9.3.38** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* ao sulfamethoxazol +trimetoprim, f. 206
- 9.3.39** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à amoxicilina, f. 207
- 9.3.40** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à eritromicina, f. 207
- 9.3.41** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à novobiocina, f. 207
- 9.3.42** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à penicilina **G**, f. 208
- 9.3.43** Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas* à nitrofurantoína, f.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig.1– Reação da catalase sobre o peróxido de Hidrogênio, f. 103
- Fig. 2 – Reação da triptofanase sobre o triptofano, f. 104
- Fig. 3 – Reação da utilização do citrato, f. 105
- Fig. 4 – Hidrólise da esculina por enzimas bacterianas, com formação de um complexo, escuro e não fluorescente, com íons férrico, f. 109
- Gráfico 1 – Percentual total de bactérias isoladas, f. 113
- Gráfico 2 – Frequência de bactérias isoladas nos diferentes meios seletivos, f. 115
- Gráfico 3 – Percentual das espécies de *Aeromonas* sp. isoladas, f. 116
- Gráfico 4 – Frequência das espécies de *Aeromonas* isoladas, nos diversos meios de cultivo, f. 119
- Gráfico 5 – Percentual de placas em diferentes meios seletivos semeados por piscicultura, f. 127
- Gráfico 6 – Frequência das bactérias isoladas nas três pisciculturas, f. 129
- Gráfico 7 – Frequência das espécies de *Aeromonas* isoladas no pescado de cada piscicultura, f. 136
- Gráfico 8 – Frequência de bactérias isoladas pelos “Métodos I e II”, f. 141

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Composição Centesimal de Tilápia Crua, f. 30
- TABELA 2 – Composição de Minerais da Tilápia Crua, f. 30
- TABELA 3 – Composição de Vitaminas da Tilápia Crua, f. 30
- TABELA 4 – Perfil lipídico da Tilápia Crua, f. 31
- TABELA 5 – Perfil de aminoácidos da Tilápia Crua, f. 31
- TABELA 6 – Importação de filé de tilápia pelos EUA, f. 55
- TABELA 7 – Total de bactérias isoladas, f. 113
- TABELA 8 – Frequência e percentual das bactérias isoladas por meio de cultivo, f. 114
- TABELA 9 – Frequência e percentual do isolamento das diferentes espécies de *Aeromonas*, f. 115
- TABELA 10 – Percentual de isolamento das espécies de *Aeromonas* nos diversos meios seletivos, f. 117
- TABELA 11 – Distribuição das espécies de *Aeromonas* por meio seletivo, f. 119
- TABELA 12 – Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas*, f. 122
- TABELA 13 – Frequência e percentual de crescimento bacteriano por região, f. 125
- TABELA 14 – Frequência e percentual de bactérias isoladas por região, f. 125
- TABELA 15 – Total de isolamento bacteriano por região, f. 125
- TABELA 16 – Distribuição de espécies de *Aeromonas* por região, f. 126
- TABELA 17 – Total de isolamento de espécies de *Aeromonas* por região, f. 126
- TABELA 18 – Frequência de placas semeadas com e sem crescimento bacteriano em cada piscicultura, f. 127
- TABELA 19 – Distribuição das bactérias isoladas em cada piscicultura, f. 128

- TABELA 20 – Distribuição do isolamento de *Aeromonas* spp., do material proveniente das três pisciculturas, nos meios seletivos, f. 130
- TABELA 21– Percentual da distribuição do total de cada bactéria isolada, entre as três pisciculturas, f. 130
- TABELA 22 –Percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas do material proveniente de cada piscicultura, f. 131
- TABELA 23 –Distribuição nos meios de cultivo da freqüência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da piscicultura A, f. 132
- TABELA 24 –Espécies isoladas por meio de cultivo nas 180 placas origiárias das amostras da Piscicultura A, f. 132
- TABELA 25 –Distribuição nos meios de cultivo da freqüência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da piscicultura B, f. 133
- TABELA 26 –Espécies isoladas por meio de cultivo nas 73 placas originárias das amostras da Piscicultura B, f. 134
- TABELA 27 –Distribuição nos meios de cultivo da freqüência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da Piscicultura C, f. 135
- TABELA 28 –Espécies isoladas por meio de cultivo nas 33 placas originárias das amostras da Piscicultura C, f. 135
- TABELA 29 –Percentual da distribuição de cada espécie de *Aeromonas* no material proveniente das Pisciculturas C, f. 136
- TABELA 30 –Teste de sensibilidade antimicrobiana aplicado as cepas de *Aeromonas* spp. isoladas do pescado proveniente das três pisciculturas, f. 139
- TABELA 31 –Freqüência bactérias isoladas e identificadas em amostras de tilápia utilizando os Métodos I e II, f. 140
- TABELA 32 –Distribuição das bactérias isoladas pelos “Métodos I e II”, f. 140
- TABELA 33–Freqüência e percentual de isolamento das espécies de *Aeromonas* pelos Métodos I e II, f. 141
- TABELA 34 –Distribuição da freqüência e do percentual de cada espécie de *Aeromonas* isoladas pelos “Métodos I e II”, f. 142

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Espécies de *Aeromonas* relacionadas em ordem decrescente de importância na clínica Humana, f. 62

Quadro 2 – Identificação do gênero *Aeromonas*, f. 100

Quadro 3 – Provas bioquímicas utilizadas para identificação de espécies de *Aeromonas*, f. 102

Quadro 4 – Sensibilidade antimicrobiana por espécie de *Aeromonas*, f. 123

Quadro 5 – Frequências de espécies de *Aeromonas* identificadas nas amostras de tilápia, provenientes das diferentes pisciculturas, f. 137

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADN	ácido desoxirribonucleico
ADH	arginina diidrolase
AIT	“Asian Institute of Technology”
AMP	Ampicilina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA	Água Peptonada Alcalina
ARG	arginina
ATA	“American Association of Tilapia”
ATCC	“American Type Culture Collection”
ATP	Adenosine Triphosphate
Aa	atividade de água
BHI	Brain Heart infusion
c/	com
°C	graus Celsius
CAN	kanamicina
CaCO <sub>3</sub>	carbonato de cálcio
CGTA	glicerofosfolipideo-colesterol-aciltransferase
CIDE	Centro de Informação e Dados do Rio de Janeiro
CSF	“Colony-stimulating Factor”
cm	centímetro
CO <sub>2</sub>	gás carbônico (dióxido de carbono)
DL50	dose letal para 50%
DNOCS	Departamento Nacional de Obras Contra Seca
DTA	Doença Transmitida por Alimentos
EDTA	“Ethylenediamine tetraacetic acid”
ETA	Enfermidade Transmitida por Alimentos
€	euro
F	freqüência
EUA	Estados Unidos da América
FAO	“Food and Agricultural Organization”
FDA	“Food and Drug Administration”
FEA	Faculdade de Engenharia de Alimentos
FPH	“Fished of proteinic hydrolysis”
FIPERJ	Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro

g	grama
GN	gentamicina
GSP	“Glutamate Starch Phenol”
H <sub>2</sub>	hidrogênio
H <sub>2</sub> O	água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peróxido de hidrogênio (água oxigenada)
H <sub>2</sub> S	gás sulfídrico (ácido sulfídrico)
ha	hectare
I	Intermediário
°INPM	porcentagem de álcool em peso ou grau alcoólico
kg	quilograma
L	levógiro
LDC	“Lysine descarboxylase”
LCQ	Laboratório de Controle de Qualidade
lb	libra
m <sup>2</sup>	metro quadrado
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mg/L	miligrama por litro
mm	milímetro
µm	micrometro
µg	micrograma
N <sub>2</sub>	nitrogênio
Na	sódio
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonato de sódio
NaCl	cloreto de sódio
NCCLS	“National Committee for Clinical Laboratory Standards”
NH <sub>2</sub>	amínico (grupo funcional)
NIT	nitrofurantoína
O <sub>2</sub>	oxigênio
O/129	fosfato de 2,4 diamino-6 diisopropil-pteridina
ODC	“Ornithine descarboxylase”
OMS	Organização Mundial da Saúde
PESAGRO-RIO	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro
PCR	Reação polimerásica em cadeia
pH	Potencial de hidrogênio iônico
ppm	Parte por milhão
R	resistente
RDC	Regulamento de Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RS	Rimler-Shotts
S	sensível
Sebrae	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SECPLAN	Secretaria de Estado de Planejamento
SPSS	“Statistical Package for Social Science”
SXT	sulfametoxazol+trimetoprim
TCBS	Tiosulfato Citrato Bile Sacarose

TET	tetraciclina
t/ha/ano	tonelada por hectare por ano
t	tonelada
TSA	“Tripticase de Soja Agar”
TSB	“Tripticase Soy Broth”
TSI	“Triplíce Sugar Iron”
U	unidade
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFF	Universidade Federal Fluminense
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
US\$	dólar
UV	ultra violeta
VP	“Vogers- Proskauer”
v/v	volume por volume
WHO	“World Health Organization”
XLD	Xilose Lisina Descarboxilase

## RESUMO

Em setenta amostras de tilápia (*Oreochromis niloticus*), originárias de pisciculturas dos municípios de Cachoeiras de Macacu e de Piraí, identificou-se espécies do gênero *Aeromonas*. A pesquisa em questão testou duas metodologias: na "I" com plaqueamento nos meios Ágar Aeromonas, Mac Conkey, Sangue e GSP suplementados com ampicilina, a incubação deu-se por 24 horas a 28°C; na "II" com plaqueamento nos meios Ágar GSP, Desoxicolato Citrato e TCBS suplementados com NaCl, incubação deu-se por 24 horas a 37°C. Procedeu-se a identificação do gênero *Aeromonas* e das espécies através de provas bioquímicas. As estirpes isoladas foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana com seguintes fármacos: ampicilina, oxacilina, tetraciclina, lincomicina, penicilina G, kanamicina, estreptomicina, rifampicina, gentamicina, eritromicina, nitrofurantoína, trimetropim, cloranfenicol, novobiocina, sulfametoxazol+trimetropim e amoxicilina. Detectou-se a presença de *Aeromonas* spp. em 68,1% das amostras ensaiadas, sendo as espécies identificadas como *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. caviae*, *A. trola*, *A. media* e *A. atípica*. Verificou-se a seguinte ordem decrescente do isolamento do gênero nos meios seletivos utilizados: *Aeromonas* com ampicilina (85,3%), GSP com ampicilina (70,0%), GSP com NaCl (69,0%), Mac Conkey com ampicilina (67,6%), Desoxicolato Citrato com NaCl (63,4%) e Sangue com ampicilina (58,0%). O meio TCBS não foi seletivo. Observou-se uma variação da seletividade dos meios de cultivo, devido à diversidade qualitativa e quantitativa das espécies isoladas em cada uma das pisciculturas. Essa diversidade também provocou comportamento variado quanto à resposta ao teste de sensibilidade antimicrobiana. Constatou-se diferença de resposta entre o gênero e as espécies isoladas, em relação aos fármacos trimetropim, ampicilina, lincomicina, kanamicina, eritromicina, novobiocina, penicilina G e sulfametoxazol +trimetropim; resposta semelhante quanto à resistência ao fármaco oxacilina; sensibilidade intermediária à amoxicilina e tetraciclina e, igualmente sensíveis à gentamicina, estreptomicina, rifampicina, cloranfenicol e nitrofurantoína. Os resultados permitiram concluir que o consumo desse pescado na forma *in natura* (cru), não é recomendado devido a ocorrência de espécies potencialmente patogênicas para o homem, assim como espécies possíveis produtoras de toxinas termoestáveis, tornando o pescado ensaiado potencial veiculador de doenças. Observou-se maior eficiência da "Metodologia I" no isolamento de *A. hydrophila* e, a "Metodologia II" de *A. veronii* bv *veronii*. Verificou-se maior seletividade do Ágar Aeromonas com ampicilina, dentre os utilizados, para o gênero *Aeromonas*, com sensibilidade para todas as espécies identificadas neste estudo. Com o Ágar Sangue com ampicilina percebeu-se maior sensibilidade para *A. hydrophila*, mas com baixa seletividade para o gênero. Com o Ágar Desoxicolato

Citrato com NaCl constatou-se maior sensibilidade para *A. veronii* bv *veronii*. Ocorreu variação quanto ao perfil antimicrobiano com a maioria dos fármacos testados, tanto em relação as pisciculturas quanto à área geográfica, e às espécies isoladas permitindo observar tendência à resposta de resistência.

Palavras-chave: tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*, *Aeromonas* spp., seletividade bacteriana, perfil antimicrobiano, saúde coletiva.

## ABSTRACT

Species from the genus *Aeromonas* were identified in seventy tilapia samples originated from the counties of Cachoeiras de Macacu e Piraí. The research in question tested two types of methodologies: the "I" with streaked on plates on the breeding-grounds Agar *Aeromonas*, MacConkey, Blood and GPS supplemented with ampicilin. The incubation happened 24 hours at a 28°C; the "II" was made with streaked on plates on the breeding-grounds Agar GSP, Desoxicolato Citrato and TCBS supplemented with NaCl. The incubation happened for 24 hours at 37°C. The identification of genus *Aeromonas* and its species was proceeded trough biochemical tests. The isolated stirpses were submitted to the antimicrobial sensitivity test with the following drugs: ampicilin, oxacillin, tetracycline, lincomycin, penicillin G, kanamycin, streptomycin, rifampin, gentamicin, erythromycin, nitrofurantoin, trimethoprim, chloramphenicol, novobiocin, sulfamethoxazole+ trimethoprim and amoxicillin. The presence of *Aeromonas* spp. was detected in 68,1% of the tested samples and the identified species were *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. media* e *A. atypical*. The decrescent order of genus isolation on the utilized breeding-grounds was: *Aeromonas* with ampicilin (85,3%), GPS with ampicilin (70,0%), GPS with NaCl (69,0%), MacConkey with ampicilin (67,6%), Desoxicolato Citrato with NaCl (63,4%) and Blood with ampicilin (58,0%). TCBS mean was not selective. There was variation on the selectivity of the cultivation means due the qualitative and quantitative diverseness of the isolated species in each of the fish farming. This diverseness also aggravated assorted behavior as a response to the antimicrobial sensitivity test. There were different responses between genus and species isolated in relation to the drugs trimethoprim, ampicilin, lincomycin, kanamycin, erythromycin, novobiocin, penicillin G and sulfamethoxazole+ trimethoprim; similar response as to the resistance to the drug oxacillin, Intermediate sensitivity to amoxicillin and tetracycline, and equally sensitive to gentamicin, streptomycin, rifampin, chloramphenicol and nitrofurantoin. The results allowed concluding that the consumption of the fishing *in natura* (raw) is not recommended thanks to the occurrence of species potentially pathogenic to man, just as species which are possible producers of heat-stable toxins, making the tested fishing a potential disease vehicular. There was greater efficiency on methodology "I" on the isolation of *A. hydrophila* and on Methodology "II" on *A. veronii* bv *veronii*. There was more selectivity of Agar *Aeromonas* with ampicilin, among the utilized, to the genus *Aeromonas*, with sensitivity to all the species identified in this research. Agar Blood with ampicilin showed the highest sensitivity to *A. hydrophila*, but low selectivity for

the genus. Agar Desoxicolato Citrato with NaCl showed great sensitivity to *A. veronii* by *veronii*. There was variation as to the antimicrobial profile with most of the tested drugs, either related to the fish farming or the geographical areas and the isolated species, allowing observing tendency to the resistance response.

Key words: tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Aeromonas* spp., selectivity, antimicrobial substances, public health.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial e os novos hábitos alimentares vêm exigindo do setor de alimentos inovações em tecnologias, variedade de produtos disponíveis ao mercado consumidor e a otimização do aproveitamento em toda a cadeia alimentar. Neste contexto, a ocorrência de contaminação microbiana, bem como a presença de substâncias tóxicas produzidas por microrganismos em produtos de origem animal, vem despertando a atenção dos profissionais de saúde coletiva em função do aumento de agentes etiológicos de doenças alimentares acarretando a diminuição de produtividade da população economicamente ativa e o aumento dos gastos públicos no tratamento e cura de tais enfermidades.

Como o consumidor, geralmente, seleciona os produtos alimentícios considerando o preço e os aspectos de qualidade que podem ser avaliados apenas sensorialmente como a aparência e o sabor, acaba por negligenciar qualidades de extrema importância para a saúde e bem estar humanos como: o valor nutritivo, e a ausência de substâncias tóxicas e contaminantes microbianos, que não podem ser avaliados sensorialmente.

Dentro deste contexto, há a necessidade da manutenção de um bom controle higiênico-sanitário na manipulação dos produtos alimentícios, para assegurar a preservação das qualidades nutricionais e sensoriais, bem como garantir a produção de alimentos higienicamente seguros com validade comercial suficiente para atender as demandas do mercado consumidor.

As políticas públicas de saúde em nível mundial indicam necessidade de mudanças nos hábitos alimentares para evitar as chamadas doenças crônicas não transmissíveis, recomendando uma dieta saudável optando por alimentos de origem animal com baixos níveis de colesterol, ricas em ácidos graxos poliinsaturados (que

reduzem o risco de doenças cardíacas), e alto valor protéico estimulando desta forma o consumo de carne de pescado, colocando este alimento como uma alternativa no cardápio diário da população.

Pela mesma motivação a população brasileira, também, vem preferindo as carnes brancas, mas apesar de reconhecidas as vantagens do pescado na alimentação, o Brasil ainda apresenta um consumo *per capita* deste tipo de carne abaixo das expectativas. Segundo Germano e Germano (2003), o universo de consumidores brasileiros de pescado dividia-se em dois pólos distintos - população de baixa renda, que habita regiões ribeirinhas e litorâneas e a de alta renda que tem no produto um alimento alternativo, categorizado como leve (“diet”, “soft” e “light”) que permite manter uma dieta rica em nutrientes e com baixos índices calóricos. Atualmente o mercado se encontra mais acessível à população, sendo comumente encontrado em lojas de “fast food”, que na década anterior serviam preferencialmente carnes vermelhas e hoje oferecem produtos à base de carne de pescado, como por exemplo os hambúrgueres de carne de tilápia

A Tilápia, cujo nome científico é *Oreochromis niloticus*, é uma espécie proveniente da África, e que foi introduzida em diversos países do mundo, e em quase todo território brasileiro (IGARASHI, 2005).

As tilápias, por serem pouco exigentes, apresentam uma grande capacidade de adaptação a diversos tipos de ambiente. São resistentes a doenças, suportam grandes variações de temperatura, reproduzem-se facilmente, sobrevivem em águas com baixos níveis de oxigênio dissolvido o que facilita o seu cultivo, além de apresentarem rápido crescimento e baixo custo de produção. Estas características, em princípio vantajosas, podem se tornar perigosas quanto ao aspecto higiênico-sanitário do produto, pois propiciam certa tranquilidade e conseqüente negligência no manejo de produção, permitindo a ocorrência de contaminações microbianas.

Algumas espécies se reproduzem à partir de três meses de idade, sendo que a desova pode ocorrer mais de quatro vezes por ano, além do nível de sobrevivência ser elevado devido a esta espécie ter instinto de proteção à prole (ESPAÑA, 2007; IGARASHI, 2005; MESCHKAT, 2007; WIKIPÉDIA, 2007).

O baixo valor de custo da produção da espécie, e seu elevado valor protéico torna o produto uma nova alternativa de interesse para indústrias de processamento em implantação, sendo necessários conhecimentos técnicos relacionados tanto à produção como ao processamento.

O sistema intensivo de criação de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) no Estado do Rio de Janeiro vem aumentando consideravelmente nos últimos anos. Este fato é devido à criação de três pólos de piscicultura no Estado que incentivou pequenos produtores rurais, que utilizam tanques e viveiros em represas para o cultivo. Como o pescado é um alimento altamente perecível, para garantir a sua qualidade são necessários vários cuidados especiais que devem ser observados e controlados em toda a sua manipulação, desde a despesca até a comercialização.

De acordo com o último levantamento estadual publicado (CIDE, 1999), no ano de 1998 a produção no Estado alcançou 335.000 kg e previa para o ano de 2001 um aumento de 50%. O consumo estadual suplantara a produção em aproximadamente 20%, sendo este percentual importado de outros estados. Contudo os maiores consumidores continuam sendo os estabelecimentos denominados “pesque-pagues”, que distribuídos pelo Estado do Rio de Janeiro, em 1998 somavam 60 unidades. Em 2005, a produção no Estado alcançou 749,0 toneladas, correspondendo ao 13º lugar na produção brasileira (BRASIL, 2005b).

Por todas as características descritas é possível concluir que a tilapicultura é uma atividade econômica significativa na produção de proteínas, na geração de empregos e na produção de divisas. Entretanto poucos estudos, em relação aos aspectos higiênico-sanitários e à conservação da tilápia pós-despesca são observados, sendo apenas os aspectos enfatizados aqueles relativos ao manejo no que concerne à produção, reprodução e nutrição.

Na piscicultura, diversos agentes patogênicos ocasionam perdas consideráveis na produção do pescado, dentre eles as bactérias do gênero *Aeromonas*. Alexandrino et al. (2000) relataram a ocorrência de aeromonose causada por *Aeromonas hydrophilla*, em lotes de alevinos de truta arco-íris causando alta letalidade (40%). Estes microrganismos estão presentes na microbiota da água e fazem parte da microbiota de organismos aquáticos. Além de provocar enfermidades em animais aquáticos, causando perdas econômicas consideráveis ao produtor, são patogênicas para o homem, sendo as *Aeromonas* spp. móveis causadoras de patologias classificadas tanto como de nível gastrointestinais quanto não intestinal (KO; CHUANG, 1995), sendo inclusive responsáveis por quadros de meningites, endocardites, artrites, osteomielites, infecções cutâneas, entre outros.

Existem vários relatos informando o isolamento de *Aeromonas hydrophilla* em

água e diferentes tipos de alimentos de origem animal, tendo sido associada com uma variedade de infecções (ALTWEGG; GEISS, 1989).

Recentemente a espécie tem sido indicada como patógeno emergente em infecções entéricas, sendo designada como agente potencial de risco à saúde coletiva (PALUMBO et al., 2001).

A presença de *Aeromonas* spp. em alimentos tem sido constantemente verificada e, tem como fonte de contaminação a água, que é o *habitat* natural de muitas espécies patogênicas.

O presente trabalho objetivou estabelecer a ocorrência em carne de Tilápia (*Oreochromis niloticus*), originárias de três pisciculturas do Estado do Rio de Janeiro, identificando grupos de risco no que concerne à saúde coletiva, diferenciando espécies, avaliando a sensibilidade e especificidade dos meios seletivos utilizados, bem como a resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Aeromonas*, isoladas e identificadas utilizando dois procedimentos analíticos bacteriológicos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 LEGISLAÇÃO

O artigo 438 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1952), estabelece que a denominação genérica "PESCADO" compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana.

O artigo 439 do mesmo regulamento preconiza que: "o pescado em natureza pode ser fresco, resfriado e congelado". De acordo com o parágrafo primeiro entende-se por pescado fresco aquele dado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação a não ser a manutenção temporária de temperatura amena (15° a 22°C) por ação do gelo. No parágrafo segundo, define pescado resfriado como aquele "devidamente acondicionado em gelo e mantido em temperatura entre - 0,5° C a -2° C (menos meio grau centígrado a menos dois graus centígrados)" e no parágrafo terceiro define pescado congelado como "tratado por processos adequados de congelação em temperatura não superior a - 25°C (menos vinte e cinco graus centígrados)".

Em relação aos padrões microbiológicos, a RDC nº 12 (BRASIL, 2001) estabelece para "pescado, ovas de peixes, crustáceos e moluscos cefalópodes *in natura*, resfriados ou congelados não consumido cru" limites para os microrganismos: Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp.

Não é referenciado nenhum padrão microbiológico para *Aeromonas* spp. em alimentos na legislação brasileira.

### 2.1.1 Importância na Alimentação e Hábitos de Consumo Humano

Conforme relatado por Hobbs (1997), as proteínas do pescado possuem todos os aminoácidos essenciais e tal como as proteínas do leite, ovos e carne de mamíferos tem valor biológico muito alto.

De acordo com Price; Schweigert (1994), as carnes possuem uma variedade de lipídios, importantes no metabolismo: ácidos graxos essenciais, colesterol e fosfolipídios. Porém para atender as recomendações de diminuição na ingestão de ácidos graxos saturados é indicado o consumo de carnes mais magras.

Agnase (2001), Germano et al. (1993), Germano; Germano (2003), Hobbs (1997) e Ogawa e Maia (1999) relataram que a carne de pescado e derivados são alimentos ricos em proteínas e lipídeos. As proteínas se apresentam com alto valor nutritivo e o balanceamento de aminoácidos e Ômega 3 é favorável, pois apresenta efeitos redutores sobre os teores de triglicerídios e colesterol sangüíneo, reduzindo com isto a incidência de doenças cardiovasculares.

Em relação aos micronutrientes, Germano e Germano (2003), afirmaram que o pescado possui uma quantidade significativa de fósforo em torno de 250 µg/100g de tecido. Peixes com altos teores de gordura (acima de 15%) apresentam níveis elevados de vitamina A e D na musculatura, nos demais peixes essas vitaminas são mais abundantes no fígado; a vitamina B1 está presente em quantidade significativa na musculatura, mas apenas em peixes frescos é possível aproveitá-la. Quanto ao teor de sódio informaram não apresentar diferença entre peixe do mar e de água doce.

Germano et al. (1993), Germano e Germano (2003), Hobbs (1997) e Ogawa e Maia (1999) descreveram que a carne de pescado apresenta como vantagem uma maior digestibilidade, devido à característica de possuir quantidade mínima de tecido conjuntivo, quando comparada com a carne bovina, porém possuem os tecidos mais frágeis facilitando a decomposição por enzimas e bactérias.

Conforme relatado por Huang et al. (1988), o músculo da tilápia consiste de 78% de umidade, 17% de proteína e 3% de gordura.

Fitzsimmons (2006) descreveu as características nutricionais da carne de tilápia, apresentadas nas tabelas 01, 02, 03, 04 e 05.

TABELA 1 – Composição Centesimal de Tilápia Crua

<b>Nutrientes</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor/100 g</b>
Calorias	kcal	96
	kJ	400
Água	g	78,08
Proteína	g	20,08
Lipídios totais	g	1,70
Cinzas	g	0,93
Carboidratos (Nifext)	g	0,00

Fonte: Fitzsimmons (2006)

TABELA 2 – Composição de Minerais da Tilápia Crua

<b>Nutrientes/ Mineral</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor/100 g</b>
Cálcio	mg	10
Ferro	mg	0,56
Magnésio	mg	27
Fósforo	mg	170
Potássio	mg	302
Sódio	mg	52
Zinco	mg	0,33
Cobre	mg	0,075
Manganês	mg	0,037
Selênio	mcg	41,8

Fonte: Fitzsimmons (2006)

TABELA 3 – Composição de Vitaminas da Tilápia Crua

<b>Nutrientes/ Vitaminas</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor/100 g</b>
Ácido ascórbico	mg	0,0
Tiamina	mg	0,041
Riboflavina	mg	0,063
Niacina	mg	3,903
Ácido pantotênico	mg	0,487
Vitamina B6	mg	0,162
Folato	mcg	24
Ácido fólico	mcg	0,0
Vitamina B 12	mcg	1,58
Vitamina E	mg	0,40
Vitamina K	mcg	1,4

Fonte: Fitzsimmons (2006)

TABELA 4 – Perfil lipídico da Tilápia Crua

<b>Ácidos graxos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor/100 g</b>
Gorduras saturadas, total	g	0,571
Saturados		
14:0	g	0,052
16:0	g	0,414
18:0	g	0,104
Monoinsaturados, total	g	0,486
16:1	g	0,097
18:1	g	0,370
20:1	g	0,020
Poliinsaturados, total	g	0,387
18:2	g	0,154
18:3	g	0,032
18:4	g	0,002
20:2	g	0,002
20:3	g	0,010
20:4	g	0,022
20:5	g	0,005
22:5	g	0,042
22:6	g	0,084
Colesterol	mg	50

Fonte: Fitzsimmons (2006)

TABELA 5 – Perfil de aminoácidos da Tilápia Crua

<b>Áminoácido</b>	<b>Unidade</b>	<b>Valor/100 g</b>
Triptofano	g	0,210
Treonina	g	0,950
Isoleucina	g	0,930
Leucina	g	1,603
Lisina	g	1,810
Metionina	g	0,593
Cistina	g	0,220
Fenilalanina	g	0,810
Tirosina	g	0,680
Valina	g	0,970
Arginina	g	1,277
Histidina	g	0,470
Alanina	g	1,220
Ácido aspártico	g	2,297
Ácido glutâmico	g	3,213
Glicina	g	1,043
Prolina	g	0,757
Serina	g	0,813

Fonte: Fitzsimmons (2006)

### 2.1.2 Microbiota do Pescado

Santos (1981) verificou a microbiota do pescado de água doce em diferentes países e, relatou que em peixes provenientes de águas frias há uma predominância de espécies bacterianas Gram negativas sobre as Gram positivas, e que nos peixes capturados em regiões tropicais há um equilíbrio de espécies bacterianas. Ressaltou que a microbiota predominante em peixes de água doce é composta por: *Aeromonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp. e bactérias coliformes.

O autor acima citado, ainda elucidou que determinados microrganismos, como os proteolíticos, têm a capacidade de se adaptar às temperaturas de refrigeração, apesar de apresentarem uma temperatura ótima de desenvolvimento entre 20°C e 37° C.

Norval; Nicholson (1992) afirmaram que há perda da qualidade inicial do pescado devido a trocas autolíticas, enquanto a degradação é devida à ação bacteriana.

Yano et al. (1993) confirmaram que o frio não é um agente de esterilização de microrganismos, pois quando por qualquer motivo, o produto resfriado ou congelado tem sua temperatura aumentada. No ensaio realizado pelos autores, verificaram que os microrganismos inoculados e que estavam em estado de latência, se desenvolveram mais rapidamente à medida que o produto se aproximou da temperatura ótima de crescimento do inóculo.

Leitão et al. (1993) descreveram que o pescado tem naturalmente a microbiota própria da espécie, que está associada às condições de equilíbrio ecológico do ambiente onde se cria e/ou de onde é capturado. Essa microbiota pode trazer conseqüências durante a comercialização e/ou transformação do produto para consumo. Ressaltaram os autores que a intensidade da ação dos microrganismos é também conseqüência das condições em que é mantido o produto, desde a sua captura até o início da comercialização, ou seja, a integridade do pescado se não mantida, provoca lesões na superfície e espalhamento do conteúdo das vísceras. Foi explanado que estas condições levam a perdas econômicas, uma vez que o aspecto do produto fica prejudicado, além do que, a disseminação de microrganismos pode acelerar o processo de deterioração do

produto.

Colwell (1996) afirmou que para o controle das enfermidades é necessário não só conhecer a virulência do agente etiológico, como também seu modo de transmissão e a epidemiologia da enfermidade. Relatou que o despejo de dejetos no ambiente aquático pode ter efeitos nocivos para a saúde coletiva, citando como exemplo, as infecções em trabalhadores em contato com águas contaminadas por microrganismos potencialmente patogênicos para o ser humano, as quais são frequentemente adquiridas devido a traumatismos ocorridos em ambientes aquáticos contaminados, pelo consumo de água oriunda de fonte de abastecimento contaminada e pelo contato e/ou consumo de pescado proveniente de água doce contaminada.

Em estudos de Álvarez; Agurto (2000) objetivando identificar a microbiota de tilápias silvestres cultivadas na região central da Venezuela, no período de 1999 a 2000, foi verificada a predominância dos gêneros *Aeromonas*, *Plesiomonas* e membros da família *Enterobacteriaceae*, com menores proporções de *Pseudomonas* spp. e *Vibrio* spp. Dentre as espécies de *Aeromonas*, foram identificadas a *Aeromonas* sp., *A. caviae*, *A. hydrophila anaerogenes*, *A. hydrophila hydrophila*, *A. schubertii*, *A. sobria* e *A. veronii*. A *Pseudomonas fluorescens* foi isolada apenas em animais de cultivo, enquanto que o *Vibrio cholerae* foi identificado unicamente em animais provenientes do Lago de Valencia.

### **2.1.3 Riscos a Saúde do Consumidor**

Pacheco; Carvalho (1990) analisaram a microbiota de tilápia (*Oreochromis niloticus*) detectando presença de bactérias dos gêneros *Corynebacterium* (22,82%), *Bacillus* (36,15%), *Aerococcus* (2,05%), *Staphylococcus* (0,51%), *Listeria* (3,33%), *Pseudomonas* (17,69%), *Achromobacter* (7,47%) e *Acinetobacter* (1,54%), também observaram que ao final do armazenamento prolongado acontecia aumento da microbiota Gram negativa com decréscimo da microbiota Gram positiva.

Germano et al. (1993) citaram que devido as constantes agressões aos ambientes aquáticos e as práticas inadequadas de manipulação, o pescado pode veicular vários microrganismos patogênicos ao consumidor. Enfatizaram que apesar dos poucos relatos sobre enfermidades de origem alimentar no Brasil, publicações

científicas relatando casos de intoxicações veiculadas por pescados são freqüentes.

Conforme relatado por Evangelista (1999), a temperatura de armazenamento associada à presença de bactérias psicrófilas e mesófilas com atividade proteolíticas, são condições que aceleram a deterioração de peixes, ressaltando que a contaminação e deterioração ocorre mais facilmente no peixe do que nos animais de abate, devido à sua composição química específica e estrutura mais frágil, que apresenta menor quantidade de tecido conjuntivo e elevado conteúdo em água.

Para o homem, as *Aeromonas* spp. móveis determinam patogenias classificadas como de nível não intestinal e gastrentéricas (KO; CHUANG, 1995).

Foram atribuídos às *Aeromonas* spp. quadros como osteomielites (LOPES et al., 1968), peritonite, infecções cutâneas (JOSEPH et al., 1979), meningite (ELLISON; MOSTOW, 1986), artrite, endocardite (DAVIS et al., 1987) e oculares (LEE et al., 1997). Estas bactérias são responsabilizadas por quadros que vão de diarréias amenas a casos graves de disenteria (KO; CHUANG, 1995).

Estirpes de *A. hydrophila* e *A. caviae* produtoras de enterotoxinas foram identificadas em material proveniente das mãos de manipuladores, antes do início das atividades, bem como da carne pronta para o consumo em indústria de alto nível higiênico-sanitário (ROSSI Jr. et al., 2001).

A veiculação de espécies de *Aeromonas* capazes de produzir grande variedade de exoenzimas envolvidas em processos infecciosos foi citada em CDC (1990) e constatada por Santos e Lima (2006).

#### **2.1.4 Manipulação do Pescado**

O pescado é altamente perecível e como tal exige cuidados especiais na sua manipulação e preparo. Segundo Germano; Germano (2003), a matéria prima *in natura* deve ser imediatamente armazenada em temperatura de -15° C ou inferiores para conservação prolongada, e entre -5° e 0° C para conservá-la por no máximo 72 horas.

O RIISPOA (BRASIL, 1952), no seu Art. 28, classifica os estabelecimentos destinados ao pescado e seus derivados em: “Entrepósitos de pescado” e “Fábricas de conservas de pescado”. O parágrafo primeiro do mesmo artigo define:

“entrepasto de pescado como o estabelecimento dotado de dependências e instalações adequadas ao recebimento, manipulação, frigorificação, distribuição e comércio de pescado, podendo ter anexa dependência para industrialização e nesse caso, satisfazendo as exigências fixadas para as fábricas de conservas de pescado, dispendo de equipamentos para aproveitamento integral de subprodutos não comestíveis”.

Neves Filho (1991) afirmou que mesmo o produto embalado e congelado sofre desidratação com a migração do vapor de água da superfície do interior da embalagem para a atmosfera, e como consequência apresentaria uma alteração da aparência indesejável, além de incrementar as reações oxidativas na superfície do produto. Concluindo que o emprego de embalagens apropriadas e um bom sistema de refrigeração são imprescindíveis para reduzir perdas.

## 2.2 TILÁPIA

### 2.2.1 Taxonomia e Definição

Taxonomicamente as tilápias são classificadas como pertencentes ao Reino Metazoa (Animalia), Filo: Chordata, SubFilo: Vertebrata, InfraFilo: Gnathostomata, Classe: Osteichthyes, Ordem: Perciforme, Família: *Cichlidae*, Gênero: *Oreochromis*, *Tilapia*. Espécies: *Oreochromis nilotica*, *Oreochromis mossambica*, *Tilapia rendalli* (= *Tilapia melanopleura*), *Oreochromis aurea*, *Oreochromis urolepis*, e outras sem interesse aquícola (ESPAÑA, 2007; WIKIPÉDIA, 2007).

Pesquisadores da área sugerem o agrupamento desse espécime em três gêneros: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilapia*; considerando suas diferenças nos hábitos alimentares e reprodutivos, características eletroforéticas e anatômicas (ESPAÑA, 2007; CARVALHO, 2005; ZANIBONI, 2004).

Com o nome popular de “tilápia”, estão agrupadas mais de 100 espécies diferentes. São peixes de escamas, com corpo um pouco alto e comprimido, que suportam uma ampla variação na concentração de sal na água, embora não tolerem mudanças bruscas de salinidade, sendo capazes de viver em meios doces e salobros (ESPAÑA, 2007).

As espécies de tilápia possuem pouco valor comercial, devido à grande

quantidade de espinhas, característica pouco atrativa quando comercializadas inteiras. Porém como nutricionalmente possui alto valor protéico, e quando processadas produzem filés sem espinhas, são recomendados na dieta de crianças e de pessoas de qualquer idade, incluindo pacientes convalescentes (GERMANO et al., 1993).

Segundo Gherardi et al. (1997), a tilápia é viável economicamente para produção de alimentos protéicos estáveis e de fácil conservação. Os autores relatam que a carne da tilápia conquista paladares exigentes e sofisticados, possuindo sabor leve, semelhante às carnes dos peixes marítimos de pedra, tipo linguado.

Meurer et al. (2002) descreveram que este peixe aceita alimentação na forma de rações com grande facilidade desde o período larval.

As características peculiares de cor branca, textura e consistência da carne, fazem com que este pescado de água doce seja aceito pelos especialistas em “sashimi” (FITZSIMMONS, 2006; GUERRA et al. 2002; JOSUPEIT, 2005).

As tilápias são consideradas um dos peixes com maior potencial para a piscicultura devido aos seguintes fatos: se alimentam dos itens básicos da cadeia trófica; aceitam uma grande variedade de alimentos; respondem com a mesma eficiência a ingestão de proteínas de origem vegetal e animal; apresentam resposta positiva à fertilização (adubação) dos viveiros; são bastante resistentes às doenças, suportam superpovoamentos e baixos teores de oxigênio dissolvido, e desovam durante todo o ano nas regiões mais quentes do país. Estas características apresentadas pela várias espécies de tilápia são fatores atrativos para o investimento de seu cultivo, pois se obtém um rápido crescimento com baixo custo de produção (BRASIL, 2007b).

Além dessas características de cultivo, possuem boas características sensoriais e nutricionais, apresentando carne saborosa, baixo teor de gordura (0,9 g/100g de carne) e de calorias (172 kcal/100g de carne), além da ausência de espinhas em forma de “Y” (mioceptos), tornando sua produção economicamente atrativa (BRASIL, 2007b).

## 2.2.2 Histórico

O nome TILÁPIA foi empregado pela primeira vez por Smith em 1840, e é um vocábulo africano que significa “PEIXE”, derivado da palavra “THLAPI” ou “NGEGE” do idioma “SWAHILI” usado pela população indígena que habita a Costa do Lago Ngami na África. Os japoneses a chamam de TELEPIA, e em muitos países tem sido chamada de PERCA, NILE PERCH, BREAM. Comercialmente são utilizados os nomes “Saint Peter Fish” ou “Saint Pierre Fish” com referência ao apóstolo pescador, que a capturava em redes no Mar da Galiléia (*Sarotherodon galileus*). Fósseis de peixes do grupo tilápia foram encontrados com aproximadamente 18 milhões de anos. Exemplar de *Oreochromis niloticus* foi observado no Egito há 5000 anos sendo freqüentemente referenciada em escritos egípcios, onde era considerada sagrada e símbolo de esperança da reencarnação. A tumba de “AKTIHETEP”, construída há 2500 anos a.C., mostra a pesca da tilápia com redes no Rio Nilo. Referências bíblicas relataram no início do primeiro milênio antes de Cristo, a ocorrência de tanques de peixe, onde a Tilápia era o maior volume pesqueiro no Egito (NOGUEIRA, 2002).

A tilápia, uma das primeiras espécies de peixe que o homem reproduziu em cativeiro, foi introduzida no ocidente e se transformou numa importante fonte alimentar. Atualmente é o peixe mais cultivado em todo o mundo, além da carpa (ZANIBONI, 2004).

Conforme relatado por Igarashi (2005), a tilápia, nativa do continente africano e da Ásia menor, foi originária do Rio Nilo e, teve o início do seu cultivo no Quênia em 1924 e em seguida no Congo em 1937. Descreveram que uma população de linhagem pura de Tilápia-do-Nilo, oriundas do Egito foi ofertada ao Imperador Hiroito do Japão, na década de 40, o qual manteve um Banco Genético em viveiros do Palácio de Chitral, em Bangkok, produzindo alevinos e distribuindo por todo país. Citaram os autores que na década de 60, quando praticamente não havia mais populações puras de Tilápia-do-Nilo, o Imperador japonês doou à Tailândia uma população de linhagem pura, passando a partir de então a ser denominada Chitralada ou Tailandesa.

Zimmermann (2004) citou que os primeiros registros sobre a tilápia na América Latina datam do final da década de 40 e início da década de 50. O autor

considerou como mais provável a introdução da tilápia a partir do Panamá e Costa Rica oriundas da Ásia, após a II Guerra Mundial. Relatou que no início da década de 50, as primeiras espécies de tilápias provavelmente mossambica, rendali e zilli, foram introduzidas no Brasil, Jamaica, República Dominicana, Trinidad e Tobago, Ilhas Virgens e Guiana, sendo introduzida Porto Rico, El Salvador, Colômbia, Venezuela, Equador, Guatemala e Honduras, somente no final dos anos 50 e, no México, Cuba e Peru na década de 60. Na década de 70 foi introduzida no Uruguai, Argentina e Bolívia.

Segundo as citações em Brasil, (2007a) sobre a tilapicultura como um dos melhores negócios para piscicultores, as primeiras informações sobre a tilápia como espécie promissora para a aquicultura ocidental, surgiram no início da década de 50, enaltecida como uma nova fonte para obtenção de proteínas.

Em Espanha, (2007), foram encontradas informações de que a aquicultura moderna começou a exploração da tilápia nos anos 40, e desde então seu cultivo foi estendido por todo o mundo, em especial em zonas tropicais e subtropicais, inclusive sendo observado, também, o seu cultivo em condições ambientais de climas temperados, ainda que a Ásia seja a principal produtora com mais de 80% do total mundial. Foi enfatizada a grande dispersão geográfica, e justificada devido à sua capacidade de adaptação e também à criação intensiva em sistemas com condições controladas.

Conforme informado por Meschkat (1975), a tilápia foi introduzida no Brasil em 1954, logo após a sua produção ter passado do sistema extrativista para o sistema de cultivo em seu continente natal, mas sem que estivessem disponíveis maiores experiências sobre o seu cultivo.

Igarashi (2005) e Zaniboni (2004) ressaltaram que a introdução da tilápia no Brasil, pela Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, foi destinada ao repovoamento de represas, com a finalidade de combater a proliferação de algas e macrófitas aquáticas, mas a espécie escolhida, *Tilápia rendalli*, de crescimento lento não era indicada para criação comercial. Descreveram que foi então, que em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra Seca (DNOCS) introduziu a espécie *Oreochromis niloticus* com características recomendáveis para a piscicultura.

Segundo Brasil (2005a), no Brasil foram introduzidas três espécies *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) que pode alcançar 5 kg; *Tilapia rendali* (tilápia rendali) com cerca de 1 kg; *Sarotherodon hornorum* (tilápia Zanzibar) de coloração

escura e maxilares protráteis, mas atualmente vem sendo cultivada uma variedade que foi desenvolvida em Israel, a "*Saint-Peters*".

Arruda, (2004) e Hilsdorf (2007) descreveram que a tilápia é um peixe encontrado atualmente em quase todo o país, tanto em cultivos comerciais como em reservatórios e açudes. Informaram que entre as diversas espécies de tilápia utilizadas na piscicultura, a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tem sido a mais cultivada em 22 estados da Federação, tornando-se a espécie mais popular no Brasil.

Segundo Makrakis et al. (2000), no estado do Paraná o cultivo de tilápia se expandiu rapidamente. Relataram os autores que uma das tilápias mais procuradas no Brasil para cultivo é a Chitralada, conhecida principalmente como Tailandesa.

Arruda (2004) descreveu que a tilápia foi uma das primeiras espécies oriundas da aqüicultura a ser beneficiada, sendo comercializada na forma de filés congelados, com rendimento de cerca de 30%. Ressaltou que o resíduo do beneficiamento da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) pode ser aproveitado na obtenção de silagem e óleo, como subprodutos.

Igarashi (2005), informou que a linhagem Tailandesa foi introduzida no Brasil em 1996, a partir de alevinos doados pelo *Asian Institute of Technology* (AIT), e que vem sofrendo processo de melhoramento genético em nosso país.

Atualmente a área de distribuição geográfica da tilápia se estende pelas latitudes tropicais e temperadas, devido às contínuas introduções que têm sido efetuadas por todo o mundo (ESPAÑA, 2007).

### **2.2.3 Condições do Cultivo de Tilápia**

Pereira et al. (2000), descreveram que os fatores que influenciam na produtividade do ambiente aquático são os aspectos físicos, tais como a temperatura, turbidez e transparência; os aspectos químicos, como pH, alcalinidade, dureza e oxigênio dissolvido e os aspectos biológicos, da fotossíntese, respiração e decomposição.

Segundo Pádua (2006) além da análise de vários fatores físicos nas investigações hidrológicas ou químicas em uma massa d'água qualquer, é indispensável à avaliação da temperatura, que certamente é um dos fatores de

maior importância, pois influencia no cálculo da determinação de algumas variáveis, como pressão atmosférica e a umidade relativa do ar, que por sua vez, interferem na alcalinidade, na salinidade, no pH, nos valores de saturação de oxigênio dissolvido e na toxicidade de elementos ou substâncias.

### 2.2.3.1 Aspectos Físicos

Conforme relatado por Pádua (2006), a temperatura é uma medida de intensidade de calor ou energia térmica em trânsito, pois indica o grau de agitação das moléculas. O autor informou que a medida que a temperatura aumenta, de 0° a 30° C, a viscosidade, a tensão superficial, a compressibilidade, o calor específico, a constante de ionização e o calor latente de vaporização diminuem, enquanto que a condutividade térmica e a pressão de vapor aumentam a solubilidade com a elevação da temperatura. Enfatizou que o calor tem um efeito direto sobre a cinética das reações químicas, nas estruturas protéicas e funções enzimáticas dos organismos, portanto as atividades biológicas dos organismos aquáticos sofrem constantes alterações decorridas das freqüentes modificações comportamentais do meio.

O autor acima citado ressaltou que a elevação da temperatura obriga os organismos aquáticos a um consumo maior de oxigênio, já reduzido em sua concentração na água, pelo próprio processo físico, além do que os gases na água ou a solubilidade dos gases é inversamente proporcional à temperatura, de modo que, quanto maior a temperatura de um líquido, menor a possibilidade desse líquido reter os gases, citou ainda que a pressão atmosférica e a altitude interferem na concentração de gases nos líquidos.

Huang et al. (1988) descreveram que as tilápias são peixes predominantemente de águas quentes, e que a água de cultivo deve possuir temperatura de 14° à 37° C.

Segundo Igarashi (2005), as tilápias podem tolerar temperaturas de aproximadamente 12°C.

Conforme relatado por Zimmermann (2005), a temperatura da água do cultivo pode variar de 20 a 30°C, embora as tilápias possam tolerar temperaturas de aproximadamente 12°C.

Segundo Pádua (2006) a faixa ideal para criação é de 29 à 31°C.

España, (2007), Igarashi (2005) e Tovar (2007) relataram que a temperatura da água da tilapicultura pode variar de 20 a 30°C.

España, (2007) e Pádua (2006), indicaram como temperaturas letais para as tilápias, a faixa de 10° a 11°C, salientaram que entre 16° a 17°C, as tilápias param de se alimentar, ficando mais suscetíveis às doenças, o que também ocorre em altas temperaturas como 36° a 40°C, que induzem às doenças e mortandades.

España, (2007) descreveram que a intolerância da tilápia do Nilo a baixas temperaturas é um sério inconveniente para o cultivo em regiões frias, mesmo em períodos pouco prolongados, pois a temperatura de 15° C pode provocar a morte dos peixes, e a 8° C a morte é imediata.

#### 2.2.3.2 Aspectos Químicos

Segundo informações España, (2007) a faixa de pH em torno de 6,0 e 9,0 é a ideal para o cultivo de tilápia, e que as variações do pH médio devem ser controladas, entretanto valores superiores ou inferiores a essa margem podem ocasionar mudanças no comportamento dos peixes, como letargia e inapetência, ocasionando alterações indesejáveis nas taxas de crescimento, reprodução e sobrevivência. Foi ressaltado que valores de pH próximos de 5,0 provocam a morte por falha respiratória em um período de três a cinco horas, além de causar perda de pigmentação e provocar aumento de muco.

Tovar (2007) citou que os valores do pH da água que se recomenda em uma tilapicultura, não se referem tanto a seu efeito direto sobre o pescado, mas ao favorecimento da produtividade natural das piscinas de cultivo. O autor descreveu que a faixa conveniente do pH da água para piscicultura oscila entre 7,0 e 8,0. Enfatizou que quanto mais estável permanecer o pH, melhores condições se apresentam para a produtividade natural, que constitui uma fonte de alimento para a tilápia quando o cultivo se desenvolve em piscinas.

Para Meschkat (1975), a capacidade de resistência e a boa tolerância à baixa concentração de oxigênio, apresentadas pela tilápia, justificam sua fácil propagação em águas paradas.

Tovar (2007) relatou que esses peixes são capazes de sobreviver em águas com concentração de oxigênio dissolvido menor que 0,3 mg/L, que é uma concentração consideravelmente mais baixa do que a exigida pela maioria das espécies de cultivo. Este fato, ressaltou o autor, se justifica pela capacidade do sangue das tilápias se saturarem de oxigênio quando a pressão parcial é baixa e, a de reduzir o consumo quando as condições são adversas. O autor ainda afirmou que, quando esta concentração atinge valores inferiores a 0,3 mg/L, o metabolismo das tilápias se torna anaeróbico.

Em Espanha (2007) foram relatados como consequências derivadas da baixa concentração de oxigênio na água de cultivo de tilápia, o aumento da quantidade de alimento a ser consumido para um adequado ganho de peso, a inapetência, a letargia, a ocorrência de enfermidades respiratórias, a imunodepressão, o aumento da susceptibilidade às enfermidades e a redução na capacidade reprodutiva.

Os fatores que causam a redução da quantidade de oxigênio dissolvido, ainda segundo Espanha (2007), são: a velocidade de degradação da matéria orgânica; os excedentes alimentícios; a presença de fezes; o incremento da taxa metabólica devido ao aumento da temperatura (oscilações noite-dia), o que também reduz a solubilidade do oxigênio na água; a desgaseificação do oxigênio da água para a atmosfera; a densidade do cultivo e a redução da agitação da água que ocasiona a diminuição da superfície de troca.

Segundo Espanha (2007) e Tovar (2007) a faixa ideal de dureza da água para cultivo de tilápia é de 20 a 350 mg/L de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), sendo 75 mg/L a concentração ótima de  $\text{CaCO}_3$ , com valores de alcalinidade oscilando entre 100 a 200 ppm.

Em Espanha (2007) foi ressaltado que, alcalinidades superiores a 175 mg/L de  $\text{CaCO}_3$  são prejudiciais ao cultivo devido a ocorrência de formações calcáreas que podem danificar as brânquias dos peixes.

### 2.2.3.3 Aspectos Biológicos

Segundo Espanha (2007), a escala de transparência da água de cultivo para tilápia deve estar entre de 25 a 45 cm de profundidade, na escala de Turbidez de Secchi. Foi ressaltado que a presença de sólidos em suspensão nas águas favorece

a dispersão da luz, prejudicando sua penetração nos tanques de cultivo, evitando que uma luz excessiva cause queimaduras no dorso das tilápias.

Tovar (2007) descreveu que ao impedir a livre penetração dos raios solares, a turbidez limita a produtividade natural no tanque, o que por sua vez diminui a disponibilidade de alimento para as tilápias, justificando a recomendação de evitar que água dos tanques seja turva propiciando o desenvolvimento inadequado do fitoplancton.

España (2007) e Tovar (2007), citaram que o excesso da matéria coloidal em suspensão pode danificar as brânquias dos peixes, provocando lesões e infecções. Informaram que no caso em que as águas são demasiadamente turvas (mais que 100 ppm) é recomendada a sedimentação prévia, por meios físicos ou químicos, antes da introdução dos espécimes.

Em España (2007), foram enfatizados outros parâmetros químicos que devem ser considerados no momento de iniciar uma piscicultura, como por exemplo, a presença de nitritos e sais de nitrogênio que são altamente tóxicos e inibem o transporte de oxigênio pela hemoglobina. No entanto, ressaltam que a Tilápia do Nilo apresenta uma maior tolerância aos nitritos presente na água, do que outras espécies de cultivo. Embora, em condições de alta concentração de oxigênio dissolvido (6 mg/L) e baixa concentração de cloro (22 mg/L), a DL50 para nitritos (dose letal para 50% dos animais) é de 89 mg/L. Foi ressaltado que de forma geral, é recomendado que a concentração de nitritos nas águas de cultivo, deveriam se manter abaixo 27 mg/L, tendo como medida de segurança para prevenir a possível toxicidade dos nitritos em instalações com recirculação, a manutenção da concentração de cloro na faixa de 100 a 150 mg/L. O mesmo documento ainda citou que o amoníaco em determinadas concentrações é tóxico para os peixes, embora seja um composto excretado pelos peixes.

Igarash (2005) descreveu que quando a água é ácida (pH menor que 7,0) a molécula de amoníaco se dissocia, originando um íon amônio e um íon hidroxila. Se a água é alcalina (pH maior que 7,0) os íons amônio e hidroxila se associam formando moléculas de amoníaco. Relatou que diversos estudos sobre tolerância ao amoníaco revelaram que concentrações na faixa de 0,01 a 0,02 mg/L provocam estresse, enquanto que em concentração de 0,1 mg/L são observados efeitos nocivos sobre mucosas e brânquias e, em concentração de 0,5 mg/L provoca a morte dos peixes. Com esse argumento o autor indicou que a faixa de amoníaco

deve ser mantida entre 0,02 a 0,1 mg/L (valores próximos a 2 mg/L são críticos), pois uma concentração alta de amônia na água provoca uma série de conseqüências negativas para a espécie: bloqueia o metabolismo, produz lesões em brânquias e órgãos internos, altera o balanço de sais, provoca imunossupressão e aumenta a vulnerabilidade às doenças, reduz a taxa de crescimento e sobrevivência e, aumenta o risco de exoftalmia e ascite.

Em Espanã (2007) foi citado que os fosfatos são liberados na água oriundos da atividade biológica dos peixes, e sua concentração também pode aumentar devido à superalimentação. Foi indicada faixa de tolerância da tilápia aos fosfatos oscilando entre 0,6 e 1,5 ppm.

A presença de cloretos e sulfatos nas águas de cultivo se deve à atividade metabólica dos peixes e, suas concentrações máximas toleradas são respectivamente, 10 ppm e 18 ppm. Em geral as tilápias suportam bem a presença de sal na água. A tilápia do Nilo, no entanto é a menos tolerante de todas as espécies de interesse comercial, se desenvolvendo bem em valores de salinidade de até 15 ppm (ESPAÑA, 2007).

Segundo Tovar (2007), o dióxido de carbono é um produto fundamentalmente fotossintético ou respiratório cujos níveis devem ser mantidos abaixo de 20 ppm para evitar letargia e inapetência dos peixes.

Os gases tóxicos como o ácido sulfídrico, cianídrico e gás metano são originados da degradação da matéria orgânica, e podem ocasionar mortandade maciça se chegarem a altas concentrações, que não devem ultrapassar de 10 ppm para os dois primeiros gases e 25 ppm para o último (ESPAÑA, 2007).

Segundo Tovar (2007), a altitude, é um fator limitante de distribuição geográfica da tilápia, mas não se relaciona à pressão barométrica, mas fundamentalmente com a temperatura ambiente. A temperatura de 20°C limita a sua distribuição.

#### **2.2.4 Reprodução da Tilápia**

As tilápias de importância comercial estão divididas em três principais grupos taxonômicos, distinguidos basicamente pelo comportamento reprodutivo. São eles o gênero *Tilapia* (os peixes incubam seus ovos em substratos), *Oreochromis*

(incubam os ovos na boca da fêmea) e *Sarotherodon* (incubam os ovos na boca do macho ou de ambos) (IGARASHI, 2006).

Conforme relatado por Zanibone (2004), as tilápias atingem a maturação gonadal entre quatro e cinco meses de idade, a partir daí a desova pode acontecer a cada dois meses durante todo o período reprodutivo. O autor cita que a melhor época de desova ocorre nos meses quentes, já que a temperatura da água permanece mais elevada, superior a 24°C. Os machos limpam uma determinada área para construir o ninho, escavando buracos circulares com 70 a 90 centímetros de diâmetro no fundo do viveiro, para a defesa do seu território em relação aos outros machos.

Conforme relatado por Igarashi (2006), quando a reprodução começa, o macho faz um ninho redondo no fundo do viveiro movendo a sua cauda para a frente e para trás, atrai uma fêmea para colocar ovos no ninho, os quais fertiliza. A fêmea recolhe os ovos e os mantém em sua boca para protegê-los.

Segundo Igarashi (2005), nas espécies que protegem sua cria com a boca, os ovos que são guardados na boca onde ocorre a incubação oral, contribuindo para que os ovos fiquem altamente oxigenados e prevenindo a contaminação por bactérias. Assim, os ovos são mantidos aerados e livres de bactérias e fungos, fazendo com que a água esorra sobre os ovos em sua boca e saia abaixo das guelras que cobre constantemente.

Em Wikipédia (2007) foi descrito que o acasalamento ocorre em uma área limpa na superfície, em água rasa, onde a quantidade de oxigênio é abundante, local onde os machos atraem as fêmeas receptivas mediante exhibições de cortejo e, após o acasalamento a fêmea libera os ovos que são prontamente fecundados pelo macho. Logo em seguida, a fêmea recolhe os ovos mantendo-os na boca que irá protegê-los mantendo-os a salvo de predadores durante toda a incubação.

Os ovos permanecem no interior da boca da fêmea por um prazo que depende da temperatura e se aproxima de cinco dias enquanto absorvem o saco vitelino. A eclosão ocorre no sétimo ou oitavo dia após a fecundação. A proteção das larvas permanece durante o primeiro mês. Nesse período, as larvas podem fazer algumas saídas periódicas da boca da fêmea. Gradualmente os alevinos começam a nadar livremente dentro da cavidade bucal da mãe, saindo para se alimentar no exterior, mas retornando ao menor sinal de perigo. Quando o tamanho dos alevinos começa a dificultar sua permanência na cavidade bucal da mãe, se

inicia a independência, nadando livremente com tendência a se manterem em águas quentes e protegidas como fundo dos rios (ESPAÑA, 2007).

Algumas espécies se reproduzem a partir dos seis meses de idade, sendo que a desova pode ocorrer mais de quatro vezes por ano. Como protegem a prole, o índice de sobrevivência é bastante elevado (BRASIL, 2007b).

Em condições ótimas de crescimento sob cultivo, a Tilápia do Nilo pode alcançar a maturidade sexual aos cinco ou seis meses (150 - 200 gramas). Quando o crescimento é lento, a maturidade sexual é atrasada por um ou dois meses (ESPAÑA, 2007).

O número de ovos liberado em cada desova varia de acordo com o tamanho e a idade da fêmea, oscilando entre 800 e 2000 óvulos (BALARIN; HATTON<sup>1</sup>, 1979 apud ZANIBONE, 2004).

Segundo Igarashi (2006), O número de ovos pode variar de acordo com as espécies e tamanho das fêmeas. Uma tilápia fêmea pode reproduzir três ou quatro vezes por ano. Uma fêmea pode desovar de 1.500 a 5.000 ovos.

As ovogêneses seguintes são estimuladas uma vez que a prole anterior está liberada, de modo que, depois de um período de recuperação, a fêmea será capaz de efetuar outra postura em prazo inferior a quatro meses (ESPAÑA, 2007).

A perda de peso da fêmea na desova varia com o tamanho do peixe, uma fêmea medindo 11 centímetros de comprimento total perde o equivalente a 21% do peso corpóreo em uma única desova, enquanto que outra medindo 20 centímetros perde apenas 3,9% (GUERRA et al. 2002)

Na grande maioria das tilapiculturas brasileiras, é freqüente constatar o início da reprodução nos viveiros, de três a quatro meses após a estocagem dos alevinos, embora a maturidade sexual das tilápias seja função da idade e do tamanho (IGARASHI, 2006).

A reprodução prematura, em animais de 30 a 40 gramas, pode conduzir a ocorrência da indesejada superpopulação dos viveiros. (ZIMMERMANN, 1999).

Pádua (2006), afirma que em temperaturas próximas de 20°C ocorre a inibição da reprodução.

---

<sup>1</sup> BALLARIN, J. D.; HATTON, J. P. *Tilápia: a guide to their biology e culture in África*. University of Stirling, Stirling, Scotland: The Centre for Publishing Studies, 1979. 90p.

A temperatura é o fator que mais influencia a regulação do ciclo reprodutivo. Em condições controladas, a taxa reprodutiva se eleva, sendo a faixa ideal de 24° a 29°C para a reprodução da espécie (ESPAÑA, (2007).

### 2.2.5 Alimentação da Tilápia

Segundo Kubitzka (2000), o alimento natural dos peixes é composto de inúmeros organismos vegetais (algas, plantas aquáticas, frutas, sementes, entre outros) ou animais (crustáceos, larvas e ninfas de insetos, vermes, moluscos, anfíbios, peixes, entre outros). De acordo com o mesmo autor algumas espécies de tilápias, em particular a tilápia do Nilo, aproveitam de forma eficiente o fito e o zooplâncton.

Fitzsimmons (2000), afirmou que a tilápia do Nilo se destaca em relação às espécies carnívoras, que necessitam em grande quantidade de farinha de peixe nas rações, isto devido ao fator de serem de baixo nível trófico (onívora).

Zanibone (2004) e Brasil (2007b) explicitaram que geralmente as espécies do gênero *Oreochromis* são onívoras micrófagas, enquanto as do gênero *Tilapia* são na maioria herbívoras macrófagas. Entretanto os alevinos e as pós-larvas, de até 3 ou 4 centímetros são fitoplânctófagos. O hábito dessas espécies de consumir alimento microparticulado permite ao piscicultor utilizar ração finamente moída, distribuída pela superfície do viveiro de alevinagem.

Beyruth et al. (2004) após estudo utilizando alimentos naturais no cultivo de tilápia (*Oreochromis niloticus*), verificaram que o nível de atividade alimentar variou ao longo do dia, como resposta à disponibilidade de alimento, aos fatores ambientais (por exemplo: luz, temperatura), à diferenças de comportamento e aos ritmos endógenos do animal. Concluíram que o aumento da disponibilidade de alimentos naturais é uma estratégia que pode contribuir para um melhor aproveitamento econômico dos sistemas de cultivo.

Segundo Franco (2006) a plasticidade alimentar da tilápia pode ser considerada uma característica do grupo, que independe do hábito alimentar da espécie, e quando é cultivada com outros peixes pode apresentar um comportamento oportunista.

Tovar (2007) descreveu que apesar da heterogeneidade em relação aos

hábitos alimentares e aos alimentos que consomem, as tilápias podem ser classificadas em três grupos principais: onívoras, fitoplanctófagas e herbívoras. O grupo omnívora, inclui a espécie *Oreochromis mossambicus*, que apresenta maior diversidade nos tipos de alimentos, a *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis spilurus* e *Oreochromis aureus* que apresentam tendência para o consumo de zooplâncton. São fitoplanctófagas as espécies *Sarotherodon galilaeus* e *Oreochromis macrochir*, que se alimentam principalmente de algas microscópicas, *Sarotherodon melanotheron* consomem células mortas de fitoplâncton enquanto, a *Oreochromis alcalicus* consomem algas que crescem sobre a superfície das pedras e rochas. Entre as espécies herbívoras, foram citadas as espécies *Tilapia rendalli*, *Tilapia sparmanni* e *Tilapia Zillii*, que consomem vegetação macroscópica, e sua capacidade de cortar e rasgar as plantas se deve ao fato de possuírem dentes faríngeos especializados, assim como um estômago que secreta ácidos fortes.

O autor acima citado, ressaltou que o suprimento e a disponibilidade de alimentos naturais existentes nos ecossistemas de cultivo semi-intensivo têm grande influência na alimentação dos organismos cultivados.

Conforme descrito em Brasil (2007a), as tilápias exibem qualidades que elevam seu potencial para a piscicultura, tais como: alimentam-se de itens básicos da cadeia trófica, aceitam uma grande variedade de alimentos, respondem com a mesma eficiência à ingestão de proteínas de origem vegetal ou animal e apresentam resposta positiva à fertilização (adubação) dos viveiros.

As adaptações estruturais das tilápias a este tipo de dieta se devem principalmente ao tamanho de intestino e quantidade de dobras, dentes bicúspides e tricúspides sobre as mandíbulas e a presença de dentes faríngeos (TOVAR, 2007).

A tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie que possui brânquias bem desenvolvidas, possibilitando a filtração da água para retirada do plâncton ou outros alimentos em suspensão (ESPAÑA, 2007).

As necessidades nutricionais e os hábitos alimentares dos juvenis diferem consideravelmente dos adultos. Os juvenis quase sempre, são zooplanctófagos por terem maior requerimento de proteína e posteriormente sua alimentação se torna fitoplanctófaga ou detritívora (TOVAR, 2007).

A tilápia adulta pode se alimentar da produção natural nos viveiros adubados com fertilizantes inorgânicos e orgânicos (KUBITZA, 2000).

### 2.2.6 Rendimento da Tilápia

A região nordeste brasileira apresentou resultados de conversão alimentar, em sistemas de tanque rede, com valores entre 1,4:1 e 2,3:1 quando utilizada ração comercial (PANORAMA<sup>2</sup>..., 1999b apud ZANIBONE, 2004).

Na região sul, os resultados com dietas contendo 25% de proteína bruta são de 2,86:1 (WINCKLER<sup>2</sup> et al., 1994 apud ZANIBONE, 2004).

Para alcançar o peso viável de comercialização, a tilápia tem que apresentar taxa de conversão alimentar na ordem de um quilo de carne com o consumo de um a dois quilos de ração (GUERRA et al., 2002).

Clement; Lovell (1994) e Contreras-Guzmán (1994) relataram dados de rendimento de filé em relação ao peso bruto do peixe, variando de 25,4% até valores próximos a 42%.

Guerra et al.(2002) citaram que para obter 1 kg de filé de tilápia são necessários 3 kg de peixe vivo. O rendimento pode chegar a 35% de filé considerando o peso total do peixe.

Souza (2002) realizou estudo comparando seis métodos de filetagem verificando a influência no rendimento do produto final, concluindo ser o procedimento de retirada da pele do peixe inteiro para depois filetá-lo, o mais indicado.

A tilápia foi uma das primeiras espécies oriundas da aquicultura a ser beneficiada, sendo comercializada na forma de filés congelados, apresentando um rendimento de cerca de 30% (ARRUDA, 2004).

O rendimento de filé de aproximadamente 35% a 40%, em exemplares com peso médio de 450 gramas potencializa esses peixes para industrialização (BRASIL, 2007b).

A alimentação dos peixes pode compor 40 a 70% do custo de produção de

---

<sup>2</sup> PANORAMA da aquicultura. A piscicultura no oásis do sertão nordestino. *Revista Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro: Panorama da Aquicultura Ltda., v.9, n. 52, p. 20-21, 1999b.

<sup>3</sup>WINCKLER, L. T.; LEBOUT, E. M.; SOSINSKI, J. R. E. E.; ZIMMERMANN, S.; SOUZA, S. M. G.; APPEL, H. B.; ROTTA, M. A.; NEIS, R. Avaliação dos principais custos operacionais de um cultivo de Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em gaiolas flutuantes na região da campanha do Rio Grande do Sul. In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 8., 1994, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1994. 1 v. V. 1, p. 291-296.

tilápias, dependendo do sistema de cultivo empregado, da escala de produção, da produtividade alcançada, dos preços dos outros insumos de produção, entre outros fatores (KUBITZA, 2000).

### **2.2.7 Aspectos Econômicos da Produção de Tilápia**

Segundo FAO (2006), órgão das Nações Unidas responsável pelo estudo dos problemas de alimentação no mundo, a aquacultura assume importância cada vez maior no abastecimento alimentar mundial, pois o pescado tem alta capacidade produtiva devido à eficiente conversão alimentar e, este fato ocorre como consequência da pouca exigência de energia para a flutuação, locomoção e manutenção de sua temperatura interna.

Em Espanha.(2007) foi relatado que em 1989 a produção mundial de tilápia foi de apenas 363.326 toneladas, mas que o mercado mundial de tilápia aumentou em mais de 85% entre 1984 e 1994, alcançando 620.000 toneladas.

Segundo Harvey (1995), nos Estados Unidos da América (EUA), em 1994, a importação de tilápia atingiu 14,6 mil toneladas, a despeito da produção americana de 6,8 mil toneladas.

Em 1996, a produção mundial de pescado foi de 27,8 milhões de toneladas, no valor de US\$ 42,3 bilhões, e a produção de tilápia saltou para 800.800 toneladas apresentando o maior crescimento percentual entre os principais grupos de peixes cultivados do mundo, sendo que nos Estados Unidos da América o cultivo de tilápia cresceu 300% de 1991 a 1996 (ESPAÑA, 2007)

No ano de 1996, os países asiáticos foram responsáveis pela produção de 700.400 toneladas de tilápia, das quais 56,3% foram produzidas pela China, os outros grandes produtores foram a Indonésia, Tailândia, Filipinas e Taiwan. Neste ano a produção brasileira foi de 19.200 toneladas, o que correspondeu a 2,4% da produção mundial (BRASIL, 2007a, RIBEIRO et al., 2000,).

Em reportagem do Jornal O Estado de São Paulo de 1997, é relatada a intenção brasileira em se tornar grande exportador mundial de tilápia. Foi citado que na época o mercado interno havia produzido 55 mil toneladas de peixe em cativeiro sendo 12 mil toneladas de tilápia, suficiente apenas para abastecer o mercado interno.

Uma análise da produção mundial de tilápia revelou que em 1998, a China produziu um volume total de 525.926 toneladas, sendo o maior produtor com 50% da produção mundial. A Tailândia, em segundo lugar, produziu 102.120 toneladas, seguida pelas Filipinas (72.022 t.), Indonésia (70.030 t.), Egito (52.755 t.), Taiwan (36.126 t.), Brasil (18.250 t.), Colômbia (15.240 t.), Malásia (12.625 t.) e Estados Unidos (8.961 t.) (ESPAÑA, 2007).

Conforme relato em Brasil (2007c), em 1998, a produção brasileira de tilápia foi de 35.405 toneladas, gerando uma receita bruta de US\$ 22.909.400,00. Considerando a área total cultivada e o número total de tilapicultores, que passava de 33.600 em todo o país, chegaram à conclusão que, em média, cada produtor cultivava uma área alagada correspondente a 0,66 hectares.

Portanto, em 1998, a área total destinada ao cultivo desse peixe chegou a cerca de 22.135 hectares, o que significava que em média, cada tilapicultor obteve uma produtividade de 1,60 t/ha/ano. No documento foi considerado que, na maioria dos casos, os produtores conseguem mais do que uma safra por ano e, excepcionalmente, até mais de duas safras e, por isso, era possível afirmar que os números ainda eram extremamente inferiores ao potencial de produção (BRASIL, 2007a).

Em Brasil (2007b) foi estimado que ao longo de toda a cadeia produtiva eram gerados aproximadamente três empregos por hectare de lâmina de água cultivada, considerando os empregos gerados na propriedade, na extensão rural, na indústria de equipamentos, de insumos e de processamento, na distribuição de pescado, etc. Assim, consideraram que o número total de empregos gerados em função da tilapicultura em 1998 possa ter chegado a 66.407, ou seja, o equivalente a 1,8 empregos/propriedade

No ano de 1998 a produção do Estado do Rio de Janeiro alcançou 335.000 kg (CIDE, 1999) e a previsão para o ano de 2001 era de um aumento de 50%. O consumo estadual suplantava a produção em aproximadamente 20%, sendo necessária a importação de outros estados para suprir o mercado. Contudo o maior consumidor continuava sendo os estabelecimentos denominados “pesque-pagues”, distribuídos pelo Estado do Rio de Janeiro, que naquela época somavam 60 unidades.

No ano 2000, quando anunciou um Programa de Apoio à Competitividade e Sustentabilidade da Cadeia da Tilápia, o Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) relatou ter trabalhado nas perspectivas futuras considerando as estimativas de 90 mil toneladas de pescados na safra de 1998, sendo 35 mil toneladas de tilápias, o que correspondia a 38% do total previsto. Ainda segundo informação do MAPA, as tilápias haviam se tornado o segundo grupo de peixes mais cultivados do mundo, superado apenas pelas carpas. Informaram que a China permanecia como maior produtor desse tipo de pescado (BRASIL, 2007b).

Em Espanha (2007) foi informado que desde a década de 70 a produção aquícola mundial havia crescido substancialmente, contribuindo para a segurança alimentar internacional, e que a tilápia era o segundo grupo mais importante dos peixes produzidos em cultivos de água doce no mundo, com uma produção mundial de aproximadamente 20% do volume total de peixes alcançando 1.000.000 de toneladas no ano 2000, sendo 80% da espécie *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo), seguida da *Oreochromis mossambicus* com 5%, ficando apenas atrás da carpa.

Em Cunha (2002) foi citado que no Brasil, das 55 mil toneladas de peixe produzidos em cativeiro, 12 mil toneladas (aproximadamente 22%) eram de tilápia, sendo os Estados Unidos da América o principal país interessado em comprar tilápia brasileira, importando, naquela época, cerca de 21 mil toneladas/ano, o documento ainda relata que a tilápia era o segundo peixe de cultivo mais consumido no mundo e, a China o maior produtor mundial com 236 mil toneladas/ano.

Conforme relatado por Toledo (2002), a cidade de Paulo Afonso no sertão da Bahia, abrigava um projeto de engorda de tilápia, onde a união de pequenos produtores conseguia obter a produção de mais de 1.000 toneladas de tilápia/ano. Sendo que a agroindústria, naquele momento recém inaugurada no local, se preparava para produzir e processar mais de 10.000 toneladas/ano de pescado, destinado principalmente ao mercado externo.

Segundo José Roberto Borghetti, coordenador do Plano Nacional de Desenvolvimento da Aqüicultura, para competir no exterior, os produtores teriam que baixar o custo de produção e aumentar a produtividade de uma tonelada/hectare/ano para oito toneladas/hectare/ano. Naquela época, o custo médio da produção variava de acordo com o país produtor ficando entre US\$ 0,70 a US\$ 1,32, por quilo de peixe de tamanho médio (CUNHA, 2002).

A produção de tilápia no Brasil em 2002 foi de 42.003,00 toneladas. Destas,

13.341,5 toneladas foram oriundas do Paraná e, São Paulo participou com 8.153,0 toneladas, Santa Catarina produziu 5.625,0 toneladas, a Bahia 4.014,0 toneladas e o Estado do Rio de Janeiro 705,0 toneladas, correspondendo ao 11º lugar no “ranking” nacional de produção de tilápia. (BRASIL, 2003b).

Em 2003 de um total de 64.857,5 toneladas de tilápia produzidas no Brasil, 13000 toneladas foram oriundas do Ceará; 12.782 toneladas do Paraná; 9.738 toneladas de São Paulo; 6.732,5 toneladas de Santa Catarina; 5.280 toneladas da Bahia; 3.069,5 toneladas de Goiás; e no Rio de Janeiro foram produzidas 749 toneladas correspondendo ao 13º lugar na produção brasileira. (BRASIL, 2004a).

Eurofish (2007), descreveu que as informações sobre a comercialização de tilápia nos principais mercados eram que, em 2003 os EUA já importavam 17.952 toneladas de filé fresco de tilápia/ano, sendo seu maior fornecedor o Equador com 9.397 toneladas. Naquela época o Brasil ocupava o sexto lugar entre os exportadores, sendo responsável por 208 toneladas da importação americana.

Com relação ao mercado europeu informado em Eurofish (2007), que para o filé de tilápia congelado alcançou cerca de 600 toneladas importadas em 2003, sendo a Alemanha o principal importador desta forma de tilápia. A importação do filé de tilápia fresco foi de apenas cerca de 400 toneladas, sendo o Reino Unido o principal importador.

Conforme relatado em Brasil (2007c), as importações europeias de tilápia congelada proveniente do Brasil, no ano de 2003, aumentaram cerca de quatro vezes em relação ao ano de 2002, tendo atingido a quantidade de 425,4 toneladas.

No ano seguinte, segundo Eurofish (2007), a importação americana foi de 19.480 toneladas, quando o Equador forneceu 10.164 toneladas deste total e o Brasil 323 toneladas, passando para o quinto lugar neste “ranking”.

Zaniboni (2004), descreveu que entre as espécies de pescado, a tilápia era a terceira espécie de maior importação pelos Estados Unidos, só perdendo para camarão e salmão.

Conforme informado em Eurofish (2007), no 2005, o total da importação americana chegou a 22.729 toneladas e o Equador contribuiu com 10.600 toneladas, enquanto o Brasil praticamente triplicou a sua exportação, num total de 963 toneladas passando a ocupar o quarto lugar.

Sugimoto (2005) e Zimmermann (2004) relataram que mesmo com dados estatísticos oficiais precários, foi possível afirmar que a tilápia era o pescado com

maior produção no Brasil, podendo ser observada uma proliferação de viveiros em todas as regiões, com crescimento anual superior a 10%.

Conforme descrito por Fitzsimmons (2005), as diversas espécies de tilápia e seus híbridos eram o segundo maior grupo de peixes produzidos em fazendas, no mundo. O cultivo e consumo de tilápia, aumentaram rapidamente nos Estados Unidos da América, sendo o sexto pescado mais consumido naquele país. O autor enfatiza que a American Association of Tilapia (ATA) que é uma associação que incentiva o desenvolvimento sustentável da indústria produtiva de tilápia, e seus produtores e cientistas membro, além de proteger o ambiente aquático, fornecem peixes frescos de elevada qualidade ao consumidor americano.

Em Eurofish (2007) foi citado que no ano de 2006 os EUA importaram 23.100 toneladas, sendo 10.870 oriundas do Equador e 1.018 toneladas do Brasil, que permaneceu na quarta colocação entre os exportadores. Os dados indicavam que as importações de tilápia pelos EUA continuavam a mostrar um forte crescimento, como resultado do aumento da demanda e do grande consumo deste peixe pelos norte-americanos. Diferentemente, o mercado europeu para a tilápia ainda se apresentava bastante inexpressivo, principalmente pela grande disponibilidade do catfish proveniente do Vietnã.

Segundo Espanha (2007), quatro dos cinco países mais povoados do mundo se encontravam entre os maiores produtores e consumidores de tilápia: China, Indonésia, Brasil e Estados Unidos da América sendo observado que vários países estavam incrementado sua produção, tais como: Israel, Cuba, México, Costa Rica, Honduras, Equador, Nigéria, entre outros.

Conforme informado em Eurofish (2007), o preço do filé de tilápia fresco no mercado europeu ficou estável durante o ano de 2002 e boa parte de 2003 em cerca de € 7,00 /kg e, logo depois ocorreu queda para € 6,90/kg, cotação que se manteve durante todo o ano de 2004. Ressaltaram que os preços da tilápia, devido ao farto abastecimento do mercado norte-americano, tiveram grande queda, especialmente em relação ao filé congelado, que em março de 2005 caiu para menos de US\$1,90/lb, o menor preço em toda a história. Relataram que o filé fresco era mais valorizado e, que o preço em 2006 era de US\$3,85/lb, cotação que permanecia estável há algum tempo, e com indicadores de que se manteriam nos meses seguintes. De qualquer maneira, o preço era cerca de 10% menor que os preços praticados para a tilápia fresca no início das importações nos anos 90.

Em relação ao mercado europeu para a tilápia Eurofish (2007), descreve que era estimado em aproximadamente 10 mil toneladas anuais. Em relação ao preço, a tilápia não apresentava competitividade com os peixes vietnamitas.

Conforme citado em Espanha (2007), a tendência era que este peixe ainda permanecesse na condição marginal de participação no mercado europeu, sendo mais interessante aos países exportadores concentrarem-se no mercado norte-americano.

A multinacional espanhola Pescanova percebeu na América Latina uma plataforma estratégica e importante para o crescimento da tilapicultura, anunciando iniciativas para produzir no Brasil, 10 000 toneladas de tilápia. O estado escolhido foi Pernambuco e, com perspectiva de início de funcionamento no ano de 2007. A produção brasileira de tilápia foi considerada em franco crescimento, com empresas nacionais investindo, para aumentar a produção (EUROFISH, 2007).

TABELA 6 - Importação de filé de tilápia pelos EUA

<b>Importação de filé fresco de tilápia pelos EUA por país de origem (t)</b>								
	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>
Equador	1.806	3.253	4.924	6.616	9.397	10.164	10.600	10.870
Costa Rica	2.310	2.684	3.109	3.206	3.996	4.090	3.734	2.677
Honduras	771	1.038	1.438	2.874	2.857	4.042	6.572	7.250
China	38	59	191	844	857	0	0	0
Taiwan	155	82	76	247	281	90	0	0
Brasil	0	2	0	112	208	323	963	1.018
El Salvador	0	0	0	78	189	258	307	228
Panamá	20	159	350	147	96	93	84	128
Outros	209	225	148	64	71	420	470	929
<b>Total</b>	<b>5.310</b>	<b>7.502</b>	<b>10.236</b>	<b>14.187</b>	<b>17.952</b>	<b>19.480</b>	<b>22.729</b>	<b>23.100</b>

Fonte: Eurofish (2007)

### **2.2.8 Aproveitamento da Tilápia (Subprodutos da Tilápia)**

Makrakis et al. (2000) descreveram que a tilápia é comercializada em filé congelado, sendo seus principais derivados os embutidos e o “surumi”, conhecido como um concentrado úmido de proteína do músculo de pescados, lavado com água refrigerada por várias vezes, e transformado em matéria-prima utilizada na elaboração de vários outros produtos como quibe, croquete, almôndega, hambúrguer, colocados a disposição do mercado consumidor.

A produção de resíduos de frigoríficos processadores de peixe, principalmente na filetagem da tilápia, representava, segundo Boscolo et al. (2001), entre 62,5 e 66,5% da matéria-prima que é desperdiçada, sendo fundamental o processamento destes resíduos para redução do impacto ambiental. Além disso, a transformação destes resíduos em farinha era considerada uma opção de renda para as indústrias, podendo aumentar sua lucratividade

O aproveitamento da tilápia beneficia não só aos produtores, que ganham uma alternativa para agregar valor à tilápia, como diminui o preço de custo, beneficiando a população de baixa renda que não tem acesso a uma importante fonte de proteínas, devido à distribuição deficiente e onerosa que eleva o preço para o consumidor (WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

A pele de pescado pode ser aproveitada quase plenamente para a manufatura de diversos objetos de artesanato, carteiras, bolsas e vestimentas, com baixo custo de investimento. Podem ser manufaturadas em regime de cooperativas, em regiões de baixa renda e com disponibilidade deste resíduo, e contando com a participação do município na solução do passivo ambiental (captação dos resíduos químicos do curtimento), gerando um movimento social harmônico e produtivo. (WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

Conforme relatado por Brito (2005), a tilápia ocupa o espaço do couro de boi. Empresa do pólo calçadista de Franca, no interior de São Paulo, avança na idéia lucrativa da manufatura do couro de tilápia. A pele de tilápia foi considerada mais uma pele no rol dos chamados couros exóticos, além da rã, da cobra, do jacaré e da arraia. O produto, com boas vantagens comerciais, tinha sua cotação em centavos de real, possível de ser encontrado em abundância nos pesqueiros da região e com a sua exploração não condicionada à autorizações da agência ambiental, ou do IBAMA. O autor informou que um produto utilizando a pele de tilápia, feito de forma artesanal, tinha uma remuneração entre 30% e 100% superior quando comparado com artigos similares produzidos com couro bovino.

Resíduos gerados na linha de filetagem e conhecidos como “espinhaços” (espinhas com restos de pescado) podem ser aproveitados para gerar uma polpa de peixe, com a obtenção de uma matéria-prima para diversos subprodutos, desde

hambúrgueres até concentrados protéicos (WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

Os resíduos de aparas e descartes comestíveis podem ser destinados para consumo humano, produzindo o “surumi”, sendo mais uma forma de agregar valor à cadeia produtiva da tilápia (MAKRAKIS et al., 2000; MARCHI, 1997; WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

A silagem apresenta vantagem na produção de farinha por ser um processo independente da escala produtiva, possui tecnologia simples, requer capital pequeno, os problemas em relação ao odor e aos efluentes são reduzidos, o processo é rápido em climas tropicais e pode ser beneficiado no próprio local da produção. Não obstante à limitação de ser um produto volumoso, de transporte caro, esta tecnologia pode ser facilmente aplicada em comunidades de baixa renda e em regiões interiores (BOSCOLO et al., 2001; BOSCOLO et al., 2004; WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

O Hidrolisado Protéico de Pescado (FPH) tem potencial de utilização tanto em alimentação animal (terneiros, cordeiros e peixes) e humana (suplementos protéicos, dietas especiais, substituto de proteínas do ovo, entre outros.), quanto como nutriente para cultivo de microrganismos, o que eleva o valor agregado quando aproveitado, pois contendo cerca de 80% de proteína é um subproduto dos mais nobres sendo recomendado inclusive para o consumo humano (WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO, 2003).

Arruda (2003), ao analisar os ácidos graxos do óleo de tilápia obteve os seguintes dados em mg/100g: 28,60, 16,30 e 3,10 dos ácidos oléico, linoléico e linolênico respectivamente e, em relação ao teor de lipídios totais na silagem de tilápias encontrou como resultado o valor de 3,99 g/100g. Após a extração da fração lipídica restou na amostra apenas 1,54 g/100g de lipídios, concluindo ser o nível de lipídio aceitável para utilização em rações animais.

Em 1996, uma parceria entre o governo da Paraíba e o Sebrae, visando atender a merenda escolar, desenvolveram um novo produto (hambúrguer) utilizando peixes de baixo valor aquisitivo como a tilápia. Nos testes de armazenamento em congelamento por até cinco meses, verificaram que o produto

manteve a qualidade e as características iniciais. O preço de custo calculado foi três vezes menor do que o do hambúrguer bovino, representando uma economia de 300% para a população de baixa renda (NOBREGA, 1996).

Vários produtos, tendo a tilápia como matéria prima, vêm sendo desenvolvidos e, entre eles a mortadela e a salsicha de filé de tilápia, elaboradas por Sugimoto (2005), pesquisador da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da UNICAMP, como tema da sua tese de doutorado na Universidade Federal da Paraíba.

Segundo Brito (2005), uma empresa localizada no interior de São Paulo, investiu na produção de sapatos e bolsas com peles de peixe e, no ano de 2005, eram curtidos mensalmente 400 quilos de pele de tilápia, e a perspectiva para 2007 era de curtir duas toneladas/mês. A empresa produzia mensalmente, cerca de 500 pares de calçados femininos e mais 100 bolsas, além de aproximadamente 150 chapéus com detalhes de pele de peixe. O custo da pele era de centavos de reais enquanto uma bolsa podia chegar ao varejo ao preço de R\$ 250,00. A previsão para os anos seguintes era de que a fábrica produzisse pelo menos 100 pares de sandálias femininas e sapatos masculinos por dia. A produção de sapatos alinhou a manufatura do couro de tilápia à tradição calçadista de Franca, onde está localizado o maior pólo de calçados masculinos do país. O autor citou uma outra empresa, localizada em Goiânia, que trabalhava com peles exóticas, entre as quais o couro de tilápia, os quais utilizava no desenvolvimento de coleções, criando novidades e apresentando produtos em linha de exportação.

### 2.3 BACTÉRIAS DO GÊNERO *Aeromonas*

Vários pesquisadores vêm desenvolvendo estudos envolvendo a ocorrência, o isolamento, a patogenicidade, a sensibilidade aos antimicrobianos, assim como as doenças transmitidas a animais e humanos por bactérias do gênero *Aeromonas*.

Este microrganismo que vem sendo atualmente considerado patógeno emergente, tem sido um fator de risco no desenvolvimento de Enfermidades Transmitidas por Alimentos. A discussão acerca da virulência e produção de toxinas, bem como a capacidade de causar infecções em humanos está longe de ser definida, além do que, é freqüente o relato da doença septicêmica provocada

por bactérias do gênero *Aeromonas* em peixe de cultivo.

### 2.3.1 Taxonomia e Definição

Conforme relatado por Isonhood e Drake (2002), a palavra “*Aeromonas*” deriva do termo grego *aer* que significa ar ou gás, e *monas*, que significa unidade.

Na sétima edição do Manual Bergey, consta que o gênero *Aeromonas* foi introduzido como membro da família *Pseudomonodaceae*, conforme proposto por Kluysen e Van Niel em 1936. Na oitava edição do “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”, publicada em 1974, é citado que Schubert subdividiu *Aeromonas hydrophila* em três subespécies: *Aeromonas hydrophila* subesp. *anaerogenes*, *Aeromonas hydrophila* subesp. *hydrophila* e *Aeromonas hydrophila* subesp. *proteolytica*. Em 1980, estas três subespécies foram incluídas nos “Approved List of Bacterial Names” (EUZÉBY, 2003), mas em 1976, Popoff e Veron haviam sugerido a diferenciação em três espécies, sendo *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. sobria*, que foram confirmadas por hibridização de ADN em 1981 por Popoff e colaboradores.

Na lista de validação número oito, publicada em 1982, consta a *Aeromonas hydrophila* subesp. *proteolytica*, foi excluída do gênero *Aeromonas* e reclassificada no gênero *Vibrio*, sob a designação de *Vibrio proteolyticus* (EUZÉBY, 2003).

Em 1981, os resultados da hibridização ADN-ADN conduziram Popoff e colaboradores a reclassificar as linhagens 239 e 545 (= ATCC15468) de *Aeromonas hydrophila* subesp. *anaerogenes*, na espécie *Aeromonas caviae* da qual a literatura foi validamente publicada em 1984 (lista de validação nº 5).

Na edição seguinte o “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”, absorve estes resultados e abole a subdivisão da espécie de *Aeromonas hydrophila*. Entretanto, observa-se que a linhagem tipo da subespécie *Aeromonas hydrophila* subesp. *anaerogenes*, a linhagem ATCC 15467 (= CIP 76.15 = DSN 30188 = IFO 13282 = JCM 1043 = LMG 3755), não foi incluída no estudo de Popoff (1984), e que as *Aeromonas hydrophila* subesp. *anaerogenes* e subesp. *hydrophila* mantiveram uma classificação na nomenclatura, mesmo que estas terminologias não sejam mais utilizadas.

Segundo Colwell et al. (1986) e Holt (1994) o gênero *Aeromonas* estaria ligado taxonomicamente a família *Vibrionaceae* (“Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”, 9ª edição) a qual incluiria também os gêneros *Vibrio*, *Photobacterium*, e *Plesiomonas*.

A confusa taxonomia das *Aeromonas* spp. vem sofrendo constantes mudanças e, segundo Carnahan et al. (1991), estudos taxonômicos forneceram alguns esclarecimentos sobre as *Aeromonas* spp., com relação ao número dos grupos de hibridização do ADN (genospecies) e fenótipo das espécies (fenospecies). Os autores citaram que várias espécies são associadas com doença humana: *A. hydrophila*, *A. caviae* (ATCC 15468T), *A. media*, *A. sobria* (CIP 7433T), *A. trota* (ATCC 49657T), *A. veronii* bv *sobria* (ATCC 9071), *A. veronii* bv *veronii* (ATCC 35624), *Aeromonas* sp. ornitina descarboxilase positiva (ATCC 35941), *A. schubertii* (ATCC 43700T), *Aeromonas* group 501 (ATCC 43946), *A. trota* (ATCC 49657T).

Estudos de ADN demonstraram a existência de 11 espécies de *Aeromonas* mesofílicas, sete das quais com taxonomia padronizada (VARNAM; EVANS, 1996).

Os gêneros pertencentes àquela família são bacilos Gram negativos que apresentam codificação genética para a síntese de enzimas citocromoxidase, que os diferencia de outras bactérias com características semelhantes. Citaram os autores Peña et al. (1997), a existência de uma proposta de que a *Aeromonas* spp. devesse pertencer a uma família independente – a família *Aeromonadaceae* – por possuírem diversas espécies e características genéticas e fenotípicas próprias.

Cowell et al. (1997) e Joseph e Carnahan (2000), após estudos baseados em técnicas moleculares quanto aos caracteres genéticos destes microrganismos, não confirmaram relação próxima entre estas e as bactérias dos gêneros da Família *Vibrionaceae*. Sugeriram então, uma família distinta – a *Aeromonadaceae*. Ainda segundo Joseph; Carnahan (2000), a nova família *Aeromonadaceae* incluiria 14 espécies validadas e reconhecidas oficialmente.

O gênero *Aeromonas* conforme descrito por Esteve et al. (1995), Garcia-López et al. (2004), Joseph e Carnahan, (2000) e Palumbo et al., (2001), Popoff (1984), possui dois distintos grupos: um composto pelas espécies não móveis e psicrotróficas (*A. salmonicida*), o outro pelas linhagens móveis e mesofílicas (*A. hydrophila*, *A. sobria* e *A. caviae*).

Por ocasião de um estudo realizado pelo Centro Internacional de Pesquisas sobre as enfermidades diarréicas de Dhaka (Bangladesh), Kühn et al. (1997), isolaram 25 linhagens bacterianas que pertenciam ao mesmo grupo de hibridização que a linhagem tipo *Aeromonas hydrophila* (grupo de hibridização 1 ou HG 1). Estas linhagens são identificáveis pelas suas características fenotípicas e foram classificadas num grupo denominado BD-2.

O resultado dos estudos de hibridização ADN-ADN e das 152 características fenotípicas demonstraram que as dez linhagens formam um grupo homogêneo, apresentando 78 a 92% de homologia com a linhagem de *Aeromonas hydrophila* subesp. *hydrophila*, distinguindo-se destas por oito características fenotípicas, o que conduziu os pesquisadores a validarem a nomenclatura *Aeromonas hydrophila* subesp. *dhakensis* para as linhagens do grupo BD-2, modificando a descrição de *Aeromonas hydrophila* subesp. *hydrophila*.

Joseph e Carnahan, (2000), relataram que embora ainda persistisse a confusão taxonômica, vários avanços haviam sido alcançados e, exemplificaram o programa computacional “George Popoff e Arduino” desenvolvido no Centro de Controle e Prevenção de Doença, em Atlanta (EUA), que ajudam a identificar *Aeromonas* spp. Este programa é baseado em 55 testes bioquímicos e um antibiograma, que identificam um grande número de linhagens. Outra promissora iniciativa para identificar *Aeromonas* spp. envolve o uso de PCR, incluindo a identificação de toxinas citolíticas em espécies determinadas de *Aeromonas* spp.

Conforme citado por Esteve et al. (1995), Garcia-López et al. (2004) e Joseph e Carnahan, (2000), as *Aeromonas* spp. possuem distintas morfologias celulares com variação na forma e tamanho. Algumas linhagens se apresentam na forma de pequenos bastões e outras têm a forma de filamentos. A motilidade deve-se a presença de flagelos, que dependendo da linhagem pode ser único ou múltiplos e laterais. Após estudos que indicaram diferenças bioquímicas (fenotípicas) e moleculares (genotípicas), o número de espécies aumentou para um total de 14, conforme descrito no quadro 01.

Uma espécie recentemente classificada, a *A. culicicola*, foi isolada do intestino da fêmea de mosquitos das espécies *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegyptii* (PIDIYAR et al., 2002).

Quadro 1 - Espécies de *Aeromonas* relacionadas em ordem decrescente de importância na clínica Humana

1. <i>Aeromonas hydrophila</i>	9. <i>Aeromonas trota</i>
2. <i>Aeromonas sobria</i>	10. <i>Aeromonas allosaccharophila</i>
3. <i>Aeromonas caviae</i>	11. <i>Aeromonas bestiarum</i>
4. <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>sobria</i>	12. <i>Aeromonas eucrenophila</i>
5. <i>Aeromonas jandaei</i>	13. <i>Aeromonas encheleia</i>
6. <i>Aeromonas schubertii</i>	14. <i>Aeromonas salmonicida</i>
7. <i>Aeromonas veronii</i> bv <i>veronii</i>	15. <i>Aeromonas popoffii</i>
8. <i>Aeromonas media</i>	

Fonte: Esteve et al. (1995), Garcia-López et al. (2004) e Joseph; Carnahan, (2000)

Em 1997, Pearson et al. isolaram linhagens de *Aeromonas* sp. na pele e em órgãos internos de rãs (*Rana rugulosa*) criadas na Tailândia. O resultado da hibridização ADN-ADN demonstrou que as linhagens formavam um grupo homogêneo, que apresentavam 80-93% de homologia com a linhagem do tipo *Aeromonas hydrophila* subesp. *hydrophila* e 75-87% de homologia com a linhagem do tipo *Aeromonas hydrophila* subesp. *dhakensis*. Em maio de 2002, Huys et al. propuseram uma nova subespécie de *Aeromonas hydrophila*, o que conduziu os autores a modificarem a descrição desta espécie e, em maio de 2003, Huys e colaboradores validaram a nomenclatura de *Aeromonas hydrophila* subesp. *ranae* para linhagens patogênicas para as rãs.

Harf-Monteil et al. (2004) relataram que cinco subespécies de *A. hydrophila* estão caracterizadas: *A. hydrophila* subesp. *anaerogenes*, *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. hydrophila* subsp. *proteolytica* e *A. hydrophila* subsp. *ranae*.

Saavedra et al. (2006) citaram que estudos filogenéticos recentes do gênero *Aeromonas*, baseados em seqüências do gen *gyrB* e do *rpoD*, ampliaram a filogenia baseada nas seqüências do gen do rARN 16S publicadas primeiramente em 1992, que não identificavam as espécies de *Aeromonas simiae*, de *A. molluscorum* e somente incluía uma única linhagem de *A. culicicola*. Nos trabalhos posteriores, estas espécies de *Aeromonas* e linhagens recentemente isoladas de *A. culicicola* foram examinadas, e a análise da seqüência genética indicou que as espécies *A.*

*simiae* e a *A. molluscorum* pertencem às linhas filogenéticas do gênero *Aeromonas*, até então não descritas nem classificadas. As espécies mais semelhantes anteriormente descritas são *Aeromonas schubertii* e *Aeromonas encheleia*, respectivamente, que são semelhantes no gen rARN 16S.

Na filogenia da seqüência do gen do rpoD, a linhagem de *A. culicicola* da descrição original e as linhagens isoladas nos trabalhos posteriores, oriundos da água potável e de peixes ornamentais, apresentavam características de identificação dentro da espécie *Aeromonas veronii*, sugerindo uma classificação de linhagens inconsistente nos trabalhos precedentes. Outras linhagens com taxonomia divergentes e as isoladas mais recentemente, também foram incluídas nos estudos citados pelos autores, a fim de esclarecer a inclusão dessas novas linhagens na afiliação filogenética de sua espécie (SAAVEDRA et al. 2006).

### **2.3.2 Características Físicas, Químicas e Biológicas das *Aeromonas* spp.**

#### **2.3.2.1 Temperatura**

De acordo com Popoff, (1984), a maioria das espécies de *Aeromonas* spp. crescem numa faixa de temperatura de 5°C a 41°C, com exceção da *A. salmonicida* que não cresce a 37°C, sendo a faixa de temperatura ótima de crescimento desse gênero entre 22°C e 28°C.

Palumbo et al. (1985), e Varnam e Evans (1996), afirmaram que a *A. hydrophila*, presente em alimentos é capaz de crescer em temperaturas de aproximadamente -0,1°C a +1,2°C, sendo garantido seu desenvolvimento na temperatura de 4°C.

Conforme relatado por Varnam e Evans (1996), a temperatura máxima de crescimento de *Aeromonas* spp. é de 42°C e, Euzéby (2003), afirmou ser possível à todas as linhagens crescerem à 42°C depois de 24 a 48 horas de incubação.

Segundo Garcia-López et al. (2004) a faixa de crescimento de *Aeromonas* spp. é de -5°C a 45°C.

Em relação à temperatura ótima de desenvolvimento do gênero *Aeromonas*, os autores Euzéby (2003), Garcia-López et al. (2004), Palumbo et al. (1985), Popoff, (1984) e Varnam e Evans (1996), citaram o valor de 28°C.

Varnam e Evans (1996) enfatizaram que a *Aeromonas hydrophila* é bastante sensível ao calor sendo inativada a 45°C.

Altwegg (1999), Altwegg e Geiss (1989) e Palumbo et al. (2001), observaram diferença na atividade das descarboxilases e demais provas bioquímicas de *Aeromonas* móveis, dependendo da temperatura de incubação, concluindo que a temperatura de 29°C é mais indicada para tais reações.

Palumbo et al. (2001), verificaram que em várias reações bioquímicas de diversas estirpes de *Aeromonas* móveis isoladas de alimentos, resultados diferenciados de acordo com a temperatura de incubação, mostrando resultados negativos à 37°C e resultados positivos à 28° C.

#### 2.3.2.2 Atividade de água (Aa)

Segundo Santos (1981), *A. hydrophila* pode crescer em teores de Atividade de água (Aa) menores que o ideal para o seu desenvolvimento, desde que outras condições a favoreçam, sendo evidenciado crescimento em Aa de 0,940 - 0,973 a 28<sup>0</sup>C, 0,959 - 0,980 a 10<sup>0</sup>C, e 0,975 - 0,980 a 3,8<sup>0</sup>C.

#### 2.3.2.3 Tolerância ao sal

A tolerância ao sal pode variar de acordo com as estirpes e as demais condições do meio. Palumbo et al. (1985) verificaram o crescimento das estirpes BA2 e BA7 de *A. hydrophila*, com 5% de cloreto de sódio (NaCl) em caldo “*Brain Heart Infusion*” (BHI), quando incubado na temperatura ótima de 28°C. Os autores relatam que a maioria das estirpes crescem em concentrações em torno de 2% a 4% de NaCl, sendo que existem algumas estirpes que necessitam da presença de no mínimo 0,3% e outras que não necessitam desse sal para seu desenvolvimento.

Delamare et al. (2003) avaliaram o efeito de solutos orgânicos no crescimento de *Aeromonas trota* e *A. hydrophila*. A prolina e o ácido glutâmico não apresentaram efeito osmoprotetor, mas a betaína exerceu osmoproteção permitindo o crescimento de ambos os microrganismos em concentrações inibitórias de NaCl (cloreto de sódio). A cinética de crescimento sugere que a diferença em

haloterância entre linhagens está associada à síntese de osmolitos, mais do que a capacidade de acúmulo de betaína.

#### 2.3.2.4 pH

As *Aeromonas* spp. são bactérias sensíveis a pH abaixo de 6,0, não são microrganismos ácido resistentes, porém podem se adaptar a situações de *stress* ocasionadas por ácidos, produzindo proteínas defensivas. A *A. hydrophila* em certos tipos de alimentos, não crescem quando o pH é inferior a 6,0 e o conteúdo de sal é de 3%. A tolerância ao pH e à concentração de sal variam com a temperatura. (PALUMBO et al., 1985)

Espécies de *Aeromonas* são consideradas sensíveis ao NaCl não sendo capazes de crescer em meios que contenham mais de 5% de NaCl. Existe forte correlação entre o valor de pH e a tolerância ao NaCl, de modo que pequenas mudanças nos valores de pH podem resultar em mudanças na tolerância ao NaCl. (GARCIA-LÓPEZ et al., 2004; POPOFF, 1984; VARNAM; EVANS, 1996).

Merino et al. (1995) e Palumbo et al. (2001), afirmaram que a *A. hydrophila* é bastante sensível quando submetida a pH abaixo de 6,0, podendo crescer até em pH de 5,8, entretanto em maionese ou pescado marinado, que são alimentos ácidos, o desenvolvimento desse microrganismo ocorre quando em condições ótimas de temperatura (28°C) e na presença de 0,5% de NaCl.

Segundo Isonhood e Drake (2002), a *A. hydrophila* suporta pH entre 5,5 a 9,0 sendo que, o melhor crescimento acontece em pH neutro ou levemente alcalino.

Garcia-López et al. (2004) e Varnam e Evans (1996) indicaram que as condições melhores para o crescimento de *Aeromonas* spp. ocorre em pH maior que 6,0 e concentração de NaCl menor que 4%.

As *Aeromonas* spp. são muito sensíveis às condições ácidas e ao sal, portanto provavelmente não ocasionarão problemas com o seu desenvolvimento, em pescados refrigerados ou congelados, com pH menor que 6,5 e uma concentração de NaCl maior que 3,0 % (HUSS, 1997).

### 2.3.2.5 Atmosfera modificada

Segundo Buchanan e Palumbo (1985) embalagens em atmosfera modificada com baixos teores de O<sub>2</sub> podem favorecer o desenvolvimento de *Aeromonas* spp. devido a inibição do crescimento de *Pseudomonas* spp. A *Aeromonas hydrophila* cresce lentamente a 2°C em pescado guisado e na carne bovina armazenada em atmosfera modificada. A probabilidade de se encontrar esse microrganismo nos alimentos aumenta de 10 a 10.000 vezes durante 7 a 10 dias de armazenamento.

Ingham (1990) e Merino et al. (1995) relataram o isolamento de *A. hydrophila* em alimentos embalados à vácuo, concluindo que o O<sub>2</sub> exerce pouca influência no crescimento da espécie. Ingham (1990) em ensaio experimental com pescado embalado em atmosferas contendo 80% de CO<sub>2</sub> e 20% N<sub>2</sub>, observou pequeno desenvolvimento em temperatura de 8°C o que não ocorreu quando o produto foi armazenado a 2°C.

Davies e Slade (1995) ao ensaiar a embalagem de pescado em atmosfera modificada com as concentrações de 60% CO<sub>2</sub> / 40% N<sub>2</sub> e 40% CO<sub>2</sub> / 30% N<sub>2</sub> / 30% O<sub>2</sub>, armazenadas em três diferentes temperaturas (+0°C, +5°C, e +12°C), verificaram a inibição da multiplicação de *A. hydrophila* nas temperaturas de +0°C, +5°C, e ligeira inibição na de +12°C.

Conforme relatado por Doherty et al. (1996) o desenvolvimento da *A. hydrophila* em atmosferas modificadas, também sofre influência do pH sendo este microrganismo bastante sensível quando submetido a valores abaixo de 6.0 .

O pH também exerce influência no desenvolvimento de *Aeromonas* spp., que pode ser acelerado com o uso de embalagem em atmosfera modificada. (VARNAM; EVANS, 1996).

Estudos de Golden et al. (1989) e Mano et al. (2000), evidenciaram que *Aeromonas* spp. consegue se desenvolver em embalagens de atmosfera modificada com 100% de N<sub>2</sub>.

### 2.3.3 Características Bacteriológicas

#### 2.3.3.1 Morfológicas

Holt (1994) descreveu as *Aeromonas* spp. como bacilos retos, Gram negativos, não esporulados, não halofílicos, anaeróbios facultativos, medindo cerca de 1 a 3,5  $\mu\text{m}$  de comprimento e de 0,3 a 1  $\mu\text{m}$  de largura, móveis graças a um único flagelo polar, geralmente monotríquio, medindo 1,7  $\mu\text{m}$  de comprimento, mas quando em culturas novas podem se apresentar com flagelo lateral.

Segundo Franco e Landgraf (1996), algumas estirpes se apresentam como bastonetes curtos, enquanto outras se mostram longos e filamentosos.

Conforme relatado por Varnam e Evans (1996), estes microrganismos possuem morfologia celular distinta com considerável variação na forma e no tamanho das células.

Palumbo et al. (2001), citaram que a *A. salmonicida* é imóvel, sendo uma exceção no gênero em relação a motilidade.

#### 2.3.3.2 Seletividade

A maioria dos autores citou que para o enriquecimento seletivo deste microrganismo, o meio preferencial é o caldo tripticase soja, alguns enfatizaram a suplementação com ampicilina. A água peptonada alcalina também foi referenciada como opção de uso no enriquecimento seletivo do gênero *Aeromonas*.

Rossi Junior e Nader Filho (2000) avaliaram a água de um abatedouro bovino no interior do estado de São Paulo, cujas amostras depois de filtradas em membranas de éster de celulose, estas foram fragmentadas e enriquecidas em caldo tripticase soja (TSB) suplementado com 30mg de ampicilina/L.

Bizani e Brandelli (2001) e Bulhões e Rossi (2002), também enriqueceram amostras de queijo minas-frescal artesanal, em caldo tripticase soja (TSB) suplementado com 30 mg/L de ampicilina.

Pereira et al. (2004), usaram solução salina de “Butterfield” e Água Peptonada Alcalina (APA) com concentrações de 1% e 3% de NaCl, para

enriquecer amostras de mexilhões *in natura* e pré-cozidos, nas quais pretendiam pesquisar a presença de *A. hydrophila* e *Plesiomonas shigelloides*.

No plaqueamento seletivo para pesquisa de *Aeromonas* spp., os meios de cultivo normalmente utilizados para isolamento da família *Enterobacteriaceae* são bem aceitos, havendo sempre o cuidado do uso suplementar da ampicilina com o objetivo de inibir a microbiota competitiva. Em geral, meios seletivos contendo amido e sangue com ampicilina foram referenciados por grande parte dos autores consultados (BOIJINK; BRANDÃO, 2001, CALLISTER; AGGER, 1987, ESTERABALDI et al., 1973, NEVES, 1989).

O meio de cultivo diferencial “Rimler-Shotts” foi testado por Emmert et al. (1973), e indicado para facilitar o diagnóstico de infecção por *A. hydrophila* em animais e no homem.

Esterabaldi et al. (1973), ao realizarem plaqueamento em Ágar nutritivo, de material proveniente de ofídios após um surto de mortandade, observaram a presença de colônias com cerca de 2 mm, translúcidas, de coloração acinzentada e arredondadas. Ao utilizarem o Ágar Sangue, as colônias apresentaram-se com cerca de 1 a 2 mm e rodeadas por zona de hemólise. Após procederem as análises bioquímicas, identificaram a espécie *A. hydrophila*.

Figueiredo e Plumb (1977) isolaram *Aeromonas* spp. em pele e rim de “catfish” (*Ictalurus punctatus*), utilizando “Brain Heart Infusion Agar” (BHI), enquanto que a água do cultivo foi plaqueada em “Rimler-Shotts medium” (RS), sendo observado em ambos os meios, colônias amarelo-laranja.

Em 1979, Gorden et al. isolaram *Aeromonas* spp. em meio seletivo “Rimler-Shotts” (RS), e após identificação pelas provas bioquímicas, verificaram a presença de 85% de *A. hydrophila* na cavidade oral, 70% nos tecidos internos e 50% na área externa da mandíbula de jacarés (*Alligator mississippiensis*), originários da parte sudeste dos Estados Unidos da América.

Callister e Agger (1987) usaram Ágar amido com ampicilina para isolar quantitativamente *Aeromonas* spp. de alimentos do mercado varejista e, em todos os produtos analisados, incluindo o espinafre, aipo, alface, brócolis e alface, encontraram *Aeromonas* spp. Na maioria dos produtos, a contagem de *Aeromonas* spp. duplicou em duas semanas de armazenamento à 5°C. Em 92% dos produtos analisados foi identificada *Aeromonas* spp. citotóxica. A produção de toxina foi identificada em 100% das *A. hydrophila*, sendo considerada como o indicador mais

forte de citotoxicidade, e em 6% das *A. caviae*. Das toxinas produzidas, 90% eram hemolisinas.

Neves (1989) utilizou o Ágar Desoxicolato Citrato e o Ágar GSP com ampicilina para pesquisar a presença de *Aeromonas* spp., em sedimento de água coletada em redutos aquáticos naturais da cidade do Rio de Janeiro.

Segundo Jeppesen (1995), os meios de cultivo variam de efetividade e seletividade dependendo da origem do material avaliado, destacando que a opção do meio a ser utilizado e das condições de incubação dependem da necessidade de recuperar células injuriadas, inibir a microbiota acompanhante competidora e do objetivo da investigação (se qualitativo ou quantitativo).

Rossi Jr. e Nader Filho (2000) semearam as culturas enriquecidas de amostras de água de abatedouro bovino, em Ágar Vermelho de Fenol-amido com ampicilina e Ágar Dextrina com ampicilina. Para identificação bioquímica, utilizaram as colônias que apresentavam tamanho de 3 a 5 mm, de cor amarela e rodeadas por halo de hidrólise do amido ou da dextrina. Tanto na água não clorada dos currais quanto na água residuária de lavagem de carcaças, encontraram 36,7% de *Aeromonas* spp., enquanto que, na água de abastecimento do abatedouro esse gênero não foi isolado.

Bizani e Brandelli (2001) usaram Ágar Pseudomonas-Aeromonas e isolaram colônias de coloração amarela rodeadas por zona amarela que foram estriadas em Ágar sangue de carneiro para avaliar a hemólise.

Souza e Souza (2001) utilizaram "Tryptcase Soy Agar" (TSA) para avaliar amostras de água de rio e de peixes.

Boijink e Brandão (2001) semearam amostras de rins e lesões externas de juvenis de Jundiá (*Rhamdia quelen*) em Ágar Sangue, isolando estirpes de *Aeromonas* sp., *A. hydrophila*, *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp., identificadas posteriormente através de reações bioquímicas.

Costa e Rossi Jr. (2002) observaram que com o uso de Ágar Dextrina adicionado de ampicilina e Ágar Vermelho de Fenol-amido com ampicilina, as colônias de *Aeromonas* spp. apresentaram coloração amarelada com halo de hidrólise do amido ou da dextrina.

Bulhões e Rossi (2002) analisaram amostras de queijo-minas frescal adquiridos nos estados de Minas Gerais e São Paulo - Brasil, semeando-as após enriquecimento, em Ágar Vermelho de Fenol-amido com ampicilina e em Ágar

Dextrina. Isolaram 45,0% de *Aeromonas* spp. nas amostras do Estado de São Paulo e 57,5% nas de Minas Gerais, que se apresentaram como colônias grandes e circundadas por halo amarelo de hidrólise do amido ou da dextrina.

Segundo Euzéby (2003), o crescimento ótimo com TSA enriquecido com 5% de sangue de carneiro foi obtido com incubação à 28° C por 24 horas, mas todas as linhagens de *Aeromonas* spp. são capazes de crescer à 42°C depois de 24 a 48 horas de incubação. As colônias de *A. hydrophila* isoladas nessas condições eram circulares, com bordas regulares, translúcidas ou brancas, não pigmentadas, de aspecto liso e envolvidas por uma zona de hemólise beta.

Pereira et al. (2004), ao analisarem mexilhões (*Perna perna*) oriundos de Jurujuba, Niterói - RJ, enriqueceram as amostras e, semearam em Ágar seletivo para *Pseudomonas-Aeromonas* (GSP), Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) e Ágar Inositol Bile Verde Brilhante. Isolaram 380 estirpes de *Aeromonas* spp., identificadas bioquimicamente como: 37,10% de *A. media*, 15,50% de *A. hydrophila*, 14,80% de *A. caviae*, 11,60% de *A. veronii* bv *veronii*, 4,20% de *A. sobria*, 4,20% de *A. trota*, 1,31% de *A. schubertii*, 1,31% de *A. jandaei*, 0,52% de *A. veronii* bv *sobria* e 7,36% de *Aeromonas* sp.

Hirsch et al. (2006) estudaram oito tilapiculturas localizadas na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais, para avaliarem a ocorrência de *Aeromonas* spp. Os autores utilizaram o plaqueamento em TSA-ampicilina (10 mg/l) e isolaram nove espécies de *Aeromonas*: *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. schubertii*, *A. media*, além de *Aeromonas* atípicas.

### 2.3.3.3 Bioquímica

As linhagens de *A. hydrophila* possuem metabolismo respiratório e fermentativo, sendo capazes de fermentar a glicose com produção de gás, apresentam reação positiva para catalase, reduzem o nitrato a nitrito, resistem ao agente vibriostático O/129 na concentração de 10 e 150 µg/mL (VARNAM; EVANS, 1996)

Resposta positiva é verificada para lisina descarboxilase, arginina diidrolase, indol, acetoína, hidrólise da gelatina, amido, arginina, lactato, manitol e serina,

acidificação da galactose, maltose e trealose. Resposta variável, é obtida nos testes de hidrólise da esculina, acidificação de arabinose, da sacarose ou da salicina, assimilação do cis-aconitato, da L-arabinose, do aspartato, da frutose, da glicina, do isobutirato, da alfa-metil-manoside e do ácido urocânico (HOLT, 1994, ISONHOOD; DRAKE, 2002, PALUMBO et al., 2001, VARNAM; EVANS, 1996).

Varnam e Evans (1996) definiram bioquimicamente as *Aeromonas* spp. como oxidase e catalase positivas, capazes de oxidar e fermentar a glicose. Além destas características, em Holt (1994), Isonhood e Drake (2002) e Varnam e Evans (1996) foi citada a capacidade de fermentar outros carboidratos como a frutose, a maltose e a trealose, com produção de ácido e gás. Palumbo et al. (2001) acrescentaram que estas bactérias possuem a capacidade de produzir exoenzimas (amilase, protease, fosfolipase e Dnase) além de resistência ao agente vibriostatic O/129.

As *Aeromonas* spp. podem ser diferenciadas dos gêneros *Pseudomonas*, *Shigella*, *V. fluvialis*, *V. cholera* e *V. mimicus*, através das provas de: oxidase, fermentação da glicose, produção de gás a partir da glicose, reação do citrato, produção de ácido a partir do manitol, motilidade e sensibilidade ao agente vibriostatic O/129. Uma das principais provas na identificação das *Aeromonas* spp. é a oxidase, permitindo diferenciá-la da família *Enterobacteriaceae*, que são negativas neste teste. Enquanto que, a resistência ao agente vibriostatic O/129 (10 e 150 µg), permite diferenciá-las dos *Vibrio* spp., que normalmente são sensíveis. A distinção entre a *Aeromonas* spp. e a *Shigella* spp. se dá pelas provas de oxidase e motilidade, apresentando resultados positivos para o gênero *Aeromonas*, enquanto que a fermentação da glicose e a produção de ácido do manitol permitem diferenciá-las das *Pseudomonas* spp., que são negativas para as duas provas (VARNAM; EVANS, 1996).

Para diferenciação entre as espécies de *Aeromonas* spp., Palumbo et al. (2001) descreveram a utilização das provas de descarboxilação da ornitina e da lisina, diidrólise da arginina, hidrólise da esculina, produção de gás da glicose, Voges-Proskauer, indol, uso da arabinose e produção de ácido do manitol.

#### 2.3.3.4 Patogenicidade e virulência

Foi verificado nos últimos vinte anos, uma tendência do reconhecimento da implicação de *Aeromonas* spp. mesófila em processos patológicos gastrintestinais, septicemias, meningites, pneumonias, endocardites, úlceras de córnea, endoftalmites, peritonites, celulites. Os sintomas geralmente descritos nos processos gastrintestinais são de diarréias aquosas, dor abdominal, febre baixa, náuseas, vômitos e calafrios, cujo período de incubação ocorre de 24 a 48 horas e a incidência variando de acordo com as condições socioeconômicas do país afetado. São geralmente processos autolimitantes associados principalmente a pacientes pediátricos ou imunodeprimidos. Várias espécies de *Aeromonas* são citadas como produtoras de uma ampla gama de toxinas, cuja função não está completamente esclarecida. O desenvolvimento de infecções produzidas por *Aeromonas* spp. são relatadas como decorrência da presença de toxinas pré-formadas nos alimentos e/ou ao consumo de alimento cru contaminado (ELEY et al., 1993, FRANCO; LANDGRAF, 1996, GARCIA-LÓPEZ et al., 2004, MERINO et al., 1995, MURRAY et al., 2000, SANTOS et al., 1999).

Conforme relatado por Falgás (2003), a *Aeromonas* spp. pode se espalhar por todo o organismo causando infecção generalizada em pessoas com o sistema imune comprometido. Os indivíduos que sofrem de leucemia, carcinoma e cirrose, assim como aqueles tratados com drogas imunossupressivas ou que estejam sendo submetidos à quimioterapia, são considerados pacientes de risco, sendo propensos a infecções por *Aeromonas* spp. As espécies de *Aeromonas* spp. aparecem também associadas nas infecções de feridas.

O autor acima citado enfatiza que os fatores de virulência atribuídos às *Aeromonas* spp. são as fosfolipases, proteases, fimbrias, cápsulas de polissacarídeos, entre outros.

Segundo Merino et al. (1995), dois tipos de fimbrias foram identificados: pequenas e rígidas, que ocorrem em um grande número de bactérias, e as fimbrias longas e flexíveis, que ocorrem em um pequeno número de células bacterianas e, são estas estruturas que possibilitam a adesão da *Aeromonas* spp. à diferentes tipos de células.

Eley et al. (1993) e Franco e Landgraf (1996) informaram ter encontrado duas enterotoxinas em *Aeromonas* spp., as citotônicas e as citotóxicas. As citotônicas,

que são inativadas a 60°C por 20 minutos, provocam o arredondamento das células da adrenal em camundongos, porém sem destruí-las. Já a enterotoxina citotóxica, produzida por *A. hydrophila* em temperaturas de 4°C, causa o ingurgitamento da célula e morte do tecido celular.

Conforme relatado por Varnam e Evans (1996) as lecitinas e adesinas permitem a aderência de glicoconjugados sobre a superfície do epitélio da mucosa intestinal e sobre os eritrócitos. Os siderófilos apresentam mecanismo eficiente para retirar ferro do hospedeiro. As toxinas citotóxicas são as mais comumente produzidas pela *Aeromonas* spp.

Santos et al. (1999), citaram que a *Aeromonas* spp. produz  $\alpha$  e  $\beta$  hemolisinas, e seu efeito combinado pode causar hemólise e citotoxicidade. A  $\alpha$  hemolisina também pode causar lise de hemácias.

Segundo Chopra et al. (2000) existem evidências que o inibidor do canal de sódio, que controla a divisão celular, também está associado a vários fatores de virulência. O inibidor do canal de sódio foi identificado em linhagens de *Aeromonas* spp. Os autores supra citados postularam que este pode ter um importante papel na patogenia causada por essas bactérias, mas como no *Vibrio* spp., a importância de tais componentes não é completamente conhecida.

Murray et al. (2000) descreveram que entre os principais fatores de virulência associados à *Aeromonas* spp. destacam-se as fosfolipases, que são patogênicas para pescados, principalmente as glicerofosfolipases, como a acetiltransferase do colesterol que causa lise em eritrócitos, além das proteases que são capazes de causar danos tissulares, invadindo o hospedeiro, permitindo desta forma o aporte de nutrientes necessário ao desenvolvimento do microrganismo. Em estudos realizados foram identificados três tipos de proteases produzidas por *Aeromonas* spp. as da serina termoestáveis, as termolábeis e as sensíveis ao EDTA.

Palumbo et al. (2001) relataram que a relação entre os fatores de virulência e a capacidade de *Aeromonas* spp. disseminar infecções não está bem esclarecida, e que em teste de letalidade envolvendo camundongos saudáveis e imunodeprimidos, indicaram que a virulência de *A. hydrophila* e *A. sobria* foi maior que a de *A. caviae*.

Isonhood e Drake (2002) citaram que devido à falta de um modelo de experimentação animal que possibilite a identificação da enfermidade por *Aeromonas* spp., ainda não se pode garantir que a existência de grupos específicos sejam capazes de causar transtornos ao homem e, aparentemente somente

algumas estirpes podem ser responsáveis por quadros de enfermidade alimentar. Destacaram que dentre os fatores conhecidos estão as hemolisinas, exotoxinas, endotoxinas (lipopolissacarídeos-LPS), fimbrias, siderófilos e uma variedade de enzimas extracelulares.

Conforme relatado por Garcia-López et al. (2004), as lipases possuem propriedades associadas com a virulência, sendo a glicerofosfolípido-colesterol-aciltransferase (CGAT) que é encontrada em *Aeromonas* spp. e *Vibrio* spp., possuidora de propriedade de lise de membrana celular e de eritrócitos. Informaram que uma patologia parecida com a cólera e outra que se desenvolve como disenteria caracterizada por fezes aquosas, sanguinolentas e com muco, foi associada à presença de *A. hydrophila*.

Em experimento realizado por Johnson e Lior (1981), envolvendo estirpes de *A. hydrophila* isoladas a partir de material humano, foi possível verificar a incidência de produção de citotoxina em 81% das estirpes isoladas de fezes e 44% de material extra-intestinal.

Segundo O'Reilly e Day (1983), quando em presença de microbiota láctica competidora, como o *Lactococcus lactis*, o crescimento e a produção de proteases pela *A. hydrophila* podem ser inibidos. As proteases (metalopeptidase e peptidase séricas) produzidas em condições ótimas de temperatura, pH e potencial redox são capazes de causar danos teciduais, prejudicando o sistema de defesa do hospedeiro, e algumas ainda atuam na ativação de toxinas.

Sanyal et al. (1983), estudaram quarenta linhagens de *A. hydrophila* enterotoxigênicas isoladas de diferentes origens (fezes diarréicas e sadias e do meio ambiente), as quais apresentaram propriedade de aglutinação em hemácias humanas e de outros animais. Verificaram que as linhagens estudadas, provavelmente, possuíam diferentes combinações de sítios de polissacarídeos que intermediavam a sua aderência.

Os autores supra citados, verificaram ainda que, a hemaglutinina foi bem evidenciada, quando as amostras foram incubadas a 37°C e facilmente detectadas quando testadas a 25°C, sendo que essas linhagens apresentavam fimbria morfológicamente semelhante a da *A. liquefacians* (pequena e fina), mas numerosa como a da *E. coli*. Mais de uma estirpe foi fortemente hemaglutinadora com sangue humano tipo "O" e hemácias de cobaia, um fenômeno geralmente observado com *E. coli* enterotoxigênica. Colwell et al. (1997) relataram que a membrana plasmática

dos eritrócitos contém uma glicoproteína de 47 kDa que liga o canal de formação toxina aerolysin, com alta afinidade, e representa a sensibilidade destas células à toxina.

Janda (1991) relatou que estirpes invasivas de *A. hydrophila* estavam associadas a casos de disenteria, indicando um mecanismo de invasão tecidual, que ainda necessitava de estudos para esclarecer o mecanismo de ação.

Um único bacteriófago de *A. hydrophila* sorotipo O:34 foi isolado, purificado e caracterizado por Merino et al. (1992). A caracterização química confirmou que o receptor de superfície dessa bactéria era o antígeno-O polissacarídico, componente do lipopolissacarídeo específico do sorotipo O:34. O alto peso molecular da fração lipopolissacarídica (enriquecida no antígeno O), pode inativar o bacteriófago PM1 Fago-resistente (que tem resistência ao Fago). Os autores isolaram mutantes Fago-resistentes, os quais descobriram ser destituídos de lipopolissacarídeo antígeno-O. Nenhuma outra molécula de superfície celular foi envolvida no Fago-ligação (ligação do Fago). O espaço (área de ação) do bacteriófago PM1 foi descoberto por ser bem estreito, produzindo placas somente em presença de *A. hydrophila* sorotipo O:34.

Conforme relatado por Merino et al (1995) a resistência à ação do complemento favorece a patogenia, pois frente às bactérias Gram-negativas o complemento é ativado, tanto pela via de ativação do complemento clássica (CPC) como pela alternativa (APC) ou por ambas simultaneamente. No caso da *A. hydrophila* sorogrupo O:34, que é resistente à ação bactericida do complemento, só é ativada a via do CPC

Albert et al. (1995) citaram que a estrutura e a composição genética da *A. hydrophila* são responsáveis pela sua toxicidade, sendo os fatores de virulência: o gen enterotoxina citotóxica (Ato), que é um polissacarídeo e um dos principais fatores que fazem essa espécie patogênica; as enterotoxinas citotônicas "Heat-labile" (Alt) e as enterotoxinas citotônicas "Heat-stable" (Ast) que também são genes que contribuem para a toxicidade.

Aguilar et al. (1997) identificaram dois gens, o *orf1* e o *orf2*, sendo que o gen *orf1* apresentou uma elevada homologia com o gen *wca* de *Klebsiella pneumoniae* K2, e o gen *orf2* com o gen *wcaJ* da *E. coli* K12, levando a conclusão que esses genes da *A. hydrophila* sorogrupo O:34, estão associados ao mecanismo que origina a cápsula polissarídica.

Os sorogrupos O:34 e O:11 da *A. hydrophila* geram uma cápsula polissacarídica em lisado de vísceras de pescado, simulando o crescimento *in vivo* (MERINO et al., 1997).ou em crescimento em meios ricos em glicose (MARTINEZ-MURCIA, 1999)

Rall et al. (1998), detectaram a produção de enterotoxina citotóxica, em 67% das estirpes de *A. sobria*, em 60% das estirpes de *A. hydrophila* e em 40% das de *A. caviae*, isoladas de peixes “Pintado” coletados no comércio de São Paulo e inoculadas em camundongos recém-nascidos. Em relação à produção de enterotoxina citotônica, 17% das estirpes de *A. sobria*, 20% das de *A. caviae* e nenhuma das de *A. hydrophila* foram positivas *in vivo* e, todas as estirpes analisadas apresentaram resultados negativos em cultura de célula Hep-2. Os autores observaram também que as estirpes isoladas eram sensíveis a maioria dos antimicrobianos testados.

Merino et al. (1999) citaram que além da aerolisina, do glicerofosfolípídeo (aciltransferase do colesterol - CGTA) e da protease da serina, a hemolisina também é um dos fatores que contribui para a patogenia da *A. hydrophila*. Relataram ainda, como característica patogênica dessa espécie, a capacidade de digerir a gelatina, a hemoglobina e a elastina; assim como a presença de fimbrias (pili) que facilitam a adesão dessa bactéria nas células do hospedeiro. Afirmaram que o Act e a aerolisina são ativados quando a *A. hydrophila* adere às células, e tanto o homem como o pescado possuem receptores mucosos, facilitando a aderência direta nas células. Complementando, comentaram que a capacidade dessa bactéria circular através da corrente sanguínea, podendo atingir todos os órgãos, facilita a disseminação, justificando desta forma o potencial de virulência dessa espécie.

Conforme relatado por Murray et al. (2000), as ligações S são uma propriedade patogênica dos microrganismos, tanto os Gram + como os Gram –, sendo encontradas nas subunidades de glicoproteínas, e atuando sobre as paredes celulares das bactérias, via lipossacarídeos, aumentando a capacidade de adesão e a colonização na mucosa intestinal.

Os autores supra citados, afirmaram que a *A. hydrophila* sorotipo O:11 apresenta esta propriedade, pois as fimbrias encontradas nesta bactéria, que são não filamentosas, apresentaram a habilidade de produzir cápsulas de polissacarídeos, intensificando a capacidade de adesão à superfície dos tecidos.

Ressaltaram que os efeitos enteropatogênicos destas cápsulas, ainda não estão esclarecidos, mas tratar-se de uma estrutura formada por polissacarídeos e polipeptídios, que recobre a membrana externa da bactéria. Esta estrutura é importante para a sobrevivência da bactéria dentro do hospedeiro, já que promove a resistência à ação do complemento, podendo atuar como barreira frente às moléculas hidrofóbicas tóxicas como os detergentes, e ajudam na aderência a outras bactérias ou aos tecidos do hospedeiro.

Segundo Chopra et al. (2000), o gen citotóxico aerolisina, relacionado à enterotoxina (Ato), além da habilidade de lisar hemácias, pode causar danos aos tecidos. Outra função relatada foi a ativação do ácido araquidônico (AA), aumentando a produção de AMPc dos macrófagos.

Por via intramuscular, Boijink e Brandão (2001), inocularam as suspensões salinas de  $1,3 \times 10^9$  e  $3,5 \times 10^4$  UFC de *A. hydrophila*/mL, em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). A partir do momento da inoculação foi observado que os peixes tiveram seu comportamento alterado, permanecendo estáticos no fundo da caixa e apresentando 100% de mortalidade em 24 horas.

De acordo com Isonhood e Drake (2002) e García-López et al. (2004), o antígeno LPS - O da *A. hydrophila* desempenha um importante papel na adesão do microrganismo às células da mucosa intestinal. Citam que pesquisas recentes demonstraram que estirpes contendo o antígeno LPS – O, são mais virulentas quando crescem em baixas temperaturas. Enfatizaram que enzimas extracelulares como proteases, DNases, elastases, lecitinases, amilases, gelatinases e citinases, apresentam importância no mecanismo de patogenia de *Aeromonas* spp.

Segundo Falgás (2003), a *A. hydrophila* apresenta dois tipos de enterotoxinas citotônicas classificadas em: termolábeis e termoestáveis. As enterotoxinas termolábeis são resistentes à 56°C durante 10 minutos, são capazes de causar o aumento da secreção de fluidos em animais de experimento, apresentam tamanho de 44kDa, são biologicamente ativas *in vitro* e *in vivo*, e foram isoladas em casos de diarreias produzidas por *A. hydrophila*. Informa que essas toxinas elevam os níveis de AMPc e prostaglandinas. Outra enterotoxina descrita pelo autor apresenta as seguintes características: são termoestáveis, resistindo a temperatura de 100°C por 30 minutos, possuem tamanho de 70 kDa, não aumentam os níveis de AMPc nem de prostaglandinas nas células, mas causam acúmulo de fluídos, além de reagir com as toxinas anticoléricas.

Conforme relatado por Abrami et al. (2003), a hemolisina alfa que se forma em temperaturas menores que 37°C, durante a fase de crescimento estacionário da *Aeromonas* spp., ocasiona hemólise incompleta dos glóbulos vermelhos

### 2.3.4 Tipo de Alimentos e Reservatórios Envolvidos

Os diversos tipos de pescado, tanto de água doce, quanto marinhos e estuarinos, eram tidos como os únicos alimentos susceptíveis à contaminação por *Aeromonas* spp., mas na atualidade, devido ao número crescente de pesquisas realizadas envolvendo outros tipos de alimentos (queijo, frango, carne bovina, hortaliças etc.), verifica-se que qualquer alimento, *in natura* ou processado, está sujeito a contaminação por este agente microbiano. O estudo da ocorrência de *Aeromonas* spp. em produtos de origem vegetal, principalmente legumes e hortaliças, não têm sido enfatizado, e por serem produtos normalmente consumidos *in natura*, o perigo da contaminação do consumidor é maior. A água seja tratada ou não, de uso industrial ou doméstico, de cultivo, lagos, rios, etc. têm se mostrado como o principal fator na disseminação de *Aeromonas* spp.

Garcia-López et al. (2004) descreveram que a *Aeromonas* spp. pode sobreviver em águas cloradas, se outros fatores de crescimento como temperatura maior que 14°C, fontes de carbono orgânico e fitoplânctons estiverem presentes. Ressaltaram que como várias espécies de *Aeromonas* spp. produzem toxinas, responsáveis por ETA, faz-se necessário o estudo de sua ocorrência nos alimentos *in natura* e processados, principalmente no pescado, visto ser o maior vetor de propagação a água, *habitat* desta bactéria.

#### 2.3.4.1 Água

Conforme relatado por Huys et al. (1997), o *habitat* mais comum das *Aeromonas* spp. são os ambientes aquáticos. A incidência desse gênero, tanto em águas de abastecimento cloradas e não cloradas, como em águas engarrafadas, tem especial relevância para a saúde pública.

Abeyta et al. (1990) e Palumbo (1996) citaram que a *Aeromonas* spp. apresenta ocorrência amplamente difundida no meio ambiente, fazendo parte da microbiota normal da água.

Kirov (1993) concluiu que existem evidências de que algumas linhagens de *Aeromonas* spp. são enteropatogênicas, possuindo habilidade de produzir enterotoxinas, citotoxinas, hemolisinas e/ou habilidade de invadir células epiteliais. Observaram que as linhagens possuidoras destas características são contaminantes comuns de água potável e de uma grande diversidade de alimentos. Ressaltaram que o contato ou consumo de água contaminada, especialmente no verão, é um grande fator de risco para gastroenterites associadas à *Aeromonas* spp.

Em 1990, Havelaar et al. relataram que naquela época, na Holanda já havia a indicação de que a quantificação de *Aeromonas* spp., se tornasse análise de rotina e fosse utilizada como indicador de qualidade dos sistemas de distribuição de água, sendo estabelecido como padrão máximo 200 UFC/100 mL.

Segundo Joseph e Carnahan (1994) e Joseph e Carnahan (2000), nos Estados Unidos da América, o gênero *Aeromonas* foi incluído na lista de microrganismos a serem investigados, em amostras de água destinadas ao consumo humano.

A RDC nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não faz referência em relação à pesquisa, identificação e/ou quantificação desse gênero, nem nas águas (de abastecimento ou não) e nem em alimentos (BRASIL, 2001).

Ghenghesh et al. (2001) descreveram pesquisa realizada na Líbia, quando analisaram 1000 amostras de água potável, identificando a presença de *Aeromonas* spp. em 48,7% das amostras, sendo isoladas as espécies *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* e estirpes atípicas.

Conforme relatado por Palumbo et al. (2001), a *A. hydrophila* pode ser encontrada em muitos nichos ecológicos, sobretudo em águas, seja de rios e lagos, poluídas ou não, ou até mesmo em água salina, onde pode alcançar contagem de uma até  $10^4$  UFC /mL.

Souza e Souza (2001), realizaram pesquisa de microrganismos na água do rio Congonhas, no município de Sertaneja, no Estado do Paraná, Brasil, verificando a presença de *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Bacillus* spp. e *Flavobacterium* spp., sendo predominante os gêneros *Flavobacterium* spp. e *Acinetobacter* spp. Os níveis de *Aeromonas* spp.

variaram entre  $3,1 \times 10^2$  a  $1,0 \times 10^3$  UFC/mL. Verificaram através da realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos, menor resistência para a oxitetraciclina.

Garibay et al. (2006) analisaram 40 fontes hídricas ambientais isolando 45% de *A. hydrophila* e 10% de *A. veronii* bv *sobria*.

O guia para qualidade da água potável, da Organização Mundial da Saúde (OMS), recomenda a pesquisa de *Aeromonas* spp. na água potável, visando garantir a sua qualidade, principalmente em locais onde haja a probabilidade de risco (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005).

Em águas residuais de tratamentos de esgoto e industriais, a *Aeromonas* spp. também pode ser encontrada em números que variam entre  $10^7$  e  $10^8$  UFC/mL (LECLERC et al., 2002 e VARNAM; EVANS, 1996).

A ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* em amostras de água industrial (abastecimento/residuária), obtidas em matadouro bovino, foi avaliada por Rossi Jr. e Nader Filho (2000). Ao analisarem 30 amostras de água representativas de cada tipo, isolaram bactérias do gênero *Aeromonas* em 10 (33,33%) amostras de água dos currais, em 10 (33,3%) amostras de água residuária da lavagem das carcaças, porém nas amostras de água de abastecimento das instalações os autores não observaram crescimento do gênero. As espécies isoladas foram *A. hydrophila* em duas (2,2%) e *A. caviae* em 19 (21,1%) das amostras. Uma estirpe considerada atípica foi isolada da água dos currais. Os resultados evidenciaram que a água dos currais pode ser uma importante fonte de contaminação, principalmente na superfície corporal do animal, de onde as *Aeromonas* spp. podem ser disseminadas para a sala de matança.

Bizani e Brandelli (2001) ao investigarem a ocorrência de *Aeromonas* spp. em 70 amostras de água de abatedouro bovino, identificaram o gênero em 21,4% das amostras avaliadas. A *A. hydrophila* foi isolada de 11,4% das amostras de água de abastecimento e de 25,7% da água escoada de carcaças, a *A. sobria*, somente foi isolada em 5,7% das amostras de água de abastecimento. Apesar dos autores terem observado maior frequência do gênero na água escoada das carcaças somente a espécie *A. hydrophila* foi isolada. A investigação do fator de virulência revelou reação positiva de hemólise e hemaglutinação. Concluíram que a *Aeromonas* spp. que estava presente no sistema de água de abastecimento poderia ser um agente potencial de contaminação de carcaças e portanto, facilmente difundida nos alimentos derivados.

González et al. (2001) enfatizaram que mesmo de águas supostamente límpidas, a *Aeromonas* spp. pode ser levada ao animal e, multiplicar-se em temperaturas normais de estocagem do pescado.

Costa e Rossi Jr. (2002) analisaram diversas amostras de diferentes locais do fluxograma de abate de frangos e isolaram *Aeromonas* spp. em 80% das amostras de água de pré-resfriamento das carcaças. As espécies identificadas foram: *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* e *A. trota*. Os autores não identificaram *Aeromonas* spp. na água de abastecimento da indústria nem na água do tanque de escaldagem. Segundo os autores esse resultado indicou que, independente do controle higiênico-sanitário adotado pela indústria, as carcaças de frangos foram contaminadas na sua obtenção (na fase de evisceração), o que provocou o aparecimento de *Aeromonas* spp. nas carcaças resfriadas e prontas para a comercialização.

#### 2.3.4.2 Animais

Gorden et al. (1979) relataram o isolamento de *A. hydrophila* em órgãos internos de nove jacarés (*Alligator mississippiensis*) adultos, no sudoeste dos Estados Unidos. Essa bactéria estava presente na cavidade oral de 85% dos animais.

Varnam e Evans (1996) citaram que a correlação entre o consumo de moluscos e a ocorrência de surtos envolvendo *A. hydrophila* nos Estados Unidos da América teve como causa a natureza filtradora dos moluscos bivalves, que podem albergar grandes quantidades de microrganismos.

Tsai e Chen (1996) e Isonhood e Drake (2002) ressaltaram que devido ao *habitat* da *A. hydrophila* ser a água, a contaminação de peixes, ostras, mexilhões, caranguejos e camarões é comum e de grande importância sanitária.

Rall et al. (1998) avaliaram peixes “Pintado” coletados no comércio de São Paulo e encontraram *Aeromonas* spp. em 48% das amostras, quando isoladas pelo método do plaqueamento direto. Quando usado o método presença/ausência a porcentagem de positividade foi de 42%. A espécie mais freqüente foi *A. caviae*, seguida por *A. hydrophila* e *A. sobria*.

Lehane e Rawlin (2000) enfatizaram que as infecções por *Aeromonas* spp. ocorrem tanto em peixes de água doce quanto de água marinha, sendo mais afetados os oriundos de aqüicultura.

Souza e Souza (2001) realizaram estudo na microbiota dos peixes do rio Congonhas, no município de Sertaneja no Estado do Paraná, Brasil. Em 44% dos peixes analisados além da *Aeromonas* spp., que foi a mais freqüente, isolaram os seguintes gêneros: *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. e *Lactobacillus* spp.

Pereira (2003) avaliou amostras de mexilhões isolando 568 estirpes microbianas. Das 372 estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas, foram identificadas as espécies *A. media* 31,1%; *A. hydrophila* 15,5%; *A. caviae* 14,8%; *A. veronii* bv *veronii* 11,6%; *A. veronii* bv *sobria* 0,52%.

Objetivando verificar a capacidade enterotoxigênica de estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas em diferentes amostras de locais do fluxograma de abate bovino, Rossi Junior et al. (2001) testaram 102 estirpes (18 da espécie *A. hydrophila*, 65 de *A. caviae* e 19 de *A. atípicas*), procedendo testes de inoculação intragástrica em camundongos lactentes e em alça intestinal de coelho. Revelaram-se como produtoras de enterotoxina três (16,7%) estirpes da espécie *A. hydrophila* originárias das mãos do manipulador antes que ele iniciasse suas atividades, da carne desossada pronta para o consumo e, uma (1,5%) da espécie *A. caviae*, também isolada das mãos do manipulador. Os resultados preocuparam os autores em virtude de tratar-se de indústria de alto nível higiênico-sanitário.

Costa e Rossi Jr. (2002) analisaram oito pontos diferentes do fluxograma de abate de frangos, objetivando identificar a contaminação da carne de frango por *Aeromonas*. De cada ponto foram coletadas 25 amostras, sendo isoladas *Aeromonas* spp. em nove (36%) amostras de penas, em 14 (56%) de fezes, em 18 (72%) de carcaças não evisceradas, evisceradas e resfriadas e em 20 (80%) de água do pré-resfriamento. Foram identificadas as espécies, *A. hydrophila* em 39 (15,2%) amostras, *A. sobria* em 69 (26,9%), *A. caviae* em 87 (34%), *A. veronii* em 18 (7%), *A. schubertii* em três (1,2%), *A. trota* em duas (0,8%) e *A. jandaei* em uma (0,4%). Segundo os autores os resultados indicam que as fezes e as penas podem desempenhar papel significativo na disseminação desse microrganismo em todas as fases do abate, inclusive em carcaças resfriadas e prontas para a

comercialização, determinando risco à saúde do consumidor, ainda que não tenham observado contaminação na água de abastecimento e de escaudagem.

Zanella et al. (2004) ao analisarem 23 amostras de fezes de aves constataram a presença de *Aeromonas* spp. em seis amostras (26,08%), as quais demonstraram possuir atividade hemaglutinante.

Hirsch et al. (2006) estudaram oito tilapiculturas localizadas na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais. De cada propriedade coletaram amostras de peixes, de água do tanque e do abastecimento do sistema. Realizaram plaqueamento em TSA-ampicilina (10 mg/L) e as amostras de rim dos peixes foram cultivadas em Ágar Sangue de cavalo a 5%. Obtiveram 75 colônias isoladas de nove espécies de *Aeromonas*: *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. schubertii*, *A. media*, além de *Aeromonas* atípicas. Do total isolado, oito foram provenientes da superfície corpórea de peixes, 14 da água de abastecimento e 53 da água do tanque. Não houve isolamento a partir dos espécimes de parênquima renal.

#### 2.3.4.3 Alimentos

A *A. hydrophila* é encontrada freqüentemente no pescado. Também existem relatos da sua ocorrência em amostras de carnes vermelhas e de aves domésticas, queijo minas frescal, hortaliças, entre outros.

Como o conhecimento acerca dos mecanismos da virulência da *A. hydrophila* ainda não está devidamente esclarecido, presume-se que nem todas as linhagens sejam patogênicas. Numerosos estudos tem investigado a incidência de *Aeromonas* spp., como parte de um conjunto de microrganismos que podem estar presentes em diversos alimentos afetando a sua qualidade e segurança (COSTA; ROSSI Jr., 2002, DOHERTY et al., 1996, GARIBAY et al., 2006, ISONHOOD; DRAKE, 2002, HANDFIELD et al., 1996, PALUMBO, 1996, PALUMBO et al., 2001).

Desde 1993, Kirov já relatava que alimentos contaminados com *Aeromonas* spp. podem veicular infecções. Algumas linhagens têm sido encontradas nos alimentos e apontadas como causadoras de DTA resultante, não só da colonização, mas também devido aos fatores de virulência e, de possíveis intoxicações causadas pela ingestão de alimentos estocados sob refrigeração.

Callister et al. (1987) ao analisarem amostras de hortaliças, incluindo brócolis, alface, aipo, espinafre entre outros, coletados em supermercado e armazenados por 12 dias a 15°C, isolaram 92% de *Aeromonas* spp., sendo que 6% foram identificadas como *A. caviae* e 1% de *A. hydrophila*.

Varnam e Evans (1996) citaram a presença de *A. hydrophila* em alimentos de origem vegetal como brócolis, espinafre, alface e salsa.

Alcides et al. (1999), detectaram a ocorrência de *Aeromonas* spp., em amostras de alface, salsa e agrião mantidos a 5°C, resistentes à gentamicina e ao trimetoprim.

Conforme observação de Palumbo (1996) e Palumbo et al. (2001), a presença de *Aeromonas* spp. nos alimentos tem sido atribuída ao contato do alimento com água contaminada.

Kirov (1993) e Kirov (1997) relataram que alguns autores consideram que *Aeromonas* spp. deveria ser incluída na listagem de microrganismos que podem atuar como agentes causadores de toxiinfecções alimentares.

Ingham (1990) e Merino et al. (1995) concluíram que, após o isolamento deste microrganismo em alimentos embalados a vácuo, a presença de O<sub>2</sub> exercia pouca influência sob o crescimento de *A. hydrophila*.

Palumbo (1996) ressaltou que estes microrganismos sobrevivem durante grande período de tempo quando estocados sob temperaturas de refrigeração (4 a 7°C).

Costa e Rossi Jr., (2002), Doherty et al. (1996), Isonhood e Drake (2002), Palumbo et al. (2001), Tsai e Chen (1996), referiram-se a presença de *A. hydrophila* em vários tipos de alimentos de origem animal, como carne suína, bovina, ovina, aves, leite cru, e pescado.

Bulhões e Rossi Junior (2002) analisaram 160 amostras de queijo-de-minas frescal artesanal, adquiridas no comércio varejista dos municípios de Poços de Caldas - MG e Jaboticabal - SP, a fim de verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* no produto. Oitenta e duas (51,2%) encontravam-se contaminadas pelo microrganismo, com populações que variavam de  $5,0 \times 10^3$  a  $4,0 \times 10^5$  UFC/g. Foram identificadas as espécies *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. schubertii*, além de estirpes consideradas atípicas. Os autores concluíram que bactérias do gênero *Aeromonas* podem ser veiculadas através do queijo-de-minas tipo frescal artesanal e este fato devia servir de alerta aos serviços de saúde

pública.

Conforme relatado por Isonhood e Drake (2002), *A. hydrophila* parece não resistir aos tratamentos tecnológicos geralmente utilizados no processamento de alimentos, pois além de ser termosensível, não cresce em pH abaixo de 5,0 ou em concentração de NaCl acima de 3,5%, sobretudo em combinação com polifosfatos.

De um total de 221 espécies do *Aeromonas* isoladas no México por Garibay et al. (2006), vinte foram oriundas de alimentos, sendo identificadas 55% de *A. hydrophila* e 90% de *A. veronii* bv *sobria*.

#### 2.3.4.4 Infecções em humanos

##### **2.3.4.4.1. Intestinais**

A *Aeromonas* spp. atualmente é considerada patógeno emergente, e têm sido isoladas e indiciadas como agente etiológico em vários processos infecciosos.

Segundo Champsaur et al. (1982), a gastroenterite causada por *Aeromonas* spp. pode ser caracterizada por diarreia aquosa, que ocorre em 75% dos casos, ou por disenteria.

Conforme relataram Borsh et al. (1974) e Sugita et al. (1995), a *Aeromonas* spp. pode ser encontrada na microbiota de caráter transitório, nas fezes de humanos, de animais terrestres e aquáticos, sendo que este *habitat* parece não merecer importância em saúde pública, ficando a água utilizada nas indústrias de beneficiamento como principal responsável pelas contaminações de alimentos.

Nojimoto et al. (1997), isolaram *A. caviae* (7,7%); *A. salmonicida* (6,6%); *A. sobria* (4,3%); *A. hydrophila* (2,2%) e *A. achromogenes* (1,1%), em 72 fezes diarreicas de crianças menores de cinco anos no período de 1995 a 1996.

Borrell et al. (1998), citaram que do ponto de vista geográfico, a frequência de *Aeromonas* spp. em fezes com sintomatologia diarreica, oscilava entre 80% no Canadá a 0,18% na Dinamarca. Os países com alta frequência eram o Peru (52,4%), a Tailândia (18% a 31%), o Japão (11,1%), a Austrália (11%) e a Inglaterra (11%).

Atkins e Cleary (2000) observaram que a gastroenterite causada por *A. hydrophila* e *A. sobria* tende a ser aguda e autolimitada, enquanto a diarreia causada por *A. caviae* além de crônica e intermitente, pode durar semanas.

Isonhood e Drake (2002) caracterizaram como grupos considerados de risco quanto à infecção por *A. hydrophila*, as crianças, os idosos e os imunodeprimidos.

Entre os anos de 1979 a 2002, Ferran et al. (2004), analisaram 75 episódios de bacteremia por *Aeromonas* spp., ocorridos em pacientes idosos (maiores de 65 anos) e hospitalizados. Compararam episódios de bacteremia monomicrobial causadas por *Aeromonas* spp. (n=54), com as causadas por *E. coli* (n=108) e *Pseudomonas aeruginosa* (n=108), para avaliar as diferenças na apresentação clínica e suas conseqüências. Dos 75 episódios de bacteremia por *Aeromonas* spp. apresentavam-se doentes 72% dos pacientes, destes 36% sofriam de doença crônica, 33% de neoplasia. Do total de doentes, 52% apresentaram dor abdominal, dos quais 40% foram diagnosticados como bacteremia primária, ocorrendo fatalidade em 36%. Vinte e dois episódios avaliados foram de pacientes hospitalares, em 36 (48%) pacientes idosos observaram que 21 (28%) apresentaram infecção polimicrobial.

Zanella et al. (2004) avaliaram 12 amostras de fezes de trabalhadores de aviários e 12 amostras controle de pessoas da comunidade. Em 14,81% das amostras dos trabalhadores isolaram *Aeromonas* spp., sendo 44,4% *A. hydrophila*, 33,3% *A. sobria* e 16,6% *A. caviae*. O grupo controle apresentou resultado negativo para esta bactéria. Quanto aos fatores de patogenicidade, 61,1% apresentaram os cinco fatores de patogenicidade, sendo a atividade hemaglutinante identificada em todos os isolados; 83,3% apresentaram atividade hemolítica; 66,6% foram detectadas a atividade lipolítica e a atividade proteolítica e, 61,1% eram formadores de biofilmes. Os autores concluíram que a ocorrência de espécies patogênicas de *Aeromonas* spp. em fezes de trabalhadores de aviários, permite considerá-la como potencial agente causador de DTA.

Segundo Garcia-López, et al. (2004), existe um crescente interesse sobre os fatores de virulência da *A. hydrophila* e sua correlação com os casos de gastroenterite humana, já que muitos desses fatores ainda não foram elucidados.

Garibay et al. (2006) isolaram em 161 amostras clínicas, 20,4% de *A. hydrophila*, 20,4% de *A. caviae* e 19,25% de *A. veronii* bv *sobria*.

Segundo Falgás (2003), a maioria dos estudos com população de todas as idades, geralmente apontam a *A. caviae* como a espécie mais frequentemente isolada, seguida da *A. hydrophila* e *A. veronii*. As taxas dos portadores assintomáticos, nos países não tropicais são em torno de 1%, enquanto nos países tropicais é de 20%.

#### **2.3.4.4.2 Extra-intestinais**

Conforme relatado por Falgás (2006), em 1954 foi diagnosticado o primeiro caso de septicemia por *Aeromonas* spp. em um paciente de 40 anos previamente sadio, que morreu 48 horas após o início do quadro clínico. A partir de então, o número de casos tem aumentado de forma progressiva. No entanto, nem todos os casos são acompanhados devidamente de dados clínicos e microbiológicos, que permitam estabelecer a prevalência do isolamento ou definir o poder patogênico da espécie.

Um exemplo de meningite causado por *A. hydrophila* foi relatado por Qadri et al. (1976). A infecção ocorreu após uma craneotomia fronto-temporal. Na época, segundo os autores, a *A. hydrophila* era conhecida por causar bacteremia em pacientes sob o tratamento com agentes imunossupressores e, no caso em questão o paciente era imunologicamente sadio.

São relatadas na literatura casos de infecções extra-intestinais onde o agente causal pode ser a *Aeromonas* spp., tais como infecções superficiais devido ao contato com águas contaminadas, infecções em pacientes com processos neoplásicos, hematológicos, com disfunções hepatobiliares e infecções em pacientes com ou sem outras enfermidades, porém em menor frequência são relatados ocorrência de meningite, infecção urinária, endocardite, osteomielite, amidalite e otite média (JANDA; ABBOTT, 1995; JANDA; ABBOTT, 1998).

Lee et al. (1997) encontraram *Aeromonas* spp. nas águas de Queensland e do Sudeste Asiático. Os autores citam que de todas as espécies, a *A. sobria* é a mais virulenta e invasiva, sendo um agente infeccioso de tecidos moles e provoca úlcera da córnea. Relataram que em um paciente jovem, de 14 anos de idade, apresentando ferimento penetrante no olho provocado por um pássaro, isolaram *A. sobria*. Apesar do uso de antimicrobianos pelas vias intravenosa, intravetrial e

tópica, a endoftalmite foi irreversível. Sugeriram então, que a infecção por *A. sobria* deve ser avaliada nos ferimentos penetrantes do olho, principalmente as que tenham relato de contato com água.

Segundo Janda e Abbott (1998), as enfermidades mais comumente associadas aos quadros de septicemia causada por *Aeromonas* spp. são: a leucemia, determinados tipos de câncer (40 a 50%), as enfermidades hepatobiliares (15 a 30%), a diabetes (3 a 5%) e desordens diversas, incluindo a pancreatite, traumatismos, anomalias cardíacas, desordens gastrintestinais, anemia e problemas respiratórios.

As espécies reconhecidas como causadoras de infecções septicêmicas em humanos são: *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *sobria*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. caviae*, *A. jandaei*, *A. schubertii* e *A. trota* (CARNAHAN et al., 1991; KHARDORI; FAINSTEIN, 1988, e THOMSEN; KRISTIANSE, 2001).

Em 2004, Garcia-López et al. afirmaram que existe envolvimento da *Aeromonas* spp. em casos de septicemia, meningite, peritonite, endocardite, alterações do trato respiratório, infecções oculares e síndrome urêmica hemolítica.

### **2.3.5 Sensibilidade aos Agentes Antimicrobianos**

Kumar e Dey (1986) ao verificarem a sensibilidade antimicrobiana de estirpes de *Aeromonas* spp., isoladas de carpas originárias da Índia, observaram que as linhagens mostravam-se mais sensíveis à tetraciclina, eritromicina e cloranfenicol.

Ellison e Mostow (1986) relataram um caso de meningite piogênica causada por *A. hydrophila* em paciente com severa hepatite alcoólica, que respondeu bem à terapia com cefotaxime e sulfato de gentamicina. A terapia antibiótica que fornece concentrações adequadas do CSF (Colony-Stimulating Factor, granulocitárias e macrófagas/granulocitárias respectivamente) deve ser considerada no tratamento dos pacientes com septicemia por *Aeromonas* spp.

Neves (1989) realizou o teste de sensibilidade antimicrobiana em estirpes de *A. caviae* (60%), *A. veronii* (14%), *A. hydrophila* (1%), *A. sobria* (1%) e *A. sp.* (24%), isoladas de cinco redutos aquáticos da cidade do Rio de Janeiro, e observou os seguintes resultados: 100% das estirpes revelaram-se sensíveis à norfloxacin,

amoxicilina e kanamicina, 89,4% à gentamicina, 86,8% à amicacina, 75% à nitrofurantoina, 50% ao cloranfenicol e à tetraciclina.

Nojimoto et al. (1997) isolaram *A. caviae* (7,7%), *A. salmonicida* (6,6%), *A. sobria* (4,3%), *A. hydrophila* (2,2%) e *A. achromogenes* (1,1%), em fezes diarréicas de crianças. O teste de sensibilidade antimicrobiana das espécies isoladas apresentou maior sensibilidade à ciprofloxacina, diminuindo gradativamente com cloranfenicol, gentamicina, ampicilina e eritromicina.

Wen-Chien et al. (1998) relataram que o gênero *Aeromonas* tem mostrado resistência a um grande número de antimicrobianos tais como: carbenicilina, ampicilina, e cefalosporinas de primeira e segunda geração. Dos mecanismos específicos responsáveis por esta resistência, que já se encontravam sob estudo naquela época, era descrita a produção de pelo menos quatro tipos de betalactamases.

Kämpfer et al. (1999), que isolaram 217 estirpes, representando as 14 espécies de *Aeromonas* descritas até aquela época, e submeteram-nas ao teste de sensibilidade antimicrobiana, utilizando 69 diferentes fármacos, concluíram que não havia diferença significativa entre as diferentes espécies. A maioria das estirpes mostrou-se sensível à tetraciclina, quinolona, cloranfenicol, nitrofurantoina, trimetoprim, à maioria dos aminoglicosídeos e das cefalosporinas. Os autores ressaltaram que um fator que deveria ser considerado, quando se estuda a resistência a diferentes fármacos, é a zona geográfica originária das estirpes, já que atualmente um novo padrão de resistência é observado em estirpes de *Aeromonas* spp. de origem ambiental, normalmente relacionado à regiões com elevado impacto humano.

Goñi-Urriza et al. (2000) testaram a atividade de 19 antimicrobianos em 138 estirpes de *Aeromonas* spp. (104 *Aeromonas caviae*, 22 *Aeromonas sobria* e 12 *Aeromonas hydrophila*) isoladas de água de dois rios europeus. Verificaram resistência ao ácido nalidixico (59%); tetraciclina (14%); fosfomicina (8%); tobramicina e cotrimoxazol (7%); cefotaxime (4%); cloranfenicol (2%); gentamicina (1%). A resistência antimicrobiana variou de acordo com as linhagens.

Schmidt et al. (2001) afirmaram que para o tratamento das infecções por *Aeromonas* spp., é recomendado o uso de fluoroquinolonas, ou como alternativa, o trimetoprim+sulfametoxazol, os aminoglicosídeos, imipenem, meropenem, cefalosporinas de segunda e terceira geração, além das tetraciclinas.

Classicamente, a oxitetraciclina tem sido utilizada para tratar furunculoses provocadas por *A. salmonicida*. Mas os autores relatam que já se observa um aumento na resistência a este antimicrobiano pelas estirpes de *Aeromonas* spp. e, diversos autores justificam este incremento devido à utilização deste fármaco tanto no tratamento de infecções produzidas por *Aeromonas* spp. como por outros gêneros bacterianos.

Ao testar a sensibilidade antimicrobiana de 40 estirpes de *Aeromonas* spp., sendo 24 de *A. hydrophila*, 12 de *A. caviae* e quatro de *A. sobria*, isoladas de água não tratada na Líbia, Ghenghesh et al. (2001) encontraram 100% de resistência para ampicilina, 95% para cefaloridina e 5% para tetraciclina. Todas as linhagens foram sensíveis ao cloranfenicol, à gentamicina, à kanamicina, ao ácido nalidixico e ao trimetoprim+sulfametoxazol.

Bizani e Brandelli (2001), em estudo envolvendo água de abatedouro de bovinos, verificaram a sensibilidade antimicrobiana das 15 estirpes isoladas de *Aeromonas* spp. relatando os seguintes resultados: as estirpes de *A. hydrophila* mostraram sensibilidade à amicacina e tetraciclina (100%), estreptomicina (92,3%), trimetoprim+sulfametoxazol (84,6%), cloranfenicol (76,9%), eritromicina e trimetoprim (46,1%); as estirpes de *A. sobria* apresentaram 100% de sensibilidade para amicacina, cloranfenicol, estreptomicina, trimetoprim+sulfametoxazol, gentamicina e tetraciclina e 50% para eritromicina, lincomicina e trimetoprim.

Conforme relatado por Souza e Souza (2001), em estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas da água e de peixes do rio Congonhas, Paraná-Brasil, realizaram teste de sensibilidade antimicrobiana. Nas linhagens isoladas dos peixes, observaram 100% de resistência à ampicilina, 50% à estreptomicina e 100% de sensibilidade à tetraciclina, ao cloranfenicol, à oxitetraciclina e ao trimetoprim+sulfametoxazol. Das linhagens isoladas da água do rio o resultado diferenciou apenas quanto ao comportamento frente à ampicilina que apresentou 50% de resistência.

Ao investigar a resistência antimicrobiana de estirpes de *Aeromonas* spp. móveis isoladas de pacu e tilápia, Costa (2003) incluíram no experimento uma estirpe ATCC (The American Type Culture Collection) 7966, e observaram os seguintes resultados: resistência aos fármacos ampicilina, amoxicilina, lincomicina, novobiocina, oxacilina, trimetoprim+sulfametoxazol e penicilina; sensibilidade ao cloranfenicol, à estreptomicina e à nitrofurantóina para as três estirpes. Encontraram

resposta intermediária para a eritromicina e kanamicina na estirpe de tilápia e resposta sensível para as estirpes isoladas do pacu e para a estirpe ATCC. Em relação à rifampicina, os autores relataram que as estirpes originárias da tilápia e do pacu foram sensíveis e a estirpe ATCC foi resistente. Para tetraciclina a resposta observada foi que a estirpe originária da tilápia e a estirpe ATCC foram sensíveis enquanto que a estirpe isolada do pacu foi resistente.

Zanella et al. (2004) avaliaram a resistência antimicrobiana de estirpes de *Aeromonas* spp., isoladas das mãos de trabalhadores de aviários e de amostras de aves, encontrando os seguintes índices de resistência: 100% para a ampicilina, 83,3% para a cefalotina, 55,5% para a gentamicina, 38,8% para a amicacina, 33,3% para a cefoxitina e eritromicina.

Rodríguez (2004) identificou 85 estirpes do gênero *Aeromonas*, em amostras extra-intestinais, procedentes de 11 províncias e um município cubano, no período entre 2002 e 2003. Ao submeter estas estirpes ao teste de sensibilidade antimicrobiano verificou resistência à novobiocina, à amoxicilina, à ampicilina, à penicilina e à metilicina.

Falgás (2003) realizou estudos sobre a sensibilidade antimicrobiana *in vitro*, de espécies fenotípicas de *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii*, observando os seguintes resultados: todas as estirpes foram resistentes à ampicilina; em relação às cefalosporinas, observou melhor atividade da cefazolina frente a *A. veronii* do que *A. caviae* e *A. hydrophila*. Dentre os aminoglicosídeos, a gentamicina e a amicacina foram mais ativas do que a tobramicina. Em relação às quinolonas, todas as estirpes ensaiadas foram sensíveis à ofloxacina e ciprofloxacina, enquanto que 26% das estirpes de *A. caviae*, 20% das *A. hydrophila* e 88% da *A. veronii* apresentaram resistência ao ácido nalidíxico e ácido pipemídico.

Em estirpes de *Aeromonas* originadas de alimentos, amostras clínicas e do ambiente, Garibay et al. (2006) isolaram espécies de *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *sobria* e *A. caviae*, que foram submetidas à avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos e, observaram 100% de resistência à ampicilina e à ampicilina+sulbactam, enquanto que a *A. hydrophila* e *A. veronii* bv *sobria* foram resistentes à cefalotina.

Hirsch et al. (2006) estudaram oito tilapiculturas localizadas na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais e isolaram nove espécies de *Aeromonas*: *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A.*

*schubertii*, *A. media*, além de *Aeromonas* atípicas. As estirpes isoladas apresentaram o seguinte perfil de resistência aos antimicrobianos: 93% dos isolados foram resistentes à eritromicina, 36% à tetraciclina, 13% ao ácido nalidíxico, 9% à gentamicina, 8% à nitrofurantoína e kanamicina, 5% à norfloxacina, 4% ao cloranfenicol e 3% às sulfonamidas.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Controle de Qualidade (LCQ) da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro – PESAGRO - RIO.

#### **3.1 MATERIAL**

Foram utilizadas setenta unidades, com aproximadamente 350 gramas cada uma, de Tilápia (*Oreochromis niloticus*).

##### **3.1.1 Planejamento Experimental**

As amostras de tilápia foram originárias de três diferentes pisciculturas, de duas regiões geográficas produtoras, e foram coletadas em épocas distintas do ano. Foram capturadas 70 (setenta) tilápias de pisciculturas localizadas nos Municípios de Cachoeiras de Macacu e Piraí, no Estado do Rio de Janeiro, codificadas como “A”, “B” e “C” seguindo a cronologia de coleta.

No município de Cachoeiras de Macacu, na piscicultura codificada como “A” foram capturadas um total de 32 (trinta e duas) amostras em três períodos distintos: 10 (dez) unidades em 07/03/2006; 20 (vinte) em 22/03/2006 e 02 (duas) em 06/04/2006. As amostras do município de Piraí foram originárias de duas pisciculturas, codificadas como “B” e “C”. Na piscicultura “B” foram capturadas 20 (vinte) unidades em 14/05/2006 e na piscicultura “C” foram capturados 18 (dezoito) unidades em 08/06/2006.

As tilápias foram transportadas vivas, acondicionadas em embalagem de polímero expandido com água de cultivo e suplementação de oxigênio, sendo encaminhadas imediatamente do cultivo para Laboratório de Controle de Qualidade – PESAGRO-RIO (LCQ/ PESAGRO-RIO), onde ocorreu o abate dos animais.

### 3.1.2 - Preparo da amostra

A desinfecção do ambiente de manipulação na câmara asséptica foi realizada, mantendo uma placa de Petri com 20 mL de formaldeído por um período aproximado de uma hora. A descontaminação da superfície das bancadas de aço inox foi realizada utilizando álcool 70% °INPM (porcentagem de álcool em peso ou grau alcoólico INPM).

A dessensibilização do pescado foi realizada por choque térmico com submersão em gelo produzido com água destilada. Após dessensibilização, os peixes foram lavados em água potável, e em seguida foram colocados em bandejas inox para serem descabeçados, eviscerados e filetados com o auxílio de facas, pinças, bisturi e tesouras. Todo o material utilizado no abate foi previamente esterilizado, assim como a equipe técnica se encontrava devidamente paramentada com jalecos, toucas, máscaras e luvas descartáveis, para evitar qualquer tipo de contaminação cruzada.

Após esta etapa, as tilápias foram acondicionadas individualmente em embalagem de polímero expandido, previamente codificadas, identificadas com o nome do produtor, data da coleta e abate.

## 3.2 MÉTODO

Foram utilizadas duas metodologias para o isolamento e identificação de *Aeromonas* spp.: “Metodologia I” segundo Varnam e Evans (1996), e “Metodologia II” segundo FDA (KAYSNER; DEPAOLA, 2004).

Varnam e Evans (1996) recomendam que a incubação seja realizada em temperatura de 28°C (temperatura ótima de crescimento da *Aeromonas* spp.), e que haja suplementação de ampicilina nos meios de cultivo para inibir a microbiota

competitiva.

O método recomendado pelo FDA indica procedimentos de isolamento utilizados para a família *Vibrionaceae*, que utiliza temperatura de incubação de 37°C e suplementação dos meios de cultivo com cloreto de sódio (NaCl).

### **3.2.1 Metodologia I**

#### **3.2.1.1 Enriquecimento da amostra**

Foram retirados assepticamente 25 gramas de amostra, obtida de fragmentos de várias regiões da musculatura, e transferidas para saco estéril apropriado, ao qual foi adicionado 225 mL de caldo tripitcase de soja (CASOY- BBL nº 2058) suplementado com 10 mg de ampicilina por litro. A homogeneização foi realizada com uso de “Stomacher” (Homogeneizador de amostras Logen Scientific), por dois minutos (aproximadamente 230 batidas por minuto).

#### **3.2.1.2 Plaqueamento direto**

##### **3.2.1.2.1 Características dos meios seletivos**

O homogeneizado foi semeado, com auxílio de alça de platina, nos meios seletivos abaixo mencionados e caracterizados. A incubação ocorreu por 24 horas a 28°C, em estufa refrigerada.

Os seguintes meios de cultura foram utilizados: Ágar Aeromonas Medium Base (Ryan) (OXOID nº CM 0833), Ágar Mac Conkey (OXOID nº CM 0115), Ágar Sangue com hemácias de carneiro (OXOID nº CM 55), Ágar GSP (MERCK nº VM 247730). Esses meios foram suplementados com 10mg de ampicilina, com exceção do Ágar Aeromonas que por indicação do fabricante a suplementação foi de 5 mg/L.

O Ágar Aeromonas Medium Base, de acordo com o fabricante, é um meio seletivo para diagnóstico e isolamento de *A. hydrophila*. Este meio foi desenvolvido baseado na formulação descrita por Ryan (1985), e é uma modificação do XLD (Xilose, Lisina, Descarboxilase), que suporta o crescimento de espécies dos

gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Plesiomonas*, *Proteus* e *Pseudomonas*. Para potencializar a seletividade do meio para *A. hydrophila*, foi adicionada à formulação ampicilina na concentração de 5 mg/L. Neste meio, as colônias de *Aeromonas* spp. apresentam coloração verde escuro, opacas com centro preto e de diâmetro de 0,5 a 1,5 mm (OXOID, 2005).

O Ágar Mac Conkey possui cristal violeta, sais de bile e vermelho neutro que inibem o crescimento de microrganismos Gram positivos, especialmente enterococos e estafilococos. Neste meio de cultura, a concentração de sais de bile é relativamente baixa em comparação com outros meios, por isso sua seletividade é pequena para Gram negativos. O vermelho neutro também funciona como indicador de pH. A cor original do meio é rosa avermelhado, e com o crescimento de bacilos Gram negativos, surgem colônias de coloração rósea quando fermentadoras de lactose e incolores quando não fermentadoras de lactose (BRASIL, 2004c).

O meio de Ágar Sangue oferece ótimas condições de crescimento para a maioria dos microrganismos. A conservação dos eritrócitos íntegros favorece a formação de halos de hemólise nítidos. A coloração original do meio é vermelha. Quando ocorre a beta hemólise se evidencia a presença de halo transparente ao redor das colônias semeadas (lise total dos eritrócitos); na alfa hemólise evidencia-se a presença de halo esverdeado ao redor das colônias semeadas (lise parcial dos eritrócitos) e na gama hemólise (sem hemólise) observa-se ausência de halo ao redor das colônias (os eritrócitos permanecem íntegros) (BRASIL, 2004c).

No Ágar “Glutamate Starch Phenol agar base” (GSP), o glutamato e o amido são os únicos nutrientes do meio, e a maioria dos microrganismos contaminantes não é capaz de metabolizar esses componentes. O amido é degradado pela *Aeromonas* spp., com produção de ácido, que em presença do indicador vermelho de fenol, modifica a coloração do meio de vermelho para amarelo, apresentando colônias de coloração amarela (MERCK, 2002).

No Ágar *Aeromonas* Medium Base, foram selecionadas de cinco a seis colônias pequenas, opacas, de cor verde com ponto preto no centro, características de *Aeromonas* spp.

No Ágar Mac Conkey foram selecionadas de cinco a seis colônias que apresentavam coloração rósea e também as translúcidas, coletando desta forma as bactérias fermentadoras e as não fermentadoras de lactose.

Do Ágar Sangue foram selecionadas de cinco a seis colônias pequenas, brancas com ou sem presença de hemólise.

Do Ágar GSP foram selecionadas as colônias com as seguintes características morfológicas: coloração amarela, com a ocorrência ou não de degradação do amido, indicada pela mudança na coloração do meio de cultivo.

As colônias selecionadas foram repicadas em placas contendo os mesmos meios de cultura, com o objetivo de se obter melhor isolamento e maior grau de pureza.

### **3.2.2 Metodologia II**

#### **3.2.2.1 Enriquecimento da amostra**

Foram retirados assepticamente 25 gramas de amostra, obtida de fragmentos de várias regiões da musculatura, e transferidas para saco estéril apropriado, ao qual foi adicionado 225 mL de Água Peptonada Alcalina (APA), suplementado com 3% de NaCl. A homogeneização foi realizada com uso de “stomacher” (Homogeneizador de amostras Logen Scientific), por dois minutos. (velocidade média de 230 batidas por minuto) e incubada por 24 horas a 37° C

#### **3.2.2.2 Plaqueamento**

##### **3.2.2.2.1 Características dos meios seletivos**

Com auxílio de alça de platina, foram retiradas alíquotas do tubo com crescimento e semeadas nos seguintes meios de cultura: Ágar GSP (MERCK nº. VM 247730), Ágar TCBS (MERCK nº VM347963), Ágar Desoxicolato Citrato (MICROMED nº 2123), suplementados com 3% de NaCl

Segundo o Catálogo Merck, o Ágar “Thiosulfate Citrate Bile Sucrose” – TCBS, proposto por Nakanishi e modificado por Kobayashi é usado como meio seletivo para isolamento de *Vibrio cholerae* e outros vibrios enteropatogênicos. A alta concentração de tiosulfato e citrato e a forte alcalinidade deste meio inibem o

crescimento de *Enterobacteriaceae*. Somente poucas linhagens de *Proteus* spp., sacarose positiva, podem crescer formando colônias amarelas semelhantes às do *Vibrio* spp. Os indicadores timol e azul de bromotimol mudam a cor do meio para amarelo quando ocorre a formação de ácido. A formação de colônias amarelas, indicam a presença de *Vibrio* spp.; de colônias azul podem indicar a presença de *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp. ou outras bactérias; as azuis-esverdeadas indicam *Vibrio* spp.; e as colônias muito pequenas e translúcidas são indicativas de *Enterobacteriaceae* e outras (MERCK, 2003).

O Ágar Desoxicolato Citrato é usado para isolamento seletivo e cultivo de bactérias enteropatogênicas, especialmente, espécies de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. As colônias de *Aeromonas* spp. apresentam coloração amarelada translúcidas e têm forma arredondada.

#### **3.2.2.2 Seleção de colônias características**

No Ágar “Glutamate Starch Phenol agar base” (GSP) foram selecionadas as colônias com as seguintes características morfológicas: coloração amarela com a ocorrência ou não de degradação do amido, indicada pela mudança na coloração do meio de cultivo.

No Ágar Desoxicolato Citrato foram selecionadas as colônias amarelas.

As colônias selecionadas (cinco a seis) de características morfológicas típicas de *Aeromonas* spp. foram repicadas em placas contendo os mesmos meios de cultura, com o objetivo de se obter melhor isolamento e maior grau de pureza.

As colônias puras, provenientes de todos os meios seletivos ensaiados, foram submetidas à coloração pelo método de Gram.

#### **4.2.3 Triagem**

Esta etapa foi utilizada nas duas metodologias ensaiadas.

O meio de cultivo “Triplíce Sugar Iron” (TSI), é um meio preparado em tubos e solidificado com inclinação de 45°. Fornece informações sobre uma série de reações bioquímicas que indicam uma visão geral do metabolismo bacteriano. É

constituído de glicose (0,1%), lactose (1,0%), sacarose (1,0%), peptonas, aminoácidos (incluindo sulfurados), tiosulfato de sódio e citrato férrico amoniacal. Possui pH neutro e como indicadores, o vermelho de fenol para detecção da fermentação de carboidratos e o citrato férrico de amônio como indicador de produção de H<sub>2</sub>S (BRASIL, 2004b).

É possível observar num único meio, os processos fermentativos, respiração aeróbia e anaeróbia. A utilização dos açúcares e aminoácidos, na inclinação do meio de cultura se dá apenas por respiração aeróbia, enquanto que na base do meio, os processos são realizados por fermentação, incluindo também a putrefação, que ocorre quando há utilização dos aminoácidos básicos e sulfurados, produzindo gás sulfídrico, mercaptanas, aminas, dentre outras. A utilização do tiosulfato, ocorre por respiração anaeróbia, gerando também gás sulfídrico.

Dependendo dos resultados obtidos no meio de triagem, é possível caracterizar imediatamente alguns grupos de microrganismos, através de provas sorológicas (aglutinação em lâmina) ou de sua identificação bioquímica, complementando a tipificação sorológica, quando necessário (UFBA, 2005).

Foram retiradas de cinco ou seis colônias com características morfocoloniais de *Aeromonas* spp. de cada meio seletivo utilizado e, foram semeadas por punctura na base e estriada na superfície do ágar inclinado "Tríplice-Sugar-Iron" (TSI). Os tubos foram incubados, mantendo a tampa em posição semi-aberta, durante 24 horas a 28° C para a Metodologia I e a 37° C para a Metodologia II.

Na maioria dos tubos foi observada a produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) pela presença de bolhas e/ou fragmentação do meio. A leitura das amostras inoculadas variou entre as seguintes características, denominadas "A" e "B":

"A" - ápice amarelo (ácido), base amarela (ácido), produção de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) negativa e produção de gás indicando presença de *Enterobacteriaceae* ou *Aeromonas* spp.;

"B" - ápice amarelo (ácido), base amarela (ácido), produção de H<sub>2</sub>S positiva e produção de gás variável indicando possível presença dos gêneros *Salmonella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* ou *Citrobacter*.

Após a incubação, as colônias que apresentaram as características classificadas como “A” no TSI, foram transferidas para Ágar nutritivo e incubadas por 24 horas, a 28° C na “Metodologia I” e a 37° C na “Metodologia II”.

Após a incubação, as colônias jovens foram coletadas do Ágar nutritivo e submetidas ao teste de produção de oxidase. Nas estirpes oxidase positivas foi realizado o teste de resistência ao agente *vibriostatic* O/129. Este último teste foi repetido quando realizamos o teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos.

### 3.2.4 Identificação do gênero *Aeromonas*

A identificação do gênero *Aeromonas* spp. foi realizada seguindo os resultados obtidos nas provas bioquímicas propostas por Neves et al. (1990). Popoff (1984) e Varnam e Evans (1996) (Quadro 02).

Quadro 2 - Identificação do Gênero *Aeromonas*

Gram	Oxidase	O/129	O/F	Gás glicose	Ácido do manitol	Citrato Simmon's	Catalase	Motilidade	Gênero
-	+	R	+/+	+	+	-	+	+	<i>Aeromonas</i>
-	+	R	+/+	-	+	+	+	+	<i>Aeromonas</i>

Fonte: ); Neves et al. (1990); Popoff (1984); Varnam; Evans (1996).

#### 3.2.4.1 Teste de oxidase: citocromo-oxidase

Este sistema enzimático está relacionado com os citocromos da cadeia respiratória de alguns microrganismos. O teste é baseado na produção intracelular da enzima oxidase pela bactéria. Distingue bactérias não fermentadoras (oxidase positiva), de *Enterobacteriaceae* (oxidase negativa), diferenciando algumas bactérias fermentadoras oxidase positiva como a *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas* spp. e *Vibrio* spp. (BRASIL, 2004b).

Sobre papel de filtro embebido em cloridrato de N,N,N,N-tetrametil-p-fenilenodiamina (DIFCO nº 261181), foram espalhadas algumas colônias com auxílio de alça de platina, retiradas do meio de cultivo isento de glicose. O desenvolvimento de coloração azul intenso foi observado por aproximadamente 30

segundos, caracterizando teste positivo. Alterações tardias de cor não foram consideradas.

As amostras que apresentaram reação negativa à prova da oxidase foram separadas, e as que apresentaram reação positiva foram submetidas aos demais testes.

#### 4.2.4.2 Resistência ao Agente Vibriostatic O/129

Este teste determina a sensibilidade da bactéria para o agente *Vibriostatic* 2,4-diamino-6,7di-isopropilpteridina (O/129).

Foram retiradas colônias do Ágar nutritivo e suspensas em caldo tripticase de soja (CASOY BBL nº 2058), adicionado de 3% de NaCl. Nesta suspensão foi realizada a semeadura, com auxílio de alça de Drigalski, em placa com Ágar Mueller-Hinton (MERCK nº 1.05435.0500) adicionado de 3% de NaCl. Após aproximadamente dez minutos da semeadura e, assepticamente, foram colocados os discos de papel embebido no agente *Vibriostatic* O/129, nas concentrações de 10 e 150 µg. As placas foram incubadas por 24 horas a 28° C.

As amostras que demonstraram resistência ao agente O/129, ou seja, que não apresentaram formação de halo de sensibilidade foram selecionadas para dar continuidade às provas bioquímicas.

#### 4.2.5 Provas bioquímicas

A identificação da espécie de um determinado microrganismo é baseada no preenchimento das características específicas atribuídas àquela espécie. Este processo é efetuado através da determinação de um número mínimo de propriedades. No caso específico da *Aeromonas* spp., Popoff (1984) e Varnam e Evans (1996), indicam provas semelhantes e complementares, para a identificação das diferentes espécies. Portanto, visando uma identificação segura, foram ensaiadas a maioria das provas indicadas pelos autores acima citados.

As provas bioquímicas foram realizadas em ambas as metodologias, sendo que a temperatura de incubação na “Metodologia I” permaneceu a 28°C, pois de

acordo com Hänninen e Sutonen (1995), muitas espécies de *Aeromonas* spp. não crescem acima de 35°C e, quando ocorre crescimento acima dessa temperatura as características bioquímicas não são típicas. Na “Metodologia II” foi mantida a temperatura de incubação a 37° C.

Nas estirpes resistentes ao agente *Vibriostatic* O/129, foram realizadas as seguintes provas bioquímicas: catalase, motilidade, produção de indol, O/F da glicose, ácido do manitol, citrato de Simmons, descarboxilação da lisina, descarboxilação da ornitina, diidrólise da arginina, produção de gás a partir da glicose, fermentação da arabinose, produção de acetoina, Voges-Proskauer (VP) e hidrólise da esculina.

Quadro 3 - Provas bioquímicas utilizadas para identificação das espécies de *Aeromonas*

Esc	Gás	Ampicilina	Ara	LCD	ODC	VP	Man	Ind	Arg	Espécies
+/cc	+	Resistente	-	+	+	+	+	+	-	<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>
+/cc	+	Resistente	-	+	-	+	+	+	-	<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>
+/cc	-	Resistente	+	-	-	-	+	+	+	<i>A. caviae</i>
+/cc	-	Intermediário	+	-	-	-	+	+	+	<i>A. media</i>
+/cc	-	Intermediário	+	-	-	-	+	-	+	<i>A. media</i>
+/cc	+	Resistente	-	+	-	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
+/cc	+	Resistente	+	-	-	+	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>
-/cc	+	Resistente	-	+	-	+	+	+	-	<i>A. sobria</i>
-/cc	-	Intermediário	-	+	-	-	+	+	-	<i>A. sobria</i>
-/cc	+	Intermediário	-	+	-	-	+	+	+	<i>A. trota</i>

Fonte: Popoff (1984); Varnam; Evans (1996).

### 3.2.5.1 Teste da catalase

A catalase, formalmente denominada hidropoxidase, é produzida por muitos microrganismos. É uma enzima intracelular pertencente à subclasse das enzimas oxidoredutases, que usam o peróxido como receptor e doador de elétrons. A catalase é portanto uma peroxidase, que atua sobre a água oxigenada (peróxido de hidrogênio 3 a 5%) desdobrando-a em oxigênio e água. O teste consiste na

detecção da enzima catalase produzida por bactérias. Nesta reação o borbulhamento ou efervescência são ocasionados pelo oxigênio molecular liberado na reação da catalase (SILVA et al., 2003; WIKIPÉDIA, 2006).

Figura 01 Reação da catalase sobre o peróxido de hidrogênio



Uma gota de solução aquosa de peróxido de hidrogênio a 3% (v/v) foi depositada numa lâmina de microscopia e em seguida, com auxílio de alça de platina, colônias jovens crescidas no Ágar nutritivo foram colocadas sobre a gota. O aparecimento de borbulhamento ou efervescência caracterizou os organismos catalase-positivo, isto é, possuidores da enzima catalase.

### 3.2.5.2 Prova da motilidade

A prova da motilidade indica indiretamente a existência de flagelos. Não é uma prova bioquímica propriamente dita, mas indica uma característica fisiológica, que auxilia a identificação de bactérias (UFBA, 2005).

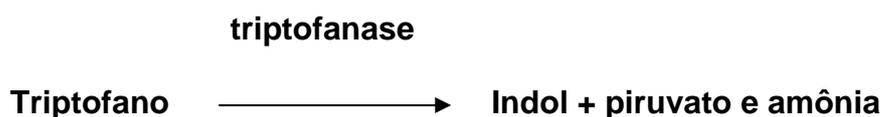
A prova foi efetuada com a inoculação em linha reta, em 2/3 de um meio semi-sólido, através da técnica da punctura (com agulha). Foram consideradas positivas as estirpes que apresentaram crescimento difuso, além da linha de inoculação e, negativas quando os microrganismos ficaram restritos ao local da inoculação (crescimento na linha de inoculação).

### 3.2.5.3 Prova da produção de indol

O indol é resultante da degradação do aminoácido triptofano pela enzima triptofanase. A prova é realizada com inoculação em meio contendo excesso de triptofano. O indol reage com o reagente de Kovac's formando um composto

colorido róseo. Este resultado é devido à complexação do indol com o aldeído, em meio ácido, formando o composto colorido.

Figura 02 Reação da triptofanase sobre o triptofano



A prova foi realizada com a inoculação de colônias em meio contendo excesso de triptofano, e posterior incubação por 24 horas. Após este período foi adicionado 0,5 mL do reagente de Kovac's (solução aquosa de p-dimetil aminobenzaldeído), através da parede interna do tubo. A prova foi considerada positiva quando na interface entre a cultura e o reagente, desenvolveu-se um anel de cor avermelhada no período máximo de cinco minutos.

#### 3.2.5.4 Prova de oxidação e fermentação (O/F- Hugh-Leifson)

Esta prova é usada para verificar a capacidade do microrganismo em utilizar os carboidratos pela via oxidativa ou fermentativa. É utilizado para diferenciar bacilos Gram negativos quanto ao tipo de metabolismo de carboidrato utilizado. O indicador de pH, usado no meio, é o azul de bromotimol.

A prova foi realizada usando, individualmente, glicose e manitol (álcool), na concentração de um g/100mL do meio base.

A inoculação de ambas as provas (glicose e manitol) foi realizada em dois tubos, com auxílio de agulha bacteriológica, transferindo as colônias provenientes de uma cultura de 24 horas. Apenas um tubo de cada par foi previamente desaerado, e acrescido de aproximadamente 1,5 mL de vaselina líquida estéril. O período de incubação foi de quatro dias com observação diária para verificar a produção de ácido (indicado pela mudança da cor verde do meio para amarelo) e gás (ocorrência de bolhas no meio). A leitura dos resultados levou em consideração as reações apresentadas em cada par de tubos. Os pares que apresentaram, além

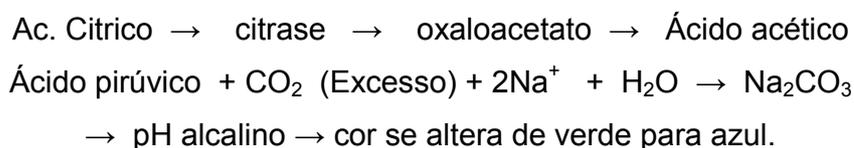
de crescimento bacteriano, a viragem do meio nos dois tubos foram considerados como O/F positivos. Foram realizadas provas em branco, utilizando tubos nas mesmas condições, sem inoculação.

No caso do manitol foi realizada inoculação em apenas um tubo, previamente desaerado, e acrescido de aproximadamente 1,5 mL de vaselina líquida estéril. A incubação ocorreu por quatro dias. Os tubos que apresentaram viragem da coloração verde do meio para amarelo foram considerados positivos para fermentação, indicando a produção de ácido.

### 3.2.5.5 Prova de utilização do citrato como única fonte de carbono

Alguns microrganismos não possuem a permease do citrato, que faz o transporte do citrato para o interior da célula. Esses microrganismos não conseguem crescer em meio contendo o citrato como única fonte de carbono, embora possuam as enzimas intracelulares, que degradam o citrato. O meio de cultura contém o indicador azul de bromotimol, que em pH 6,8 a 7,0 apresenta a cor verde. A prova positiva resulta no transporte do citrato pela permease e a sua utilização pela enzima citratase ocorrendo a formação de oxaloacetato e acetato. O consumo do citrato induz a clivagem do fosfato de amônia, alcalinizando o meio. Também, com o metabolismo do citrato há formação de carbonatos que alcalinizam o meio, de modo que a cor do indicador vira para azul. Na prova negativa o meio não se altera, pois não há crescimento microbiano.

Figura 03 Reação da utilização do citrato



Fonte: Brasil (2003a)

Na prova realizada foi utilizado o Ágar semi-sólido de citrato de Simmon's inclinado, onde foram estriadas e inoculadas colônias jovens, com auxílio de agulha. A inoculação foi realizada em linha reta, para evitar a influência de ingredientes do

meio de onde se originou a cultura e, conseqüentemente impedindo resultados falso-positivos. A incubação ocorreu por 96 horas aproximadamente. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram crescimento com viragem do indicador, alterando a coloração do meio para azul.

### 3.2.5.6 Teste da arginina diidrolase, lisina e ornitina descarboxilase

As descarboxilases são enzimas com substrato específico, capazes de reagir com o grupo carboxila dos aminoácidos para formarem aminas alcalinas. Essa reação, conhecida como descarboxilação, origina dióxido de carbono como produto secundário.

A conversão da arginina em citrulina é uma atividade de diidrolase, e não da descarboxilase, na qual o grupo  $\text{NH}_2$  é retirado da arginina como primeira etapa. Em seguida, a citrulina é convertida em ornitina, que sofre descarboxilação para formar putrescina. A incubação foi realizada em anaerobiose.

A lisina ao sofrer descaboxilação é convertida em cadaverina, enquanto a ornitina é convertida em putrescina. No início da incubação, a glicose contida no meio é fermentada ocorrendo a alteração da cor púrpura para o amarelo. Quando o aminoácido é descarboxilado, as aminas alcalinas formadas revertem a cor do meio para púrpura original devido a viragem do indicador púrpura de bromocresol.

A prova é utilizada para verificar a capacidade do microrganismo em usar essas enzimas, auxiliando na sua identificação (BRASIL, 2003a)

Nesta prova foram ensaiados, individualmente, os aminoácidos: lisina, ornitina e arginina. Como controle foram utilizados tubos de ensaio apenas com a Caldo Descarboxilase de Moeller, sem aminoácidos.

Foi utilizada suplementação com um grama de cada um dos três aminoácidos L (*levógiro*), para cada 100 mL de Caldo Descarboxilase de Moeller.

Colônias jovens foram inoculadas em tubos desaerados, contendo os aminoácidos e também, no tubo controle (Caldo Descarboxilase de Moeller sem aminoácido). Em cada tubo foi adicionado um mililitro de óleo mineral estéril, proporcionando ambiente de anaerobiose. A incubação foi realizada durante quatro dias, com permanente observação, verificando a produção de ácido e a ocorrência ou não da descarboxilação dos aminoácidos.

Foram considerados positivos os testes que apresentaram reversão da reação ácida, isto é, retorno da coloração do meio para a cor púrpura original e com turvação.

### 3.2.5.7 Prova da fermentação de carboidratos (Prova do Vermelho de Metila -VM)

Carboidratos são substratos básicos que as bactérias utilizam para a geração de ATP (adenosina trifosfato). Dependendo do tipo de relação com o oxigênio livre, a bactéria pode metabolizá-lo, numa rota oxidativa (aerobiose) envolvendo a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons, no qual o oxigênio é o receptor final e, uma grande quantidade de ATP é gerada com a conversão relativa final do carboidrato em H<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>. As bactérias de metabolismo fermentativo (anaerobiose), não têm o oxigênio como aceptor final na cadeia de transporte de elétrons, mas são capazes de fermentar o ácido pirúvico na ausência de oxigênio, originando ácidos orgânicos e ATP, ainda que em menor quantidade. As anaeróbicas facultativas, como as espécies de *Aeromonas* spp., podem fazê-lo por ambas as rotas fermentativa ou oxidativa. Em qualquer circunstância, há formação de ácidos orgânicos com abaixamento do pH do meio e viragem do indicador.

O teste permite verificar a habilidade de um microrganismo em produzir e estabilizar altas concentrações de ácidos orgânicos, a partir da fermentação da glicose (UFBA, 2005).

A prova positiva é verificada pela viragem do Indicador de Andrade ou Vermelho de metila, que devido ao abaixamento de pH do meio altera a sua cor para amarelo ou vermelho respectivamente, devido à produção de ácidos. Além disso, se a bactéria possuir o sistema enzimático hidrogênio-fórmico-liase, o ácido fórmico é transformado em gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e hidrogênio (H<sub>2</sub>), os quais são retidos no tubo de Durham, expulsando o meio e tornando a extremidade superior desse tubo transparente, com os gases formados.

Esta prova foi realizada com dois diferentes substratos adicionados ao meio, um com glicose e outro com álcool (manitol). O teste foi realizado em pH neutro, com indicador de pH (Indicador de Andrade) e tubo de Durham invertido, imerso no meio. Após inoculação foi adicionado, aproximadamente, um mililitro de óleo mineral

estéril, e os tubos foram incubados por 24 horas. Os tubos que apresentaram produção de ácidos, indicados pela viragem do indicador para vermelho foram considerados positivos.

#### 3.2.5.8 Prova da fermentação da arabinose

A partir do cultivo mantido em caldo peptonado adicionado de 3% de NaCl, com auxílio de alça de platina estéril, foi inoculado um tubo contendo caldo vermelho de fenol arabinose adicionado de NaCl e, coberto com um mililitro de óleo mineral estéril. A incubação foi mantida por 24 horas e, após este período, verificou-se a mudança de coloração do meio de vermelho para amarelo, devido à fermentação do açúcar e conseqüente produção de ácido (BRASIL, 2003a).

#### 3.2.5.9 Detecção da produção de acetoina - VP ou Vogues-Proskauer

O teste é baseado na conversão de acetoina em diacetil metil carbinol, através da ação de hidróxido de potássio e O<sub>2</sub> atmosférico. Ocorre formação de um complexo vermelho sob a ação catalítica de  $\alpha$ -naftol e creatinina. A presença de acetoina é comprovada pelo aparecimento de coloração vermelha. (BRASIL, 2003a).

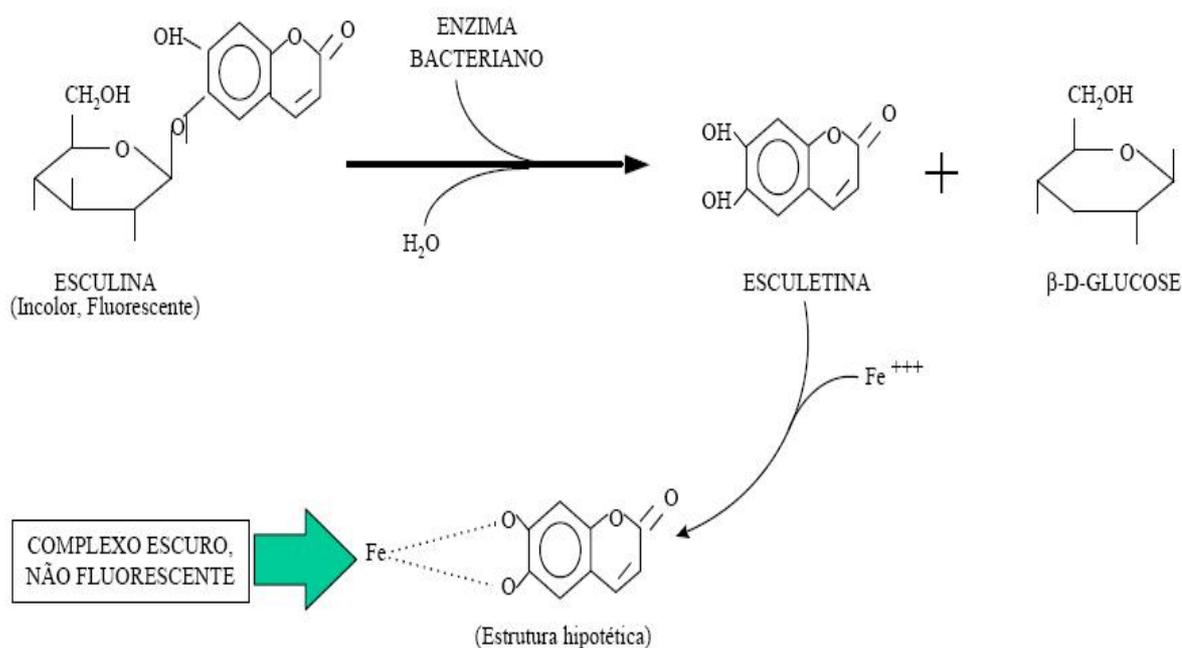
Uma alçada do inóculo foi transferida para tubo contendo caldo VM-VP (Vermelho de Metila-Vogues Proskauer). Após a incubação de 48 horas, um mililitro foi transferido para outro tubo e adicionado 0,6 mL de solução  $\alpha$ -naftol 5%, 0,2 mL de hidróxido de potássio 40% e cristais de creatinina, agitando-se o tubo. A reação foi observada aproximadamente por uma hora. Os tubos com desenvolvimento de cor avermelhada foram considerados positivos.

#### 3.2.5.10 Hidrólise da esculina

A esculina (glicosídeo extraído da castanha da Índia), é um açúcar complexo, fluorescente sob luz UV e, as bactérias que possuem sistema enzimático capaz de hidrolisá-lo, provocam a formação de esculina que, ao reagir com íons ferro dá

origem a um complexo de cor escura, não fluorescente. O indicador de pH utilizado neste meio de cultivo é o citrato férrico (Figura 04).

FIGURA 04 Hidrólise da esculina por enzimas bacterianas, com formação de um complexo, escuro e não fluorescente, com íons férrico.



Fonte: Romeiro, 2005

O teste utilizou colônias jovens provenientes de Ágar nutritivo, que foram inoculadas em tubos contendo Ágar esculina, com auxílio de agulha bacteriológica e, incubados por quatro dias. A leitura realizada, após incubação, considerou positivas as amostras que apresentaram enegrecimento do meio com crescimento na inclinação.

### 3.3 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

As amostras classificadas bioquimicamente como *Aeromonas* spp. foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana, em Ágar Mueller-Hinton, conforme metodologia descrita em Stukus (1997). Os seguintes antimicrobianos

foram usados: gentamicina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), ampicilina (10 µg), penicilina G (10 U = 6 µg), oxacilina (1 µg), amoxicilina (25 µg), tetraciclina (30 µg), sulfametoxazol (23,75 µg) + trimetoprim (1,25 µg), eritromicina (15 µg), kanamicina (30 µg); lincomicina (2 µg), novobiocina (30 µg), rifampicina (5 µg); estreptomicina (10 µg), trimetoprim (5 µg).

Todos os antimicrobianos testados em análises envolvendo alimentos, são equivalentes aos usados correntemente em medicina humana (HOLMSTRÖM et al., 2003; MACMILLAN, 2001; RHODES et al., 2000).

Os discos comerciais destinados ao teste de sensibilidade antimicrobiana possuem pequenos volumes de drogas altamente concentradas, proporcionando um método de rápido diagnóstico, no qual os antimicrobianos servem como agentes seletivos. (HOLT, 1994).

As culturas jovens, diluídas em solução salina esterilizada e ajustadas para que sua turbidez coincidissem com a da solução padrão de McFarland 0,5, foram semeadas, com auxílio de alça de Drigalski esterilizada, em placas com Ágar Mueller-Hinton (MERCK CM 337B). Após aproximadamente 3 minutos, que é o tempo necessário à secagem da solução salina adicionada, foram colocados os discos contendo os agentes antimicrobianos (NCCLS, 2003). Cada disco foi pressionado de encontro à placa, de maneira a assegurar contato completo com a superfície do Ágar. Colocou-se de oito a nove discos em duas placas de 150 mm, para cada amostra ensaiada. As placas foram incubadas em posição invertida em estufa, à temperatura de 28° C por 24 horas.

A leitura foi realizada após incubação, nas placas em posição invertida, através da medida dos halos de inibição com a utilização de paquímetro. Os diâmetros, obtidos em milímetros, foram comparados com a tabela fornecida pelo NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2005).

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados encontrados foram submetidos ao teste não paramétrico de Qui-quadrado (Pearson), para medir a probabilidade de as diferenças encontradas

nos grupos de amostra serem devidas ao acaso, partindo do pressuposto que, na verdade, não há diferenças entre os grupos na população donde provêm.

Com alta probabilidade foi concluído que não havia diferença estatisticamente significativa e, com baixa probabilidade (particularmente menor que 5%) a conclusão foi que um grupo era diferente do outro de forma estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Quando os valores esperados nas células da tabela foram inferiores a 5 ( $p < 0,05$ ), foi utilizado o Teste Exato de Fisher .

Foi utilizado o programa estatístico “Statistical Package for Social Science” (SPSS), versão 12.0 0, ano 2003.

## 4 RESULTADOS

Devido a diversidade de informações e visando facilitar o entendimento dos resultados encontrados, a organização dos dados será feita em tópicos, separados em: Resultados Totais - enfocando as três pisciculturas; Resultados por Piscicultura – discriminando as informações obtidas das amostras de cada piscicultura, Resultados por Método – comparando os resultados obtidos em cada metodologia utilizada e Resultados por Região – apresentando e comparando a ocorrência de *Aeromonas* spp. e suas espécies nos dois municípios produtores de tilápia.

### 4.1 RESULTADOS TOTAIS

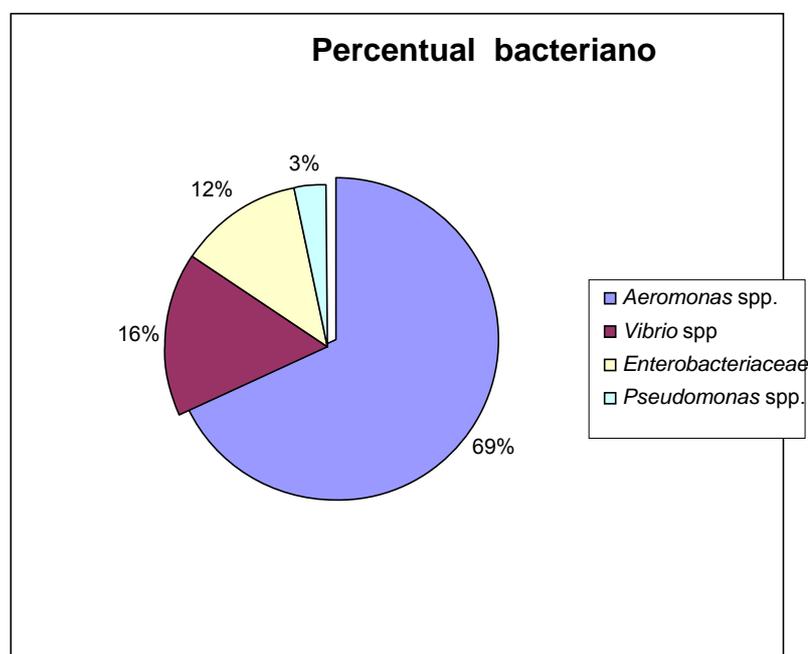
#### 4.1.1 Microbiota bacteriana isolada

Nos diferentes meios seletivos utilizados foram identificados quatro diferentes gêneros de bactérias. Das 490 (100%) placas semeadas, em 70 (14,3%) não houve crescimento, nas 420 (85,7%) placas restantes observou-se as seguintes freqüências bacterianas: *Aeromonas* spp. 286 (68,1%), *Vibrio* spp. 69 (16,4%), *Enterobacteriaceae* 51 (12,2%) e *Pseudomonas* spp. 14 (3,3%). Colônias com características morfocolônias do gênero *Aeromonas*, foram selecionadas nos diversos meios de cultivo utilizados (Apêndices 9.1.1, 9.1.2, 9.1.3, 9.1.4 e 9.1.5)

O gênero *Aeromonas* foi identificado através da observação dos testes de coloração de Gram, oxidase, catalase, e reação ao agente vibriostático O/129 (Tabela 07; Gráfico 01 e Apêndices 9.3.1, 9.3.2, 9.3.3 e 9.3.4).

**TABELA 7 - Total de bacterias isoladas**

	Frequência	%
<i>Aeromonas</i> spp.	286	68,1
<i>Vibrio</i> spp.	69	16,4
<i>Enterobacteriaceae</i>	51	12,2
<i>Pseudomonas</i> spp.	14	3,3
<b>Total de placas</b>		
Com crescimento	420	85,7
Sem crescimento	70	14,3
Semeadas	490	100,0

**Gráfico 01 - Percentual total de bactérias isoladas**

Ao avaliar a análise estatística da seletividade dos meios de cultivos, usando os testes não paramétricos de Pearson-Quadrado e Fisher, incluindo o meio TCBS onde não houve crescimento de *Aeromonas* spp., foi observada diferença ao nível de significância de 5% ( $p < 0,001$ ), e ao excluir os dados relativos ao meio TCBS o resultado permaneceu estatisticamente significativo ( $p = 0,008$ ) (Apêndice 9.3.7).

No Ágar *Aeromonas* com ampicilina ocorreu a maior seletividade para o gênero *Aeromonas*, com frequência de 58 (85,3%), em relação ao resultado encontrado para *Vibrio* spp. e *Enterobacteriaceae* que demonstraram frequência e percentual, respectivamente, de 7 (10,3%) e 3 (4,4%) (Tabela 08).

A microbiota isolada no Ágar GSP com ampicilina foi obtida com as seguintes freqüências: 49 (70%) no isolamento de *Aeromonas* spp., 11 (15,7%) de *Vibrio* spp., 7 (10%) de *Enterobacteriaceae* e 3 (4,3%) de *Pseudomonas* spp. Resultados próximos foram encontrados com o meio GSP com NaCl, onde a freqüência da *Aeromonas* spp. foi de 46 (69,0%), do *Vibrio* spp. 11 (16,4%), da *Enterobacteriaceae* 7 (10,4%) e da *Pseudomonas* spp. 3 (4,5%) (Tabela 08).

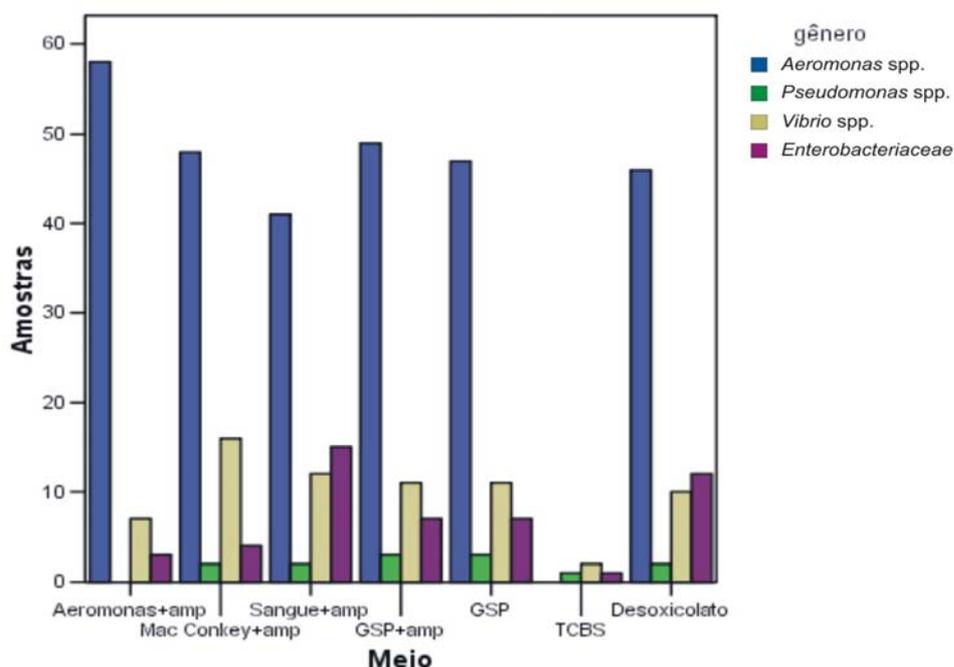
Os resultados encontrados no Ágar Mac Conkey com ampicilina, foram próximos ao GSP adicionado tanto de ampicilina como de NaCl, para *Aeromonas* spp., obteve-se freqüência de 48 (67,6%), para os outros gêneros observou-se o seguinte comportamento 16 (22,5%) para *Vibrio* spp., 5 (7,0%) para *Enterobacteriaceae* e 2 (2,8%) para *Pseudomonas* spp. (Tabela 08).

**TABELA 8 – Freqüência e percentual das bactérias isoladas por meio de cultivo**

Meio seletivo	Bactérias isoladas								
	Aeromonas spp.		Pseudomonas spp.		Vibrio spp.		Enterobacteriaceae		Total
	F	%	F	%	F	%	F	%	F
Aeromonas/ ampicilina	58	85,3	-	-	7	10,3	3	4,4	68
Mac Conkey/ ampicilina	48	67,6	2	2,8	16	22,5	5	7,0	71
Sangue/ ampicilina	40	58,0	2	2,9	12	17,4	15	21,7	69
GSP/ ampicilina	49	70,0	3	4,3	11	15,7	7	10,0	70
GSP/NaCl	46	69,0	3	4,5	11	16,4	7	10,4	67
TCBS/NaCl	-	-	1	25,0	2	50,0	1	25,0	4
Desoxicolato Citrato/NaCl	45	63,4	3	4,2	10	14,1	13	18,3	71
Total	286	68,1	14	3,3	69	16,4	51	12,2	420

No Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl, a freqüência de isolamento da *Aeromonas* spp. foi de 45 (63,4%), 13 (18,3%) para *Enterobacteriaceae*, 10 (14,1%) para *Vibrio* spp., e 3 (4,2%) para *Pseudomonas* spp. Enquanto o meio Ágar Sangue com ampicilina, apresentou a menor sensibilidade para *Aeromonas* spp., com freqüência de 40 (58%), 15 (21,7%) para *Enterobacteriaceae*, 12 (17,4%) para *Vibrio* spp. e 2 (2,9%) para *Pseudomonas* spp., e o meio TCBS com NaCl, onde não houve crescimento de *Aeromonas* spp., observou-se uma freqüência para *Vibrio* spp. de 2 (50%) e 1 (25%) para *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae* (Tabela 08; Gráfico 02). Entre os gêneros isolados (420 placas), a ocorrência de *Aeromonas* spp. foi de 68,1% (Tabela 08), enquanto no total de placas semeadas (490 placas) o percentual foi de 58,4% (Tabela 09).

**Gráfico 02 - Frequência de bactérias isoladas nos diferentes meios seletivos**

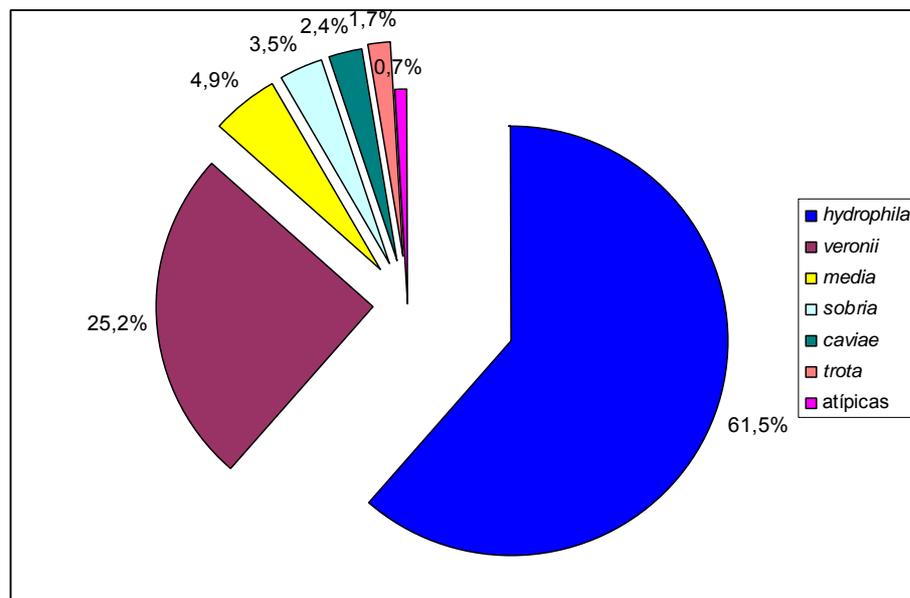


#### 4.1.2 Resultado por espécies de *Aeromonas* spp.

Nas 286 placas com isolamento de *Aeromonas* spp., a ordem decrescente da frequência das diferentes espécies foi: *A. hydrophila* 176 (61,5%), *A. veronii* bv *veronii* 72 (25,2%), *A. media* 14 (4,9%), *A. sobria* 10 (3,5%), *A. caviae* 7 (2,4%), *A. trota* 5 (1,7%) e *Aeromonas* atípicas 2 (0,7%) (Tabela 09; Gráfico 03).

**TABELA 9 - Frequência e percentual do isolamento das diferentes espécies de *Aeromonas***

<i>Aeromonas</i>	Frequência	% no total de placas	% no gênero
<i>hydrophila</i>	176	35,9	61,5
<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>	72	14,7	25,2
<i>media</i>	14	2,9	4,9
<i>sobria</i>	10	2,0	3,5
<i>caviae</i>	7	1,4	2,4
<i>trota</i>	5	1,0	1,7
atípicas	2	0,4	0,7
com <i>Aeromonas</i> spp.	286	58,4	100,0
sem <i>Aeromonas</i> spp.	204	41,6	
Total semeado	490	100,0	

Gráfico 03 - Percentual das espécies de *Aeromonas* spp. isoladas

#### 4.1.3 Isolamento de espécies de *Aeromonas* spp. nos meios seletivos utilizados

Entre os meios de cultivo utilizados houve variação na distribuição das espécies de *Aeromonas* spp. isoladas, mas a análise dos dados estatísticos não revelou diferença significativa ao nível de 5% ( $p = 0,471$ ).

O isolamento de *A. hydrophila* ocorreu com maior percentual no Ágar Sangue adicionado de ampicilina (75,0%), seguido do Ágar Mac Conkey com ampicilina (72,8%), Ágar Aeromonas com ampicilina (63,9%), Ágar GSP com ampicilina (57,2%), Ágar GSP com NaCl (54,3%) e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl (46,6%).

Em relação à *A. veronii* bv *veronii* foi observado o maior percentual de isolamento (42,2%) no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl, seguido pelo Ágar GSP com NaCl (30,5%), Ágar GSP com ampicilina (26,5%), Ágar Aeromonas com ampicilina (20,7%), Ágar Mac Conkey com ampicilina (16,7%) e Ágar Sangue com ampicilina (15%).

No isolamento de *A. sobria* foi verificado o maior percentual no Ágar Sangue com ampicilina 5,0%, seguido do Ágar GSP com NaCl 4,3%, do Ágar Mac Conkey

com ampicilina 4,2%, do Ágar GSP com ampicilina 4,1% e do Ágar Aeromonas com ampicilina 3,4%, e no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl não ocorreu crescimento desta espécie.

A presença de *A. trota* variou de 4,1% no Ágar GSP com ampicilina, 2,2% no Desoxicolato Citrato com NaCl, 2,1% no Ágar Mac Conkey com ampicilina e 1,7% no Ágar Aeromonas com ampicilina, estando ausente nos meios Ágar Sangue com ampicilina e Ágar GSP com NaCl.

O isolamento da *A. media* foi em maior percentual no Ágar GSP com NaCl 8,7%, seguido pelo Ágar Aeromonas com ampicilina 6,9%, no Ágar Sangue com ampicilina 5,0%, no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl 4,4%, no Ágar Mac Conkey com ampicilina 2,1% e Ágar GSP com ampicilina 2,0%.

No isolamento de *A. caviae* foram obtidos os seguintes percentuais: no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl 4,4%, no Ágar GSP com ampicilina 4,1%, no Ágar Aeromonas com ampicilina 3,4% e no Ágar Mac Conkey com ampicilina 2,1%, estando ausente no Ágar Sangue com ampicilina e Ágar GSP com NaCl.

Foi verificado o crescimento de *Aeromonas* atípicas em apenas dois meios de cultivo: no Ágar GSP com NaCl (2,2%) e no Ágar GSP com ampicilina (2,0%) (Tabela 10).

Nas placas de Ágar Sangue com ampicilina (40), foi observada hemólise em 42,5% (17), sendo que em 15 placas a hemólise foi de intensidade leve (35,5%) e duas a hemólise foi total (5%) (Apêndices 9.2.1 e 9.3.5).

**TABELA 10 - Percentual de isolamento das espécies de *Aeromonas* nos diversos meios seletivos**

	Aeromonas c/ ampicilina	Mac Conkey c/ ampicilina	Sangue c/ ampicilina	GSP c/ ampicilina	GSP c/ NaCl	Desoxicolato citrato c/ NaCl
<i>A. hydrophila</i>	63,9%	72,8%	75,0%	57,2%	54,3%	46,6%
<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	20,7%	16,7%	15,0%	26,5%	30,5%	42,4%
<i>A. sobria</i>	3,4%	4,2%	5,0%	4,1%	4,3%	-
<i>A. trota</i>	1,7%	2,1%	-	4,1%	-	2,2%
<i>A. media</i>	6,9%	2,1%	5,0%	2,0%	8,7%	4,4%
<i>A. caviae</i>	3,4%	2,1%	-	4,1%	-	4,4%
<i>A. atípica</i>	-	-	-	2,0%	2,2%	-
<b>F=286 (100%)</b>	58	48	40	49	46	45

Na análise dos dados estatísticos relacionando as espécies de *Aeromonas* isoladas e os meios seletivos utilizados foram constatados os seguintes resultados:

do total de estirpes de *A. hydrophila*, 21,0% foram isoladas no meio Ágar Aeromonas com ampicilina, 19,9% no Ágar Mac Conkey com ampicilina, 17,0% no Ágar Sangue com ampicilina, 15,9% no Ágar GSP com ampicilina, 14,2% no Ágar GSP com NaCl e 11,9% no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl (Tabela, 11; Gráfico 04; Apêndice 9.3.10).

Em relação ao total das estirpes de *A. veronii* bv *veronii* isoladas os seguintes percentuais foram obtidos: 26,4% no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl, 19,4% no Ágar GSP com NaCl, 18,1% no Ágar GSP com ampicilina, 16,7% no Ágar Aeromonas com ampicilina, 11,1% no Ágar Mac Conkey com ampicilina e 8,3% no Ágar Sangue com ampicilina (Tabela, 11; Gráfico 04).

Foram constatadas estirpes de *A. sobria* com percentual de 20% em cada um dos diversos meios de cultivo utilizados, com exceção do Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl onde não houve crescimento desta espécie (Tabela, 11; Gráfico 04).

Nos meios Ágar Aeromonas com ampicilina, Ágar Mac Conkey com ampicilina, Ágar GSP com ampicilina foram observados percentuais de isolamento de 20% das estirpes de *A. trota* e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl 40,0%, não sendo constatado crescimento nos demais meios de cultivo utilizados (Tabela, 11; Gráfico 04).

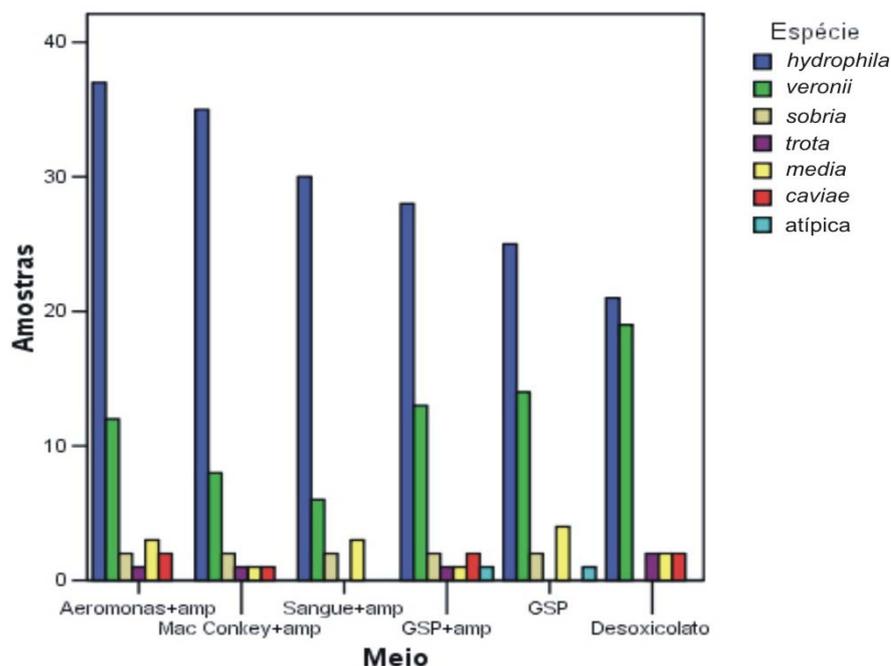
O isolamento das estirpes de *A. media* foi igual nos meios Ágar Aeromonas com ampicilina e Ágar GSP com NaCl com resultado de 28,6%, observação semelhante ocorreu nos meios Ágar Sangue com ampicilina e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl sendo isoladas 14,3% das estirpes e 7,1% nos meios Ágar Mac Conkey com ampicilina e Ágar GSP com ampicilina (Tabela, 11; Gráfico 04).

O isolamento das estirpes de *A. caviae* foi igual no Ágar Aeromonas com ampicilina, Ágar GSP com ampicilina e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl sendo obtido percentual de 28,6% em cada um destes meios, enquanto no Ágar Mac Conkey com ampicilina foi de 14,3% e com ausência de crescimento no Ágar Sangue com ampicilina e no Ágar GSP com NaCl (Tabela, 11; Gráfico 04).

Nos meios de cultivo Ágar GSP adicionados de ampicilina e de NaCl foram obtidas 50% das estirpes de *A. atípicas* em cada um, não sendo observado crescimento nos demais meios seletivos utilizados (Tabela, 11; Gráfico 04).

TABELA 11 - Distribuição das espécies de *Aeromonas* por meio seletivo

<i>Aeromonas</i>	Aeromonas c/ ampicilina	Mac Conkey c/ ampicilina	Sangue c/ ampicilina	GSP c/ ampicilina	GSP c/ NaCl	Desoxicolato Citrato c/ NaCl	Total F
<i>hydrophila</i>	21,0%	19,9%	17,0%	15,9%	14,2%	11,9%	176
<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>	16,7%	11,1%	8,3%	18,1%	19,4%	26,4%	72
<i>sobria</i>	20,0%	20,0%	20,0%	20,0%	20,0%	-	10
<i>trota</i>	20,0%	20,0%	-	20,0%	-	40,0%	5
<i>media</i>	28,6%	7,1%	14,3%	7,1%	28,6%	14,3%	14
<i>caviae</i>	28,6%	14,3%	-	28,6%	-	28,6%	7
<i>atípicas</i>	-	-	-	50,0%	50,0%	-	2

Gráfico 04 - Frequência das espécies de *Aeromonas* spp. isoladas, nos diversos meios de cultivo

#### 4.1.4 Teste de sensibilidade antimicrobiana

Considerando as três respostas obtidas (Resistente, Intermediária e Sensível) no teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos, foi observado em mais de 50% das estirpes isoladas do gênero *Aeromonas*, os seguintes resultados: resistente aos fármacos ampicilina (92,7%), oxacilina (76,1%), penicilina G (51,3%) e trimetoprim (50%); resposta intermediária foi obtida nos fármacos eritromicina (74,1%), novobiocina (69,6%), tetraciclina (68,4%), amoxicilina (67,1%) e sulfametoxazol+trimetoprim (52,3%) e, sensível aos antimicrobianos gentamicina (94,7%), nitrofurantoína (84,6%), rifampicina (75,8%), cloranfenicol (68,5%), kanamicina (64,3%) e estreptomicina (61,8%). Cabe ressaltar o comportamento

diferenciado na resposta à lincomicina que foi caracterizado como intermediário, pois ocorreu em apenas 47,7% das estirpes (Tabela 12; Apêndices de 9.3.28 até 9.3.43).

Os resultados do teste de sensibilidade antimicrobiana aplicado individualmente às espécies que foram isoladas apresentaram comportamento variável, quando comparado com os resultados obtidos para o gênero *Aeromonas*.

Na análise dos dados estatísticos comparando as informações das três respostas possíveis deste teste (R, I e S), obtidas das espécies testadas com os diversos antimicrobianos foi observada diferença significativa ao nível de 5% com os fármacos oxacilina  $p=0,008$ , ampicilina  $p<0,001$ , tetraciclina  $p=0,034$ , kanamicina  $p=0,007$ , rifampicina  $p<0,001$ , sulfametoxazol+trimetoprim  $p=0,031$ , novobiocina  $p<0,001$  e penicilina G  $p<0,001$  (Apêndices 9.3.12, 9.3.15, 9.3.17, 9.3.19, 9.3.21, 9.3.22, 9.3.25 e 9.3.26), enquanto nos antimicrobianos estreptomicina, trimetoprim, lincomicina, cloranfenicol, gentamicina, amoxicilina, eritromicina e nitrofurantoína não foi verificada diferença significativa. Cabe ressaltar que todas as espécies isoladas, foram submetidas ao teste estatístico (Apêndices 9.3.13, 9.3.14, 9.3.16, 9.3.18, 9.3.20, 9.3.23, 9.3.24 e 9.3.27 ).

Em relação à oxacilina, com todas as espécies isoladas foi observada a mesma resposta do gênero *Aeromonas*, confirmando as características de resistência (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.2).

O comportamento das espécies isoladas frente à estreptomicina foi semelhante ao encontrado para o gênero *Aeromonas* com resposta sensível (Tabela 12 ; Quadro 04; Apêndice 9.2.3).

Com as espécies *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii* e *A. sobria* foi constatada resposta de resistência ao trimetoprim, semelhante a observada com o gênero, enquanto que com a *A. trota* e *A.* atípicas foi verificado comportamento de característica intermediária, com a *A. media* foi observada sensibilidade, e com a *A. caviae* percentuais equivalentes entre as respostas de resistência e sensibilidade (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.4).

Considerando a ampicilina, foi verificado resposta de característica intermediária com *A. trota*, *A. media* e *A.* atípicas contrastando com o comportamento das demais espécies isoladas e do gênero *Aeromonas*, que foram resistentes (Tabela 12; Quadro 0 4; Apêndice 9.2.5).

Com as espécies *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. media* e *A. caviae* foram obtidas respostas de característica intermediária, semelhante a observada com o gênero *Aeromonas*, enquanto que com a *A. sobria* foi verificada resistência e com a *A. trota* sensibilidade à lincomicina. Com as espécies de *Aeromonas* consideradas atípicas foram obtidos percentuais equivalentes com características intermediária e sensível (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.6).

Foi constatado que a resposta das espécies de *Aeromonas*, consideradas atípicas foi de sensibilidade à tetraciclina, comportamento diferente das demais espécies e do gênero *Aeromonas* que foram caracterizadas como intermediárias (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.7).

Com exceção da resposta obtida com a *A. sobria* que foi de equivalência entre as características intermediária e sensível ao cloranfenicol, as demais espécies e a *Aeromonas* spp. foram sensíveis (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.8).

Em relação à kanamicina, foi verificada resposta intermediária da *A. caviae*, contrastando com o comportamento das demais espécies isoladas e da *Aeromonas* spp., que foram sensíveis (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.9).

A resposta observada, no teste de sensibilidade com o antimicrobiano gentamicina, foi de sensibilidade com todas as espécies isoladas, semelhante à encontrada para o gênero *Aeromonas* (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.10).

Todas as espécies isoladas foram sensíveis à rifampicina, comportamento semelhante ao gênero, excetuando-se o resultado obtido com as espécies de *Aeromonas* consideradas atípicas que foi equivalente entre as respostas intermediária e sensível (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.11).

Com as espécies *A. hydrophila*, *A. media*, *A. caviae* e *A.* atípicas foi constatada resposta com característica intermediária, semelhante a obtida com o gênero, enquanto que com a *A. sobria* e a *A. trota* foi verificada sensibilidade ao sulfametoxazol+trimetoprim. Com a espécie *A. veronii* bv *veronii* foram obtidos percentuais equivalentes entre as respostas intermediária e sensível (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.12).

Em relação ao fármaco amoxicilina, resposta com característica intermediária foi obtida com todas as espécies isoladas, semelhante a verificado com o gênero, excetuando-se a *A. sobria* cujos percentuais foram equivalentes

entre os resultados intermediário e resistente (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.13).

Na resposta à eritromicina, a *A. sobria* foi resistente, resposta diferente das demais espécies e do gênero *Aeromonas* que foram intermediárias (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.14).

A resposta observada, no teste de sensibilidade com o antimicrobiano novobiocina foi de característica intermediária com as espécies *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. trota*, *A. media* e *A. atípica*, semelhante ao gênero *Aeromonas*, enquanto que com a *A. caviae* se foi sensível. Com a espécie *A. sobria* foram obtidos percentuais equivalentes nas respostas intermediária e resistente (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.15).

Em relação ao fármaco penicilina G, foi verificada resposta intermediária com as espécies *A. hydrophila* e *A. trota*, resultado diferente do obtido com as demais espécies e com o gênero *Aeromonas* que foi de resistência (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.16).

Todas as espécies isoladas foram sensíveis à nitrofurantoína, semelhante ao resultado apresentado pelo gênero *Aeromonas* (Tabela 12; Quadro 04; Apêndice 9.2.17).

**TABELA 12 - Sensibilidade antimicrobiana do gênero *Aeromonas***

Antimicrobianos	<i>Aeromonas</i> spp.		
	Resistente	Intermediária	Sensível
Ampicilina	92,7	7,3	-
Oxacilina	76,1	21,8	2,1
Amoxicilina	29,4	67,1	3,5
Novobiocina	26,2	69,6	4,2
Penicilina G	51,3	44,1	4,6
Eritromicina	17,5	74,1	8,4
Tetraciclina	15,8	68,4	15,8
Lincomicina	34,0	47,7	18,2
Trimetoprim	50,0	28,9	21,1
Sulfametoxazol+Trimetoprim	13,4	52,3	34,3
Estreptomina	4,2	34,0	61,8
Kanamicina	5,3	30,4	64,3
Cloranfenicol	-	31,5	68,5
Rifampicina	3,9	20,4	75,8
Nitrofurantoína	2,1	13,3	84,6
Gentamicina	-	5,3	94,7

Quadro 04 - Sensibilidade antimicrobiana por espécie de *Aeromonas*

Antimicrobianos		<i>Aeromonas</i> spp.						
		<i>A. hydrophila</i>	<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. trota</i>	<i>A. media</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. atípica</i>
Oxacilina	R	69,3%	69,3%	90,0%	60,0%	57,1%	100%	100%
	I	29,0%	29,0%	10,0%	40,0%	35,7%	-	-
	S	1,7%	1,7%	-	-	7,1%	-	-
Estreptomicina	R	4,0%	4,2%	10,0%	-	-	14,3%	-
	I	34,1%	36,6%	10,0%	40,0%	42,9%	28,6%	-
	S	61,9%	59,2%	80,0%	60,0%	57,1%	57,1%	100%
Trimetoprim	R	56,6%	40,8%	40,0%	20,0%	28,6%	42,9%	20,0%
	I	28,6%	29,6%	30,0%	60,0%	28,6%	14,2%	60,0%
	S	14,8%	29,6%	30,0%	20,0%	42,8%	42,9%	20,0%
Ampicilina	R	100%	98,6%	100%	-	7,1%	100%	-
	I	-	1,4%	-	100%	92,9%	-	100%
	S	-	-	-	-	-	-	-
Lincomicina	R	36,4%	29,6%	60,0%	20,0%	28,6%	14,3%	-
	I	47,2%	49,3%	20,0%	20,0%	71,4%	57,1%	50,0%
	S	26,5%	21,1%	20,0%	60,0%	0,0%	28,6%	50,0%
Tetraciclina	R	18,2%	15,7%	-	-	14,3%	-	-
	I	68,2%	62,9%	100%	100%	71,4%	71,4%	-
	S	13,6%	21,4%	-	-	14,3%	28,6%	100%
Cloranfenicol	R	-	-	-	-	-	-	-
	I	35,2%	18,3%	50,0%	20,0%	42,9%	42,9%	-
	S	64,8%	81,7%	50,0%	80,0%	57,1%	57,1%	100%
Kanamicina	R	5,1%	5,6%	10,0%	0,0%	7,1%	-	-
	I	39,8%	14,1%	20,0%	0,0%	7,1%	57,1%	-
	S	55,1%	80,3%	70,0%	100%	85,7%	42,9%	100%
Gentamicina	R	-	-	-	-	-	-	-
	I	5,7%	7,0%	-	-	-	-	-
	S	94,3%	93,0%	100%	100%	100%	100%	100%
Rifampicina	R	-	15,5%	-	-	-	-	-
	I	18,2%	26,8%	-	-	42,9%	-	50,0%
	S	81,8%	57,7%	100%	100%	57,1%	100%	50,0%
Sulfametoxazol + Trimetoprim	R	15,5%	7,0%	30,0%	-	7,1%	28,6%	-
	I	55,7%	46,5%	30,0%	20,0%	50,0%	71,4%	100%
	S	28,7%	46,5%	40,0%	80,0%	42,9%	-	-

Continuação do Quadro 04

Amoxicilina	R	25,6%	38,0%	50,0%	20,0%	21,4%	42,9%	-
	I	71,0%	57,7%	50,0%	60,0%	78,6%	57,1%	100%
	S	3,4%	4,2%	-	20,0%	-	-	-
Eritromicina	R	15,3%	14,1%	60,0%	40,0%	28,6%	14,3%	-
	I	76,1%	74,6%	40,0%	60,0%	71,4%	71,4%	100%
	S	8,5%	11,3%	-	-	-	14,3%	-
Novobiocina	R	15,3%	48,6%	50,0%	20,0%	28,6%	57,1%	-
	I	78,4%	50,0%	50,0%	80,0%	71,4%	42,9%	100%
	S	6,3%	1,4%	-	-	-	-	-
Penicilina G	R	38,3%	76,1%	70,0%	40,0%	61,5%	71,4%	100%
	I	57,1%	18,3%	30,0%	60,0%	30,8%	28,6%	-
	S	4,6%	5,6%	-	-	7,7%	-	-
Nitrofurantoína	R	2,3%	1,4%	-	-	7,1%	-	-
	I	11,4%	16,9%	-	20,0%	21,4%	28,6%	-
	S	86,4%	81,7%	100%	80,0%	71,4%	71,4%	100%

## 4.2 POR REGIÃO

Foram semeadas 490 placas no total do experimento, sendo 224 (45,7%) com amostras oriundas do município de Cachoeiras de Macacu e 266 (54,3%) do Município de Pirai. Das placas semeadas com material originário da região de Cachoeiras de Macacu foi observado crescimento bacteriano em 191 (85,27%), nas quais foram identificados os seguintes grupos bacterianos: 180 (94,2%) com colônias de *Aeromonas* spp., sete (3,7%) com colônias de *Enterobacteriaceae*, duas (1,0%) com colônias de *Pseudomonas* spp. e duas (1,0%) com colônias de *Vibrio* spp. Enquanto que, nas 229 (86,09%) placas com crescimento bacteriano em amostras oriundas da região de Pirai foi verificada a seguinte distribuição bacteriana: 106 placas (46,3%) com colônias de *Aeromonas* spp., 67 (29,3%) com colônias de *Vibrio* spp., 44 (19,2%) com colônias de *Enterobacteriaceae* e 12 (5,2%) com colônias de *Pseudomonas* spp. (Tabela 13 e 14).

TABELA 13 – Frequência e percentual de crescimento bacteriano por região

Regiões	Placas					
	Semeadas		Crescimento		Sem crescimento	
	F	%	F	%	F	%
C. Macacu	224	45,7	191	85,27	33	14,73
Piraí	266	54,3	229	86,09	37	13,91
Total	490	100	420	85,71	70	14,29

TABELA 14 - Frequência e percentual de bactérias isoladas por região

Bactérias isoladas	C. Macacu		Piraí	
	F	%	F	%
<i>Aeromonas</i> spp.	180	94,2	106	46,3
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	1,0	12	5,2
<i>Vibrio</i> spp.	2	1,0	67	29,3
<i>Enterobacteriaceae</i>	7	3,7	44	19,2
Total	191	100	229	100

Do total de 286 placas com colônias isoladas e identificadas como do gênero *Aeromonas* spp., 180 (62,9%) foram das amostras originárias do município de Cachoeiras de Macacu e 106 (37,1%) de Piraí. A frequência e o percentual das demais espécies isoladas estão apresentados na Tabela 15.

TABELA 15 - Total de isolamento bacteriano por região

Bactérias isoladas	C. Macacu		Piraí		Total	
	F	%	F	%	F	%
<i>Aeromonas</i> spp.	180	62,9	106	37,1	286	100
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	14,3	12	85,7	14	100
<i>Vibrio</i> spp.	2	2,9	67	97,1	69	100
<i>Enterobacteriaceae</i>	7	13,7	44	86,3	51	100

Das espécies de *Aeromonas* isoladas das amostras oriundas do município de Cachoeiras de Macacu foi observada a seguinte distribuição: 151 (83,9%) placas com colônias de *A. hydrophila*, 10 (5,6%) com *A. sobria*, oito (4,4%) com *A. veronii* bv *veronii*, seis (3,3%) com *A. media* e cinco (2,8%) com *A. trola*. Das espécies de *Aeromonas* isoladas das amostras do município de Piraí foi verificada a seguinte distribuição: 64 (60,4%) com *A. veronii* bv *veronii*, 25 (23,6%) placas com colônias

de *A. hydrophila*, oito (7,5%) com *A. media*, sete (6,6%) com *A. caviae* e duas (1,9%) com espécies de *Aeromonas* consideradas atípicas (Tabela 16).

**TABELA 16 - Distribuição de espécies de *Aeromonas* por região**

Espécies isoladas	C. Macacu		Piraí	
	F	%	F	%
<i>A. hydrophila</i>	151	83,9	25	23,6
<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	8	4,4	64	60,4
<i>A. sobria</i>	10	5,6	-	-
<i>A. trota</i>	5	2,8	-	-
<i>A. media</i>	6	3,3	8	7,5
<i>A. caviae</i>	-	-	7	6,6
<i>A. atípica</i>	-	-	2	1,9
Total	180	100	106	100

Do total de 176 placas com colônias de *A. hydrophila* isoladas, 151 (85,8%) foram originárias do pescado do município de Cachoeiras de Macacu e 25 (14,2%) do município de Piraí. Das 72 placas com *A. veronii* bv *veronii*, 64 (88,9%) foram provenientes das amostras de Piraí e oito (11,1%) de Cachoeiras de Macacu. Nas 14 placas com colônias de *A. media* foi constatada a seguinte distribuição: oito (57,1%) de Piraí e seis (42,9%) de Cachoeiras de Macacu. As espécies *A. sobria* (10) e *A. trota* (cinco) foram isoladas das amostras provenientes de Cachoeiras de Macacu, enquanto que a *A. caviae* (sete) e *A. atípicas* (duas) foram identificadas no material coletado em Piraí (Tabela 17).

**TABELA 17 - Total de isolamento de espécies de *Aeromonas* por região**

Espécies isoladas	C. Macacu		Piraí		Total
	F	%	F	%	F
<i>A. hydrophila</i>	151	85,8	25	14,2	176
<i>A. veronii</i> bv <i>veronii</i>	8	11,1	64	88,9	72
<i>A. sobria</i>	10	100,0	-	-	10
<i>A. trota</i>	5	100,0	-	-	5
<i>A. media</i>	6	42,9	8	57,1	14
<i>A. caviae</i>	-	-	7	100,0	7
<i>A. atípicas</i>	-	-	2	100,0	2

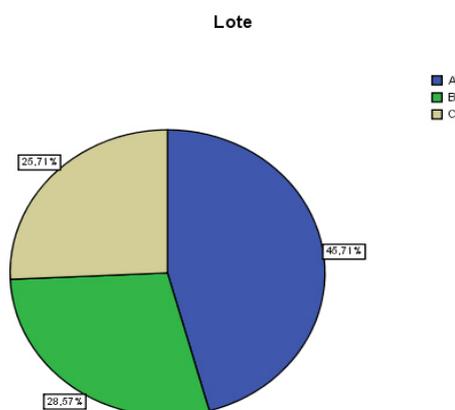
### 4.3 POR PISCICULTURA

Foram semeadas 490 placas com o material originário das diferentes pisciculturas, distribuídas com as seguintes freqüências: 224 placas (45,7%) da piscicultura A, 140 placas (28,6%) da piscicultura B e 126 placas (25,7%) da piscicultura C. Em 420 placas (85,7%) foi observado crescimento bacteriano distribuídos pelas pisciculturas da seguinte forma: piscicultura A 191 placas (85,3%), piscicultura B 120 placas (85,7%) e piscicultura C 109 placas (86,5%). A freqüência de placas que não apresentaram crescimento bacteriano foi de: 33 placas (14,7%) na piscicultura A, 20 placas (14,3%) na piscicultura B e 17 placas (13,5%) na piscicultura C (Tabela 18 e Gráfico 05).

**TABELA 18 – Freqüência de placas semeadas com e sem crescimento bacteriano em cada piscicultura**

Piscicultura	Semeadas		Com crescimento		Sem crescimento	
	F	%	F	%	F	%
A	224	45,7	191	85,3	33	14,7
B	140	28,6	120	85,7	20	14,3
C	126	25,7	109	86,5	17	13,5

Gráfico 05 - Percentual de placas em diferentes meios seletivos semeados por piscicultura.



#### 4.3.1 Bactérias identificadas por piscicultura

Nas 32 unidades de pescado da piscicultura A, utilizadas na semeadura dos sete diferentes meios seletivos, que totalizaram 224 placas, foi obtido crescimento bacteriano em 191 placas, sendo que em 180, as colônias eram compatíveis com as características morfológicas de *Aeromonas* spp. De cada uma destas placas foram coletadas cinco colônias para os testes de identificação, totalizando 900 colônias confirmadas para o gênero *Aeromonas*. Este valor corresponde a 94,2% de colônias de *Aeromonas* spp. do total de bactérias isoladas (Tabela 19; Apêndice 9.3.6).

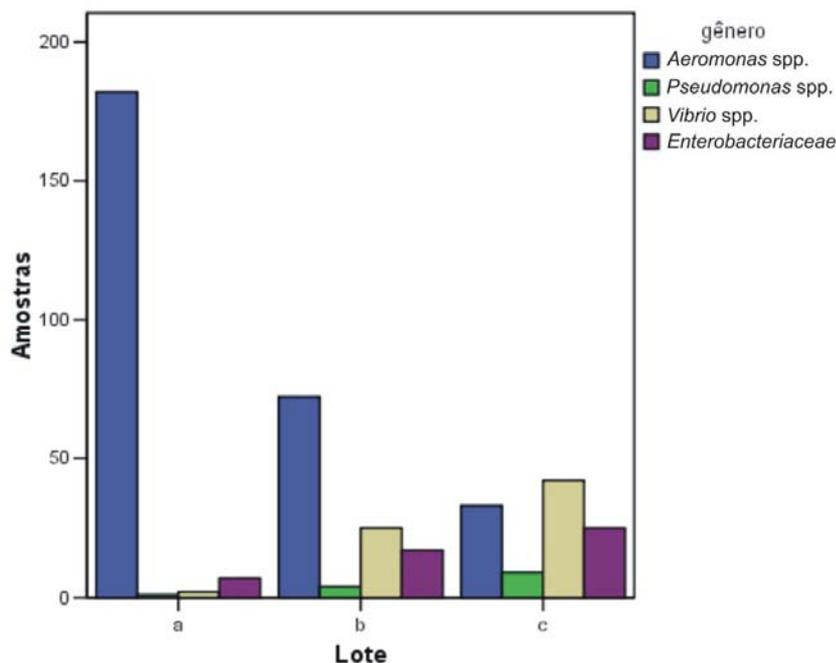
Foram evidenciados os seguintes percentuais de isolamento de *Aeromonas* spp. nos meios seletivos utilizados: Ágar Aeromonas com ampicilina 17,8%, Ágar Mac Conkey com ampicilina, Ágar GSP com ampicilina e Ágar GSP com NaCl foi verificado igual percentual (17,2%) de isolamento, no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl foi constatado 15,6%, no Ágar Sangue com ampicilina 15% e no Ágar TCBS com NaCl não foi obtido crescimento de *Aeromonas* spp. (Tabela 20).

Em relação à piscicultura B, das 20 unidades de tilápia utilizadas para semear os sete diferentes meios seletivos, foi obtido um total de 140 placas, das quais se observou crescimento bacteriano em 120 placas, sendo que em 73, as colônias eram compatíveis com as características de *Aeromonas* spp. De cada uma destas placas foram coletadas cinco colônias para os testes de identificação, num total de 365 colônias confirmadas para o gênero *Aeromonas*. Este resultado corresponde a 60,8% de colônias de *Aeromonas* spp. do total de bactérias isoladas no material desta piscicultura (Tabela 19).

**TABELA 19 - Distribuição das bactérias isoladas em cada piscicultura**

Bactérias	Piscicultura			Total
	A	B	C	
<i>Aeromonas</i> spp.	94,2%	60,8%	30,3%	68,1%
<i>Pseudomonas</i> spp.	1,0%	2,5%	8,3%	3,3%
<i>Vibrio</i> spp.	1,0%	20,8%	38,5%	16,4%
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,7%	15,8%	22,9%	12,2%

Gráfico 06 - Frequência das bactérias isoladas nas três pisciculturas



Dentre os meios seletivos foram verificados os seguintes percentuais de isolamento de *Aeromonas* spp.: no Ágar Aeromonas com ampicilina 21,9%, no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl 17,8%, no Ágar Mac Conkey com ampicilina 16,4%, os Ágar GSP com ampicilina e com NaCl foi observado percentual de 15,1%, no Ágar Sangue com ampicilina 13,7% e o Ágar TCBS com NaCl não foi obtido crescimento de *Aeromonas* spp. (Tabela 20).

As 18 unidades de amostras da piscicultura C, semeadas nos sete diferentes meios seletivos, totalizaram 126 placas, das quais foi observado crescimento bacteriano em 109 placas, sendo que as colônias obtidas em 33 foram compatíveis com as características morfológicas e tintoriais de *Aeromonas* spp. De cada uma destas placas, foram coletadas cinco colônias para os testes de identificação, originando um total de 165 colônias confirmadas para o gênero *Aeromonas*. Este resultado corresponde a 30,3% de colônias de *Aeromonas* spp. do total de bactérias isoladas. (Tabela 19). O percentual de isolamento de *Aeromonas* spp. nos meios seletivos utilizados apresentou os seguintes resultados: no Ágar Aeromonas com ampicilina 27,2%, no Ágar GSP com ampicilina 18,2%, no Ágar Mac Conkey com ampicilina e no Ágar GSP com NaCl foi verificado percentual de 15,2%, no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl e no Ágar Sangue com ampicilina foi igualmente

constatado o percentual de 12,1% enquanto no Ágar TCBS com NaCl não foi obtido crescimento de *Aeromonas* spp. (Tabela 20).

**TABELA 20 - Distribuição do isolamento de *Aeromonas* spp., do material proveniente das três piscicultura, nos meios seletivo**

Meios de cultivo (Ágar)	Piscicultura		
	A	B	C
<i>Aeromonas</i> com ampicilina	17,8%	21,9%	27,2%
Mac Conkey com ampicilina	17,2%	16,4%	15,2%
Sangue com ampicilina	15,0%	13,7%	12,1%
GSP com ampicilina	17,2%	15,1%	18,2%
GSP com NaCl	17,2%	15,1%	15,2%
Desoxicolato Citrato com NaCl	15,6%	17,8%	12,1%
TCBS com NaCl	-	-	-

Além do gênero *Aeromonas* foram identificados no material das três pisciculturas, *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp. e *Enterobacteriaceae* que, após análise dos dados estatísticos foi observada diferença significativa ao nível de 5% ( $p < 0,001$ ), no percentual de isolamento.

Com o gênero *Aeromonas* foi verificada a seguinte distribuição de isolamento, segundo a origem das amostras: 62,9% da piscicultura A, 25,5% da piscicultura B e 11,5% da piscicultura C. Do total do gênero *Pseudomonas* isolado, 64,3% foram provenientes das amostras da piscicultura C, 21,4% da piscicultura B e 14,3% da piscicultura A. Em relação ao *Vibrio* spp. 60,9% foram isolados do pescado da piscicultura C, 36,2% da piscicultura B e 2,9% da piscicultura A, enquanto que com a família *Enterobacteriaceae* foi obtida a seguinte distribuição de isolamento: 49,0% da piscicultura C, 37,3% da piscicultura B e 13,7% da piscicultura A (Tabela 21)

**TABELA 21 – Percentual da distribuição do total de cada bactéria isolada entre as três pisciculturas**

Bactérias isoladas	Piscicultura		
	A	B	C
<i>Aeromonas</i> spp.	62,9%	25,5%	11,5%
<i>Pseudomonas</i> spp.	14,3%	21,4%	64,3%
<i>Vibrio</i> spp.	2,9%	36,2%	60,9%
<i>Enterobacteriaceae</i>	13,7%	37,3%	49,0%

#### 4.3.2 Espécies de *Aeromonas* spp. identificadas por piscicultura

Nas 180 placas com *Aeromonas* spp., isoladas do pescado da piscicultura A foi observada a seguinte distribuição de espécies: 151 (83,9%) de *A. hydrophila*, 10 (5,6%) de *A. sobria*, oito (4,4%) de *A. veronii* bv *veronii*, seis (3,3%) de *A. media* e cinco (2,8%) de *A. trota*. Não foram identificadas as espécies *A. caviae* e *A. atípicas* no pescado desta piscicultura (Tabela 22; Apêndice 9.3.9).

**TABELA 22 - Percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas do material proveniente de cada piscicultura**

<i>Aeromonas</i>	Pisciculturas		
	A	B	C
<i>hydrophila</i>	83,9%	31,5%	6,1%
<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>	4,4%	58,9%	63,6%
<i>sobria</i>	5,6%	-	-
<i>trota</i>	2,8%	-	-
<i>media</i>	3,3%	4,1%	15,2%
<i>caviae</i>	-	2,7%	15,2%
atípicas	-	2,7%	-
<b>Total F=100%</b>	180=100,0%	73= 100,0%	33= 100,0%

As 151 placas nas quais foram obtidas colônias de *A. hydrophila*, estavam distribuídas entre os meios seletivos da seguinte forma: 19,2% no Ágar Aeromonas com ampicilina, 18,5% no Ágar GSP com ampicilina, 17,7% no Ágar Mac Conkey com ampicilina, 15,4% no Ágar Sangue com ampicilina, 15,2% no Ágar GSP com NaCl e 13,9% no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl. Os meios seletivos onde foram observados a presença de *A. veronii* bv *veronii*, totalizaram oito placas distribuídas da seguinte forma: 50% no Ágar GSP com NaCl, 37,5% no Desoxicolato Citrato com NaCl e 12,5% no Ágar GSP com ampicilina. Nas dez placas onde foram isoladas *A. sobria* foi verificada distribuição equitativa de 20% nos meios de cultivo Ágar Aeromonas com ampicilina, Mac Conkey com ampicilina, Sangue com ampicilina, GSP com ampicilina e com NaCl. Das cinco placas onde foi verificado crescimento de *A. trota*, foi observado que no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl o o percentual de isolamento foi de 40% e no Ágar Aeromonas com ampicilina, no Mac Conkey com ampicilina e no Ágar GSP com ampicilina foi obtido percentual de 20% em cada um dos meios. Nas seis placas com *A. media* foi verificada distribuição de 33,3% nos meios GSP com NaCl e Sangue com ampicilina

e valor igual a 16,7% nos meios de cultivo Ágar Mac Conkey com ampicilina e Desoxicolato Citrato com NaCl (Tabela 23).

**TABELA 23 – Distribuição nos meios de cultivo da frequência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da piscicultura A**

Meios de cultivo (Ágar)	Espécies de <i>Aeromonas</i>									
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>sobria</i>		<i>trota</i>		<i>media</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ ampicilina	29	19,2	-	-	2	20,0	1	20,0	-	-
Mac Conkey c/ ampicilina	27	17,7	-	-	2	20,0	1	20,0	1	16,7
Sangue c/ ampicilina	23	15,4	-	-	2	20,0	-	-	2	33,3
GSP c/ ampicilina	28	18,5	1	12,5	2	20,0	1	20,0	-	-
GSP c/ NaCl	23	15,2	4	50,0	2	20,0	-	-	2	33,3
Desoxicolato Citrato c/ NaCl	21	13,9	3	37,5	-	-	2	40,0	1	16,7
<b>Total = 180 (100%)</b>	<b>151</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>5</b>	<b>100</b>	<b>6</b>	<b>100</b>

A seletividade dos meios em relação às espécies isoladas apresentou os seguintes percentuais no material proveniente da piscicultura A: no Ágar Aeromonas com ampicilina 16,1% de *A. hydrophila*, 11,1% de *A. sobria* e 0,6% de *A. trota*; no Ágar Mac Conkey com ampicilina foi constatado 15,0% de *A. hydrophila*, 11,1% de *A. sobria*, 0,6% de *A. trota* e de *A. media*; no Ágar Sangue com ampicilina foram verificados os percentuais de 13,3% de *A. hydrophila*, 11,1% de *A. sobria* e de *A. media*; no Ágar GSP com ampicilina foi observado 15,0% de *A. hydrophila*, 11,1% de *A. sobria*, 0,6% de *A. veronii* bv *veronii* e de *A. trota*; no Ágar GSP com NaCl foram obtidos 12,7% de *A. hydrophila*, 11,1% das espécies *A. media* e *A. sobria* e 2,2% de *A. veronii* bv *veronii*, e finalmente no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl foram isolados 11,6% de *A. hydrophila*, 1,7% de *A. veronii* bv *veronii*, 1,1% de *A. trota* e 0,6% *A. media* (Tabela 24).

**TABELA 24 - Espécies isoladas por meio de cultivo nas 180 placas originárias das amostras da Piscicultura A**

Meios de cultivo (Ágar)	Espécies de <i>Aeromonas</i>											
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>sobria</i>		<i>trota</i>		<i>media</i>		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ ampicilina	29	16,1	-	-	2	11,1	1	0,6	-	-	32	100
Mac Conkey c/ ampicilina	27	15,0	-	-	2	11,1	1	0,6	1	0,6	31	100
Sangue c/ ampicilina	24	13,3	-	-	2	11,1	-	-	2	11,1	27	100
GSPc/ ampicilina	27	15,0	1	0,6	2	11,1	1	0,6	-	-	31	100
GSP c/ NaCl	23	12,7	4	2,2	2	11,1	-	-	2	11,1	31	100
Desoxicolato Citrato c/ NaCl	21	11,6	3	1,7	-	-	2	1,1	1	0,6	28	100

Nas 73 placas com amostras da piscicultura B foram isoladas e identificadas as seguintes espécies: 43 (58,9%) de *A. veronii* bv *veronii*, 23 (31,5%) de *A. hydrophila*, três (4,1%) de *A. media*, duas (2,7%) de *A. caviae* e de *A. atípicas*. Não foram isoladas as espécies *A. sobria* e *A. trota* (Tabela 22).

Foram isoladas *A. hydrophila* em 23 placas semeadas com o material proveniente da piscicultura B, distribuídas entre os meios seletivos da seguinte forma: 34,8% no Ágar Aeromonas com ampicilina, 30,4% no Ágar Mac Conkey com ampicilina, 26,0% no Ágar Sangue com ampicilina, 4,3% no Ágar GSP com ampicilina e com NaCl. Das 43 placas onde foi identificada *A. veronii* bv *veronii* foi observada a seguinte distribuição de isolamento entre os meios seletivos: 30,2% no Desoxicolato Citrato com NaCl, 20,9% no Ágar GSP com ampicilina, 16,3% no Ágar GSP com NaCl e Ágar Aeromonas com ampicilina, 11,6% no Ágar Mac Conkey com ampicilina e 4,7% no Ágar Sangue com ampicilina. Nas três placas com *A. media* foi obtida distribuição equitativa de 33,3% nos meios Ágar GSP com NaCl, Ágar Sangue com ampicilina e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl. As colônias de *A. caviae* foram observadas nos meios de Ágar Aeromonas com ampicilina (50%) e Ágar Desoxicolato Citrato NaCl (50%), enquanto as duas de *A. atípicas* foram isoladas nos meios Ágar GSP com ampicilina (50%) e com NaCl (50%) (Tabela 25).

**TABELA 25 – Distribuição nos meios de cultivo da frequência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da piscicultura B**

Meios de Cultivo	<i>Aeromonas</i>									
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>media</i>		<i>caviae</i>		atípicas	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ampicilina	8	34,8	7	16,3	-	-	1	50,0	-	-
Mac Conkey c/ ampicilina	7	30,4	5	11,6	-	-	-	-	-	-
Sangue c/ampicilina	6	26,0	2	4,7	1	33,3	-	-	-	-
GSP c/ampicilina	1	4,3	9	20,9	-	-	-	-	1	50,0
GSP c/NaCl	1	4,3	7	16,3	1	33,3	-	-	1	50,0
Desoxicolato Citrato c/NaCl	-	-	13	30,2	1	33,3	1	50,0	-	-
Total = 73 (100%)	23	100	43	100	3	100	2	100	2	100

Em relação à seletividade dos meios de cultivo, as espécies de *Aeromonas* spp. isoladas das amostras de pescado provenientes da piscicultura B, apresentaram o seguinte percentual de isolamento: no Ágar Aeromonas com ampicilina 10,9% de *A. hydrophila*, 9,6% de *A. veronii* bv *veronii* e 1,4% de *A. caviae*; foi observado no Ágar Mac Conkey com ampicilina 9,6% de *A. hydrophila* e 6,8% de

*A. veronii* bv *veronii*; no Ágar Sangue com ampicilina foram obtidos os percentuais de 8,2% de *A. hydrophila*, 2,7% de *A. veronii* bv *veronii* e 1,4% de *A. media*; no Ágar GSP com ampicilina foram isolados 12,3% de *A. veronii* bv *veronii* e 1,4% das espécies de *A. hydrophila* e de *A. atípicas*; no Ágar GSP com NaCl foi verificado 9,6% de *A. veronii* bv *veronii* e 1,4% das espécies *A. hydrophila*, de *A. media* e de *A. atípicas*; no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl foi constatado 17,8% de *A. veronii* bv *veronii*, enquanto que a *A. caviae* e *A. media* obtidas no percentual de 1,4% cada uma (Tabela 26).

**TABELA 26 - Espécies isoladas por meio de cultivo nas 73 placas originárias das amostras da Piscicultura B**

Meios de cultivo	Aeromonas										Total	
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>media</i>		<i>caviae</i>		atípicas		73	100,0
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ ampicilina	8	10,9	7	9,6	-	-	1	1,4	-	-	16	100,0
Mac Conkey c/ ampicilina	7	9,6	5	6,8	-	-	-	-	-	-	12	100,0
Sangue c/ ampicilina	6	8,2	2	2,7	1	1,4	-	-	-	-	9	100,0
GSP c/ ampicilina	1	1,4	9	12,3	-	-	-	-	1	1,4	11	100,0
GSP c/ NaCl	1	1,4	7	9,6	1	1,4	-	-	1	1,4	10	100,0
Desoxicolato Citrato c/NaCl	-	-	13	17,8	1	1,4	1	1,4	-	-	15	100,0

Nas 33 placas semeadas com amostras originárias da piscicultura C foram isoladas as seguintes espécies: 21 (63,6%) de *A. veronii* bv *veronii*, 5 (15,2%) de *A. media* e de *A. caviae* e 2 (6,1%) de *A. hydrophila*. Não foram isoladas as espécies de *A. sobria*, *A. trota* e *A. atípicas* (Tabela 22).

Foi identificada *A. hydrophila* em 2 placas semeadas com o material proveniente da piscicultura C, distribuídas entre os meios seletivos Ágar Mac Conkey com ampicilina e no Ágar GSP com NaCl. As 21 placas com identificação de *A. veronii* bv *veronii* estavam distribuídas nos seguintes meios seletivos: 23,8% no Ágar Aeromonas com ampicilina, 19,0% no Ágar Sangue com ampicilina e valor equitativo de 14,3% nos outros meios de cultivo utilizados. Nas cinco placas com *A. media* foi observada distribuição equitativa de 20,0% nos meios Ágar GSP com ampicilina e com NaCl, e o maior percentual - 60% - de identificação, foi verificado no meio Ágar Aeromonas com ampicilina. Nas cinco placas com colônias de *A. caviae* foi obtida seguinte distribuição de isolamento: maior percentual - 40% - no meio Ágar GSP com ampicilina e valores iguais de 20% nos meios Ágar Aeromonas com ampicilina, Ágar Mac Conkey com ampicilina e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl (Tabela 27).

**TABELA 27 – Distribuição nos meios de cultivo da frequência e percentual de espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas no pescado da piscicultura C**

Meios de cultivo	<i>Aeromonas</i>							
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>media</i>		<i>caviae</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ ampicilina	-	-	5	23,8	3	60,0	1	20,0
Mac Conkey c/ ampicilina	1	50,0	3	14,3	-	-	1	20,0
Sangue c/ ampicilina	-	-	4	19,0	-	-	-	-
GSP c/ ampicilina	-	-	3	14,3	1	20,0	2	40,0
GSP c/ NaCl	1	50,0	3	14,3	1	20,0	-	-
Desoxicolato Citrato c/ NaCl	-	-	3	14,3	-	-	1	20,0
Total 33 =100%	2	100,0	21	100,0	5	100,0	5	100,0

Na pesquisa de *Aeromonas* spp. no pescado coletado da piscicultura C foi constatada a seguinte seletividade dos meios de cultivo, em relação às espécies identificadas: do Ágar Aeromonas com ampicilina foi isolado 15,2% de *A. veronii* bv *veronii*, 9,1% de *A. media* e 3,0% de *A. caviae*; no Ágar Mac Conkey com ampicilina foi observado 9,1% de *A. veronii* bv *veronii*, 3,0% de *A. hydrophila* e de *A. caviae*; no Ágar Sangue com ampicilina foi verificado 12,1% de *A. veronii* bv *veronii*; no Ágar GSP c com ampicilina foi constatado 9,1% de *A. veronii* bv *veronii*, 6,0% de *A. caviae* e 3,0% de *A. media*; no Ágar GSP com NaCl foi isolado percentual de 9,1% de *A. veronii* bv *veronii*, 3,0% de *A. media* e de *A. hydrophila* e no Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl foi observado 9,1% de *A. veronii* bv *veronii* e 3,0% *A. caviae* (Tabela 28).

**TABELA 28 - Espécies isoladas por meio de cultivo nas 33 placas originárias das amostras da Piscicultura C**

Meios de cultivo	<i>Aeromonas</i>									
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>media</i>		<i>caviae</i>		Total 33 =100%	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Aeromonas c/ ampicilina	-	-	5	15,2	3	9,1	1	3,0	9	100
Mac Conkey c/ ampicilina	1	3,0	3	9,1	-	-	1	3,0	5	100
Sangue c/ ampicilina	-	-	4	12,1	-	-	-	-	4	100
GSP c/ ampicilina	-	-	3	9,1	1	3,0	2	6,0	6	100
GSP c/ NaCl	1	3,0	3	9,1	1	3,0	-	-	5	100
Desoxicolato Citrato c/ NaCl	-	-	3	9,1	-	-	1	3,0	4	100

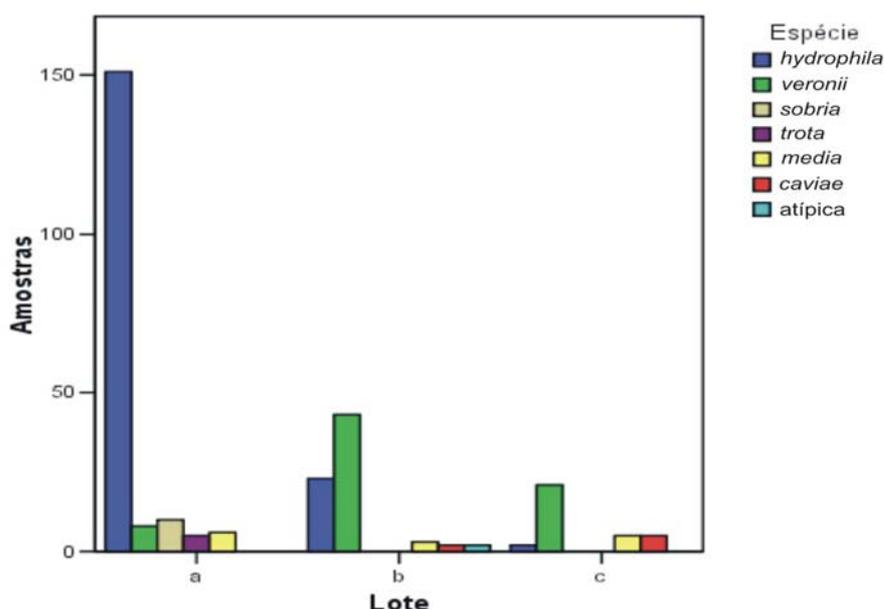
Conforme demonstrado na Tabela 29, onde é apresentada a distribuição das espécies de *Aeromonas* isoladas no pescado proveniente de cada piscicultura, foram observados os seguintes resultados: das 176 (61,5%) placas com colônias identificadas como *A. hydrophila*, 151 (85,8%) foram provenientes das tilápias da piscicultura A, 23 (13,1%) do material da piscicultura B e duas (1,1%) no pescado da piscicultura C; das 72 (25,2%) placas com colônias de *A. veronii* bv *veronii*

isoladas, oito (11,1%) foram provenientes do material da piscicultura A, 43 (59,7%) da piscicultura B e 21 (29,2%) da piscicultura C. As 10 (3,5%) placas com colônias identificadas como *A. sobria* e as cinco (1,7%) como *A. trota* foram provenientes apenas do pescado da piscicultura A. Das 14 (4,9%) placas com colônias características de *A. media*, seis (42,9%) foram provenientes do material da piscicultura A, três (21,4%) da piscicultura B e cinco (35,7%) da piscicultura C; das sete (2,4%) placas com colônias características de *A. caviae*, duas (28,6%) foram provenientes do material da piscicultura B e 5 (71,4%) da piscicultura C, não sendo isolada nenhuma colônia desta espécie no material da piscicultura A. As duas (0,7%) placas com colônias de *A. atípicas* isoladas, foram provenientes da piscicultura B (100%) (Quadro 05; Gráfico 07).

**TABELA 29 – Percentual da distribuição de cada espécie de *Aeromonas* no material proveniente das pisciculturas**

<i>Aeromonas</i>	Piscicultura			Total	
	A	B	C	286	100%
<i>hydrophila</i>	85,8%	13,1%	1,1%	176	61,5%
<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>	11,1%	59,7%	29,2%	72	25,2%
<i>sobria</i>	100,0%	-	-	10	3,5%
<i>trota</i>	100,0%	-	-	5	1,7%
<i>media</i>	42,9%	21,4%	35,7%	14	4,9%
<i>caviae</i>	-	28,6%	71,4%	7	2,4%
<i>atípicas</i>	-	100,0	-	2	0,7%

Gráfico 07 - Frequência das espécies de *Aeromonas* isoladas no pescado de cada piscicultura



**Quadro 05 – Frequências de espécies de *Aeromonas* identificadas nas amostras de tilápia, provenientes das diferentes pisciculturas**

<i>Aeromonas</i>	Piscicultores			Total
	A	B	C	
<i>hydrophila</i>	151	23	2	176
<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>	8	43	21	72
<i>sobria</i>	10	-	-	10
<i>media</i>	6	3	5	14
<i>trota</i>	5	-	-	5
<i>caviae</i>	-	2	5	7
atípicas	-	2	-	2
Total	180	73	33	286

Foi observado o comportamento do gênero *Aeromonas* e de cada uma das espécies identificadas nas 40 placas do meio de cultivo Ágar Sangue. Foi constatada a ocorrência de hemólise em 17 (42,5%) placas, sendo que em 15 (37,5%) foi verificada intensidade leve e em duas (5%) foi observada hemólise completa. Das 17 placas com ocorrência de hemólise, três pertenciam às amostras provenientes da piscicultura B e 14 da piscicultura A. Das 15 placas com observação de hemólise incompleta, três eram oriundas do material da piscicultura B e 12 do pescado da piscicultura A. As duas placas com ocorrência de hemólise completa eram provenientes das sementeira de amostra de tilápia da piscicultura A.

As espécies que causaram hemólise incompleta foram: a *A. hydrophila* que foram isoladas em 10 placas e, *A. sobria* isoladas em duas placas com amostras da piscicultura A; no material da piscicultura B foi isolada a *A. hydrophila* em três placas. A hemólise completa observada ocorreu em duas placas com isolamento e identificação de *A. hydrophila*, em pescado da piscicultura A.

No teste de sensibilidade aos antimicrobianos aplicado com as estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas amostras de tilápia da piscicultura A, foi verificada resistência aos fármacos ampicilina, oxacilina e trimetoprim, característica intermediária foi observada à amoxicilina, novobiocina, penicilina G, eritromicina, tetraciclina, lincomicina e sulfametoxazol+trimetoprim e, sensibilidade à

estreptomicina, kanamicina, cloranfenicol, rifampicina, nitrofurantoína e gentamicina.

Nas estirpes isoladas das amostras da piscicultura B, foi observada resistência aos fármacos ampicilina, oxacilina, penicilina G e trimetoprim, característica intermediária à amoxicilina, novobiocina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina, sulfametoxazol + trimetoprim e rifampicina e, sensibilidade à estreptomicina, kanamicina, cloranfenicol, nitrofurantoína e gentamicina.

Nas estirpes isoladas das amostras da piscicultura C foi verificada resistência aos fármacos ampicilina, oxacilina, novobiocina e penicilina G; característica intermediária à amoxicilina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina e sulfametoxazol+trimetoprim, e sensibilidade ao trimetoprim, estreptomicina, kanamicina, cloranfenicol, rifampicina, nitrofurantoína e gentamicina (Tabela 30).

**TABELA 30 - Teste de sensibilidade antimicrobiana aplicado as estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas do pescado proveniente das três pisciculturas**

Antimicrobianos	Piscicultura A			Piscicultura B			Piscicultura C			Total		
	<i>Aeromonas</i> spp.			<i>Aeromonas</i> spp.			<i>Aeromonas</i> spp.			<i>Aeromonas</i> spp.		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<b>Ampicilina</b>	93,9%	6,1%	-	94,5%	5,5%	-	81,8%	18,2%	-	92,7	7,3	-
<b>Oxacilina</b>	66,7%	31,7%	1,7%	91,8%	5,5%	2,7%	93,8%	3,1%	3,1%	76,1	21,8	2,1
<b>Amoxicilina</b>	26,7%	69,4%	3,9%	32,9%	63,0%	4,1%	37,5%	62,5%	-	29,4	67,1	3,5
<b>Novobiocina</b>	17,8%	77,2%	5,0%	37,5%	59,7%	2,8%	50,0%	46,9%	3,1%	26,2	69,6	4,2
<b>Penicilina G</b>	33,5%	61,5%	5,0%	93,2%	5,5%	1,4%	54,8%	35,5%	9,7%	51,3	44,1	4,6
<b>Eritromicina</b>	20,6%	75,6%	3,9%	4,1%	75,3%	20,5%	31,3%	62,5%	6,3%	17,5	74,1	8,4
<b>Tetraciclina</b>	18,9%	71,1%	10,0%	11,1%	55,6%	33,3%	9,4%	81,3%	9,4%	15,8	68,4	15,8
<b>Lincomicina</b>	36,7%	44,4%	18,9%	28,8%	53,4%	17,8%	31,3%	53,1%	15,6%	34	47,7	18,2
<b>Trimetoprim</b>	54,2%	31,3%	14,5%	46,6%	23,3%	30,1%	34,4%	28,1%	37,5%	50	28,9	21,1
<b>Sulfametoxazol+Trimetoprim</b>	16,9%	52,2%	30,9%	5,5%	52,1%	42,5%	12,5%	53,1%	34,4%	13,4	52,3	34,3
<b>Estreptomicina</b>	3,9%	34,4%	61,7%	-	34,2%	65,8%	15,6%	31,3%	53,1%	4,2	34	61,8
<b>Kanamicina</b>	5,0%	42,2%	52,8%	-	1,4%	98,6%	18,8%	31,3%	50,0%	5,3	30,4	64,3
<b>Cloranfenicol</b>	-	37,8%	62,2%	-	13,7%	86,3%	-	37,5%	62,5%	-	31,5	68,5
<b>Rifampicina</b>	-	13,9%	86,1%	15,1%	43,8%	41,1%	-	3,1%	96,9%	3,9	20,4	75,8
<b>Nitrofurantoína</b>	2,8%	8,3%	88,9%	1,4%	24,7%	74,0%	-	15,6%	84,4%	2,1	13,3	84,6
<b>Gentamicina</b>	-	6,1%	93,9%	-	1,4%	98,6%	-	9,4%	90,6%	-	5,3	94,7

#### 4.4 POR METODOLOGIA

Das 277 placas utilizando o “Método I” foi observada a seguinte freqüência bacteriana: 194 placas (69,8%) com *Aeromonas* spp., sete placas (2,5%) com *Pseudomonas* spp., 46 (16,6%) com *Vibrio* spp. e 30 (10,8%) com *Enterobacteriaceae*. Pelo “Método II” foi verificado crescimento em 143 placas com as seguintes bactérias: 92 (64,3%) de *Aeromonas* spp., sete (4,9%) de *Pseudomonas* spp., 23 (16,1%) de *Vibrio* spp. e 21 (14,7%) de *Enterobacteriaceae* (Tabela 31).

**TABELA 31 - Freqüência bactérias isoladas e identificadas em amostras de tilápia utilizando os Métodos I e II**

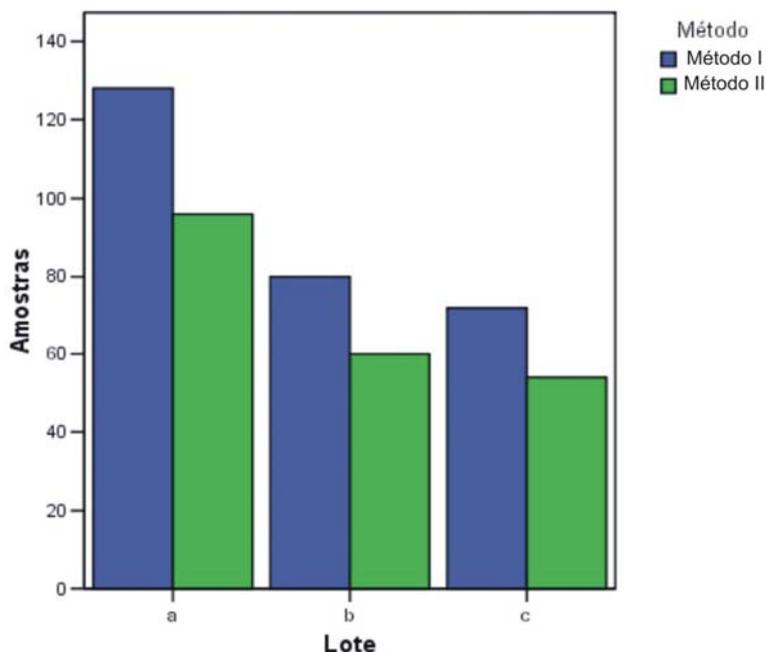
Método	Bactérias isoladas									
	<i>Aeromonas</i> spp.		<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Vibrio</i> spp.		<i>Enterobacteriaceae</i>		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
I	194	69,8	7	2,5	46	16,6	30	10,8	277	100
II	92	64,3	7	4,9	23	16,1	21	14,7	143	100

Como “Método I” foi observada a seguinte distribuição bacteriana: 67,8% de *Aeromonas* spp., 50,0% de *Pseudomonas* spp., 66,7% de *Vibrio* spp. e 58,8% de *Enterobacteriaceae*. Enquanto no “Método II”, foram verificados os seguintes percentuais: 32,1% de *Aeromonas* spp., 50,0% de *Pseudomonas* spp., 33,3% de *Vibrio* spp. e 41,2% de *Enterobacteriaceae*. Na análise dos dados estatísticos foi constatado que não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os resultados dos dois métodos (Tabela 32; Gráfico 08; Apêndice 9.3.8).

**TABELA 32 - Distribuição das bactérias isoladas pelos “Métodos I e II”**

Método	Bactérias isoladas							
	<i>Aeromonas</i> spp.		<i>Pseudomonas</i> spp.		<i>Vibrio</i> spp.		<i>Enterobacteriaceae</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%
I	194	67,8	7	50,0	46	66,7	30	58,8
II	92	32,1	7	50,0	23	33,3	21	41,2
<b>Total</b>	<b>286</b>	<b>100,0</b>	<b>14</b>	<b>100,0</b>	<b>69</b>	<b>100,0</b>	<b>51</b>	<b>100,0</b>

Gráfico 08 - Frequência de bactérias isoladas pelos “Métodos I e II”



Com o “Método I” foi observada a seguinte distribuição do percentual de isolamento das espécies de *Aeromonas* spp. identificadas: 67,0% de *A. hydrophila*, 20,1% de *A. veronii* bv *veronii*, 4,1% de *A. sobria*, 4,1% de *A. media*, 2,6 de *A. caviae*, 1,5% de *A. trota* e 0,5% de *A. atípicas*. Enquanto que com o “Método II” foi verificada a distribuição de: 50,0% de *A. hydrophila*, 35,9% de *A. veronii* bv *veronii*, 6,5% de *A. media*, 2,2% de *A. sobria*, 2,2% de *A. trota*, 2,2 % de *A. caviae* e 1,1% de *A. atípicas* (Tabela 33 e Apêndice 9.3.45)

TABELA 33 – Frequência e percentual de isolamento das espécies de *Aeromonas* pelos Métodos I e II

Método	Aeromonas														Total	
	hydrophila		veronii bv veronii		sobria		trota		media		caviae		atípicas		286	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
I	130	67,0	39	20,1	8	4,1	3	1,5	8	4,1	5	2,6	1	0,5	194	100
II	46	50,0	33	35,9	2	2,2	2	2,2	6	6,5	2	2,2	1	1,1	92	100

No “Método I” foi verificado isolamento de 80% de *A. sobria*, 73,9% da espécie *A. hydrophila*, 71,4% de *A. caviae*, 60,0% de *A. trota*, 57,1% de *A. media*, 54,2% da *A. veronii* bv *veronii* e 50,0% de *A. atípicas*, enquanto que no “Método II”

foi observado o isolamento de 50,0% de *A. atípicas*, 45,8% da *A. veronii* bv *veronii*, 42,9% de *A. media*, 40,0% de *A. trota*, 28,6% de *A. caviae*, 26,1% da espécie *A. hydrophila*, e 20% de *A. sobria* (Tabela 34 e Apêndice 9.3.45).

Na análise dos dados estatísticos foi constatado que  $p=0,089$ , quando comparado os resultados encontrados no isolamento das espécies de *Aeromonas* entre os dois métodos. Este resultado demonstra não haver diferença significativa ao nível de 5%. (Apêndice 9.3.11).

**TABELA 34 – Distribuição da frequência e do percentual de cada espécie de *Aeromonas* isolada pelos “Métodos I e II”**

Método	<i>Aeromonas</i>													
	<i>hydrophila</i>		<i>veronii</i> bv <i>veronii</i>		<i>sobria</i>		<i>trota</i>		<i>media</i>		<i>caviae</i>		<i>atípicas</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
I	130	73,9	39	54,2	8	80,0	3	60,0	8	57,1	5	71,4	1	50,0
II	46	26,1	33	45,8	2	20,0	2	40,0	6	42,9	2	28,6	1	50,0
Total	176	61,5	72	25,2	10	3,5	5	1,7	14	4,9	7	2,4	2	0,7

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 BACTÉRIAS ISOLADAS

Nas amostras de tilápia avaliadas foi observado alto índice de contaminação bacteriológica (85,7%), resultado equivalente nas duas regiões, com maior incidência total do gênero *Aeromonas* (68,1%), sendo que 62,9% foram isolados do material proveniente do município de Cachoeiras de Macacu e 37,1% do município de Pirai, deste percentual 25,5% foram oriundos da piscicultura B e o restante da piscicultura C.

O percentual total do gênero *Vibrio* spp. identificado foi de 16,4%, sendo que 97,1% foi oriundo de material do município de Pirai, deste percentual 60,9% foram originários da piscicultura C, indicando risco potencial à saúde pública devido a diversidade de espécies patogênicas causadoras de ETA e DTA pertencentes a este gênero. Em relação à família *Enterobacteriaceae*, que apresentou 12,2% do total dos gêneros isolados e onde podem estar incluídas bactérias indicadoras de contaminação fecal, foram encontrados 86,3% do total identificado no material proveniente do município de Pirai (49,0% da piscicultura C), assim como o gênero *Pseudomonas*, que do total de 3,3% foi identificado 85,7% em tilápias oriundas desse mesmo local (64,3% do produtor C), como pode ser verificado nas tabelas 08, 16 e 22. A diversidade de gêneros que foi identificada nas amostras de tilápia variou de acordo com a piscicultura e região, indicando um possível manejo diferenciado entre os produtores e/ou cuidados diferenciados quanto à origem e qualidade da água de cultivo.

Cada lote de amostras originárias das três pisciculturas, apresentou diferenças quanto à quantidade e gêneros isolados. O maior percentual de

isolamento do gênero *Aeromonas* ocorreu na piscicultura A, com freqüência de 180 (94,2%), seguido pela piscicultura B com freqüência 73 (60,8%) e piscicultura C com 33 (30,3%). Estes resultados podem ser parcialmente explicados em função da diferença no tamanho de cada lote, pois existe uma diferença significativa ao nível de 5% na proporção das bactérias distribuídas em cada um dos lotes. Nos três lotes houve isolamento de *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* e *Enterobacteriaceae*, ocorrendo nos lotes das pisciculturas A e B predominância do gênero *Aeromonas* enquanto o lote C ocorreu predominância de *Vibrio* spp. (Tabela 19).

## 5.2 ESPÉCIES DE *Aeromonas* spp. ISOLADAS

As espécies de *Aeromonas* isoladas e identificadas nas amostras de tilápia foram: *A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. media* e *A.* atípicas, sendo que a espécie mais freqüente foi a pertencente ao grupo *hydrophila*.

Ao avaliar-se o percentual de isolamento por região, observa-se que nas amostras do município de Cachoeiras de Macacu foram isoladas 100% das estirpes de *A. sobria* e *A. trota*, e 85,8% de *A. hydrophila*, enquanto nas amostras do município de Pirai foram identificadas 88,9% de *A. veronii* bv *veronii*, 100% de *A. caviae* e 14,2% de *A. hydrophila* (Tabela 29). Relatos de patogenicidade para o homem e/ou pescado, envolvendo as espécies citadas, foram feitos por Carnahan et al. (1991), Garcia-López et al. (2004), González et al. (2001), Gorden et al. (1979), Janda et al. (1995), Janda e Abbott (1998), Khardori e Fainstein (1988), Lee et al. (1997), Lehane e Rawlin (2000), Qadri et al. (1976), Rall et al. (1998), Rodríguez (2004), Rossi Jr et al. (2001), Souza e Souza (2001), Thomsen e Kristianse (2001), Tsai e Chen (1996), Varnan e Evans (1996).

Ghenghesh et al. (2001), também encontraram diversidade similar de espécies de *Aeromonas*, ao estudarem águas de rios. Hirsch et al. (2006) ao analisarem três amostras de tilápias, uma amostra de água do tanque e uma amostra da água do sistema de abastecimento, identificaram em todas as amostras, as espécies *A. jandaei*, *A. hydrophila*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. eucrenophila*,

*A. veronii* bv *veronii*, *A. schubertii*, *A. media*, além de estirpes classificadas como *Aeromonas* atípicas.

Atkins e Cleary (2000), Borrel et al. (1998), Borsh et al. (1974), Champsaur et al. (1982), Falgás et al. (2003), Ferran et al. (2004), Garcia-López et al. (2004), Garibay et al. (2006), Isonhood e Drake (2002), Nojimoto et al. (1997), Sugita et al. (1995) e Zanella et al. (2004) citaram patogenicidade destas espécies, causando enfermidades de origem gastroentéricas e, Carnahan et al. (1991), Falgás (2003), Garcia-López et al. (2004), Janda e Abbott (1995), Janda e Abbott (1998), Khardori e Fainstein (1988), Lee et al. (1997), Qadri et al. (1976) e Thomsen e Kristianse (2001), relataram a ocorrência de *Aeromonas* spp. causando também enfermidades não entéricas. Não seria preocupante a presença destas bactérias no que concerne ao consumo do pescado após tratamento térmico, já que a temperatura de 45°C ocasionaria a sua eliminação, porém foram diagnosticadas linhagens das espécies *A. hydrophila*, *A. sobria*, e *A. veronii* bv *veronii* como produtoras de toxinas termoestáveis podendo ocasionar DTA, cabendo ressaltar que a presença destas espécies de *Aeromonas* spp. podem ser agentes de enfermidades nos manipuladores durante o manejo do pescado, como relatado por Falcón et al. (2004) que citaram alterações morfológicas e intracelulares provocadas pela enterotoxina citotóxica da *A. hydrophila* em células epiteliais humanas, no qual demonstra que esta toxina, além de suas propriedades biológicas, é capaz de induzir a morte celular mediante apoptose, sendo comum a presença dessas toxinas em pescado de consumo exposto ao comércio como relatado por Rall et al. (1998), que detectaram a produção de enterotoxina citotóxica, em 67% das estirpes de *A. sobria*, em 60% das estirpes de *A. hydrophila* e em 40% das de *A. caviae*, isoladas de peixes “Pintado” coletados no comércio de São Paulo.

Além disso, Falgás (2003) relatou que a *A. hydrophila* apresenta dois tipos de enterotoxinas citotônicas classificadas em termolábeis e termoestáveis. As termolábeis são resistentes à 56°C durante 10 minutos, e têm sido isoladas em casos de diarreias produzidas por *A. hydrophila*. A enterotoxina termoestável resiste à temperatura de 100°C por 30 minutos e pode causar acúmulo de fluídos, além de reagir com as toxinas anticoléricas. Pelo exposto, não é recomendado a utilização deste pescado na culinária japonesa, que habitualmente consome este tipo de alimento sem processamento térmico.

Analisando os dados encontrados nas amostras coletadas nas três pisciculturas, foi verificada a ocorrência destas espécies patogênicas (*A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. sobria* e *A. caviae*) numa proporção de 93,9% em relação ao total do gênero isolado, nas amostras da piscicultura A com maior percentual de *A. hydrophila* (83,9%); 93,1% da piscicultura B, com os maiores percentuais de *A. veronii* bv *veronii* (58,9%) e *A. hydrophila* (31,5%); e 84,9% da piscicultura C, com maior percentual de *A. veronii* bv *veronii* (63,6%) e *A. caviae* com (15,2%).

A diversidade de espécies encontradas no pescado das pisciculturas estudadas é relevante, devido ao fato de que espécies potencialmente patogênicas aos peixes foram encontradas como as *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii* bv *veronii* e *A. caviae*. A presença dessas espécies nos cultivos, quando aliada aos manejos inadequados (densidade populacional em desacordo com a máxima permitida, manipulação exagerada dos animais, alimentação inadequada, entre outros) pode provocar o surgimento de doenças no plantel. Ghenghesh et al. (2001), encontraram diversidade similar de espécies de *Aeromonas*, ao estudarem águas de rios e concluíram que essa diversidade observada, possibilitava a ocorrência de doenças veiculadas através da água de cultivo.

As espécies isoladas acima citadas são consideradas potencialmente patogênicas aos seres humanos (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* bv *veronii*), implicando em risco ao consumidor desse pescado. Isolados não-patogênicos também foram identificados como as *A. media* e *A. trota*.

### 5.3 METODOLOGIAS UTILIZADAS

Em relação ao isolamento do gênero *Aeromonas*, os dois Métodos utilizados apresentaram comportamento semelhante. Enquanto que, em relação às espécies isoladas, apesar da análise dos dados estatísticos não apresentarem diferença significativa, se observou que o “Método I” (Ágar *Aeromonas*, Ágar Mac Conkey, Ágar Sangue e Ágar GSP), que teve como suplemento a ampicilina (inibidora da microbiota acompanhante) e temperatura de incubação de 28°C (faixa ótima de crescimento da *Aeromonas* spp.), apresentou desempenho mais eficiente no isolamento de *A. hydrophila*, enquanto no “Método II” (Ágar GSP, Ágar TCBS e Ágar Desoxicolato Citrato) que teve como suplemento o NaCl e temperatura de

incubação de 37°C, foi observada maior eficiência no isolamento de *A. veronii* bv *veronii*, como pode ser verificado na tabela 33.

Segundo, Jeppesen (1995) os meios de cultivo variam de efetividade e seletividade dependendo da origem do material avaliado. A opção do meio a ser utilizado e das condições de incubação vai depender da necessidade de recuperar células injuriadas, inibir a microbiota acompanhante competidora e do objetivo da investigação (se qualitativo ou quantitativo).

A literatura relata condições de crescimento diferenciadas, o que demonstra um comportamento diversificado das espécies e estirpes do gênero *Aeromonas*, justificando a variedade de condições relatadas pelos diversos autores, assim como no experimento realizado no qual o “Método I” foi mais eficiente para *A. hydrophila* e o “Método II” para *A. veronii* bv *veronii*.

De acordo com Popoff, (1984), a maioria das espécies de *Aeromonas* spp. cresce numa faixa de temperatura de 5°C a 41°C, sendo a faixa de temperatura ótima de crescimento entre 22°C e 28°C.

Altwegg e Geiss (1989), Altwegg (1999) e Palumbo et al. (2001), observaram diferença na atividade das descarboxilases e demais provas bioquímicas de *Aeromonas* spp. móveis, dependendo da temperatura de incubação, concluindo que a temperatura de 29°C é mais indicada para tais reações.

Palumbo et al. (2001), observaram que em várias reações bioquímicas de diversas estirpes de *Aeromonas* spp. móveis isoladas de alimentos, apresentaram resultados diferentes de acordo com a temperatura de incubação, mostrando resultados negativos à 37°C e resultados positivos à 28° C. A tolerância ao sal pode variar de acordo com as estirpes e as demais condições do meio, isto justifica a diferença de espécies isoladas e identificadas nas mesmas amostras, pelas duas metodologias utilizadas.

A *A. hydrophila* espécie que vem sendo exaustivamente estudada, tanto em relação às condições de crescimento quanto à sua ocorrência, é referenciada na literatura desde a década de 80 em vários estudos como os citados a seguir: Palumbo et al., 1985, Popoff, (1984), e Varnam e Evans (1996), afirmando que a *A. hydrophila*, presente em alimentos é capaz de crescer em temperaturas de aproximadamente - 0,1°C a + 1,2°C, sendo garantido seu desenvolvimento na temperatura de 4°C. Varnam e Evans (1996) que relataram temperatura máxima de crescimento em 42°C e Euzéby (2003), que afirmou ser possível à todas as

linhagens crescerem à 42°C depois de 24 a 48 horas de incubação. Garcia-López et al. (2004) contrariando esses autores, afirmaram que a faixa de crescimento é de 5°C a 45°C. Porém em relação à temperatura ótima de desenvolvimento todos os autores citados concordam com o valor de 28°C, que foi a temperatura utilizada no “Método I”, inclusive nas provas bioquímicas para identificação das estirpes isoladas por esta metodologia.

Palumbo et al., (1985) verificaram o crescimento das estirpes BA2 e BA7 de *A. hydrophila*, com 5% de NaCl quando incubado na temperatura ótima de 28°C. Os autores relatam que a maioria das estirpes crescem em concentrações em torno de 2% a 4% de NaCl, sendo que existem algumas estirpes que necessitam da presença de no mínimo 0,3% e outras que não necessitam desse sal para seu desenvolvimento.

#### 5.4 SELETIVIDADE DOS MEIOS

Os meios seletivos utilizados apresentaram diferença significativa quanto ao isolamento da *Aeromonas* spp., nas amostras ensaiadas em relação aos outros gêneros, e os resultados demonstraram que o meio de cultivo Ágar Aeromonas é mais seletivo para o gênero *Aeromonas*, enquanto o meio TCBS não revelou seletividade para o gênero estudado, resultado não esperado pois este gênero até há pouco tempo pertencia à família *Vibrionaceae* para a qual o referido meio (MERCK, 2003) é seletivo.

A ordem decrescente do percentual de isolamento do gênero *Aeromonas* nos meios seletivos foi: Ágar Aeromonas com ampicilina (85,3%), Ágar GSP com ampicilina (70%), Ágar GSP com NaCl (69,0%), Ágar Mac Conkey com ampicilina (67,6%), Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl (63,4%), Ágar Sangue com ampicilina (58%) (Tabela 08).

Com material das três pisciculturas, foi observado o melhor desempenho de isolamento de *Aeromonas* spp no Ágar Aeromonas, sendo o maior percentual de isolamento observado (27,2%) na piscicultura C que corresponde a 30,3% do gênero isolado no total das amostras e, o menor percentual de isolamento (17,8%) foi obtido nas amostras da piscicultura A correspondendo a 94,2% do total do gênero *Aeromonas* isolado. O fato deste meio apresentar uma maior efetividade de

isolamento, mesmo quando o gênero *Aeromonas* se encontrava em menor proporção em relação aos demais, pode estar relacionado à composição do meio, à suplementação do meio com ampicilina (inibidora da microbiota acompanhante), além da temperatura de incubação utilizada que foi de 28°C (Tabela 19 e 21).

Ao identificar o crescimento bacteriano ocorrido no pescado da piscicultura A, foi constatado percentual de isolamento nos meios Ágar Mac Conkey com ampicilina, Ágar GSP com ampicilina e com NaCl, semelhantes (17,2%), indicando efetividade de isolamento destes meios quando o gênero *Aeromonas* foi predominante na microbiota. No Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl e o Ágar Sangue com ampicilina foram observadas as menores seletividades, comportamento semelhante ao encontrado com os resultados totais tabulados (Tabela 08).

Com material da piscicultura B, foi verificado percentual de 60,8% de isolamento de *Aeromonas* spp., mas com diferenças quanto à ordem de efetividade dos meios quando relacionada aos resultados totais de todas as amostras com crescimento bacteriano, sendo observada a seguinte ordem decrescente no desempenho da seletividade: Ágar *Aeromonas* com ampicilina, Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl, Ágar Mac Conkey com ampicilina, Ágar GSP com ampicilina e com NaCl e Ágar Sangue com ampicilina. Este desempenho pode ter relação com a presença de outros gêneros, principalmente o *Vibrio* spp. (20,8%) e a família *Enterobacteriaceae* (15,8%) que foram isolados em pequeno percentual no pescado da piscicultura A (Tabela 08,19 e 21).

No isolamento bacteriano realizado nas tilápias da piscicultura C foi verificada semelhança com os resultados obtidos com a tabulação dos resultados totais, sendo o segundo melhor desempenho de seletividade com o meio Ágar GSP com ampicilina, seguido do Ágar Mac Conkey com ampicilina e do Ágar GSP com NaCl com resultados semelhantes e, obtidas as menores seletividade para *Aeromonas* spp. nos meios Ágar Sangue com ampicilina e Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl.

Em todos os meios utilizados, com exceção do TCBS, foi verificada seletividade semelhante para o gênero *Aeromonas*.

Na análise dos dados estatísticos não foi evidenciada diferença significativa em relação à seletividade dos meios de cultivo utilizados no isolamento das espécies do gênero *Aeromonas*.

Em relação à distribuição das espécies nos meios de cultivo o maior percentual de isolamento de *A. hydrophila*, em todos os meios de cultivo, justifica-se pela maior frequência (F=176) desta espécie nas amostras de tilápia ensaiadas. O mesmo comportamento foi observado com a espécie *A. veronii* bv *veronii* (F=72) da qual foi comprovada o segundo maior percentual. Essas duas espécies correspondem a 86,7% do total gênero isolado, influenciando desta forma no resultado da seletividade. (Tabela 29).

O meio de cultivo com melhor característica de seletividade para as espécies isoladas das amostras de tilápia foi o Ágar Aeromonas com ampicilina, com o maior percentual de isolamento da maioria das espécies, excetuando-se a *A. veronii* bv *veronii*, que foi obtida em maior percentual no meio Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl, porém este último, não foi seletivo para *A. sobria*, não ocorrendo isolamento de colônias desta espécie. Do Ágar Sangue com ampicilina e do Ágar GSP com NaCl plaqueados com as mesmas amostras de tilápias, não foram isoladas colônias de *A. trota* e *A. caviae*, não sendo, portanto, meios de cultivo seletivos para estas espécies (Tabela11).

Observa-se que na literatura os pesquisadores referenciam o uso do Ágar Sangue no isolamento de *Aeromonas* spp. Esterabaldi et al. (1973) citam o isolamento de *A. hydrophila*, após a utilização de plaqueamento em Ágar Sangue. Assim como Bizani e Brandelli (2001), que utilizaram Ágar Sangue de carneiro para isolamento de *Aeromonas* spp. e Boijink e Brandão (2001), que semearam amostras em Ágar Sangue isolando estirpes de *Aeromonas* sp., citando a identificação de *A. hydrophila* através de reações bioquímicas.

No experimento realizado, apesar do meio Ágar Sangue não ter sido considerado como o meio de cultivo mais indicado para isolamento deste gênero, foi o que apresentou maior percentual de isolamento da espécie *A. hydrophila* (Tabela 10). Este fato pode justificar o maior número de trabalhos na literatura citando a *A. hydrophila*, quando o meio seletivo é o Ágar Sangue, pois neste experimento este meio de cultivo não isolou a *A. trota* nem *A. caviae*, além de apresentar o menor percentual no isolamento de *A. veronii* bv *veronii*.

A presença de *A. hydrophila* e *A. sobria* causando hemólise incompleta ou completa no meio de cultivo contendo sangue de carneiro (Ágar Sangue com ampicilina), pode indicar a presença de toxinas, potencialmente patogênicas tanto para o homem quanto para o pescado de cultivo, pois de acordo com Abrami et al.

(2003), a hemolisina alfa que se forma em temperaturas menores que 37°C, durante a fase de crescimento estacionário da *Aeromonas* spp. ocasiona hemólise incompleta dos glóbulos vermelhos e, as placas de Ágar Sangue com ampicilina do presente trabalho, onde se observou a hemólise, foram incubadas à 28° C. O mesmo autor cita outra toxina chamada beta hemolisina conhecida também como aerolisina, citolisina ou enterotoxina citolítica, que é termolábil a 56°C durante 5 minutos, e se forma durante a fase de crescimento logarítmico e produz a hemólise completa dos glóbulos vermelhos do Ágar Sangue. Apesar de não ter sido observado no Ágar Sangue, o desenvolvimento de *A. trota* nem *A. caviae*, em material do presente experimento, foi importante a sua utilização para se ter um indicativo de espécies patogênicas através da visualização do fenômeno de hemólise. Após a realização das provas bioquímicas, foi observado que as espécies que causaram hemólise incompleta foram: a *A. hydrophila* isoladas das amostras das pisciculturas A e B, e a *A. sobria* oriunda do material da piscicultura A. A hemólise completa observada foi com as estirpes de *A. hydrophila* do pescado da piscicultura A.

Quando se avaliou o isolamento das espécies pelos meios de cultivo em cada uma das pisciculturas, foi observada uma variação no comportamento de seletividade. Nas amostras da piscicultura A, foram verificadas as seguintes frequências: *A. hydrophila* (151), *A. sobria* (10), *A. veronii* bv *veronii* (8), *A. media* (6) e *A. trota* (5); em relação a espécie *A. veronii* bv *veronii* foi constatado o melhor crescimento no Ágar GSP com NaCl. Enquanto que, com as tilápias da piscicultura B, cujas maiores frequências observadas foram das espécies *A. veronii* bv *veronii* (43) e *A. hydrophila* (23), a seletividade foi semelhante ao encontrado no resultado total. Ao analisar os resultados obtidos com as amostras da piscicultura C, onde a espécie predominante foi *A. veronii* bv *veronii* (21), foi verificado que a maior seletividade ocorreu no meio Ágar *Aeromonas* com ampicilina e no meio Ágar GSP com ampicilina foi evidenciada melhor efetividade para a *A. caviae* (5). Essa seletividade variável das espécies entre os meios de cultivo pode ser justificada pela diversidade qualitativa e quantitativa das espécies em cada uma das pisciculturas. Estes resultados justificam a necessidade de utilização de vários meios seletivos que permitam o isolamento e identificação de todas as espécies presentes nas amostras analisadas.

## 5.5 TESTE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

Ao analisar os resultados encontrados no teste de sensibilidade antimicrobiana para o gênero *Aeromonas* foi verificado um percentual de resistência à ampicilina de 92,7%, justificando o uso deste fármaco como suplemento de meios seletivos com a função de inibir a microbiota acompanhante. A resistência observada está de acordo com as relatadas por Ghenghesh et al. (2001), Rodríguez (2004) Souza e Souza (2001), Wen-Chien et al. (1998) e Zanella et al. (2004), que evidenciaram 100% de resistência a este fármaco, com Costa (2003) que citaram resistência de estirpes isoladas de tilápia e pacu, com Pereira (2003) que relataram resistência de 61,53% de estirpes oriundas de mexilhão *in natura* e pré-cozido, enquanto em trabalhos anteriores a 1990, como o de Kumar e Dey (1986) foi descrita resposta intermediária ao teste de sensibilidade ao fármaco supracitado.

Em relação à oxacilina, a resistência encontrada (76,1%) no material ensaiado neste experimento, está de acordo com a relatada de Costa (2003) que avaliou o desempenho este fármaco com estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas de amostras de tilápia e pacu.

O resultado de 51,3% de resistência encontrado com a penicilina G é concordante com os relatados de Kumar e Dey (1986), com o ensaio realizado por Costa (2003) utilizando estirpes isoladas de tilápia e pacu e com a citação de Rodríguez (2004).

A resposta intermediária à eritromicina apresentada por 74,1% das estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas neste trabalho, está em discordância com os resultados de sensibilidade encontrado no experimento de Kumar e Dey (1986), com os relatados por Costa (2003) ao avaliar estirpes isoladas de tilápia e com os evidenciados por Hirsch et al. (2006), que relataram resistência de 93% de estirpes isoladas de amostras de tilápia, água do tanque de cultivo e de abastecimento.

Com relação à novobiocina, foi observada resposta intermediárias (69,6%) das estirpes isoladas no experimento em questão, resposta não compatível com a resistência encontrada por Costa (2003) para as estirpes isoladas de tilápia e pacu, e relatos de Rodríguez (2004).

O percentual de resposta intermediária das estirpes de *Aeromonas* spp. ao fármaco tetraciclina foi de 68,4%, estando em concordância com o relatado por

Neves (1989), mas estando em discordância com os encontrados por Kumar e Dey (1986), Goñi-Urriza et al. (2000), Souza e Souza (2001) e Pereira (2003), que relataram a ocorrência de estirpes de *Aeromonas* spp. sensíveis a este fármaco, enquanto Costa (2003) relataram resposta de resistência ao ensaiar estirpes de *Aeromonas* spp. provenientes de pacu.

Com as estirpes isoladas das tilápias deste experimento foi verificado percentual de 52,3% de resposta intermediária à sulfametoxazol+trimetoprim, enquanto Kumar e Dey (1986) e Costa (2003) relataram resposta resistente a este antimicrobiano de todas as estirpes isoladas em seus experimentos, em Ghenghesh et al. (2001), Goñi-Urriza et al. (2000), Pereira (2003) e Souza e Souza (2001) foi descrita resposta sensível.

Com as estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas e ensaiadas foi evidenciada resposta sensível à gentamicina (94,7%), estando em concordância com a observação relatada por Ghenghesh et al. (2001), Goñi-Urriza et al. (2000), Hirsch et al. (2006), que citaram apenas 9% estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas de peixes, água de tanque e do sistema de abastecimento com resposta de resistência a este fármaco, Kumar e Dey (1986) e Pereira (2003), enquanto Alcides, et al. (1999) com estirpes isoladas de hortaliças, Costa (2003) com estirpes oriundas de pacu e Zanella et al. (2004) em estudo com estirpes isoladas de fezes de trabalhadores de aviário e de aves relataram resposta resistente.

Em relação à nitrofurantoína, comportamento de sensibilidade (84,6%) foi observado com as estirpes de *Aeromonas* spp., estando em concordância com a resposta encontrada por Hirsch et al. (2006), Neves (1989) e Pereira (2003) que relatou percentual de 92,3% de sensibilidade.

Os resultados encontrados com a rifampicina demonstraram resposta sensível de 75,8% das estirpes, estando em discordância com o resultado encontrado por Costa (2003) que relatou resistência a este fármaco por estirpes oriundas de tilápias e pacu.

Em relação ao cloranfenicol, a resposta sensível observada por 68,5% das estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas, está em concordância com os resultados relatados por Ghenghesh et al. (2001), Goñi-Urriza et al. (2000), assim como com Hirsch et al. (2006), que relataram resistência de apenas 4% das estirpes originárias de peixes, de água do tanque e de abastecimento do sistema estudado, com Kumar

e Dey (1986), Neves (1989), Pereira (2003) que relatou 100% de sensibilidade em estirpes isoladas de mexilhão *in natura* e pré-cozidos e Souza e Souza (2001).

A sensibilidade encontrada com o uso da kanamicina (64,3%), está em concordância com a relatada por Ghenghesh et al. (2001), Hirsch et al. (2006) e Neves (1989) que observaram resistência de 8% das estirpes isoladas em amostras de peixes, de água do tanque e de abastecimento do sistema estudado, enquanto que Costa (2003) relatou sensibilidade intermediária com estirpes isoladas de amostras de tilápia.

Em 61,8% de estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas no presente experimento, foi observada resposta sensível à estreptomicina, estando em concordância com resultado encontrado por Kumar e Dey (1986), enquanto Souza e Souza (2001), relataram que 50% das estirpes isoladas em peixes e 100% das isoladas da água do rio Congonhas, havia sido observada resposta resistente.

A resposta das estirpes de *Aeromonas* spp. isoladas à lincomicina foi intermediária, mas em apenas 47,7% das estirpes, estando em discordância com os resultados encontrados por Costa (2003) que relatou resistência a este fármaco por estirpes isoladas de tilápia e pacu.

No entanto, as espécies isoladas e identificadas a partir do material ensaiado apresentaram comportamento variável na resposta ao teste de sensibilidade antimicrobiana, assim como foram observadas algumas respostas diferentes das obtidas quando o teste foi aplicado ao gênero *Aeromonas*.

No teste de sensibilidade antimicrobiana, ensaiado com as estirpes de *Aeromonas* spp., isoladas das amostras de tilápia das três pisciculturas, foram evidenciadas respostas semelhantes quanto à: resistência aos fármacos ampicilina e oxacilina; sensibilidade intermediária à amoxicilina, eritromicina, tetraciclina, lincomicina e sulfametoxazol+trimetoprim; sensibilidade à estreptomicina, kanamicina, cloranfenicol, nitrofurantoína e gentamicina.

Com a novobiocina foi observada resposta intermediária das estirpes isoladas nas amostras das pisciculturas A e B, enquanto que nas da piscicultura C foi evidenciada resposta de resistência a este fármaco.

Em relação à penicilina G, observou-se sensibilidade intermediária nas estirpes isoladas das amostras da piscicultura A, enquanto que nas das pisciculturas B e C foi constatada resposta resistente a este fármaco e, neste caso cabe ressaltar

que a diferença de resposta foi em relação à região, pois as pisciculturas B e C são situadas no mesmo município.

Em relação ao trimetoprim foi evidenciada resposta resistente com as estirpes isoladas do pescado das pisciculturas A e B e, com as originárias das tilápias da piscicultura C foi observada resposta sensível ao teste.

O ensaio com as estirpes isoladas do material das pisciculturas A e C evidenciaram reação de sensibilidade à rifampicina, enquanto nas oriundas do material da piscicultura B, foi observada resposta intermediária.

As diferenças de respostas observadas no teste de sensibilidade aos antimicrobianos com estirpes isoladas em material dos três produtores podem ser devido à resistência adquirida pela utilização não racional desses fármacos no manejo, ou quanto a variedade de espécies isoladas do gênero *Aeromonas* nas amostras de tilápia desses diferentes produtores.

Entre os fatores que contribuem para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana adquirida, provocando a variabilidade de resultados entre as pisciculturas, podem ser citados: a origem geográfica do material e ao cultivo de tilápia ainda se encontrar em fase artesanal no Estado do Rio de Janeiro. Foi observado que cada piscicultor utiliza uma forma diferenciada de manejo, tanto no que concerne ao provimento de rações e suplementos quanto à procedência de alevinos, aos cuidados diferenciados com a sanidade animal e ao tratamento da água de cultivo, que por vezes é negligenciado, por ser esta espécie de pescado pouco exigente em relação à qualidade da água e à própria alimentação.

A resposta variável no teste de sensibilidade aos antimicrobianos pode ser justificada pela resistência adquirida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos ou, como foi observada uma variação quantitativa e qualitativa das espécies do gênero *Aeromonas* isoladas nas amostras das três pisciculturas, a variação nas respostas as fármacos utilizados pode ser devida a ação de enzimas produzidas por algumas espécies deste gênero.

Nos resultados do teste de sensibilidade antimicrobiana foi observada considerável variação quando da análise das respostas obtidas de acordo com as espécies isoladas.

Em relação à oxacilina, com todas as espécies isoladas foi verificada resistência, estando compatível com o resultado encontrado para o gênero *Aeromonas*, mas com diferença significativa ao nível de 5% ( $p=0,008$ ) entre as

respostas individuais de cada espécie (Tabela 12, Quadro 04 e Apêndice 9.3.12).

Foi constatada sensibilidade da *A. média* ao trimetoprim, enquanto a *A. trota* foi observada reação intermediária, contrariando o observado com a *Aeromonas* spp. e as demais espécies isoladas que foram resistentes e a *A. caviae* que percentagens equivalentes de estirpes foram tanto resistentes quanto sensíveis.

Em relação à ampicilina, a resposta intermediária observada com *A. trota*, *A. média* e *A. atípicas* contrastou com a verificada com as demais espécies isoladas e da *Aeromonas* spp., que foram resistentes.

A resposta da *A. sobria* à lincomicina foi de resistência, enquanto que a *A. trota* foi sensível e, as demais espécies e a *Aeromonas* spp. foram intermediárias.

As *A. atípicas* foram sensíveis à tetraciclina, resposta diferenciada foi observada com as demais espécies e a *Aeromonas* spp. que foram intermediárias.

Com exceção da *A. sobria*, que em relação ao cloranfenicol, foi verificada resposta igualmente distribuída entre intermediária e sensível, as demais espécies e a *Aeromonas* spp. foram sensíveis.

Com a *A. caviae* foi constatada resposta intermediária à kanamicina enquanto as demais espécies e a *Aeromonas* spp. foram sensíveis.

As espécies *A. trota* e *A. sobria* foram sensíveis ao sulfametoxazol +trimetoprim, enquanto que com as estirpes de *A. veronii* bv *veronii* foi observada resposta equilibrada entre resistência e sensibilidade, enquanto que as demais espécies identificadas e a *Aeromonas* spp. foram intermediárias.

A *A. sobria* foi 50% resistente e 50% intermediária frente à amoxicilina, enquanto que com as demais espécies e a *Aeromonas* spp. foram observados percentuais maiores que 50%, para resposta intermediária.

Na resposta à eritromicina, a *A. sobria* foi resistente, diferentemente das demais espécies e do gênero *Aeromonas* que foram intermediários.

Em relação à novobiocina, foi verificada tendência a resistência das estirpes de *A. sobria* e *A. caviae*, enquanto as outras espécies, assim como *Aeromonas* spp. foram intermediárias.

Na reação ao fármaco penicilina G, a *A. hydrophila* e *A. trota* foram intermediárias diferenciando-se da resistência observada com demais espécies e com a *Aeromonas* spp.

Todas as espécies isoladas (*A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. trota*, *A. caviae*, *A. média*, *A. atípica*) foram sensíveis à estreptomicina, gentamicina,

rifampicina, e nitrofurantoína, sendo constatada compatibilidade com a resposta observada com gênero *Aeromonas* (Tabela 30, Quadro 04 e Apêndices 9.3.13, 9.3.20, 9.3.21, 9.3.27).

## 6 CONCLUSÃO

A ocorrência de *Aeromonas* spp. em 68,1% das amostras de tilápia oriundas de três pisciculturas situadas em dois municípios, servem de alerta aos produtores, aos profissionais e as entidades governamentais ligadas ao setor pesqueiro, quanto aos procedimentos higiênico e sanitários praticados bem como ao manejo adotado na tilapicultura estadual, sendo aconselhável a implementação de ações de monitoramento da presença desta bactéria tanto no pescado quanto na água de cultivo.

No material ensaiado foi constatada diversidade qualitativa e quantitativa de espécies de *Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. veronii* bv *veronii*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. media* e *A. atípicas*) isoladas.

A existência de espécies de *Aeromonas* potencialmente patogênicas para o pescado nas amostras ensaiadas, indica a probabilidade de ocorrência de doenças de difícil controle no plantel ocasionando perdas econômicas para os produtores.

A ocorrência de espécies de *Aeromonas* potencialmente patogênicas para o para o homem, nas amostras de tilápia ensaiadas oriundas das três pisciculturas, não recomenda o consumo desse pescado na forma *in natura* (cru), assim como a observação de espécies (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. trota* e *A. veronii* bv *veronii*) potencialmente produtoras de toxinas termoestáveis, torna o pescado ensaiado potencial veiculador de doenças.

O gênero *Aeromonas* e a espécie *A. hydrophila* apresentou maior ocorrência no pescado do município de Cachoeiras de Macacu, e a espécie *A. veronii* bv *veronii* no pescado do município de Pirai.

A maior ocorrência do gênero *Aeromonas* e da espécie *A. hydrophila* foi no pescado originário da piscicultura A. No material das pisciculturas B e C houve maior

ocorrência da espécie *A. veronii* bv *veronii*

O meio TCBS não foi seletivo para o gênero *Aeromonas* nas análises com as amostras ensaiadas.

O Ágar *Aeromonas* com ampicilina foi o meio mais seletivo, dentre os utilizados, para o gênero *Aeromonas*, com sensibilidade para todas as espécies identificadas neste estudo.

O Ágar Sangue com ampicilina foi o meio mais sensível para *A. hydrophila*, dentre os meios utilizados, mas com baixa seletividade para o gênero.

O Ágar Desoxicolato Citrato com NaCl foi o meio mais sensível para *A. veronii* bv *veronii*.

A “Metodologia I” foi mais eficaz no isolamento de *A. hydrophila* e, a “Metodologia II” de *A. veronii* bv *veronii*. Esta constatação indica possíveis diferenças destas espécies quanto às características de temperatura ótima de crescimento e afinidade pelo NaCl.

Apenas com os antimicrobianos gentamicina, estreptomicina, rifampicina e nitrofurantoína ocorreu homogeneidade na resposta de sensibilidade quando comparado o gênero *Aeromonas* com as espécies isoladas.

Com os fármacos ampicilina e oxacilina o perfil antimicrobiano foi de resistência em relação ao gênero *Aeromonas* e as espécies isolada, no pescado ensaiado das três pisciculturas.

Os ensaios realizados com a *Aeromonas* spp. demonstraram variação quanto ao perfil antimicrobiano com a maioria dos fármacos testados, tanto em relação à área geográfica, quanto às espécies isoladas permitindo observar tendência à resposta de resistência.

O comportamento apresentado pelas estirpes das espécies é preocupante uma vez que foram isoladas das fontes de produção, e que o nível de contaminação do produto no comércio poderá elevar-se face as condições de armazenamento e manipulação, podendo contribuir para o envolvimento dessas espécies na transferência extra-específica de fatores de resistência antimicrobiana.

Os achados do presente trabalho demonstraram que a utilização de antimicrobianos deve obdecer regras prudentes, sendo supervisionado por profissionais habilitados que possam orientar na sua aplicação, de modo a atenuar os impactos negativos sobre a resposta de resistência destes fármacos com repercussão na medicina humana.

## 7 SUGESTÕES

Os resultados encontrados na presente pesquisa, permitem recomendar que as autoridades do Ministério da Saúde, procedam as medidas sanitárias cabíveis com objetivo de prevenir as possíveis enfermidades que tem por agente a *Aeromonas* spp., além da inclusão da *Aeromonas* spp. na listagem de agentes produtores de doenças transmitidas por alimentos.

Maior controle sanitário por parte da Fiscalização do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), das secretarias estaduais de agriculturas (SEAAPs) e secretarias municipais de saúde (SMSs).

Incluir como ponto crítico de controle nas Boas Práticas de Fabricação (BPP), no Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados (POP's), nas Boas práticas de Manipulação (BPM) e nos Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), que tem como pilares a Potabilidade de Água, Contaminação cruzada e a Higiene e Saúde dos Manipuladores, a pesquisa de *Aeromonas* spp. avaliando a qualidade da água de abastecimento e de cultivo na cadeia produtiva de tilápia).

Implementar maior apoio logístico à FIPERJ (Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro), ampliando seu programa de apoio à Aqüicultura possibilitando fornecer ao setor da tilapicultura melhor suporte técnico, no que concerne ao manejo, condições higiênico-sanitárias de toda a cadeia produtiva, e cuidados em relação ao uso racional da antimicrobiano-terapia, assim como desenvolver trabalho de Educação Sanitária com os tilapicultores

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYTA, JR. C; KAYSNER, C. A.; WEKELL, M. M. Incidence of motile *aeromonads* from United States west coast shellfish growing estuaries. *Journal of Food Protection*, Des Moines, Iowa, US: International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, v. 53, p. 849-855, 1990.

ABRAMI, L.; FIVAZ, M.; GLAUSER, P. E.; SUGIMOTO, N.; ZURZOLO, C.; GISOU VAN DER GOOT, F. Sensitivity of polarized epithelial cells to the pore-forming toxin aerolysin. *Infection and Immunity*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 71, n. 2, p. 739-746, 2003.

AGNASE, A. P. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbicas mesófilas e enumeração de coliforme total e fecal, em peixe fresco comercializado no município de Seropédica - RJ. *Higiene Alimentar*, São Paulo: SP. Impress, v. 15, n. 88, p. 47-49, set. 2001.

AGUILAR, A.; MERINO, S.; RUBIRES, X.; TOMAS, J. M. Influence of osmolarity on lipopolysaccharides and virulence of *Aeromonas hydrophila* serotype O:34 strains grown at 37°C. *Infection and Immunology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 65, n. 4, p.1245–1250, abr. 1997.

ALBERT, M. J.; ANSARUZZAMAN, M.; SHIMADA, T.; RAHMAN, A.; BHUIYAN, N. A.; NAHAR, S.; QADRI, F.; ISLAM, M. S. Characterization of *Aeromonas trota* strains that cross-react with *Vibrio cholerae* O:139. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 33, n. 12, p. 3119–3123, dez. 1995.

ALCIDES, A. P. P.; GUIMARÃES, M. S.; FERREIRA, M. C. S. Detecção de resistência a antimicrobianos e cepas enterotoxigênicas em amostras de *Aeromonas* isoladas a partir de hortaliças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20., 1999, Salvador. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1999. AL-128, p.376.

ALEXANDRINO, A. C.; OKUMURA, M. P. M.; BALDASSI, L.; ARAUJO, A. P.; KURODA, C. K.; WAKASA, Y. S. Ocorrência de *Aeromonas hydrophilla* em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em cultivo intensivo - Relato de caso. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 26, n.1, p.117-119, 2000.

ÁLVAREZ, R. J. D.; AGURTO, O. C. P. Bacterioflora gram negativa aerobia de tilapias silvestres y cultivadas en la región central de Venezuela durante el período 1999-2000. *Veterinaria Tropical*, Maracay, Venezuela, VE: Instituto de Investigaciones Veterinarias, v. 25, n. 2, p. 209-228, 2000.

ALTWEGG, M.; GEISS, H. K. *Aeromonas* as human pathogen. *Critical Reviews in Microbiology*, Florida, USA: CRC Press, v.16, n. 4, p. 253-286, 1989.

ALTWEGG, M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 620 p. p. 507-516.

ARRUDA, L. F. *Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos*. Piracicaba, 2004. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ATKINS, J. T.; CLEARY, T. G. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: BEHRMAN, R. E.; KLIEGMAN, R. M.; JENSON, H. B. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16. ed. Espanha: Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A de C.V., 2000. 2609 p. p. 861-863.

BALLARIN, J. D.; HATTON, J. P. *Tilápia: a guide to their biology e culture in África*. University of Stirling, Stirling, Scotland: The Centre for Publishing Studies, 1979. 90 p.

BEYRUTH, Z.; MAINARDES-PINTO, C. S. R.; FUSCO, S. M.; FARIA, F. C.; SILVA, A. L. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçoamento. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo: Instituto de Pesca, v. 30, n.1, p. 9-24, 2004.

BIZANI, D.; BRANDELLI, A. Antimicrobial susceptibility, hemolysis, and hemagglutination among *Aeromonas* spp. isolated from water of a bovine abattoir. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo: SBM – Sociedade Brasileira de Microbiologia, v. 32, n. 4, p. 334-339, 2001. ISSN 1517-8382.

BOIJINK, C. L.; BRANDÃO, D. A. Inoculação bacteriana de *Aeromonas hydrophila* e a sobrevivência de juvenis de Jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Ciência Rural*, Santa Maria, RS, Brasil: Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 503-507, maio/jun. 2001. ISSN 0103-8478.

BORRELL, N.; FIGUERAS, M. J.; GUARRO, J. Phenotypic identification of *Aeromonas* genomospecies from clinical and environmental sources. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, Canada: NRC Research Press, v. 44, n. 2, p.103-108, fev. 1998.

BORSH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 30, p. 9-25, 1974.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 30, n. 5, p.1391-1396, 2001.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FEIDEN, A. E.; BOMBARDELLI, R. A. A. Digestibilidade aparente da energia e proteína das farinhas de resíduo de filetagem da tilápia (*Oreochromis niloticus*) e da corvina (*Plagioscion squamoissimus*) e farinha integral do camarão canela (*Macrobrachium amazonicum*) para a tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 33, n.1, p. 8-13, 2004.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.10785, 07 jul. 1952, seção I.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003a. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.14, 18 set. 2003, seção I.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros – DIFAP. *Estatística 2003: Estatística da Pesca Ano de 2003b: Brasil, grandes regiões e subunidades da federação*. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/rec\\_pesqueiros/index.php?id\\_menu=93](http://www.ibama.gov.br/rec_pesqueiros/index.php?id_menu=93)>. Acesso em: 05 nov. 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros – DIFAP. *Estatística 2004: Estatística da Pesca Ano de 2004a: Brasil, grandes regiões e subunidades da federação*. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/rec\\_pesqueiros/index.php?id\\_menu=93](http://www.ibama.gov.br/rec_pesqueiros/index.php?id_menu=93)>. Acesso em: 05 nov. 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Manual de Microbiologia*. 2004b. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod\\_4\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_4_2004.pdf)>. Acesso em: 04 jun. 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos*. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_4\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_4_2004.pdf)>. Acesso em: 08 maio 2004c.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Programa Nacional de Desenvolvimento da Pesca Amadora. *Tilapia: Nome popular*. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/pndpa/index.php?id\\_menu=26](http://www.ibama.gov.br/pndpa/index.php?id_menu=26)>. Acesso em: 16 out. 2005a.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros – DIFAP. *Estatística 2005. Estatística da Pesca Ano de 2005b: Brasil, grandes regiões e subunidades da federação*. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/rec\\_pesqueiros/index.php?id\\_menu=93](http://www.ibama.gov.br/rec_pesqueiros/index.php?id_menu=93)>. Acesso em: 15 mar. 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. *Programa Nacional de Apoio à Competitividade e à Sustentabilidade da Cadeia da Tilápia*. Disponível em: <<http://www.ministerioagricultura.gov.br> >. Acesso em: 26 jan. 2007a.

\_\_\_\_\_. Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Departamento de Pesca e Aqüicultura: Secretaria Executiva. *Situação atual da cadeia produtiva da Tilápia*. Disponível em: <[http://www.mercadodapesca.com.br/cadeias\\_tilapia.php?pag=situacao\\_atual](http://www.mercadodapesca.com.br/cadeias_tilapia.php?pag=situacao_atual)>. Acesso em: 18 maio 2007b.

\_\_\_\_\_. Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Departamento de Pesca e Aqüicultura: Secretaria Executiva. *Benefícios sócio-econômicos: Benefícios sociais*. Disponível em: <[http://www.mercadodapesca.com.br/cadeias\\_tilapia.php?pag=situacao\\_atual](http://www.mercadodapesca.com.br/cadeias_tilapia.php?pag=situacao_atual)>. Acesso em: 18 maio 2007c.

BRITO, A. Tilápia toma espaço do couro de boi. *O Estado de São Paulo*, São Paulo, 28 dez 2005. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/noticias.php?id=1412>>. Acesso em: 14 maio 2006.

BUCHANAN, R. L., PALUMBO, S. A. *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* as potencial food poisoning species: a review. *Journal of Food Safety*, Westport, Connecticut, US: Food & Nutrition Press, v. 7, p. 15-29, 1985.

BULHÕES, C. C. C.; ROSSI JR., O. D. Ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* em queijo – minas – frescal artesanal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, MG: Escola de Veterinária, UFMG, v. 54, n. 3, p. 320-324, 2002.

CALLISTER, S. M.; AGGER, A. W. Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington: American Society for Microbiology, v. 53, n. 2, p. 249-253, 1987.

CARNAHAN, A. M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 29, n. 12, p. 2843-2849, dez. 1991.

CARVALHO, J. TILÁPIA: mercado norte-americano x mercado europeu. *Revista Panorama da Aqüicultura*, 17 nov. 2005. Disponível em: <[http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/paginas/09\\_validate/index.asp](http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/paginas/09_validate/index.asp)>. Acesso em: 18 fev. 2007.

CDC – Weekly. Amio 1990. v. 39, n. 20 p. 334-336, 341p. Disponível em: <[www.cdc.gov/mmwr/preview/mmurhtm/0001628.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmurhtm/0001628.htm)>. Acesso em: 10 set. 2007.

CHAMPSAUR, H.; ANDREMONT, A.; MATHIEU, D. Cholera like illness due to *Aeromonas sobria*. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, US: University of Chicago Press, v. 145, n. 2, p. 248-254, 1982.

CHOPRA, A. K.; XU, X. J.; RIBARDO, D.; GONZALEZ, M.; KUHL, K.; PETERSON, J. W.; HOUSTON, C. W. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infection and Immunity*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 68, n. 5, p. 2808-2818, maio 2000.

CIDE- Centro de Informação e Dados do Rio de Janeiro. Secretaria de Planejamento do Estado do Rio de Janeiro. *Censo de águas interiores*. Cap.5. Dados Econômicos. Tab. 5.1: Produção animal de peixes, por espécies em quilogramas. 1999.

CLEMENT, S.; LOVELL, R.T. Comparison of processing yield and nutrient composition of culture Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, Amsterdam: Elsevier, v. 119, p. 299-310, 1994.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement*. CLSI/NCCLS document M100- 15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.

COLWELL, R. R.; MAC DONELL, M. T.; DE LEY, J. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae*. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 36, p. 473-477, nov. 1986.

COLWELL, R. R. Global Climate and Infectious Disease: The Cholera Paradigm. *Science*, Baltimore, MD: AAAS Annual Meeting and Science Innovative Exposition, v. 274, n. 5295, p. 2025-2031, dez. 1996. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/274/5295/2025>>. Acesso em: 28 set. 2006.

COLWELL, S.; ASCHAUER, W.; GRUBER, H. J.; NELSON, K. L.; BUCKLEY, J. T. The erythrocyte receptor for the channel-forming toxin aerolysin is a novel glycosylphosphatidylinositol-anchored protein. *Molecular Microbiology*, Massachusetts: Blackwell Scientific Publications, v. 25, n. 2, p. 343-350, jul. 1997.

CONTRERAS-GUSMÁN, E. S. *Bioquímica de pescados e derivados*. Jaboticabal: Funep, 1994, 409 p.

COSTA, A. B. *Caracterização de bactérias do complexo Aeromonas isoladas de peixes de água doce e sua atividade patogênica*. Piracicaba, 2003. 54 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Piracicaba, São Paulo, 2003.

COSTA, F. N.; ROSSI JR, O. D. Bactérias do gênero *Aeromonas* em abatedouro de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, MG: Escola de Veterinária, UFMG, v. 54, n. 5, p. 534-538, 2002.

CUNHA, M. A. Indústria de pescado instalada no semi-árido baiano. *O Estado de São Paulo*, São Paulo, 23 mar. 2002, Economia..Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/arquivo/economia/2002/not20020323p26802.htm>>. Acesso em: 7 set. 2002.

DAVIES, A. R., SLADE, A. Fate of *Aeromonas* and *Yersinia* on modified atmosphere package (MAP) cod and trout. *Letters in Applied Microbiology*, Oxford, Inglaterra, GB: Blackwell Scientific Publications, v. 21, p. 354-358, 1995.

DAVIS, W. A., KANE, J. C., GARAGUSI, V. F. Human *Aeromonas* infections: A review of the literature and a case report of endocarditis. *Medicine*, Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, v. 57, p. 267-277, 1987.

DELAMARE, A. P. L.; DALCIN, T.; MULLER, G. et al. The effect of organic osmoprotectors on *Aeromonas trota* and *A. hydrophila* grown under high sodium chloride concentrations. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, SP: Sociedade Brasileira de Microbiologia, v. 34, supl. 1, p. 128-130, nov. 2003. ISSN 1517-8382.

DOHERTY, A.; SHERIDAN, J. J.; ALLEN, P.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S.; HARRINGTON, D. Survival and growth of *Aeromonas hydrophila* on modified atmosphere packaged normal and high pH lamb. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 28, n. 3, p. 379-392, 1996.

ELEY, A.; GEARY, I.; WILCOX, M. H. Growth of *Aeromonas* spp. at 4°C and related toxin production. *Letters in Applied Microbiology*. Oxford, Inglaterra, GB: Blackwell Scientific Publications, v. 16, n.1, p. 36-39, 1993.

ELLISON, R. T.; MOSTOW, S. R. Pyogenic meningitis manifesting during therapy for *Aeromonas hydrophila* sepsis. *Archives of Internal Medicine*, Chicago: American Medical Association, v. 144, n. 10, out. 1986.

EMMERT, B.; SHOTTS, J.; REIMLER, R. Medium for the Isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Applied Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 26, n. 4, p. 550-553, out. 1973.

ESPAÑA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Factibilidad del cultivo de Tilapia en Mallorca*. Disponível em: <[http://www.mapa.pesca/publicaciones/publi\\_recientes.htm](http://www.mapa.pesca/publicaciones/publi_recientes.htm)>. Acesso em: 06 fev. 2007.

ESTERABALDI, A. H.; ENTESSAR, F.; KHAN, M. A. Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* from an outbreak of hemorrhagic septicemia in snakes. *Canadian Journal of Compendium Medical*, Ottawa, CA: National Research Council of Canada, v. 37, p. 418-420, out. 1973.

ESTEVE, C.; GUTIÉRREZ, M. C.; VENTOSA, A. *Aeromonas encheleia* sp. nov., isolated from european eels. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 45, n. 3, p. 462-466, 1995.

EUROFISH. *FISH INFOnetwork Market Report on Tilapia*. Disponível em <<http://www.eurofish.dk/>>. Acesso em: 15 mar. 2007.

EUZÉBY, J. P. *Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire: Aeromonas hydrophila*. 04 jun 2003. Disponível em:  
< <http://www.bacterio.cict.fr/bacdict/nomstaxons.html>>. Acesso em: 02 maio 2006.

EVANGELISTA, J. *Tecnologia de alimentos*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 652 p.

FALCÓN, R.; CARVALHO, H. F.; PINTO, P.; GATTI, M. S. V.; YANO, T. Acción de la enterotoxina citotóxica en la patogénesis de *Aeromonas hydrophila*. *Bioteología Aplicada*, Habana, Cuba: Sociedad Ibero-latinoamericana para Investigaciones sobre Interferon y Biotecnología en Salud, v. 21, n. 4, p. 253-259, 2004.

FALGÁS, S. L. *Importancia biosanitaria de Aeromonas: Taxonomía y Epidemiología*. Tarragona, Spain, 3 out. 2003. 326 f. Tese (Doctoral em Nutrició i Metabolisme) – Unitat de Biologia e Microbiologia, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, 2003. Disponível em: <[http://www.tdx.cbuc.es/TESIS\\_URV/AVAILABLE/TDX-0326104-113325/#documents](http://www.tdx.cbuc.es/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX-0326104-113325/#documents)>. Acesso em: 26 ago. 2006.

FAO - Food and Agricultural Organization. *Aquacultura*. In: Wikipédia, enciclopédia livre. Disponível em:  
< <http://pt.wikipedia.org/wiki/Aquacultura> >. Capturado em: 20 jun. 2006.

FERRAN, L.; IMMA, G.; TUBAU, F. E.; CISMAL, M. P. R. Epidemiological and clinical characteristics of bacteraemia caused by *Aeromonas* spp. as compared with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Stockholm, SE: Scandinavian University Press, v. 36, n. 5, p. 335-341, maio 2004.

FIGUEIREDO, J; PLUMB, J. A. Virulence of different isolates of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. *Aquaculture*, Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, v. 11, n. 4, p. 349-354, ago. 1977. Disponível em:  
<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T4D-49PJ6K1-MV&\\_user=686357&\\_coverDate=08%2F31%2F1977&\\_rdoc=7&\\_fmt=summary&\\_orig=browse&\\_srch=docinfo\(%23toc%234972%231977%23999889995%23462904%23FLP%23display%23Volume\)&\\_cdi=4972&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_ct=17&\\_acct=C000037518&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=686357&md5=019180aa95835d9327f051b45296eb5d](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T4D-49PJ6K1-MV&_user=686357&_coverDate=08%2F31%2F1977&_rdoc=7&_fmt=summary&_orig=browse&_srch=docinfo(%23toc%234972%231977%23999889995%23462904%23FLP%23display%23Volume)&_cdi=4972&_sort=d&_docanchor=&view=c&_ct=17&_acct=C000037518&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686357&md5=019180aa95835d9327f051b45296eb5d)>. Acesso em: 24 jun. 2005.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21<sup>st</sup> century. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 50., 2000, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: Panorama da Aqüicultura Ltda, 2000. 1 v. V.1, p.3-8.

FITZSIMMONS, K. *On-line tilapia store*: Tilapia biologist wins World Food Prize-June 2005. American Tilapia Association. Disponível em:  
<<http://ag.arizona.edu/azaqua/ata.html>>. Acesso em: 02 dez. 2006.

FITZSIMMONS, K. *Nutritional characteristics of tilápia*. Arizona, 18 jun. 2006. Disponível em: <<http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/nutrition.htm>>. Acesso em: 02 jun. 2007.

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. 1820 p.

FRANCO, L. Tilápia: Criação tipo exportação. *Piscicultura Brasil*. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br>>. Acesso em: 13 out. 2006.

GARCIA LÓPEZ, M. L.; SANTOS, J. A.; OTERO, A. Motile *Aeromonas* spp. *FoodInfo Online Features*, United King: IFIS Publishing, 15 jul. 2004. Disponível em: <<http://www.foodsciencecentral.com/library.html#ifis/13366>>. Acesso em: 13 fev. 2005.

GARIBAY, R. I. A.; AGUILERA-ARREOLA, M. A. G.; OCAÑA, A. N.; CEREZO, S. G.; MENDOZA, M. S.; LÓPEZ, J. M.; CAMPOS, C. E.; CRAVIOTO, A.; CASTRO-ESCARPULLI, G. Serogroups, K1 antigen, and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* spp. strains isolated from different sources in Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, RJ: Fundação Oswaldo Cruz, v. 101, n. 2, p.157-161, mar. 2006.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. *Higiene Alimentar*, São Paulo: SP. Impress, v. 7, n. 28, p. 40-45, 1993.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Qualidade do pescado. In:\_\_\_\_\_. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 2003. 655 p.

GHENGHESH, K. S.; EI-GHODBAN, A.; DKAKNI, R. et al . Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, RJ: Fundação Oswaldo Cruz, v. 96, n. 2, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762001000200006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000200006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 19 jun. 2006.

GHERARDI, S. R. M.; FIGUEIREDO, A. A.; SILVA, P. P. O. Avaliação da qualidade microbiológica no processo de elaboração de bases protéicas desidratadas, formuladas com tilápias (*Oreochromis niloticus* e *Tilapia rendalli*). *Higiene Alimentar*, São Paulo: SP. Impress, v.11, n. 49, p. 46-51, maio/jun. 1997.

GOLDEN, D., A.; EYLES, M., J.; BEUCHAT, L. R. Influence of modified atmosphere storage on the growth of uninjured and eat injured *Aeromonas hydrophila*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 55, n. 11, p. 3012-3015, 1989.

GONI-URRIZA, M; PINEAU, L; CAPDEPUY, M. et al. Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two European rivers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Oxford, GB: British Society for Antimicrobial Chemotherapy, v. 46, n. 2, p. 297-301, ago. 2000.

GONZÁLEZ, C. J.; SANTOS, J. A.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L.; GONZÁLEZ, N.; OTERO, A. Mesophilic Aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. *Journal of Food Protection*, Des Moines, Iowa, US: International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, v. 64, n. 5, p. 687-691, 2001.

GORDEN, R. W.; HAZEN, T. C.; ESCH, G. W.; FLIERMANS, C. B. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from the American alligator, (*Alligator mississippiensis*). *Journal of Wildlife Diseases*, Kansas, USA: Wildlife Disease Association, v. 15, n. 2, p. 239-243, abr. 1979.

GUERRA, C. A. M.; MAIA FILHO, M. A.; CAVALCANTI, J. R. R. M.; SOUZA, E. S.; OLIVEIRA, S. M. *Cultivo da tilápia*. Empresa Pernambucana de Agropecuária. Disponível em: <<http://www.ipa.br/index.html>>. Acesso em: 08 out. 2002.

HÄNNINEN, M. L. ; SUTONEN, A. Distribution of *Aeromonas* phenospecies and genospecies among strains isolated from water, foods or human clinical samples, *Epidemiology of Infection*, Cambridge, Inglaterra, GB: Cambridge University Press, v. 115, p. 39-50, 1995.

HANFIELD, M.; SIMARD, P.; COUILLARD, M.; LETARTE, R. *Aeromonas hydrophila* Isolated from Food and Drinking Water: Hemagglutination, Hemolysis, and Cytotoxicity for a Human Intestinal Cell Line (HT-29). *Applied And Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 62, n. 9, p. 3459–3461, set. 1996.

HARF-MONTEIL, C.; LE FLÈCHE, A.; RIEGEL, P.; PRÉVOST, G. ; BERMOND, D.; GRIMONT, P. A. D.; MONTEIL, H. *Aeromonas simiae* sp. isolated from monkey faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 54, n. 2, p. 481-485, 2004.

HARVEY, D. Aquaculture outlook 1995. *Aquaculture Magazine*, Asheville: Archill River, v. 21, n. 3, p. 38-43, maio/jun. 1995.

HAVELAAR A. H.; VERSTEEGH J. F. M.; DURING M. The presence of *Aeromonas* in drinking water supplies in the Netherlands. *Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin*, Stuttgart, Alemanha, DE: Gustav Fischer, v.190, p. 236-256, 1990.

HILSDORF, A. W.S. Avaliação genética e zootécnica de duas variedades de tilápia nilótica (*O. niloticus* var. Red-Stirling e *O. niloticus* var. chilatrada) para o estabelecimento de um programa de produção massal de um híbrido de tilápia vermelha. *Projeto FAPESP: Inovação Tecnológica em Pequenas Empresas*. Resumo: Fase 1 e 2. Disponível em: <<http://watson.fapesp.br/PIPEM/pipe10/engpesc1.htm>>. Acesso em: 15 maio 2007.

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

HOBBS, B. C. O. *Higiene y Toxicologia de los alimentos*. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 492 p.

HOLMSTRÖM, K.; GRÄSLUND, S.; WAHLSTRÖM, A.; POUNGSHOMPOO, S.; BENGTSSON, B.; KAUTSKY, N. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science and Technology*, Oxford, Inglaterra, GB: Blackwell Scientific Publications, v. 38, n. 3, p. 255-266, mar. 2003.

HOLT, J. G. Facultatively anaerobic Gram negative rods. In: BERGEY, D. H. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9. ed. Baltimore, USA: Williams & Wilkins, 1994. 816 p. group 5, subgroup 1, p. 175-289.

HUANG, C. H.; LAI, H. T.; WENG, Y. M. Suitability on hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) muscle for gel formation. *International Journal of Food Science and Technology*. Oxon, Inglaterra: Institute of Food Science and Technology, v. 33, p. 339-334, 1988.

HUSS, H. H. *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. Roma: FAO - Departamento de Pesca, Documento Técnico de Pesca, v. 334. 1997. 174p. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/003/T1768S/T1768S00.htm#TOC>>. Acesso em: 15 nov. 2006.

HUYS, G.; KÄMPFER, P.; ALTWEGG, M. *Aeromonas popofii* sp. nov., a mesophilic bacterium isolated from drinking water production plants and reservoirs. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 47, n. 3, p.1165-1171, 1997.

HUYS, G.; KÄMPFER, P.; ALBERT, M. J.; KUEHN, I.; DENYS, R.; SWINGS, J. *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* subsp. nov., isolated from children with diarrhea in Bangladesh, and extended description of *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* (Chester 1901) Stanier 1943 (Approved Lists 1980). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 52, p. 705-712, 2002.

HUYS, G.; PEARSON, M.; KÄMPFER, P.; DENYS, R.; CNOCKAERT, M.; INGLIS, V.; SWINGS, J. *Aeromonas hydrophila* subsp. *ranae* subsp. nov., isolated from septicaemic farmed frogs in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 53, p. 885–891, 2003.

IGARASHI, M. A. *Tilápia*: Cultivo de Tilápia. Disponível em: <<http://www.geocities.com/ctaufc/tilapia.htm>>. Acesso em: 17 nov. 2005.

IGARASHI, M. A. Criação de tilápia. Biblioteca Virtual da Universidade de Viçosa. Disponível em: <[http://www.uov.com.br/biblioteca/308/criacao\\_de\\_tilapias.html](http://www.uov.com.br/biblioteca/308/criacao_de_tilapias.html)>. Acesso em: 14 set. 2006.

INGHAM, S., C. Growth of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* on cooked crayfish tails during cold storage under air, vacuum, and a modified atmosphere. *Journal of Food Protection*, Des Moines, Iowa, US: International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, v. 53, n. 8, p. 665-667, 1990.

ISONHOOD, J.; DRAKE, M. *Aeromonas* species in foods. *Journal of Food Protection*, Iowa: International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, v. 65, n. 3, p. 575-582, 2002.

JANDA, J. M. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenecity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 4, n. 4, p. 397-410, out. 1991.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L.; CARNAHAN, A. M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*. 6. ed. Washington, D. C.: ASM Press, 1995. 1482 p. p. 477–482.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, US: University of Chicago Press, v. 27, p. 332-344, 1998.

JEPPESEN, C. Media for *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* spp. food and environment. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 26, n. 1, p. 25-41, jun. 1995.

JOHNSON, W. M.; LIOR, H. Cytotoxicity and suckling mouse reactivity of *Aeromonas hydrophila* isolated from human sources. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, CA: National Research Council of Canada, v. 27, p.1019-1027, 1981.

JOSEPH, S. W.; DAILY O. P.; HUNT, W. S.; SEIDLER, R. J.; ALLEN, D. A.; COLWELL, R. R. *Aeromonas* primary wound infection of a diver in polluted waters. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington: American Society for Microbiology. v. 10, n. 1, p. 46-49, jul. 1979.

JOSEPH, S. W.; CARNAHAN, A. M. The isolation, identification and systematics of the motile *Aeromonas* species. *Annual Review of Fish Diseases*, Danvers, Massachusetts, US: Elsevier Science, v. 4, p. 315–343, 1994.

JOSEPH, S. W.; CARNAHAN, A. M. Update on the genus *Aeromonas*. *ASM News*, Ann Arbor, Michigan, US: American Society for Microbiology, v. 66, p. 218-223, 2000.

JOSUPEIT, H. Tilápia. FAO- INFOnetwork *Market Report*, apr. 2005 Disponível em: <<http://www.eurofish.dk/indexSub.php?id=3059>>. Acesso em: 14 maio 2005.

KÄMPFER, P.; CHRISTMANN, C.; SWINGS, J.; HUYS, G. In vitro susceptibilities of *Aeromonas* genomic species to 69 antimicrobial agents. *Systematic and Applied Microbiology*, Stuttgart, Alemanha, DE: Gustav Fischer Verlag, v. 22, n. 4, p. 662-669, dez. 1999.

KAYSNER, C. A.; DEPAOLA, JR. A. *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: FDA - Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*, 8. ed. rev., USA: FDA, 1998. cap. 9, rev. ampl. em maio 2004. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html>>. Acesso em: 06 jul. 2006.

KHARDORI, N.; FAINSTEIN, V. *Aeromonas* and *Plesiomonas* as etiological agents. *Annual Review Microbiology*, Palo Alto, California, US: Annual Reviews, v. 42, p. 395-419, out. 1988.

KIROV, M. S. The public health significance of *Aeromonas* spp. in foods. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 20, n. 4, p. 179-198, dez. 1993.

KIROV, M. S. *Aeromonas* and *Plesiomonas* species. In: DOYLE, M.; BEUCHAT, L.; MONTVILLE, T. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Washington, US: ASM Press, 1997. 784p. p. 265–287.

KO, W. C.; CHUANG, Y. C. *Aeromonas* bacteremia: Review of 59 episodes. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, US: University of Chicago Press, v. 20, p.1298-1304, 1995.

KUBITZA, F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí, Santa Catarina: Fundação Kubitza, 2000. 285 p.

KÜHN, I.; ALBERT, M. J.; ANSARUZZAMAN, M.; BHUIYAN, N. A.; ALABI, S. A.; ISLAM, M. S.; NEOGI, P. K. B.; HUYS, G.; JANSSEN, P.; KERSTERS, K.; MÖLLBY, R. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhea, from healthy controls, and from surface water in Bangladesh. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington: American Society for Microbiology, v. 35, n. 2, p. 369-373, 1997.

KUMAR, D.; DEY, R. K. Bacterial septicaemia in silver carp, *hipophthalmichthys molitrix* (valenciennes). In:\_\_\_\_\_.*Network of Aquacult Centres in Asia Bangkok, Thailand*, nov. 1986. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AC227E/AC227E00.htm>>. Acesso em: 08 jun. 2006.

LECLERC, H.; SCHWARTZBROD, L.; DEI-CAS, E. Microbial agents associated with waterborne diseases. *Critical Reviews in Microbiology*, Boca Raton, Florida, US: CRC Press, v. 28, n. 4, p. 371-409, 2002.

LEE, L.; O'HAGAN, S.; DAL PRA, M. *Aeromonas sobria*: endophthalmitis. *Journal of Ophthalmology*, Pymont, NSW, Australia: Australasian Medical Publishing, v. 25, n. 4, p. 299-300, nov. 1997.

LEHANE, L.; RAWLIN, G.T. Tropically acquired bacterial zoonoses from fish: a review. *Medical Journal of Australia*, Sydney, Australia: Australian Medical Association, v. 173, n. 4, p. 256–259, set. 2000.

LEITÃO, M. F. F.; SANTOS, L. C.; MIYA, E. E.; SHIROSE, I.; KAI, M. *Influência da temperatura ambiental na natureza e potencial deteriorador da microbiota bacteriana de peixes em ambientes lacustres tropicais*. Coleção ITAL, Campinas: ITAL, v. 23, n. 1, p. 85-97, jan./jun. 1993.

LOPEZ, J. F.; QUESADA, J.; SAIED, A. Bacteremia and osteomyelitis due to *Aeromonas hydrophila*: A complication during the treatment of acute leukemia. *American Journal of Clinical Pathology*, Philadelphia: American Society of Clinical Pathologists, v. 50, p. 587-591, 1968.

MACMILLAN, J. R. Aquaculture and antibiotic resistance: A negligible public health risk? *World Aquaculture*, Baton Rouge, Los Angeles, US: World Aquaculture Society, v. 32, p. 49-50, 2001.

MAKRAKIS, S.; BOMBARDELLI, B. A.; MINEMATSU, R. E. Avaliação do rendimento de filé, pele, vísceras, cabeça, carcaça e resíduos utilizando-se diferentes dietas balanceadas na engorda de tilápia (*Oreochromis niloticus*). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 2000, Rio de Janeiro. *Anais...*Rio de Janeiro: Tilápia Aquacultura, 2000. 1 v. V.1, p. 435-439.

MANO, S. B.; ORDOÑEZ, J. A.; FERNANDO, G. D. G. Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. *Food Microbiology*, London, GB: Academic Press, v. 17, p. 657-669, 2000.

MARCHI, J. F. *Desenvolvimento e avaliação de produtos à base de polpa e surumi produzidos a partir de Tilápia Nilótica, Oreochromis niloticus*. Viçosa, 1997. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 05 jun. 1997.

MARTINEZ-MURCIA, A. J. Phylogenetic positions of *Aeromonas encheleia*, *Aeromonas popoffii*, *Aeromonas* DNA hybridization group 11 and *Aeromonas* group 501. *International Journal of Systematics Bacteriology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 49, p. 1403–1408, out. 1999.

MERCK. *GSP Agar (Pseudomonas Aeromonas Selective Agar Base) acc. to:* Medium proposed by KIELWEIN (1969, 1971) for detecting *Pseudomonas* and *Aeromonas* in foodstuffs as well as in wastewater and equipment of the food industry. Catálogo n. 1.10230.0500, Darmstadt, Germany, 2002. Disponível em: <[http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4984-1\\_10230\\_0500.html](http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4984-1_10230_0500.html)> Acesso em: 01 abr. 2005.

MERCK. *TCBS agar - Vibrio Selective Ágar*. Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar proposed by NAKANISHI (1962), modified by KOBAYASHI et al. (1963) is used for the isolation and selective cultivation of *Vibrio cholerae* and other enteropathogenic vibrios (*V. parahaemolyticus*, NAG vibrios). Catálogo n. 1.10263.0500, Darmstadt, Germany, 2003. Disponível em: <[http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4973-1\\_10263\\_0500.html](http://service.merck.de/microbiology/tedisdata/prods/4973-1_10263_0500.html)> Acesso em: 01 abr. 2005.

MERINO, S.; CAMPRUBI, S.; TOMÁS, J. M. Characterization of an O-antigen bacteriophage from *Aeromonas hydrophila*. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, CA: National Research Council of Canada, v. 38, p. 235-240, mar. 1992.

MERINO, S.; RUBIRES, X.; KNOCHER, S.; TOMÁS, J. M. Emerging pathogens: *Aeromonas* spp. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 28, p. 157-168, 1995.

MERINO, S.; AGUILAR, A.; TOMÁS, J. M. et al. Complement resistance of capsulated strains of *Aeromonas salmonicida*. *Microbial Pathogenesis*, London, GB: Academic Press, v. 22, n. 5, p. 315–320, maio 1997.

MERINO, S.; AGUILAR, A.; NOGUERAS, M. M.; REGUE, M.; SWIFT, S.; TOMÁS, J. M. Cloning, sequencing, and role in virulence of two phospholipases (A1 and C) from mesophilic *Aeromonas* sp. Serogroup O:34. *Infection and Immunity*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 67, n. 8, p. 4008-4013, ago. 1999.

MESCHKAT, A. *Programa de Pesquisa e Desenvolvimento Pesqueiro do Brasil: Aquacultura em águas interiores no Brasil*. FAO Corporate Document Repository, Roma: FAO Fisheries Department, 1975. Documento Técnico n. 9, 52p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AC562P/AC562P00.htm>>. Acesso em: 25 jan. 2007.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 31, n. 2, p. 566-573, 2002.

MURRAY, B. W., SHINTANI, S., SÜLTMANN, H.; KLEIN, J. Major histocompatibility complex class II A genes in cichlid fishes: identification, expression, linkage relationships, and haplotype variation. *Immunogenetics*, New York, US: Springer Verlag, v. 51, n. 7, p. 576–586, jun. 2000.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standard M2-A8. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003. 31p.

NEVES FILHO, L. C. *Refrigeração, congelamento e estocagem de alimentos*. São Paulo: Instituto Brasileiro do Frio (IBF), p. 79-107, 1991, 176p.

NEVES, M. S. *Caracterização de Aeromonas spp. isoladas de redutos aquáticos naturais na cidade do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, 1989. 72 f. Tese (Mestrado em Ciências) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1989.

NEVES, M. S.; NUNES, M. P.; RICCIARDI, I. D. Incidence of motile *Aeromonas* species in aquatic environments of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Food Protection*, Des Moines, Iowa, USA: International Association for Food Protection, v. 53, p. 78-80, 1990.

NOBREGA, D. Projeto de nutrição à base de peixe pode revolucionar alimentação. *Ciência Press*, Salvador: Faculdade de Comunicação da Universidade da Bahia, v.145, 05 ago. 1996. Disponível em: <<http://www.facom.ufba.br/cienciapress/>>. Acesso em: 23 jul. 2004.

NOGUEIRA, M. S. NOME popular: Tilápia nilótica Disponível em: <<http://www.cardume.ind.br/tilapia>>. Acesso em: 05 set. 2002.

NOJIMOTO, I. T. I.; BEZANA, C. S. C.; CARMO, C. et al. Prevalência de *Aeromonas* spp. em fezes diarréicas de crianças menores de 5 anos de idade na cidade de Goiânia, Goiás, no biênio 1995-1996. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Rio de Janeiro, RJ: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 30, n. 5, p. 385-388, set./out. 1997. ISSN 0037-8682.

NORVAL, J. C.; NICHOLSON, F. Gill air analysis as an indicator of cod freshness and spoilage. *International Journal of Food Science and Technology*, Oxon, Inglaterra: Institute of Food Science and Technology, v. 27, p. 261, 1992.

OGAWA, M; MAIA, L. M. *Manual de pesca: ciência e tecnologia do Pescado*. São Paulo: Varela, 1999. 430 p. v.1, p. 22-30.

O'REILLY, T.; DAY, D. F. Effects of cultural conditions on protease production by *Aeromonas hydrophila*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 45, n. 3, p. 1132-1135, mar.1983.

OXOID: Catálogo. Ágar *Aeromonas* Medium Base (Ryan) (Oxoid nº CM 0833-comunicado pessoal de Ryan, N. (1985). p. 3, 2005.

PACHECO, T. D. P.; CARVALHO, E. Efeito da alimentação e tempo de armazenamento sobre a flora microbiana de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Prática*, Lavras, MG: ESAL, v. 3, n. 14, p. 272-282, set./dez. 1990.

PÁDUA, H. B. *Qualidade da água na aquicultura*. Associação Brasileira de Piscicultores e Pesqueiro – ABRAPPESQ. Disponível em: <<http://www.abrappesq.com.br>>. Acesso em: 02 maio 2006.

PALUMBO, S. A.; MORGAN, D. R.; BUCHANAN, R. L. Influence of temperature, NaCl and pH on growth of *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Food Science*, Chicago, US: Institute of Food Technologists, v. 50, n. 5, p. 1417–1421, set.1985.

PALUMBO, S. A. The *Aeromonas hydrophila* group in food. In: AUSTIN, B.; ALTWEGG, M.; GOSLING, P. J.; JOSEPH, S. *The Genus: Aeromonas*. Chichester, UK : John Wiley Sons, 1996. 350 p. p. 287-310. ISBN 0471967416.

PALUMBO, S.; ABEYTA, C.; STELMA, G.; WESLEY, I. W. *Aeromonas, Arcobacter, and Plesiomonas*. In: \_\_\_\_\_. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4. ed. Washington: American Public Health Association - APHA, 2001. 676p. cap. 30, p. 283–290. ISBN 087553-175-X.

PANORAMA da aqüicultura. A piscicultura no oásis do sertão nordestino. *Revista Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro: Panorama da Aqüicultura Ltda., v.9, n. 52, p. 20-21, 1999.

PEARSON, M. D.; COLQUHOUN, D.; SOMSIRI, T.; INGLIS, V. Biochemical characterization and RAPD analysis of an *Aeromonas* species isolated from septicaemic *Rana rugulosa* (Weigmann) cultured in Thailand. In: *Diseases in Asian Aquaculture*, 3., 1997, Manila. *Anais...* Manila: T. W. Flegel & I. H. McRae, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, 1997. 1 v. V.1, p. 9–14.

PEÑA, S. P.; CURRÓ, E. T.; GARCIA, M. E. D.; RODRIGUEZ, J. M. P. Primer reporte en Cuba de aislamiento de *Aeromonas* en muestras extraintestinales. *Revista Cubana de Medicina Militar*, Havana, Cuba: Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas, v. 26, n. 1, p. 50-54, jan./ jun. 1997.

PEREIRA, A. C.; CARVALHO, P. P. M. O.; SILVA, R. A. G. *Criação de tilápia*. Rio de Janeiro, Fiperj: Polo de Piscicultura, Informe Técnico [s.n.]. p. 10-23, 2000.

PEREIRA, C. S. *A cultura de mexilhões na baía de Guanabara e suas Implicações para a saúde pública: contexto político-social e microbiológico*. Rio de Janeiro, 2003. 176 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2003.

PEREIRA, C. S.; PASSOS, C. A.; VIANNA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozido no Rio de Janeiro, RJ. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 24, n. 4, p. 562-566, out./dez. 2004.

PIDIYAR, V.; KAZNOWSKI, A.; NARAYAN, N. B.; PATOLE, M.; SHOUCHE, Y. S. *Aeromonas culicicola* sp. nov., from the midgut of *Culex quinquefasciatus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 52, p.1723–1728, 2002.

POPOFF, M. Y.; VERON, M. A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophilia* - *Aeromonas punctata* group. *Journal of General Microbiology*, Quebec: Society for General Microbiology, v.94, n.1, p.11-22, 1976. ISSN: 0022-1287.

POPOFF, M. Y.; COYNAULT, C.; KIREDJIAN, M.; LEMELIN, M. Polynucleotide sequence relatedness among motile *Aeromonas* species. *Current Microbiology*, New York, US: Springer Verlag, v. 5, n. 2, p.109-114, 1981.

POPOFF, M. Y. Genus III. *Aeromonas*. In: BERGEY, D. H. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9 ed. v. 1, Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. 1388 p., p. 545-548.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. *Ciencia de la carne y de los productos carnicos*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 591p.

QADRI, S. M.; GORDEN, L. P.; WENDE, R. D.; WILLIAMS, R. P. Meningitis due to *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 3, n. 2, p. 102-104, fev. 1976.

RALL, V. L. M.; IARIA, S. T.; HEIDTMANN, S.; PIMENTA F. C.; GAMBA, R. C.; PEDROSO, D. M. M. *Aeromonas* species isolated from PINTADO fish (*Pseudoplatystoma* sp): virulence factors and drug susceptibility. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, SP: Sociedade Brasileira de Microbiologia, v. 29, n. 3, set. 1998. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-37141998000300015&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37141998000300015&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 05 mar. 2005.

RHODES, G.; HUYS, G.; SWINGS, J.; MCGANN, P.; HINEY, M.; SMIYH, P.; PICKUP, R. W. Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between *Aeromonads* in hospital and aquaculture environments: Implication of Tn 1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 66, n. 9, p. 3883-3890, set. 2000.

RIBEIRO, L. P.; LIMA, L. C.; HOLANDA, E. D.; TAVARES, M. P. Inversão sexual em tilápias: análise e sugestões. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, v. 21, n. 203, p. 90-94, mar./abr. 2000.

RODRÍGUEZ, L. E. C. *Contribución al estudio de las infecciones extraintestinales por Aeromonas, Vibrio y Plesiomonas en Cuba*. Havana, 2004. 136 f. Dissertação (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Escola de Medicina da Universidade de Havana, Havana. 2004. Disponível em: <[http://www.ipk.sld.cu/biblioweb/tesis/luise\\_cabrera.pdf](http://www.ipk.sld.cu/biblioweb/tesis/luise_cabrera.pdf)>. Acesso em: 23 ago. 2006.

ROMEIRO, R. S. *Determinação de espécies: provas bioquímicas, tintoriais e biológicas*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fisiopatologia, Laboratório de Patologia de Plantas. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dfp/bac/uni14.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2005.

ROSSI JUNIOR, O. D.; NADER FILHO, L. A. Bactérias do gênero *Aeromonas* em água de matadouro bovino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte - MG: Escola de Veterinária, UFMG, v. 52, n. 5, p. 549-553, 2000.

ROSSI JUNIOR, O. D.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; SCHOENCKEN-ITURRINO, R. P. Enterotoxigenicidade de cepas de *Aeromonas* sp. isoladas em diferentes pontos do fluxograma de abate bovino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, MG: UFMG, Escola de Veterinária, v. 53, p. 589-592, 2001.

SAAVEDRA, M. J.; FIGUERAS, M. J.; MARTÍNEZ-MURCIA A. J. Updated phylogeny of the genus *Aeromonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, Reading, Inglaterra, GB: Society for General Microbiology, v. 56, p. 2481-2487, out. 2006.

SANTOS, C. A. L. The storage of tropical fish in ice. *Tropical Science*, London: Interscience, v. 23, p. 97-127, 1981.

SANTOS, J. A., GONZÁLEZ, C. J., GARCÍA-LÓPEZ, M. L. Hemolytic activity and siderophore production in different *Aeromonas* species isolated from fish. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 65, n. 12, p. 5612-5614, 1999.

SANTOS, P. A.; LIMA, R. F. *Detecção fenotípica e molecular de exoenzimas produzidas por espécies de Aeromonas isoladas de diversas fontes*. Disponível em: <[http://www.sr2.uerj.br/ciências\\_biologicas/microbiologia](http://www.sr2.uerj.br/ciências_biologicas/microbiologia)>. Acesso em: 17 mar. 2006.

SANYAL, S. C.; ÁGARWAL, R. K.; ANNAPURNA, E. Haemagglutination properties and fimbriation in enterotoxigenic *Aeromonas hydrophila* strains. *Indian Journal Medical Research*, New Delhi, IN: Indian Council of Medical Research, v. 78, p. 324-330, set. 1983.

SCHMIDT, A. S.; MORTEN, S. B.; JENS, L. L.; DALSGAARD, I. Characterization of class 1 integrons associated with R-plasmids in clinical *Aeromonas salmonicida* isolates from various geographical areas. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, London, GB: Oxford University Press, v. 47, p. 735-743, 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. 2. ed. São Paulo, SP: Livraria Varela, 2001. 317p.

SOUZA, J. A.; SOUZA, A. T. S. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Paraná, Brasil. *Brazilian Archives of Biology and Technology (International Journal)*, Curitiba, PR: Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas, v. 44, n. 4, p. 373-381, dez. 2001. ISSN1516-8913.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 31, n. 3, p.1076-1084, jun. 2002.

STUKUS, P. E. Antimicrobial testing: The Kirby-Bauer method (filterpaper disk method). In: \_\_\_\_\_. *Investigating Microbiology: a laboratory manual for general microbiology*. Orlando, USA: Harcourt Brace & Company, 1997. 509 p. cap. 44, p. 243-247.

SUGIMOTO, L. Pesquisador produz mortadela e salsicha de tilápia. *Jornal Saúde*, Campinas: Unicamp, 05 dez. 2005. Disponível em: <[http://www.saudeemmovimento.com.br/reportagem/noticia\\_exibe.asp?cod\\_noticia=1977](http://www.saudeemmovimento.com.br/reportagem/noticia_exibe.asp?cod_noticia=1977)>. Acesso em: 02 mar. 2006.

SUGITA, H.; TANAKA, K.; YOSHINAMI, M.; DEGUCHI, Y. Distribution of *Aeromonas* species in the intestinal tracts of river fish. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 61, n.11, p. 4128-4130, 1995.

THOMSEN, R. N.; KRISTIANSE, M. M. Three cases of bacteraemia caused by *Aeromonas veronii* biovar *sobria*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, Stockholm, SE: Scandinavian University Press, v. 33, n. 9, p. 718-719, 2001.

TOLEDO, L. R. Tilápia do São Francisco. *Revista Globo Rural*, Rio de Janeiro, RJ: Fundação Roberto Marinho, p. 58-61, maio 2002.

TOVAR, H. A. A. *Cultivo de tilápia*. Disponível em: <<http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm#2>>. Acesso em: 03 jan. 2007.

TSAI, G. J.; CHEN, T. H. Incidence and toxigenicity of *Aeromonas hydrophila* in seafood. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, NL: Elsevier Science, v. 31, p. 121-131, 1996.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA.- UFBA. Departamento de Microbiologia. Isolamento, caracterização e identificação de bactérias. In: \_\_\_\_\_. *Microbiologia prática*. Seção II: . Disponível em: <<http://www.microbiologia.ufba.br/aulas/provas%20bioquimicas.doc>>. Acesso em: 16 out. 2005.

VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. *Aeromonas*. In: \_\_\_\_\_. *Foodborne Pathogens: an Illustrated Text*. London: Manson Publishing, 1996. 557 p. cap. 9, p.185-199. ISBN 1-874545-41-3.

WEN-CHIEN, K.; HSIU-MEI, W; TSUNG-CHAIN, C. et al. Inducible  $\beta$ -Lactam resistance in *Aeromonas hydrophila*: therapeutic challenge for antimicrobial therapy. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, US: American Society for Microbiology, v. 36, n. 11, p. 3188-3192, 1998.

WIKIPÉDIA: Enciclopédia livre. *Catalase*. Disponível em: <<http://www.pt.wikipedia.org/wiki/Catalase>>. Acesso em: 11 nov. 2006.  
WIKIPÉDIA: Enciclopédia livre. *Tilápia*: Origem. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Til%C3%A1pia>>. Acesso em: 18 jan. 2007.

WINCKLER, L. T.; LEBOUT, E. M.; SOSINSKI, J. R. E. E.; ZIMMERMANN, S.; SOUZA, S. M. G.; APPEL, H. B.; ROTTA, M. A.; NEIS, R. Avaliação dos principais custos operacionais de um cultivo de Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em gaiolas flutuantes na região da campanha do Rio Grande do Sul. In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 8., 1994, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1994. 1 v. V. 1, p. 291-296.

WORKSHOP BRASILEIRO EM APROVEITAMENTO DE SUB-PRODUTOS DO PESCADO- IWARP, 1., 2003, Itajaí, *Carta de recomendação do evento à Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca – SEAP/PR*. Itajaí: 2003. Disponível em: <[http://siaiacad04.univali.br/download/pdf/spp\\_iwarp/carta\\_recomendacao\\_1\\_iwarp.pdf](http://siaiacad04.univali.br/download/pdf/spp_iwarp/carta_recomendacao_1_iwarp.pdf)>. Acesso em: 22 out. 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Guidelines for drinking-water quality: Recommendations*. 3. ed. Geneva: World Health Organization, 2005, 595p. Disponível em: <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq0506.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf)>. Acesso em 02 jul. 2007.

YANO, D. M. Y.; FARRIS, M. G.; UMINO, C. Y.; COUTINHO, H. L. C.; CANHOS, V. P. *Técnicas para cultivo, identificação e preservação de bactérias*. Campinas, SP: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1993. 64p.

ZANELLA, J. F. P.; LUZ, R. B.; DALCIN, T.; DELAMARE, A. P. L.; COSTA, S. O. P.; ECHEVERRIGARAY, S.; WESPHALEN, F. Avaliação e isolamento de *Aeromonas*. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL - RS, 5., 2004, Caxias do Sul. *Anais...* Caxias do Sul, RS: Universidade de Caxias do Sul, maio/jun. 2004. Disponível em: <[http://www.ucs.br/ucs/tpiSimposio/pesquisa/simposio/trabalhos\\_pdf/vida/resumo3.pdf](http://www.ucs.br/ucs/tpiSimposio/pesquisa/simposio/trabalhos_pdf/vida/resumo3.pdf)>. Acesso em: 15 abr. 2005.

ZANIBONI, E. F. Piscicultura das espécies exóticas de água doce. In: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E.; BELTRAME, E. *Aquicultura: Experiência Brasileira*. Florianópolis, SC: Multitarefa, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, 2004. 456 p. cap. 12, p. 309-316.

ZIMMERMANN, S. Incubação artificial – técnica que permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores. *Revista Panorama da Aqüicultura*, Rio de Janeiro: Panorama da Aqüicultura Ltda, v. 9, n. 4, p.15-21, 1999.

ZIMMERMANN, S. Tilápia na América Latina: introdução e situação atual Boletim 02 – dez. 2004. *Boletim do Capítulo Latinoamericana da Sociedade Mundial de Aqüicultura*. Disponível em:  
< [https://www.was.org/LAC- WAS/boletins/boletim02/02\\_reportagem/01esp\\_2.htm](https://www.was.org/LAC-WAS/boletins/boletim02/02_reportagem/01esp_2.htm)>.  
Acesso em: 29 jun. 2006.

ZIMMERMANN, S. Tilapia é o peixe mais criado no Brasil. *Catálogo Oficial do SEAFOOD* Disponível em:  
<[http://www.uov.com.br/biblioteca/266/tilapia\\_e\\_o\\_peixe\\_mais\\_criado\\_no\\_brasil.html](http://www.uov.com.br/biblioteca/266/tilapia_e_o_peixe_mais_criado_no_brasil.html)  
> Acesso em: 27 jun. 2005.

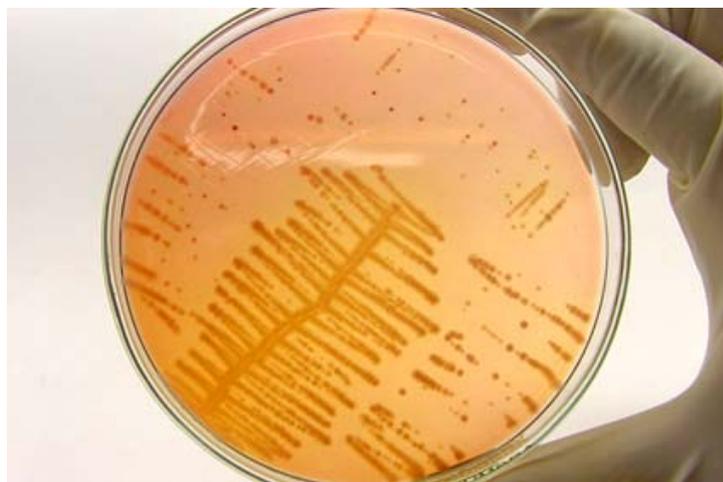
## 9 APÊNDICES

### 9.1 COLÔNIAS DE *Aeromonas* spp. NOS MEIOS DE CULTIVO UTILIZADOS

#### 9.1.1 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp. no Ágar *Aeromonas* com ampicilina



#### 9.1.2 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp. no Ágar MacConkey com ampicilina



### 9.1.3 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp. no Ágar Sangue com ampicilina



### 9.1.4 Aspectos morfocoloniais das colônias de *Aeromonas* spp. no Ágar GSP com ampicilina

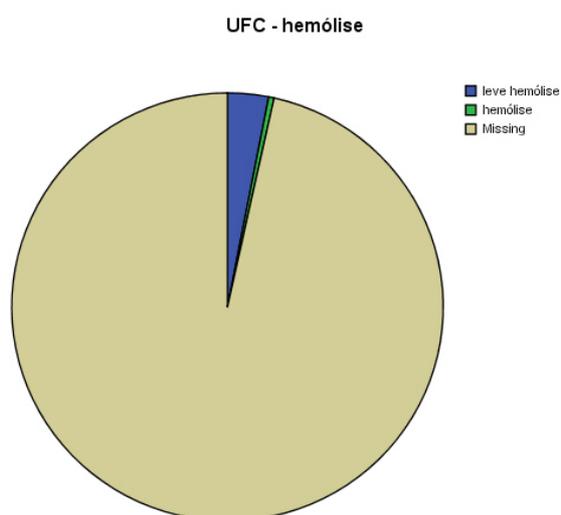


### 9.1.5 Aspectos morfológicos das colônias de *Aeromonas* spp. no Ágar Desoxicolato Citrato com cloreto de sódio

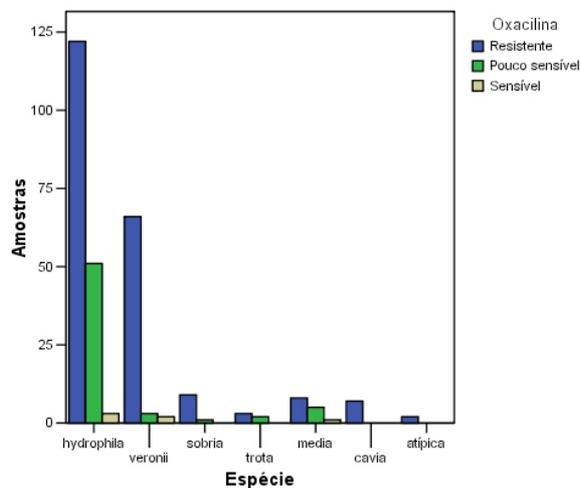


## 9.2 GRÁFICOS ESTATÍSTICOS

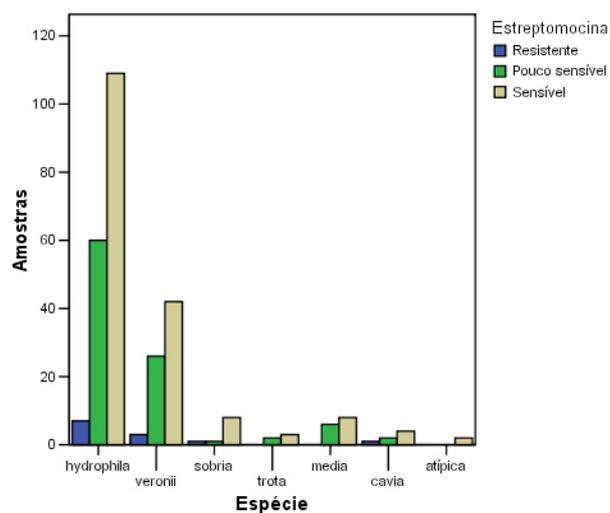
### 9.2.1 Frequência de placas de Ágar Sangue com presença de hemólise



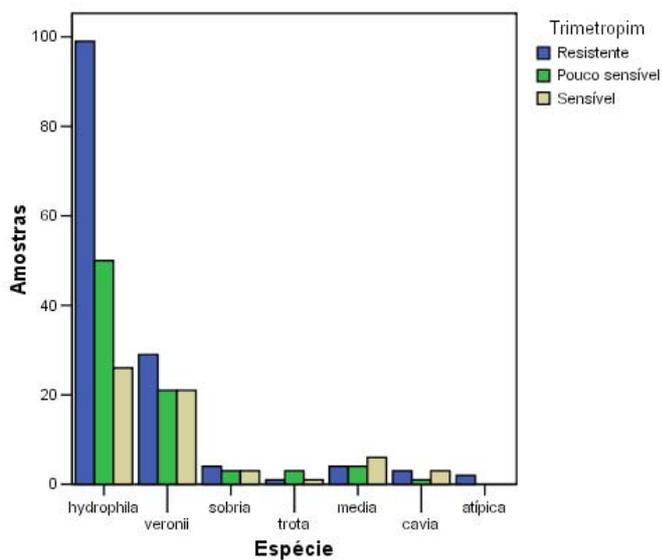
### 9.2.2 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a oxacilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



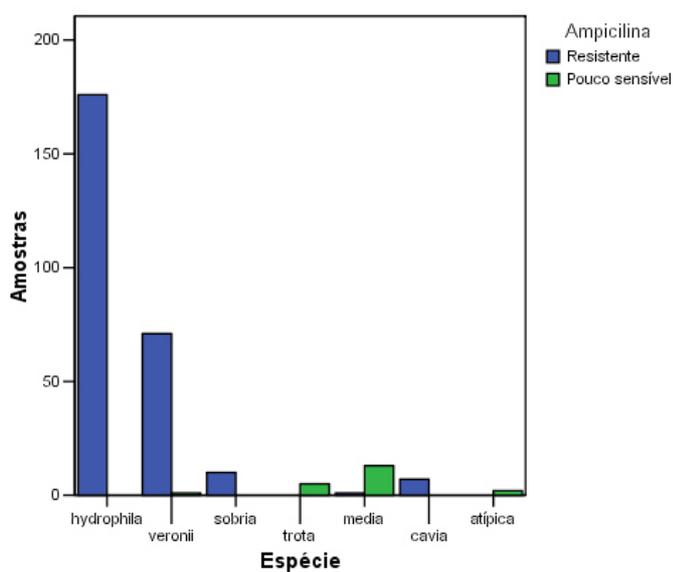
### 9.2.3 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a estreptomicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



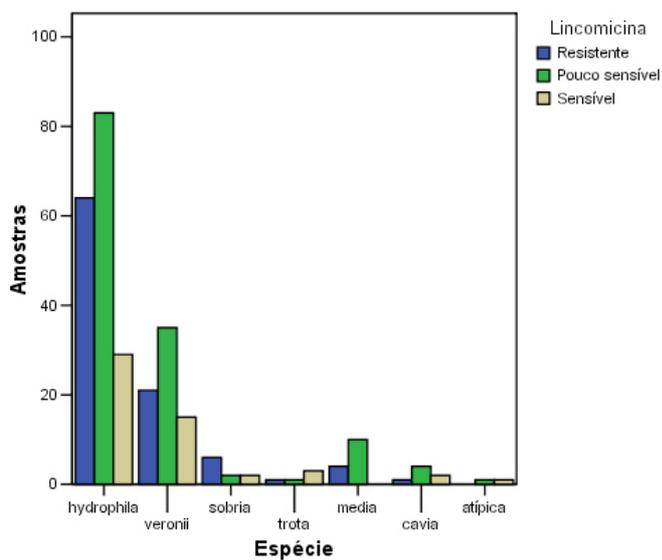
### 9.2.4 Frequência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a trimetoprim com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



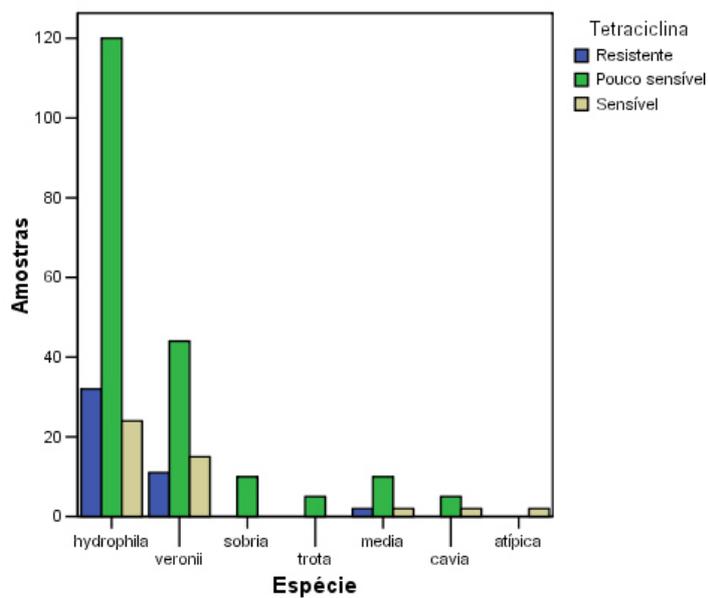
### 9.2.5 Frequência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a ampicilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



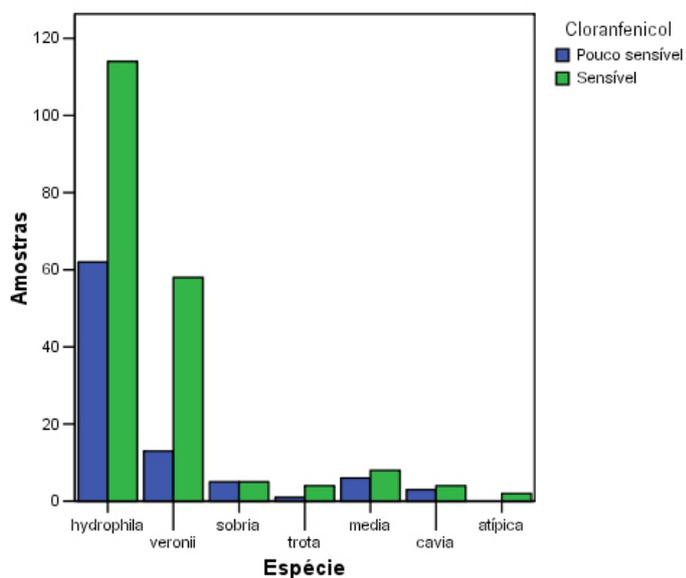
### 9.2.6 Frequência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a licomicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



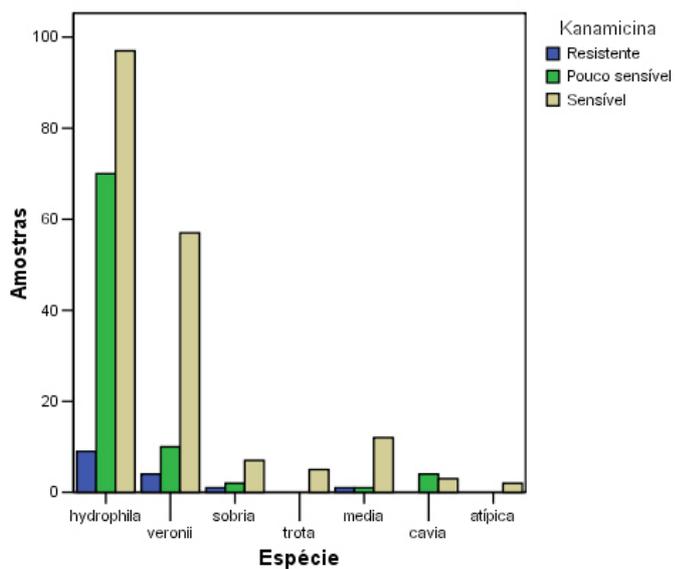
### 9.2.7 Frequência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a tetraciclina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



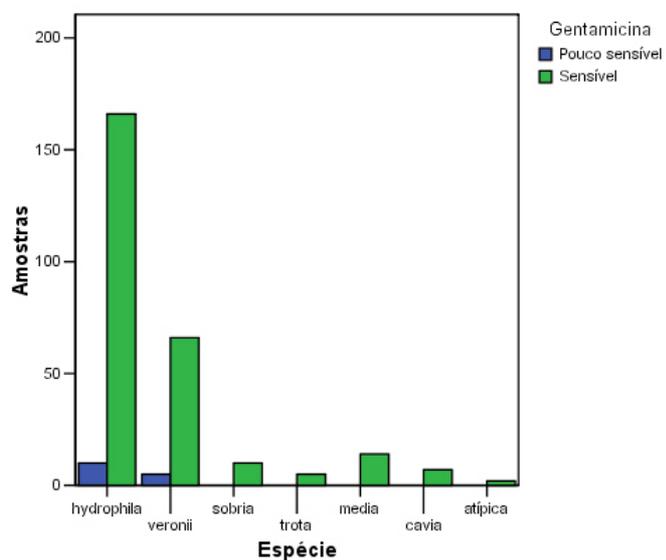
### 9.2.8 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a cloranfenicol com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



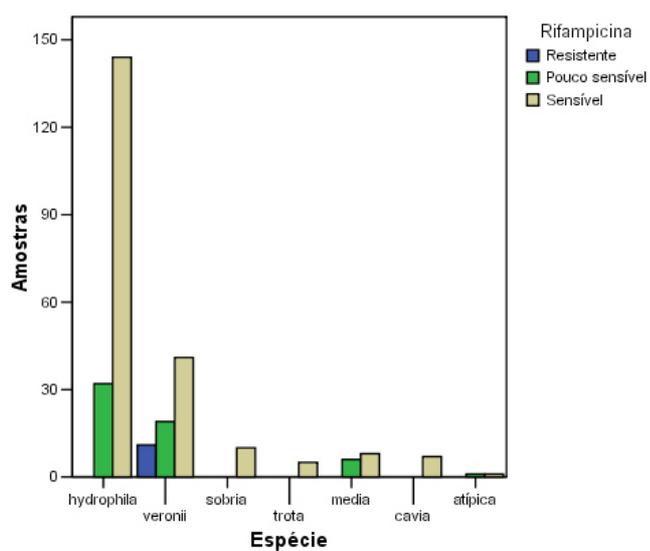
### 9.2.9 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a kanamicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



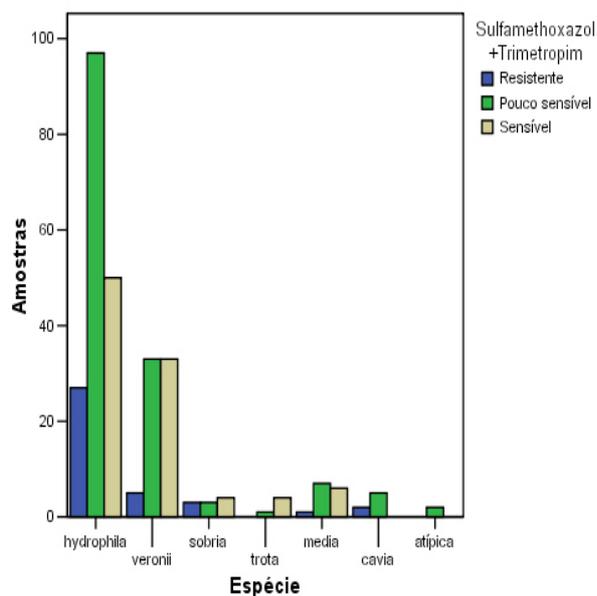
### 9.2.10 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a gentamicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



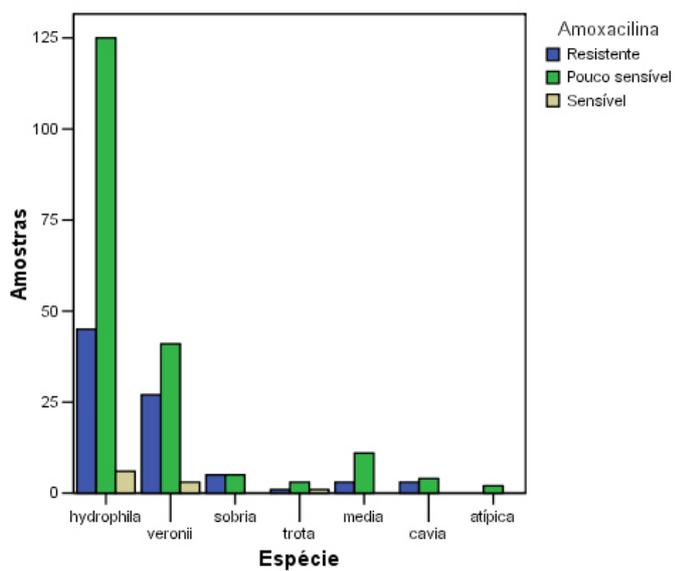
### 9.2.11 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a rifampicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



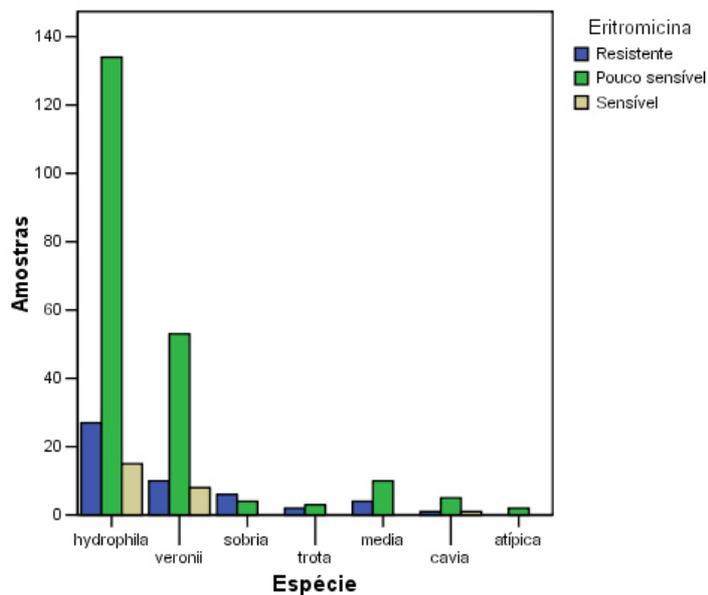
### 9.2.12 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a sulfametoxazol+trimetropim com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



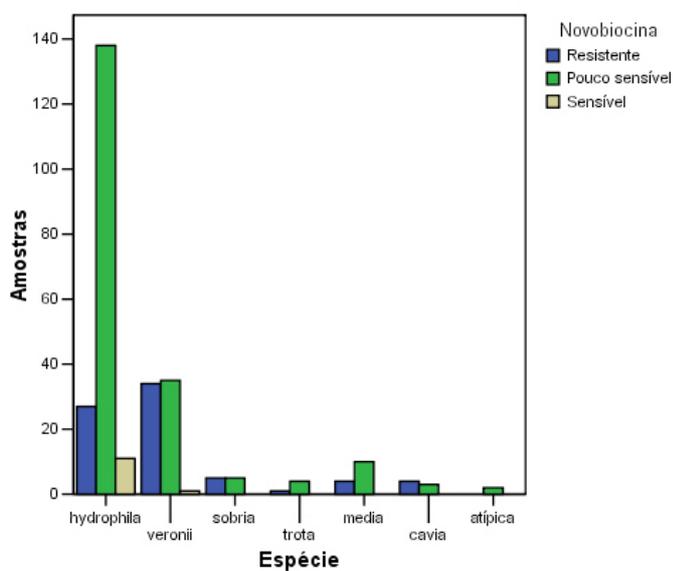
### 9.2.13 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a amoxicilina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



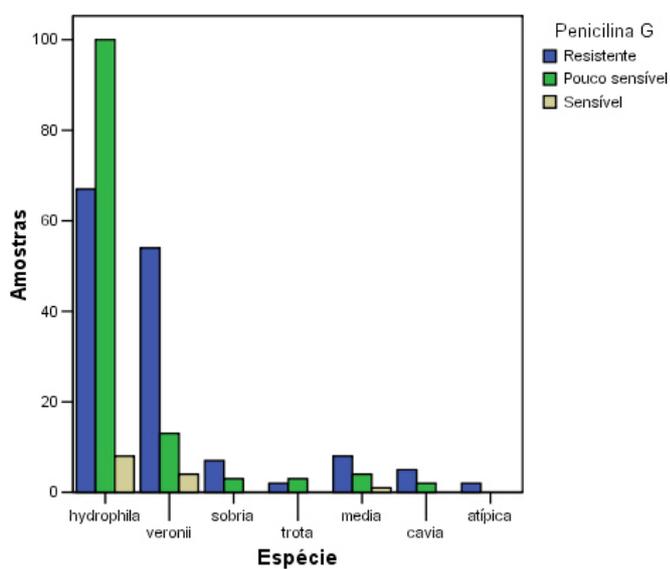
### 9.2.14 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a eritromicina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



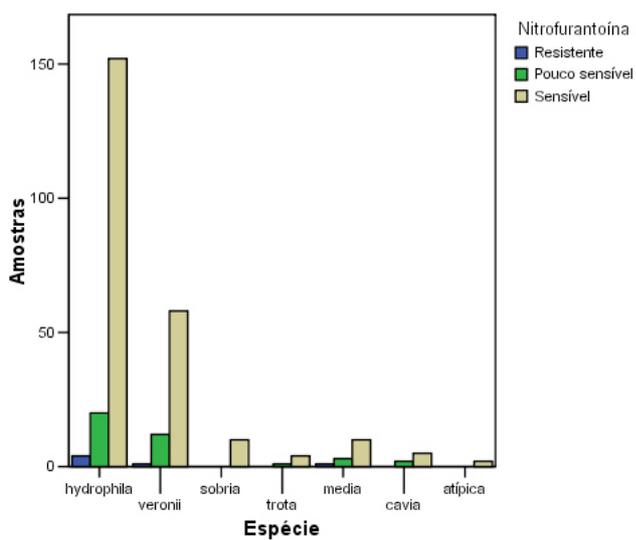
### 9.2.15 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a novobiocina com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



### 9.2.16 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a penicilina G com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



### 9.2.17 Freqüência das respostas obtidas no teste de sensibilidade a nitrofurantoína com as diversas espécies de *Aeromonas* isoladas



## 9.3 TABELAS ESTATÍSTICAS

### 9.3.1 Resultado da coloração pelo método de GRAM

Gram	Freqüência	%	%	Cumulativo %
Negativo	420	85,7	100,0	100,0
--	70	14,3		
Total	490	100,0		

### 9.3.2 Resultado do teste de Oxidase

Oxidase	Freqüência	%	%	Cumulativo %
Positiva	369	75,3	100,0	100,0
Negativa	121	24,7		
Total	490	100,0		

### 9.3.3 Resultado do teste de Catalase

Catalase	Freqüência	%	%	Cumulativo %
Positiva	286	58,4	100,0	100,0
Negativa	204	41,6		
Total	490	100,0		

### 9.3.4 Resultado teste de sensibilidade ao O/129

O/129	Freqüência	%	%	Cumulativo %
Resistente	286	58,4	100,0	100,0
Sensível	204	41,6		
Total	490	100,0		

### 9.3.5 Ocorrência de hemólise em Ágar Sangue

Hemólise	Freqüência	%	%	Cumulativo %
leve hemólise	15	3,1	88,2	88,2
hemólise	2	0,4	11,8	100,0
Total	17	3,5	100,0	
sem hemólise	473	96,5		
Total placas	490	100,0		

### 9.3.6 Distribuição da frequência das bactérias isoladas por piscicultura

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	141.001(a)	8	.000
Likelihood Ratio	158.598	8	.000
N of Valid Cases	419		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença entre as pisciculturas quanto à proporção do tipo de bactéria isolada. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.7 Distribuição da frequência das bactérias isoladas por meio de cultivo

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	35.602(a)	18	.008
Likelihood Ratio	36.094	18	.007
Linear-by-Linear Association	4.064	1	.044
N of Valid Cases	419		

Como  $p = 0,008 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os meios quanto ao gênero, ao nível de significância de 5%. Fisher sem TCBS ( $p < 0,001$ ).

### 9.3.8 Distribuição da frequência das bactérias isoladas por método

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.111(a)	3	.375
Likelihood Ratio	2.998	3	.392
Linear-by-Linear Association	.955	1	.328
N of Valid Cases	419		

Como  $p = 0,375 > 0,05$ . Não existe diferença entre os dois métodos quanto à distribuição de casos por gênero, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.9 Distribuição da frequência das espécies de *Aeromonas* isoladas por piscicultura

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	9.322(a)	2	.009
Likelihood Ratio	14.376	2	.001
N of Valid Cases	286		

Como  $p = 0,009 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre as pisciculturas quanto ao resultado das espécies isoladas, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo Teste Exato de Fisher ( $p < 0,05$ ).

### 9.3.10 Distribuição da frequência total das espécies de *Aeromonas* isoladas, entre os meios seletivos

#### Teste Qui-quadrado

	valor	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson qui-quadrado	29.892(a)	30	.471
Likelihood Ratio	34.612	30	.257
Linear-by-Linear Association	2.347	1	.126
Casos válidos	286		

Como  $p = 0,471 > 0,05$ . Não existe diferença significativa entre os meios quanto à distribuição por espécie, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.11 Distribuição da frequência das espécies isoladas por método

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.982(a)	6	.089
Likelihood Ratio	10.752	6	.096
Linear-by-Linear Association	2.300	1	.129
N of Valid Cases	286		

Como  $p = 0,089 > 0,05$ . Não existe diferença entre os dois métodos quanto ao resultado da distribuição das espécies. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p > 0,05$ )

### 9.3.12 Sensibilidade antimicrobiana à oxacilina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	26.832(a)	12	.008
Likelihood Ratio	32.924	12	.001
Linear-by-Linear Association	1.139	1	.286
N of Valid Cases	286		

Como  $p = 0,008 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Oxacilina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.13 Sensibilidade antimicrobiana à estreptomocina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7.508(a)	12	.822
Likelihood Ratio	8.709	12	.728
Linear-by-Linear Association	.003	1	.953
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,822 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Estreptomocina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.14 Sensibilidade antimicrobiana ao trimetropim por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	20.100(a)	12	.065
Likelihood Ratio	20.112	12	.065
Linear-by-Linear Association	7.204	1	.007
N of Valid Cases	284		

Como  $p = 0,065 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Trimetropim, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.15 Sensibilidade antimicrobiana à ampicilina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	257.857(a)	6	.000
Likelihood Ratio	132.356	6	.000
Linear-by-Linear Association	128.928	1	.000
N of Valid Cases	286		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Ampicilina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.16 Sensibilidade antimicrobiana à lincomicina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	18.304(a)	12	.107
Likelihood Ratio	19.684	12	.073
Linear-by-Linear Association	1.690	1	.194
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,107 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Lincomicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.17 Sensibilidade antimicrobiana à tetraciclina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	22.310(a)	12	.034
Likelihood Ratio	24.373	12	.018
Linear-by-Linear Association	4.488	1	.034
N of Valid Cases	284		

Como  $p = 0,034 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Tetraciclina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.18 Sensibilidade antimicrobiana ao cloranfenicol por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.910(a)	6	.091
Likelihood Ratio	11.941	6	.063
Linear-by-Linear Association	.010	1	.921
N of Valid Cases	285		

Como  $p=0,091>0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Cloranfenicol, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.19 Sensibilidade antimicrobiana à kanamicina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	27.210(a)	12	.007
Likelihood Ratio	31.657	12	.002
Linear-by-Linear Association	4.681	1	.030
N of Valid Cases	285		

Como  $p=0,007<0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Kanamicina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p<0,05$ )

### 9.3.20 Sensibilidade antimicrobiana à gentamicina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.624(a)	6	.854
Likelihood Ratio	4.579	6	.599
Linear-by-Linear Association	1.519	1	.218
N of Valid Cases	285		

Como  $p=0,854>0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Gentamicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.21 Sensibilidade antimicrobiana à rifampicina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	50.234(a)	12	.000
Likelihood Ratio	51.097	12	.000
Linear-by-Linear Association	1.146	1	.284
N of Valid Cases	285		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Rifampicina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.22 Sensibilidade antimicrobiana ao sulfamethoxazol+trimetoprim por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	22.666(a)	12	.031
Likelihood Ratio	25.543	12	.012
Linear-by-Linear Association	.345	1	.557
N of Valid Cases	283		

Como  $p = 0,031 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Sulfamethoxazol+Trimetoprim, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.23 Sensibilidade antimicrobiana à amoxicilina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	13.226(a)	12	.353
Likelihood Ratio	12.595	12	.399
Linear-by-Linear Association	.363	1	.547
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,353 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Amoxicilina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.24 Sensibilidade antimicrobiana à eritromicina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	19.636(a)	12	.074
Likelihood Ratio	18.296	12	.107
Linear-by-Linear Association	2.400	1	.121
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,074 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Eritromicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.25 Sensibilidade antimicrobiana à novobiocina por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	38.505(a)	12	.000
Likelihood Ratio	39.113	12	.000
Linear-by-Linear Association	10.521	1	.001
N of Valid Cases	284		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Novobiocina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.26 Sensibilidade antimicrobiana à penicilina G por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	38.325(a)	12	.000
Likelihood Ratio	42.000	12	.000
Linear-by-Linear Association	9.806	1	.002
N of Valid Cases	283		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ . Existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Penicilina G, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.27 Sensibilidade antimicrobiana à nitrofurantoína por espécie isolada

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	8.160(a)	12	.773
Likelihood Ratio	9.177	12	.688
Linear-by-Linear Association	1.203	1	.273
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,773 > 0,05$ . Não existe diferença entre as espécies quanto à distribuição de resultados de Nitrofurantoína, ao nível de significância de 5

### 9.3.28 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à oxacilina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	28.355(a)	4	.000
Likelihood Ratio	33.960	4	.000
N of Valid Cases	285		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Oxacilina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.29 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à estreptomocina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	13.678(a)	4	.008
Likelihood Ratio	12.676	4	.013
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,008 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre as psisculturas quanto ao resultado de Estreptomocina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p = 0,025$ )

### 9.3.30 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. ao trimetropim

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	14.076(a)	4	.007
Likelihood Ratio	13.664	4	.008
N of Valid Cases	284		

Como  $p = 0,007 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre as psicoculturas quanto ao resultado de Trimetropim, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.31 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à ampicilina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6.472(a)	2	.039
Likelihood Ratio	4.992	2	.082
N of Valid Cases	286		

Como  $p = 0,039 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre as pisciculturas quanto ao resultado de Ampicilina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.32 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à lincomicina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.302(a)	4	.680
Likelihood Ratio	2.318	4	.678
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,680 > 0,05$ : Não existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Lincomicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.33 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. a tetraciclina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	24.246(a)	4	.000
Likelihood Ratio	21.876	4	.000
N of Valid Cases	284		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Tetraciclina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.34 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. ao cloranfenicol

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	14.522(a)	2	.001
Likelihood Ratio	16.155	2	.000
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Cloranfenicol, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.35 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à kanamicina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	61.465(a)	4	.000
Likelihood Ratio	74.432	4	.000
N of Valid Cases	285		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Kanamicina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.36 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à gentamicina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.564(a)	2	.168
Likelihood Ratio	4.245	2	.120
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,168 > 0,05$ : Não existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Gentamicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.37 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à rifampicina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	76.089(a)	4	.000
Likelihood Ratio	74.300	4	.000
N of Valid Cases	285		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Rifampicina, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ )

### 9.3.38 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à sulfamethoxazol +trimetropim

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7.037(a)	4	.134
Likelihood Ratio	7.838	4	.098
N of Valid Cases	283		

Como  $p = 0,134 > 0,05$ : Não existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Sulfamethoxazol+Trimetropim, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.39 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à amoxicilina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.170(a)	4	.530
Likelihood Ratio	4.240	4	.375
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,530 > 0,05$ : Não existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Amoxicilina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.40 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à eritromicina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	29.833(a)	4	.000
Likelihood Ratio	29.993	4	.000
N of Valid Cases	285		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Eritromicina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.41 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à novobiocina

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	20.780(a)	4	.000
Likelihood Ratio	19.979	4	.001
N of Valid Cases	284		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Novobiocina, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.42 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à penicilina G

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	76.918(a)	4	.000
Likelihood Ratio	87.500	4	.000
N of Valid Cases	283		

Como  $p < 0,001 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Penicilina G, ao nível de significância de 5%.

### 9.3.43 Sensibilidade antimicrobiana da *Aeromonas* spp. à nitrofurantoína

#### Teste Qui-quadrado

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	13.137(a)	4	.011
Likelihood Ratio	12.935	4	.012
N of Valid Cases	285		

Como  $p = 0,011 < 0,05$ : Existe diferença significativa entre os lotes quanto ao resultado de Nitrofurantoína, ao nível de significância de 5%. Resultado confirmado pelo teste de Fisher ( $p = 0,004$ )