



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE



THAÍS VIEIRA PAIVA

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA E DE PEIXES
DO RIO MEARIM, NO MUNICÍPIO DE BACABAL - MA**

São Luís – MA
2016

THAÍS VIEIRA PAIVA

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA E DE PEIXES DO RIO MEARIM, NO MUNICÍPIO DE BACABAL - MA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Área de Concentração: Qualidade Ambiental

Orientadora: Prof^a. Dra. Adenilde Nascimento Mouchrek

São Luís – MA
2016

Paiva, Thaís Vieira.

Avaliação das condições microbiológicas da água e de peixes do Rio Mearim, no município de Bacabal - MA / Thaís Vieira Paiva. - 2016.

49 f.

Orientador(a): Adenilde Nascimento Mouchreck.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambinete/CCBS, 2016.

1. Clostridium sulfito redutores. 2. Coliformes. 3. Enterobacteriaceae. I. Mouchreck, Adenilde Nascimento.
II. Título.

THAÍS VIEIRA PAIVA

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DA ÁGUA E DE PEIXES
DO RIO MEARIM, NO MUNICÍPIO DE BACABAL - MA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Área de Concentração: Qualidade Ambiental

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em: ____/____/____ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. André Gustavo Lima de Almeida Martins (IFMA)
1º membro

Professora Dra. Lúcia Maria Coêlho Alves (UEMA)
2º membro

Professora Dra. Djavânia Azevedo da Luz (UFMA)
3º membro

Professora Dra. Adenilde Nascimento Mouchreck (UFMA)
Orientadora

Dedico este trabalho a minha família e meu amado esposo, que sempre me incentivaram e me deram apoio pra que eu continuasse crescendo profissionalmente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças e saúde para concluir mais essa etapa da minha vida acadêmica, me guardou durante as minhas idas e vindas à São Luís e colocou no meu caminho as pessoas certas para contribuírem com minha pesquisa.

Aos meus queridos pais, Adelson e Vilma, que sempre estiveram torcendo por mim e, principalmente, me apoiando em todas as áreas da minha vida.

Ao meu marido, Alexandre Nascimento, pelo companheirismo (inclusive nas coletas), amor, compreensão, paciência e incentivo.

A minha irmã e grande amiga Tâmara, que mesmo distante tem me apoiado e torcido por mim.

Ao meu irmão Benjamim e sua esposa Mirian pelo carinho e apoio que sempre me oferecem.

Ao meu irmão Moisés que traz muita alegria pra nossa família.

A Professora Dra. Adenilde Ribeiro Nascimento, que, com sua experiência, conduziu a orientação deste trabalho.

A Professora Msc. Josilene Lima Serra pela excelente contribuição na orientação deste trabalho.

Aos colegas do Mestrado em Saúde e Ambiente Patrícia, Kely, Clícia, Edilene, Luciana, Lívia, Bani, Marcelo, Jonas, Caio e Emnielle. Vocês foram uma bênção na minha vida durante esses dois anos, cada um a sua maneira.

À Patrícia e Kely pela amizade e companheirismo durante todo esse período do mestrado.

À Luciana, grande incentivadora de todos na turma, sempre disponível a ajudar quando solicitada, tendo contribuído com várias sugestões na minha pesquisa.

A Emanuelli Bani pela elaboração do mapa da minha pesquisa.

A James Werllen pela contribuição na aplicação das análises estatísticas deste trabalho.

Á seu Raimundinho, pescador que foi peça-chave para execução das atividades de campo.

As minhas amigas e companheiras de trabalho Leonildes Vieira, Jerlane Caldas e Jucilane de Sousa por todo apoio nos momentos difíceis.

A CAPES pela concessão de bolsa.

Ao Laboratório de Microbiologia da UFMA, especialmente a Amanda, que muito contribuiu na aplicação das análises microbiológicas.

A todos os professores do Mestrado em Ciências da Saúde pelo conhecimento compartilhado e incentivo.

A quem eu não citei neste texto, mas que tem consciência que ajudou de alguma forma, muito Obrigada!

“Essa água brilhante que escorre nos riachos não é apenas água, mas o sangue de nossos antepassados. Se lhe vendermos a terra vocês devem lembrar-se que ela é sagrada, e devem ensinar as suas crianças que ela é sagrada e que cada reflexo nas águas límpidas dos lagos fala de acontecimentos e lembranças a vida de meu povo. O murmúrio das águas é a voz de meus ancestrais. Os rios são nossos irmãos, saciam nossa sede. Os rios carregam canoas e alimentam nossas crianças”.

Chefe Seattle

RESUMO

Águas contaminadas não só afetam diretamente a saúde humana como também causam sérios danos à biota aquática, provocando deterioração na qualidade dos peixes. Objetivou-se avaliar as condições higiênico-sanitárias da água e dos peixes frescos oriundos do rio Mearim, Bacabal/MA, no período seco e chuvoso, através da identificação de bactérias potencialmente patogênicas. Foram analisadas 54 amostras de água e 54 amostras de peixes frescos coletadas no período de outubro de 2015 a março de 2016, as quais foram submetidas à quantificação de coliformes totais e termotolerantes pela técnica do Número Mais Provável (NMP/g) e pesquisa de *Clostridium* sulfito redutor. Em seguida a identificação bioquímica das bactérias isoladas da família *Enterobacteriaceae* foi realizada utilizando testes bioquímicos comerciais. Os resultados mostraram que a qualidade microbiológica da água e dos peixes estava insatisfatória, devido aos elevados índices de contaminação por coliformes termotolerantes, estando fora dos padrões de qualidade microbiológica exigidos pelas legislações vigentes, e pela presença de coliformes totais e *Clostridium* sulfito redutores. A contaminação da água por coliformes foi significativamente maior que nos peixes, tanto no período seco quanto no chuvoso. *Escherichia coli* foi a bactéria com maior frequência de isolamento nas amostras de água, tanto no período seco quanto no chuvoso. *Citrobacter diversus* e *Serratia odorífera* também tiveram importante frequência de isolamento nas amostras de água dos dois períodos. Nas amostras de peixes a maior frequência de identificação também foi de *Escherichia coli*. *Serratia odorífera* e *Citrobacter diversus* também tiveram frequências relevantes no período seco. No período chuvoso *Escherichia coli* manteve-se com maior frequência de isolamento, seguida de *Serratia odorífera* e *Citrobacter freundii*.

Palavras-chave: coliformes; *Enterobacteriaceae*; *Clostridium* sulfito redutores.

ABSTRACT

Contaminated waters not only directly affect human health but also cause serious damage to the aquatic biota, causing deterioration in fish quality. The objective was to evaluate the hygienic-sanitary conditions of the water and the fresh fish from the Mearim river in Bacabal-Ma during the rainy season, through the identification of the potentially pathogenic bacteria. A total of 54 samples of water and 54 samples of fresh fish that were collected between October 2015 and March 2016, which were submitted to the quantification of total and thermo tolerant coliformes by the technique of Most Probable Number (MPN/g) and *Clostridium* sulphite reducing research. After that, the biochemical identification of isolated bacteria coming from the *Enterobacteriaceae* family was performed using commercial biochemical tests. The results showed that the microbiological quality of the water and the fish is unsatisfactory due to the high contamination rates of thermotolerant coliforms, being below the microbiological quality standards, as well as the presence of total coliforms and *Clostridium* sulphite reducers in considerable concentrations both in water and in fish. The water's contamination by coliforms was significantly higher than in the fishes, in the dry season as well as in the rainy season. *Escherichia coli* was the bacterium with the highest frequency of isolation in water samples, both in the dry season and in the rainy season. *Citrobacter diversus* and *Serratia odorifera* also had important isolation frequency in the water samples of the two seasons. In the fish samples, the highest frequency of identification was also from *Escherichia coli*. *Serratia odorifera* and *Citrobacter diversus* also had relevant frequencies in the dry season. In the rainy season *Escherichia coli* kept the highest frequency of isolation, followed by *Serratia odorifera* and *Citrobacter freundii*.

Key-words: coliforms; *Enterobacteriaceae*, *Clostridium* sulphite reducing

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|----------|--|
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| APA | Água Peptonada Alcalina |
| APHA | American Public Health Association |
| CODEVASF | Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| CVB | Caldo Verde Brilhante |
| DTA's | Doenças Transmitidas por Alimentos |
| EAEC | Enteroagregativa |
| EC | Caldo EC (<i>Escherichia coli</i>) |
| EHEC | Enterohemorrágica |
| EIEC | Enteroinvasiva |
| EMB | Ágar Eosina Azul de Metileno |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária |
| EPEC | Enteropatogênica |
| ETEC | Enterotoxigênica |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| G | Grama |
| GPS | Global Positioning System |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| ICMSF | International Commission on Microbiological Specifications for Foods |
| LST | Caldo Lauril Sulfato Triptose |
| ML | Mililitro |
| NMP | Número Mais Provável |
| NUGEO | Núcleo de Geotecnia |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PAST | Palaeontological Statistics |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| RDC | Resolução de Diretoria Colegiada |
| SENAI | Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial |
| TSA | Ágar Triptona de Soja |
| TSC | Ágar Triptona Sulfito Clicloserina |
| UFMA | Universidade Federal do Maranhão |
| % | Porcentagem |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 2.1 | Águas de superfície e poluição dos recursos hídricos | 15 |
| 2.2 | O consumo de peixes e seus benefícios | 16 |
| 2.3 | Microorganismos patogênicos contaminantes de água e peixes | 17 |
| 2.3.1 | Família <i>Enterobacteriaceae</i> | 17 |
| 2.3.1.1 | <i>Escherichia coli</i> | 18 |
| 2.3.1.2 | <i>Proteus</i> spp. | 19 |
| 2.3.1.3 | <i>Hafnia</i> spp. | 19 |
| 2.3.1.4 | <i>Providencia</i> spp. | 19 |
| 2.3.1.5 | <i>Klebsiella</i> spp. | 20 |
| 2.3.1.6 | <i>Enterobacter</i> spp. | 20 |
| 2.3.1.7 | <i>Salmonella</i> spp. | 20 |
| 2.3.1.8 | <i>Shigella</i> spp. | 21 |
| 2.3.2 | <i>Clostridium</i> sulfito redutores | 21 |
| 3 | OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 | Objetivo Geral | 22 |
| 3.2 | Objetivos Específicos | 22 |
| 4 | METODOLOGIA | 23 |
| 4.1 | Tipo de estudo | 23 |
| 4.2 | Área de estudo | 23 |
| 4.3 | Aspectos éticos | 24 |
| 4.4 | Coleta de amostras | 24 |
| 4.5 | Análise de água | 26 |
| 4.5.1 | Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes | 26 |
| 4.5.2 | Pesquisa de bactérias da família <i>Enterobacteriaceae</i> | 26 |
| 4.5.3 | Pesquisa de <i>Clostridium</i> sulfito redutores | 27 |
| 4.6 | Análise dos peixes | 27 |
| 4.6.1 | Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes | 27 |
| 4.6.2 | Pesquisa de bactérias da família <i>Enterobacteriaceae</i> | 28 |
| 4.6.3 | Pesquisa de <i>Clostridium</i> sulfito redutores | 28 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.7 | Análises estatísticas..... | 28 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 29 |
| 5.1 | Contagem de enterobactérias | 29 |
| 5.1.1 | Coliformes totais..... | 29 |
| 5.1.2 | Coliformes termotolerantes | 31 |
| 5.2 | Identificação de espécies da família <i>Enterobacteriaceae</i> na água e nos peixes | 35 |
| 5.3 | Detecção de <i>Clostridium</i> sulfito redutor..... | 38 |
| 6 | CONCLUSÕES..... | 41 |
| | REFERÊNCIAS..... | 42 |

1. INTRODUÇÃO

Segundo Sá et al. (2011), a degradação da água devido a ação antrópica desordenada tem causado grandes impactos nas bacias hidrográficas, especialmente nos últimos anos. Sendo assim, o conhecimento sobre as comunidades microbianas de águas de superfície de áreas urbanas, como rios, lagos e estuários podem apontar a presença de riscos à saúde da população, além de fornecer informações importantes sobre o nível do impacto causado pela poluição e as possíveis alterações, a longo prazo, nos ecossistemas de água doce, como consequência das atividades humanas (MCLELLAN et al., 2015).

No município de Bacabal – MA, um dos pontos principais de pesca é o rio Mearim. Este rio, que nasce na confluência das Serras Negra, Meninas e Cruzeiras, banha vários municípios do Maranhão, inclusive Bacabal. A cidade possui, aproximadamente, 100.014 habitantes e compõe a microrregião do Médio Mearim (IBGE, 2016).

Segundo a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB) não existem aterros sanitários em nenhuma sede municipal da região e especialmente nas bacias do Itapecuru e Mearim, além do esgoto bruto, são lançados resíduos sólidos domiciliares (BRASIL, 2008).

Grande parte da população utiliza as águas do rio Mearim para diversas finalidades, tais como: lazer, irrigação e para pesca artesanal. O pescado é um alimento valorizado na dieta das populações e representa, em vários locais do mundo, a mais importante fonte de proteínas de origem animal. De acordo com Lima (2010), nessa denominação de pescados estão inseridos os crustáceos, moluscos, equinodermas, cetáceos e também os peixes, sendo estes últimos, os objetos do nosso estudo.

Com o passar dos anos, uma parcela cada vez maior da população vê o consumo de peixe como uma opção mais saudável à carne. Essa necessidade de inserir na dieta alimentos mais saudáveis tem fomentado o aumento do consumo de pescado (MINOZZO et al., 2010). Os alimentos provenientes da pesca são considerados significativas fontes de nutrientes para a dieta humana, segundo a Organização Mundial Saúde (OMS) (2010). Este órgão sugere que o consumo médio de doze quilogramas *per capita* por ano desse tipo de alimento seja o ideal para que a população alcance um nível de segurança alimentar satisfatório.

Segundo Almeida et al (2011), é consenso que uma alimentação saudável exige a ingestão de todos os nutrientes necessários ao bom funcionamento do organismo, sendo assim, é fundamental a incorporação do pescado numa dieta equilibrada. São excelentes

fontes de proteínas de alta qualidade e ricos em diversas vitaminas e minerais, além disso, os peixes são excelentes substitutos para as carnes vermelhas em função do menor teor de gorduras e, principalmente, pela alta proporção de gorduras saudáveis (insaturadas) (BRASIL, 2015).

Entretanto, o consumo de peixe e marisco também pode ocasionar doenças, como infecções ou intoxicações (HUSS, 1997). O peixe pode ser transmissor de uma grande variedade de microorganismos patogênicos para o ser humano, a maioria deles provenientes da contaminação ambiental. Essa contaminação é resultado da atividade antrópica, responsável por muitos desequilíbrios com interferências sobre o ciclo hidrológico, e por consequência, sobre a qualidade da água, peixes e outros organismos de ecossistemas aquáticos (BASSO, 2006; GERMANO; GERMANO, 2013).

As características microbiológicas do ambiente irão influenciar diretamente a microbiota dos peixes, ou seja, os microorganismos presentes nos tecidos e órgão dos peixes, como tubo digestivo, brânquias, rim, musculatura e no trato gastrointestinal, estão relacionados quali e quantitativamente às características da microbiota do ambiente aquífero em que o animal está inserido. Portanto, torna-se necessário monitorar, tanto a qualidade dos produtos de origem marinha, como também a água de onde este foi retirado (PAL; DASGUPTA, 1992; SIPAÚBA-TAVARES, 1994; MOLLERKE et al., 2002; GUZMÁN et al., 2004; MUJICA et al., 2014).

A origem do pescado é um dos aspectos mais relevantes a ser observado, pois a mesma está intrinsecamente relacionada com o grau de contaminação das águas onde este foi coletado: lagos ou criatórios, rios, em alto mar ou costeiro (SENAI-DR, 2007). De acordo com Vieira et al (2004), cada alimento, incluindo o peixe, possui características microbiológicas muito particulares. Essas características podem ser alteradas a partir da influência de fatores externos, como a contaminação de seu habitat através de canais de água poluída e esgotos, seja este ambiente marinho, lacustre ou estuarino.

Grande parte da matéria orgânica presente nos rios poluídos é composta por um número extenso de microorganismos oriundos do solo e, principalmente, do intestino de animais e do homem, contribuindo para a formação das vazões esgotáveis. Dentre estes, estão algumas bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Clostridium*. (GERMANO; GERMANO, 2013)

Dados divulgados pela OMS confirmam que as infecções bacterianas constituem a maioria das doenças veiculadas pelo pescado. Elas podem ser resultado da contaminação

direta do peixe pela água contaminada ou à contaminação secundária a partir da descarga, processamento, estocagem, distribuição e preparo para o consumo. Quando os peixes são consumidos crus ou após tratamento térmico brando a contaminação direta do pescado é de extrema importância. Nas regiões onde as condições sanitárias são precárias, a contaminação secundária tem, normalmente, maior importância (TONONI, 2015).

De acordo com Macêdo (2001), a mais importante fonte de contaminação da água e, por consequência, dos peixes, está relacionada aos dejetos do ser humano, animais, solo e vegetais, pois irão favorecer o crescimento de microorganismos patogênicos, que podem transmitir doenças, que afetarão principalmente o trato gastrointestinal, levando a sintomas como uma dor de cabeça ou até mesmo a doenças mais graves. Entre elas estão as infecções bacterianas causadas por enterobactérias, como *Shigella* e *Salmonella*, gastroenterites causadas pela *Escherichia coli*, febre tifóide (causada por *Salmonella typhi*), entre outras. Além disso, algumas espécies de *Clostridium* merecem atenção, como é o caso do *Clostridium botulinum* (causador do botulismo), que é responsável pela produção uma neurotoxina importante, chamada de toxina botulínica, uma das substâncias mais tóxicas já descobertas, e o *Clostridium perfringens* tipo C que pode causar enterite necrótica (GERMANO; GERMANO, 2013).

Diante do exposto e considerando-se que grande parte da população do município de Bacabal/MA, faz uso do Rio Mearim, seja para recreação ou pesca e que, a contaminação das águas do referido rio também reflete a qualidade microbiológica dos peixes, podendo esta resultar em problemas para a saúde da população, torna-se de grande importância o estudo da qualidade microbiológica das águas de superfície e peixe do Rio Mearim, com o intuito de conhecer os reais riscos a que estão submetidas a população do município.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Águas de superfície e poluição dos recursos hídricos

Nas grandes cidades a maior parte dos reservatórios naturais de água está poluído por conta da ocupação das áreas ribeirinhas, crescimento desordenado da população sem o adequado fornecimento de um sistema de esgotamento sanitário, e a falta de consciência ecológica da própria sociedade (VIEIRA; OLIVEIRA, 2001) .

Observa-se ainda uma alteração na qualidade das águas de reservatórios naturais por influência da sazonalidade. Inúmeros estudos confirmam que há uma alteração na qualidade da água quando se compara o período de estiagem com o período chuvoso. Devido à sazonalidade climática podem ocorrer modificações, por meio da variação do volume do rio, nas concentrações dos contaminantes (BORDALO et al.,2001; ANDRADE et al., 2005; ARAÚJO et al., 2007; PINTO FILHO et al., 2012).

Essa contaminação das águas naturais é apontada como um dos principais riscos à saúde pública, sendo consenso a existência de uma relação direta entre a qualidade da água e diversas enfermidades que acometem as populações, especialmente aquelas não atendidas por serviços de saneamento (LIBÂNIO et al.,2005).

De acordo com MA et al., (2010) águas contaminadas não só afetam diretamente a saúde humana como também causam sérios danos à biota aquática. A descarga de esgoto nos rios provoca alteração na qualidade da água, causando contaminação por bactérias patogênicas. Esses efluentes são causas potenciais de deterioração na qualidade dos peixes, levando a uma série de respostas ao stress nos vários níveis de organização biológica (BERNET et al., 2000).

Segundo Costa (2004), qualquer espécie de peixe é suscetível a infecções causadas por bactérias, permitindo a fácil multiplicação desses organismos, uma vez que eles ocorrem naturalmente no ambiente aquático. São fatores determinantes no crescimento microbiano na carne de peixe: a elevada atividade de água, a composição química complexa, o teor de lipídeos saturados facilmente oxidáveis e o pH próximo da neutralidade (MUJICA et al, 2014). Com a deposição de efluentes domésticos e industriais, a concentração de microorganismos e os riscos oferecidos por eles aumentam no corpo hídrico (COSTA, 2004).

Sendo assim, a política normativa nacional de uso da água procurou estabelecer parâmetros que definem limites aceitáveis de elementos estranhos, considerando os diferentes

usos. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) é responsável pelo estabelecimento de normas de qualidade ambiental no Brasil. Coube ao órgão instituir a Resolução 357/2005, a qual dispõe sobre a classificação dos corpos d'água, bem como as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, estabelecendo as condições e padrões de lançamentos de efluentes (BRASIL, 2005).

A partir desta resolução, as águas doces, salobras e salinas são classificadas, segundo seus usos preponderantes, em treze classes. Para águas doces, tipo de água analisada neste estudo, há cinco classificações. Para cada uma das classes de água, a resolução estabelece limites máximos para os parâmetros físicos, químicos e biológicos.

Para águas doces de Classe 2 (águas que podem ser destinadas a aquicultura e atividade de pesca), a avaliação das condições microbiológicas da água são feitas a partir da contagem de coliformes termotolerantes ou *E.coli* em sua substituição, sendo que não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros.

2.2 O consumo de peixes e seus benefícios

A compra e o consumo dos peixes é impulsionado por diversos fatores, dentre eles, o fato do consumidor enxergar o peixe como um alimento mais saudável, de importante valor nutricional (RUXTON et al., 2004; BECK, 2005; VERBEKE et al., 2005), bem como, a percepção e valorização dos seus bons atributos sensoriais, como o sabor e a textura (VERBEKE ; VACKIER, 2005; BRUNSO et al., 2009; PIENIAK et al., 2010; BIRCH et al., 2012;; DAVIDSON et al., 2012; MOURA et al., 2012; DAVIDSON et al., 2012).

Estes fatores tem um papel fundamental na busca e nas escolhas alimentares e, conseqüentemente, nos hábitos alimentares da população, que cada vez mais, está consciente das conseqüências que uma boa alimentação pode trazer à sua saúde (ALMEIDA et al., 2011).

A ingestão de peixes magros é recomendada pela sua alta digestibilidade, sendo extremamente benéfica para pessoas que consomem muitos carboidratos, como é o caso dos brasileiros. Sua digestibilidade está em torno de 96%, contra 90 % das carnes de aves e 87% das carnes de bovinos. Os peixes são ainda indicados como excelentes fontes de vitamina A e D (LIMA, 2010). Eles são constituídos por uma elevada percentagem de ácidos graxos poliinsaturados, dentre os quais está o ácido linolênico, do grupo ômega 3, que auxilia no sistema imune e reprodutivo e no metabolismo do colesterol, além de contribuir para o abaixamento da pressão sanguínea, evitar doenças comuns de pele, como eczemas e psoríase,

evitar artrite e atuar na formação dos tecidos do cérebro (GERMANO; GERMANO, 2008; LIMA, 2010; SWAPNA et al., 2010; EMBRAPA, 2011; NARAYAN et al., 2012; WAN ROSLI et al., 2012).

Além disso, os óleos de peixe auxiliam na redução do colesterol sanguíneo. O ômega 3 vai atuar dificultando a formação das placas de ateromas. Já as lipoproteínas do sangue tornam-se mais fluidas e menos ativas no transporte do colesterol e triglicérides para os tecidos do corpo (LIMA, 2010).

Entretanto, o aumento na demanda do pescado vai estar relacionado, principalmente, ao crescimento populacional, sendo este um fator crescente e favorável para o setor da pesca, desde que aspectos importantes para o comércio e produção do pescado sejam observados, como a sustentabilidade, a acessibilidade e a inocuidade dos produtos do pescado (GERMANO; GERMANO, 2013).

Os dados mostram um crescente aumento no consumo de pescado, passando de 96,9 milhões de toneladas, em 2000, para 128,3 milhões de toneladas, em 2010. Paralelamente, o consumo global *per capita* do pescado tem crescido, passando de 16,0 kg, em 2000, para 18,1 kg, em 2010. (FAO, 2012).

Gregolin (2010), afirma que os estudos apontam um aumento no consumo *per capita* de pescado no Brasil. Houve um crescimento de 6,46 kg para 9,03 kg por habitante/ano entre 2003 e 2009, o que representou um aumento de 39,78% nos últimos sete anos. A meta, estipulada no programa “Mais Pesca e Aquicultura”, do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), era chegar em 2011 ao consumo de 9 kg por habitante/ano e foi cumprida com pelo menos um ano de antecedência. O novo dado se aproxima do patamar considerado ideal pela Organização Mundial de Saúde, que é de 12 kg por habitante/ano.

2.3 Microorganismos patogênicos contaminantes de água e peixes

2.3.1 Família *Enterobacteriaceae*

As enterobactérias são microorganismos anaeróbios facultativos, Gram-negativos, reduzem nitrato a nitrito, fermentam a glicose e não produzem a enzima citocromo oxidase C. São capazes de metabolizar uma ampla variedade de substâncias como carboidratos (mono-di-trissacarídeos e polímeros), proteínas e aminoácidos, lipídeos e ácidos orgânicos. Produzem catalase, utilizam glicose e amônia como fontes únicas de carbono e

nitrogênio, respectivamente. Estas propriedades metabólicas são extensivamente usadas na classificação e identificação dos gêneros e espécies da família *Enterobacteriaceae* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

As enterobactérias fazem parte de um grupo que pode provocar infecções do trato gastrointestinal e em outros órgãos do corpo. Muitos destes microorganismos habitam comumente o aparelho gastrointestinal. O grupo inclui as bactérias *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* e *Yersinia* (MERCK, 2015).

Estão presentes no trato gastrointestinal de vertebrados na condição de comensais e figuram entre os agentes patogênicos mais comuns que infectam seres humanos e animais. Vale ressaltar que, como residentes da microbiota intestinal, podem configurar uma colonização ao invés de infecção verdadeira (PATERSON, 2012). A maioria dos microorganismos pertencentes a família *Enterobacteriaceae* é de grande importância para a saúde pública. Dentre os microorganismos dessa família destacam-se os tipicamente enteropatogênicos ao homem (*Salmonella* e *Shigella*) e outros que apresentam apenas alguns sorotipos enteropatogênicos como é o caso do gênero *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Yersinia*. Muitas destas espécies, assim como as que causam doenças diarreicas, podem causar uma variedade de infecções extraintestinais incluindo bacteremia, meningite, feridas e infecções do trato respiratório e urinário. (HOLT et al. 1994).

2.3.1.1 *Escherichia coli*

Está presente na microbiota intestinal de animais de, incluindo seres humanos. Apenas algumas cepas de *E. coli* são patogênicas para humanos, porém a presença dessa bactéria em alimentos indica contaminação de origem fecal, o que mostra que não foram seguidas corretamente as normas de higiene. *E. coli* De acordo com suas características clínicas e mecanismos de virulência, as cepas de *E. coli* são divididas em cinco categorias: enteropatogênica clássica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enterotoxigênica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC) e enteroagregativa (EAEC). (ASSIS, 2014).

As células de EPEC invadem a mucosa intestinal provocando diarreias aquosas, acompanhadas de dores abdominais, vômitos e febre. A EIEC tem como mecanismo de patogenicidade a invasão de células do cólon, que causa sintomas de febre, dores abdominais, mal-estar geral e diarreias abundantes com muco e sangue. A ETEC é caracterizada pela

produção de toxinas na mucosa do intestino, cujo principal sintoma é a diarreia aquosa, que surge de 8 a 44 horas após a colonização, acompanhada de febre baixa, cólica abdominal e náusea. Em casos muito graves, a manifestação é semelhante à cólera. Com realção a EHEC os principais sintomas são fortes cólicas e a diarreia, a princípio aquosa e, posteriormente, com presença de sangue. Por fim, a EAEC adere, sem invadir, à mucosa intestinal, produzindo toxinas, e pode causar diarreia aquosa que persiste por mais de duas semanas, especialmente em crianças (ASSIS, 2014).

2.3.1.2 *Proteus* spp.

Proteus mirabilis é a espécie mais importante, principalmente com relação a infecções urinárias adquiridas na comunidade e em hospitais. As espécies de *Proteus* produzem grandes quantidades de urease que degrada a uréia formando amônia e outros produtos. Acredita-se que a alcalinização da urina durante as infecções urinárias causadas por estes organismos contribua para formação de cálculos urinários (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

2.3.1.3 *Hafnia* spp.

Ocorrem nas fezes de humanos e animais incluindo pássaros, água de esgoto, solo, água e produtos de origem animal (FARMER, 2003). São patógenos oportunistas para o homem, usualmente no sangue, urina ou feridas infeccionadas em pacientes com estado de saúde debilitado ou imunodeprimidos (HOLT et al., 1994; JANDA; ABBOTT, 2006).

2.3.1.4 *Providencia* spp.

Uma das espécies do gênero *Providencia*, *P. alcalifaciens*, tem potencial de enteropatogênica. É mais frequente em crianças com diarreia do que em controles. A primeira amostra da espécie envolvida com quadro diarreico foi isolada das fezes de uma criança em São Paulo. As demais espécies do gênero têm sido isoladas de pacientes com infecção urinária (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

2.3.1.5 *Klebsiella* spp.

É encontrada nas fezes de 30% dos indivíduos normais e, em menor frequência na nasofaringe. Nas fezes de crianças e depois do uso de antibióticos, a frequência é mais elevada (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). Também podem estar presentes no solo, água, grãos, frutas e vegetais. *Klebsiella Pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e eventualmente outras espécies são patógenos oportunistas que podem causar bacteremia, pneumonia, infecções do trato urinário e outras infecções ao homem. Assiduamente causam infecções nosocomiais urológicas, neonatais, em pacientes geriátricos ou em tratamento intensivo (HOLT et al.,1994).

2.3.1.6 *Enterobacter* spp.

Ocorrem em água doce, solo, esgoto, plantas, vegetais, animais e fezes de seres humanos, sendo portanto amplamente distribuídas na natureza. Inúmeras espécies, destacando-se *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans* e *Enterobacter gergoviae* são patógenos oportunistas de queimaduras e feridas, também estando associados a infecções do trato urinário e fortuitamente septicemias e meningite (HOLT et al.,1994).

2.3.1.7 *Salmonella* spp.

As salmonelas infectam o homem e praticamente todos os animais domésticos e selvagens, incluindo pássaros, répteis e insetos. Essas bactérias, quando estão presentes em ambientes, água potável e alimentos devem-se à contaminação por fezes de indivíduos doentes ou portadores (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). Ao consumir água e/ou alimento contaminado, a pessoa infectada novamente elimina bactérias pelas fezes formando um ciclo (JAY, 2005). No homem, as salmonelas causam vários tipos de infecção, sendo as mais comuns a gastroenterite e a febre tifoide (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). Em vários países, incluindo o Brasil, as salmonelas são consideradas um dos microorganismos mais relevantes em termos de doenças alimentares (ASSIS, 2014).

2.3.1.8 *Shigella* spp.

Todas shigelas são patogênicas e infectam principalmente o homem, e, excepcionalmente, outros primatas como macacos e chimpanzés. Raramente ocorre a doença em animais. Essas bactérias invadem o epitélio do cólon intestinal de humanos, causando uma intensa inflamação que caracteriza a doença, denominada shigelose ou disenteria bacilar. A shigelose é considerada endêmica e acomete cerca de 165 milhões de casos por ano. A maioria dos casos ocorre em países em desenvolvimento, onde as condições sanitárias e socioeconômicas favorecem o estabelecimento da doença. O número de mortes anuais, em consequência da shigelose, é de aproximadamente um milhão, sendo a maioria dos casos observados em crianças entre um e cinco anos. Apesar de alguns autores acreditarem que essas bactérias fiquem confinadas apenas no intestino grosso, é possível, em alguns casos, encontrar esta bactéria em sítios extraintestinais de infecção (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

2.3.2 *Clostridium* sulfito redutores

As bactérias do gênero *Clostridium* estão amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas no solo, ar, poeira, água, alimentos e até no trato intestinal de animais e do homem. São particularmente relevante nas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) os chamados sulfito-redutores, dentro os quais, *C. perfringens*. São bacilos Gram, positivos, anaeróbios, esporulados e produtores de uma enzima denominada lecitinase. Estas bactérias têm sido frequentemente associadas a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA'S), quando uma população de, no mínimo, 1 milhão de germes contamina estes alimentos, determinando assim, sintomas característicos de dores abdominais agudas, diarreia, náusea e vômito (este último em menor frequência), após um período de incubação de 8 a 22 horas (VIEIRA et al., 2004).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade microbiológica da água e peixes do rio Mearim, quanto à presença de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e *Clostridium* sulfito redutores.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes na água e peixes;
- ✓ Isolar e identificar as espécies da família *Enterobacteriaceae* na água e peixes;
- ✓ Isolar *Clostridium* sulfito redutores na água e peixes;
- ✓ Comparar a ocorrência de espécies da família *Enterobacteriaceae* e *Clostridium* sulfito redutores nas amostras de água e peixes, considerando o período seco e o chuvoso.

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo

Estudo transversal de natureza quantitativa.

4.2 Área de Estudo

A pesquisa foi realizada no rio Mearim, no município de Bacabal – MA.

Segundo a Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco e Parnaíba (CODEVASF) (2015), a bacia hidrográfica do rio Mearim é considerada a maior do Maranhão, ocupando 29,84% da área total do estado – aproximadamente 99.058 quilômetros quadrados – percorrendo 83 municípios, que juntos totalizam 1.681.307 habitantes – o que representa 25,6% da população maranhense, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

O rio Mearim, que possui 930 quilômetros de extensão, nasce na serra da Menina, entre os municípios de Formosa da Serra Negra, Fortaleza dos Nogueiras e São Pedro dos Crentes – em altitude entre 400 e 500 metros aproximadamente – e deságua na baía de São Marcos, entre a capital São Luís e o município de Alcântara. A maior área contínua de mangues do país, com aproximadamente 30 mil hectares, chamada de ilha dos Caranguejos encontra-se na foz do rio Mearim.

O rio Mearim é considerado um dos mais importantes do estado, juntamente com o rio Itapecuru, outro rio genuinamente maranhense. Os três trechos principais do rio são: Alto, Médio e Baixo Mearim. Com cerca de 400 quilômetros de extensão o Alto Mearim compreende o trecho entre as cabeceiras e a barra do rio das Flores. O Médio Mearim corresponde ao trecho entre a barra do rio das Flores e o Seco das Almas, apresentando aproximadamente 180 quilômetros de extensão. E estendendo-se do trecho entre o Seco das Almas e a foz na baía de São Marcos, com cerca de 170 quilômetros de extensão, temos o Baixo Mearim.

Conforme dados do IBGE (2016), a população urbana que integra a bacia hidrográfica do rio Mearim é formada por 872.660 pessoas, já a população rural é de 808.647 habitantes, ou seja, 48,1% da população da bacia. Os municípios mais populosos são Bacabal, Barra do Corda, Grajaú, Lago da Pedra, Presidente Dutra, Viana e Zé Doca.

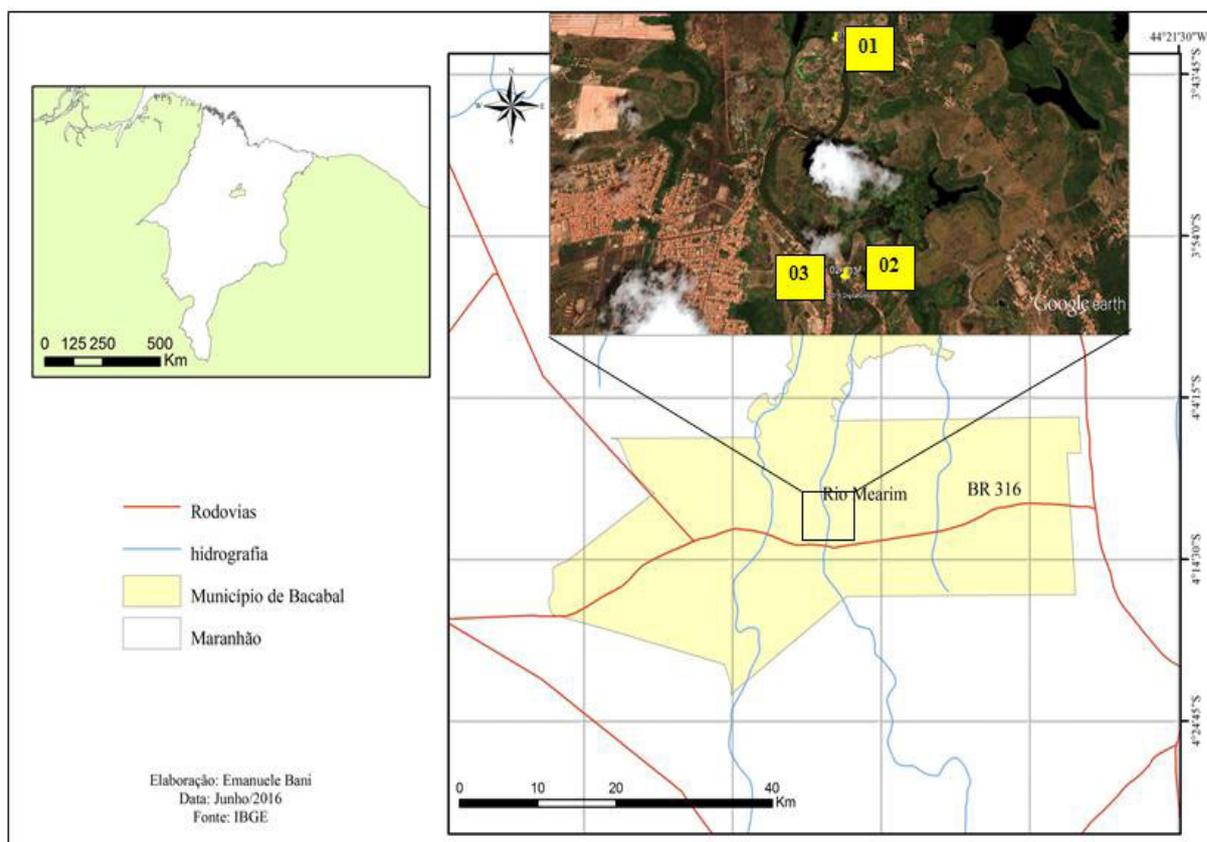
4.3 Aspectos Éticos

A autorização para coleta de amostras de água e pescado no rio Mearim foi solicitada no site do IBAMA, nos serviços de Licenciamento Ambiental Federal, gerando o seguinte número de autorização por parte do órgão: 6442699.

4.4 Coleta de Amostras

As amostras de água e peixes foram coletadas no rio Mearim mensalmente, em três pontos distintos, marcados com global positioning system (GPS) Garmin eTrex 20x, nos meses de outubro a dezembro de 2015, correspondendo ao período seco, e janeiro a março de 2016, correspondendo ao período chuvoso. As coordenadas geográficas dos pontos são: S 04° 12. 728' W 044° 46. 381' (Ponto 1 – Matadouro), S 04° 13. 392' W 044° 46. 202' (Ponto 2 – Ponte principal) e S 04° 13. 411' W 044° 46. 263' (Ponto 3 – Ponte metálica). A figura 1 mostra os 3 pontos de coleta ao longo do rio Mearim.

Figura 1- Pontos de coleta das amostras de água e peixes no rio Mearim, Bacabal-MA, no período de outubro de 2015 a março de 2016.



Fonte: Adaptado do IBGE/Google Earth por Emanuele Bani (2015).

Em cada ponto do rio foram coletadas 3 amostras de peixe e 3 amostras de água, totalizando 9 amostras de cada, mensalmente. Ao final dos 6 meses, um total de 54 amostras de água e 54 amostras de peixe haviam sido coletadas. A coleta de água foi realizada em frascos estéreis. Enquanto que, as amostras de peixes foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis. Foram estudadas espécies de peixes amplamente comercializados na cidade, sendo elas: Branquinha (*Psectrogaster amazonica*; 21 amostras), Sardinha (*Triporthus angulatus*; 10 amostras), Mandí (*Pimelodus blochii*; 7 amostras), Flecheiro-voador (*Hemiodus argenteus*; 6 espécies); Piau de vara (*Schizodon vittatus*; 6 amostras) e Curimatá (*Prochilodus lineatus*., 4 amostras). Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e resfriadas com gelo e transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão (PCQA – UFMA).

4.5 Análise de água

As metodologias empregadas para a pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e *Clostridium* sulfito redutores foram as preconizadas pelo Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater, da American Public Health Association (APHA, 2005).

4.5.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes

Para a avaliação dos coliformes totais e termotolerantes utilizou-se a técnica do número mais provável (NMP), também conhecida como técnica de tubos múltiplos. Na primeira etapa, chamada de teste presuntivo, foram retirados, assepticamente, um volume de 10 mL da amostra coletada e adicionou-se em 90 mL de água destilada e, posteriormente, foram realizadas as três diluições sucessivas (10^{-2} e 10^{-3}). De cada diluição foi retirado 1 mL que foi semeado em 3 series de 3 tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com incubação a 37° C por 24 horas. Os tubos de ensaio considerados positivos, que apresentaram formação de gás no teste presuntivo, tiveram alíquotas de 1 mL semeadas em tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante (CVB) 2%, de acordo com cada diluição, os quais também foram levados a estufa bacteriológica à 37°C durante 24 horas. Os tubos que apresentaram turvação com meio com produção de gás foram considerados como positivos para coliformes totais. Em seguida, alíquotas dos tubos positivos foram transferidas para o Caldo E.C (*Escherichia coli*) com incubação a 45° C, por 24 horas. Foram considerados positivos para coliformes termotolerantes, os tubos que apresentaram turvação do meio e produção de gás. A determinação do Número Mais Provável (NMP/ml) seguiu a tabela de Hoskiss do Número mais Provável (NMP) dos coliformes termotolerantes.

4.5.2 Pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae*

A partir dos tubos positivos no Caldo E. C. realizou-se o plaqueamento seletivo em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) com a posterior incubação das placas a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, as colônias foram isoladas em Agar Triptona de Soja e incubadas a 37°C. Posteriormente, as colônias isoladas foram submetidas aos testes

bioquímicos EPM/MILI e Citrato de Simmons para a identificação das espécies pertencentes à família *Enterobacteriaceae*.

4.5.3 Pesquisa de *Clostridium* sulfito redutores

Foram retirados, assepticamente, 10 mL da amostra coletada e adicionou-se em 90 mL de água destilada, preparado-se três diluições sucessivas (10^{-2} e 10^{-3}). Após, foram inoculadas alíquotas de 0,1mL de cada diluição em placas com Ágar Triptona Sulfito Clicloserina (TSC), contendo emulsão de gema de ovo. Após a absorção do inóculo adicionou-se uma sobrecamada de 5 a 10 ml de Ágar sulfito de polimixina sulfadiazina (SPS), a 46° C, sem emulsão de gema de ovo. As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose a 46° C por 24 horas. As placas não foram invertidas. Para contagem e identificação de *Clostridium* sulfito redutores utilizou-se as metodologias segundo APHA, 2005.

4.6 Análise dos peixes

As metodologias empregadas para a pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e *Clostridium* sulfito redutor nos peixes foram as preconizadas pelo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 2001).

4.6.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes

Para a análise dos peixes também foi utilizada a técnica de tubos múltiplos. Inicialmente, com uso de faca estéril, as amostras de peixe foram cortadas em pedaços menores e trituradas em liquidificador de inox autoclavável por cerca de 15 segundos. Usando um erlenmeyer, pesou-se 25g da amostra de peixe triturada, adicionando-se 225 mL de Água Peptonada a 0,85%, para obtenção da diluição 10^{-1} . A partir desta preparou-se diluições 10^{-2} e 10^{-3} . Os testes presuntivos e confirmatórios seguiram a mesma metodologia apresentada para água.

4.6.2 Pesquisa de bactérias da família *Enterobacteriaceae*

Para identificação de espécies da família *Enterobacteriaceae* também adotou-se a mesma metodologia já apresentada na análise de água.

4.6.3 Pesquisa de *Clostridium* sulfito redutores

Para a análise do pescado, foram pesadas 25g da amostra em um erlenmeyer, adicionando 225 mL de Água Peptonada Alcalina (APA) esterilizada. Após a pesagem, foi feita a trituração por cerca de 2 minutos. A partir do homogeneizado foi obtida a primeira diluição (10^{-1}), e em seguida, preparou-se diluições decimais sucessivas até 10^{-3} . Após as diluições seguiu-se a mesma metodologia apresentada para isolamento de *Clostridium* sulfito redutores na água.

4.7 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram efetuadas utilizando o pacote computacional Palaeontological Statistics (PAST), versão 2.17 (HAMMER et al., 2001). Foram observados os pressupostos de normalidade; quando aceitos usou-se o teste t de Student para amostras independentes e, quando não aceitos, usou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Para comparação das concentrações de coliformes entre a água e os peixes (estatística não paramétrica) no período seco e chuvoso utilizou-se o teste Mann-Whitney, porém, quando comparou-se a diferença de concentração de coliformes entre as amostras de água coletadas no período seco e amostras de água coletadas no período chuvoso (estatística paramétrica), utilizou-se o teste t de Student. O mesmo teste foi aplicado para avaliar a concentração de coliformes nos peixes, comparando o período seco com o chuvoso. Adotou-se o nível de significância de 5% em todos os testes, ou seja, foram considerados como significativos os resultados que apresentavam o valor de $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Contagem de enterobactérias

5.1.1 Coliformes totais

A tabela 1 apresenta as médias de NMP de coliformes totais nas amostras de água e peixe, durante o período seco e o período chuvoso.

Tabela 1 – Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais nos três pontos de coleta de água e peixe, durante o período seco e o período chuvoso.

| Amostras | Pontos de coleta | Período seco* | | | Período chuvoso* | | |
|----------|------------------|---------------|------|------|------------------|------|------|
| | | OUT | NOV | DEZ | JAN | FEV | MAR |
| Água | Ponto 1 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 |
| | Ponto 2 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 |
| | Ponto 3 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 |
| Peixe | Ponto 1 | <3 | <3 | 2400 | <3 | 23 | 240 |
| | Ponto 2 | <3 | <3 | 2400 | <3 | 93 | 460 |
| | Ponto 3 | 240 | 240 | 2400 | <3 | 93 | 2400 |

Fonte: dados da pesquisa, 2016.

*Médias das análises realizadas em triplicata.

A legislação não indica um limite ou valor padrão para coliformes totais em corpos de água onde haja atividade de pesca, porém pode-se ressaltar que, principalmente na água, os valores para estes microorganismos foram elevados, com média de 2400 NMP/mL para as amostras de água coletadas nos três pontos, durante o período seco e o período chuvoso. A presença de coliformes totais não é válida para confirmação de contaminação fecal, pois este grupo abrange diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas. Entretanto, a confirmação de sua presença e em alto número é indicativo da qualidade higiênico-sanitária. Comumente os coliformes não são, por si só, patogênicos, contudo algumas espécies ou a proliferação destes microorganismos podem causar diarreias, bem como infecções urinárias (JAWETZ, 2000 & SILVA, 2001). A partir da aplicação do teste t-student na análise estatística, pode-se verificar que não houve diferença significativa na concentração de coliformes totais entre o período seco e o período chuvoso, no que se refere à água.

Silva (2006), entretanto, encontrou no rio Guamá maior concentração de coliformes totais no período intermediário chuvoso (Dezembro) e chuvoso (Março) do que no

período intermediário seco (Junho) e seco (Setembro), em estudo sobre a qualidade da água da Baía do Guajará e do Rio Guamá (Belém – PA). Essa concentração de coliformes no período intermediário chuvoso e chuvoso pode ser atribuída ao fato do Rio Guamá ser um ambiente de marés mais intensas que o Rio Mearim e com maior volume de água. A sobrevivência de bactérias no ambiente aquático é determinada pela variação de parâmetros ambientais, e além dessas variantes, a maré também tem grande influência da hidrodinâmica local, propiciando a dispersão desses microorganismos e conseqüentemente alterando a sua densidade no ambiente (DOI et al., 2014). Nesse mesmo estudo, os valores mínimos para coliformes totais nos 3 pontos analisados do rio foram de 4.400 NMP/mL (ponto do rio que não sofre influência direta de efluentes domésticos e industriais), 170.000 NMP/mL (área que sofre influência principalmente de esgotos domésticos) e 72.000 NMP/mL (local onde se observa atividades comerciais e industriais). Já o valor máximo de 2.000.000 NMP/mL de coliformes totais foi encontrado nos três pontos.

Caetano et al (2011), encontraram alta concentração de coliformes totais em estudo realizado no Lago Aratimbó – PR, com valores entre 11.200 – 13.800 NMP/mL. Da mesma forma, Sá et al (2011), estudando as condições microbiológicas de lagoas da cidade de Fortaleza - CE, encontraram uma alta concentração de coliformes totais, com o maior índice de contaminação na Lagoa de Porangabussu, que apresentou 43.000 NMP/mL desse grupo de bactérias. As outras duas lagoas analisadas no estudo apresentaram um valor de 9.300 NMP/mL. Observa-se nos trabalhos apresentados valores ainda maiores do que os encontrados no nosso estudo. Essa superioridade pode ser explicada pela maior concentração populacional nas áreas de estudo, com intenso lançamento de efluentes, visto que se trata de grandes cidades.

Com relação aos peixes, a variação entre as médias de NMP/g para coliformes totais foi maior no mês de dezembro, que corresponde ao final do período seco, apresentando as maiores médias. Já no período chuvoso, o mês de janeiro destacou-se por apresentar as menores médias de NMP/g. No referido mês também houve maior média de precipitação (8,67 mm) na cidade de Bacabal, em relação ao mês de fevereiro (7,11 mm) e mês de março (7,91 mm) (NUGEO, 2016). Ainda assim, para os peixes, a análise estatística apresentou a mesma conclusão da água, não havendo diferença significativa na concentração de coliformes totais entre o período seco e o chuvoso.

Dutra (2009), estudando a qualidade microbiológica de peixes capturados no rio Bacanga em São Luís – MA, encontrou resultados com variação entre 1100 – 2400 NMP/g de

coliformes totais. Já Ferreira (2012), estudando a microbiologia de peixe serra desembarcado no município de Raposa – MA detectou, para coliformes totais, intervalos de 3 a 95 NMP/g em 46,67% das amostras e >1.100NMP/g em 1,66%, aproximando-se dos valores encontrados no presente estudo.

Porém, no presente estudo, quando comparou-se a concentração de coliformes totais entre as amostras de água e as amostras de peixe (teste Mann-Whitney), observou-se uma diferença significativa ($p < 0,01$), tanto no período seco quanto no chuvoso, com maiores concentrações destas bactérias na água. Ribeiro (2015) encontrou resultados semelhantes estudando a microbiologia das águas e das ostras na ilha de São Luís – MA, afirmando haver maior contaminação por coliformes totais na água de onde foi retirado o molusco do que nos tecidos do animal. Moraes (2016) em estudo sobre a caracterização higiênico-sanitária e socioambiental da pesca artesanal do rio Apodi – Mossoró, RN, também encontrou maiores concentrações de coliformes totais na água do que nos peixes. Foram encontrados valores de 240 a 2200 NMP/mL para coliformes totais na água e, para os peixes, valores de 24 a 300 NMP/g.

5.1.2 Coliformes termotolerantes

A tabela 2 apresenta os resultados mínimos e máximos de NMP de coliformes termotolerantes nas amostras de água e peixe, durante o período seco e o período chuvoso.

Tabela 2 – Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes nos três pontos de coleta de água e peixe, durante o período seco e o período chuvoso.

| Amostras | Pontos de coleta | Período seco* | | | Período chuvoso* | | |
|----------------------------|------------------|---|------|------|------------------|------|------|
| | | OUT | NOV | DEZ | JAN | FEV | MAR |
| Água | Ponto 1 | 2400 | 2400 | 2400 | 460 | 1100 | 2400 |
| | Ponto 2 | 2400 | 2400 | 2400 | 1100 | 2400 | 2400 |
| | Ponto 3 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 | 2400 |
| Padrões microbiológicos** | | Limite: 1000 colif. termotolerantes por 100 mL. | | | | | |
| Peixe | Ponto 1 | <3 | <3 | 2400 | <3 | 3,6 | 240 |
| | Ponto 2 | <3 | <3 | 2400 | <3 | 23 | 460 |
| | Ponto 3 | 240 | 240 | 2400 | <3 | 93 | 2400 |
| Padrões microbiológicos*** | | Limite: 1000 NMP/g de colif. termotolerantes. | | | | | |

Fonte: dados da pesquisa, 2016.

*Médias das análises realizadas em triplicata; **Padrões estabelecidos pela Resolução n° 357/05 do CONAMA;

***Padrões estabelecidos pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF).

Segundo resolução N° 357/05 do CONAMA (BRASIL, 2005), para corpos de água onde haja pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo, coliformes termotolerantes não devem exceder um limite de 1000 por 100 mililitros.

A partir das médias apresentadas observou-se que, no período seco, as amostras de água dos três pontos apresentaram valores médios de 2400 NMP/mL para coliformes termotolerantes, estando acima do que é preconizado na legislação vigente. No período chuvoso a maioria das amostras coletadas também estava fora dos padrões da legislação, porém com maior variação entre as médias, com os meses de fevereiro e março apresentando os maiores valores. A partir da aplicação da análise estatística (teste t-student) verificou-se que a concentração de coliformes termotolerantes na água é significativamente mais elevada no período seco ($p = 0,001$).

De acordo com uma pesquisa realizada pela Fundação SOS Mata Atlântica em 96 rios, córregos e lagos de sete estados do país, entre o período de março de 2013 e fevereiro de 2014, utilizando vários parâmetros de qualidade da água, verificou-se que a água de 40% deles têm qualidade péssima ou ruim e 49% estão em situação regular. Somente 11% têm água de boa qualidade, característica observada principalmente nos locais onde as matas ciliares permanecem preservadas. De acordo os pesquisadores, a falta de chuvas contribui para piorar a situação, uma vez que impede que a poluição seja diluída. A estiagem não contribui apenas para escassez; intensifica também a poluição das águas (CRISPINIANO, 2015).

Observa-se também em vários outros trabalhos, uma tendência decrescente na qualidade das águas durante o período de estiagem, enquanto que no período chuvoso há maior diluição dos contaminantes, melhorando a qualidade destas (BORDALO et al., 2001; ANDRADE et al., 2005; ARAÚJO et al., 2007; PINTO FILHO et al., 2012).

Sá et al. (2011) corroboram com os dados da nossa pesquisa, pois encontraram índice de contaminação por coliformes termotolerantes em 3 lagoas estudadas na cidade de Fortaleza – CE, com valores que variaram de 1500 a 4.600 NMP/mL, fato que consideraram preocupante visto que as águas são utilizadas para uso geral da população, inclusive para pesca. Valores também semelhantes aos dessa pesquisa foram observados por Caetano et al. (2011) nas análises de três pontos do Lago Aratimbó – PR, também utilizado para pesca, com valores para coliformes termotolerantes entre 700-1400 NMP/mL.

Souza et al. (2014) analisaram a qualidade das águas do rio Almada, no sul da Bahia. Durante o período de estudo determinaram concentrações entre 49 e 1.600.000 NMP/mL, observando-se que, dos seis pontos analisados, apenas 1 se enquadrava nos padrões do CONAMA, segundo os autores. Nesse caso, por se tratar de um rio próximo a um grande centro urbano, a contaminação é ainda mais elevada do que a encontrada em nosso estudo. Da mesma forma, Cunha et al. (2010), que ao monitorarem a microbiologia das águas do rio Itanhém (BA), demonstraram uma alta taxa de contaminação por coliformes termotolerantes correspondente a 44,44% das amostras analisadas. Vale ressaltar que das amostras coletas no segundo ponto do rio (local que recebia efluentes do município Teixeira de Freitas), 50% apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes. Em estudo de Rocha et al. (2010), de oito diferentes pontos de coleta de água do rio Jiquiriça (BA) para estudo da qualidade da água, dois pontos obtiveram valores elevados de coliformes termotolerantes, segundo os autores, provavelmente pela influência de zonas urbanas.

Embora a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 12 (BRASIL, 2001) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não estabeleça um padrão para contagem de coliformes termotolerantes no pescado *in natura*, este é um grupo microbiano considerado indicador de qualidade, pelo fato de sua presença estar associada com contaminação de origem fecal, sendo considerado como risco para saúde dos consumidores (RAUL et al., 2008). Além disso, a ICMSF (1986) preconiza que o limite máximo de coliformes termotolerantes em pescado *in natura* é de 1000 NMP/g (SILVA JÚNIOR et al., 2015).

Nas amostras de peixe analisadas neste estudo os valores para coliformes termotolerantes apresentaram grande variação, como aconteceu também com os coliformes totais. No período seco os meses de outubro e novembro apresentaram menores médias de NMP/g, com apenas uma amostra em não conformidade (2400 NMP/g) com o que é preconizado. Já no mês de dezembro, a partir da média apresentada para os três pontos de coleta (2400 NMP/g), conclui-se que todas amostras estavam fora dos padrões exigidos pela ICMSF. Médias semelhantes foram observadas para coliformes totais no período seco. Mesmo no período chuvoso algumas amostras ($n = 5$) estavam fora do padrão da ICMSF, principalmente no mês de março, enquanto no mês de janeiro todas as amostras coletadas nos três pontos estavam em conformidade com a legislação. De acordo com a análise estatística, pode-se afirmar que a diferença na concentração de coliformes termotolerantes nos peixes, entre o período seco e o chuvoso, foi significativa ($p = 0,052$), tendo sido maior no período seco.

Os resultados encontrados por Dutra (2009) em peixes capturados no Rio Bacanga, em São Luís – MA, corroboram com os desse estudo, ao constatar uma variação de 3 a 2400 NMP/g de coliformes termotolerantes.

Silva Júnior et al.(2015) também relataram números elevados de coliformes termotolerantes em todas as amostras de peixes resfriados adquiridas em feira livre, na cidade de Macapá – AP, com números >1100 NMP/g em todos os peixes analisados. Oliveira et al. (2010) encontraram números ainda mais elevados de coliformes termotolerantes ao analisarem peixes oriundo de feiras livres no estado da Bahia. Os valores variaram de 19.000 a 93.000 NMP/g em 66,66% das amostras e as demais apresentaram valor máximo de 6.500.000 NMP/g. Vários trabalhos destacam a importância dos cuidados na comercialização de alimentos de origem animal em feiras livres, principalmente quando se trata de pescado, devido a sua natureza extremamente perecível é exigida uma atenção especial em relação a sua higiene, que deve iniciar no processo de captura, até a estocagem e comercialização (SPA, 2012).

Em estudo sobre a qualidade do peixe comercializado em Imperatriz – MA, Dias et al.(2010) afirmam que as amostras de peixe capturadas no rio Tocantins, próximo aos pontos onde há despejo de esgoto, apresentaram um alto grau de contaminação por coliformes termotolerantes, indicando que estão impróprias para consumo.

Ao se realizar a comparação da concentração de coliformes termotolerantes entre a água e o peixe (teste de Mann-Whitney), observou-se uma diferença significativa ($p < 0,01$),

tanto no período seco, quanto no chuvoso, com maior concentração destas bactérias na água. O mesmo comportamento foi percebido na avaliação de coliformes totais.

Morais (2016) também encontrou maior concentração de coliformes termotolerantes na água do que nos peixes do rio Apodi – Mossoró, RN. Os valores encontrados foram de 4 a 1500 NMP/mL para na água e, para os peixes, valores de 8 a 200 NMP/g. Para Melo (2015), no seu estudo com água e peixes de estuário em São Paulo, as densidades de bactérias obtidas nas amostras de água, tiveram grande influência nas densidades de bactérias encontradas nas estruturas dos peixes da espécie analisada (*Eugerres brasilianus*, Curvier 1830), uma vez que a água é considerada como a principal veiculadora de bactérias não só aos humanos, mas também aos peixes.

5.2 Identificação de espécies da família *Enterobacteriaceae* na água e nos peixes.

A pesquisa possibilitou o isolamento e identificação de 12 espécies de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (Tabela 3).

Tabela 3 – Espécies de bactérias da família *Enterobacteriaceae* identificadas nos três pontos de coleta de água e peixe, durante o período seco e o período chuvoso.

| Espécie | ÁGUA | | | | | | PEIXE | | | | | |
|---------------------------------|--------------|----|----|-----------------|----|----|--------------|----|----|-----------------|----|----|
| | Período seco | | | Período chuvoso | | | Período seco | | | Período chuvoso | | |
| | P1 | P2 | P3 | P1 | P2 | P3 | P1 | P2 | P3 | P1 | P2 | P3 |
| <i>Citrobacter amalonaticus</i> | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Citrobacter diversus</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Citrobacter freundii</i> | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| <i>Escherichia coli</i> | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Escherichia fergusonii</i> | - | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - |
| <i>Escherichia hermannii</i> | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Klebsiella spp.</i> | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | + | - | + | + | + | - | - | - | - | + | - | - |
| <i>Serratia odorífera</i> | + | + | + | + | - | + | + | - | + | + | + | + |
| <i>Serratia spp.</i> | + | - | + | - | - | - | + | - | + | - | - | - |

Fonte: dados da pesquisa, 2016.

P = ponto

Na água foram identificadas 10 espécies no período chuvoso e 5 no período seco. No período seco as bactérias isoladas com maior frequência foram *Escherichia coli* e *Serratia odorífera*. Já nas amostras de água coletadas no período chuvoso, *Escherichia coli*, seguida de *Citrobacter diversus* foram as bactérias que apresentaram maior frequência de identificação. Observa-se uma menor variabilidade de espécies no período chuvoso, sugerindo uma redução no nível de contaminação.

Escherichia coli foi a espécie com maior frequência de isolamento nos dois períodos de coleta (seco e chuvoso), tanto na água como no peixe. A presença de *Escherichia coli* é um indício de contaminação fecal recente, resultante, principalmente, do despejo de esgoto doméstico, atestando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e representando um risco para saúde pública (RODRIGUES et al., 2009). Além de *Escherichia coli*, *Citrobacter diversus* e *Serratia odorífera* também apresentaram alta frequência de isolamento, com *Citrobacter diversus* estando presente em todos os pontos de coleta no período seco e no chuvoso. Os membros pertencentes ao gênero *Citrobacter* são constantemente isolados de indivíduos enfermos como um patógeno oportunista (NASCIMENTO & ARAÚJO, 2013). Além disso podem ser encontrados no solo, água, esgoto e alimentos. Alguns sorotipos de *Citrobacter diversus* são considerados patogênicos, podendo causar diarreia (HOLT et al., 1994), septicemia, meningite bacteriana e endocardite (VERMELHO et al., 2007).

Dias et al. (2010) encontraram alta concentração de *E. coli* (2.400 NMP/100 mL) nas amostras de água coletadas no rio Tocantins, nos pontos de pesca próximos a esgotos. Os dados de Barreto et al. (2006), estudando a microbiologia de águas de açude e lagoa em Fortaleza – CE, corroboram com os do nosso estudo, visto que das 63 cepas isoladas nas amostras de água do Açude Sto. Anastácio, 81% foram confirmadas como sendo de *E. coli*. Foram identificadas ainda 11 (17%) *Enterobacter* spp. e 3 (5%) *Klebsiella pneumoniae*. Enquanto nas amostras de água da Lagoa Parangaba, de 66 cepas isoladas, 73% foram caracterizadas como *E. coli*. Confirmou-se ainda a incidência de 3 (5%) cepas de *Citrobacter* spp. e 5 (8%) *Enterobacter* spp. Durante o estudo de Silva (2006) sobre a qualidade das águas da Bacia do Guajará e do rio Guamá foram isoladas cepas de *E. coli* (52%), *Klebsiella* spp. (32%), *Citrobacter* spp. (10%) e bacilos gram negativos não fermentadores de lactose (6%). A espécie *E. coli* foi encontrada na maioria das amostras de água.

Na identificação das 34 cepas isoladas das amostras de peixe coletadas no período seco foram identificadas *Escherichia coli*, *Serratia odorífera*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Escherichia fergusonii* e *Escherichia hermannii*. Neste período verificou-se que mais da metade das bactérias presentes era da espécie *Escherichia coli*. Além disso, ressalta-se a alta frequência de isolamento de *Citrobacter diversus* e *Serratia odorífera*, assim como aconteceu com a água. Nota-se ainda que a presença da bactéria *Escherichia hermannii* foi detectada apenas no peixe, não tendo sido identificada na água nesse período de coleta. Dutra (2009) também relatou a presença de *Escherichia hermannii* em pescado fresco coletado no rio Bacanga, em São Luís – MA.

No período chuvoso foram encontradas 6 espécies diferentes, sendo elas: *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorífera* e *Enterobacter cloacae*. A maior frequência de identificação mantém-se para espécie *Escherichia coli*, seguida de *Serratia odorífera* e *Citrobacter freundii*. A legislação não indica o padrão, nem o valor limite para *E.coli* em alimentos, porém é de grande importância analisar sua presença, visto que está relacionada com contaminação de origem fecal e à qualidade higiênica (LOREZON, 2009). Nota-se nesse período o aparecimento de *Enterobacter cloacae*, bactéria não identificada na água no período chuvoso. Essa bactéria já foi isolada em outras pesquisas com peixe fresco, sugerindo que pode estar presente em organismos aquáticos que sofreram contaminação (PEIXOTO et al., 2013; DUTRA, 2009).

Melo (2015) encontrou altas concentrações de *E. coli* nas amostras de peixes capturados do Estuário do rio Itanhaém, SP, em todas as estações do ano.

Diferente do que se possa sugerir em relação às infecções por *E. coli* estarem associadas a países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, surtos infecciosos causados por esta bactéria ocorrem em todos os locais do mundo (SANTIAGO et al., 2013).

Em estudo com a espécie de peixe *Clarias gariepinus*, cultivada em três pontos ao longo do rio das Pedras (Cross River), Nigéria, Ikpi e Offem (2011) encontraram *E. coli* em contagens elevadas nas amostras de peixe e apontam esse resultado, juntamente com isolados de outras cepas bacterianas, como potencialmente danosos ao ser humano, concluindo que os peixes cultivados naquela região são alimentos que oferecem risco para consumo humano.

Os peixes podem alojar naturalmente uma grande variedade de bactérias, principalmente na pele, que também podem ser comumente encontradas no ambiente aquático. Porém, as bactérias de origem fecal, como *E.coli*, não são habitantes comuns do trato intestinal dos peixes, sendo sua presença associada à contaminação por fezes humanas ou de outros animais de sangue quente na água de captura (EL-SHAFAI et al., 2004).

Ramírez et al. (2011), estudando a qualidade microbiológica de peixes frescos comercializados em Cundinamarca (Colombia), encontraram *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Edwardsiella tarda* e *Proteus mirabilis* em amostras de peixes oriundas de vários estabelecimentos, resultados que corroboram com os encontrados nesta pesquisa. Da mesma forma os resultados obtidos por Dutra (2009) revelaram a presença de dez espécies da família *Enterobacteriaceae* nas 60 cepas encontradas em amostras de peixes do rio Bacanga, São Luís – MA. Foram classificadas como: *Escherichia coli* 17(28,33%), *Enterobacter aerogenes* 12(20%), *Klebsiella pneumoniae* 8(13,33%), *Escherichia blatae* 7(11,66%), *Escherichia hermanii* 6(10%), *Proteus mirabilis* 4(6,67%), *Citrobacter freundii* 3(5%), *Enterobacter cloacae* 1(1,67%), *Klebsiella oxytoca* 1(1,67%) e *Serratia marscescens* 1(1,67%).

Já que a microbiota do peixe vivo depende da carga microbiana das águas onde este vive, de modo geral, quanto mais poluído o ambiente aquático maior a diversidade da microbiota que pode ser encontrada nos peixes, incluindo espécies patogênicas para humanos (MUJICA et al., 2014; MELO, 2015).

5.3 Detecção de *Clostridium* sulfito redutor

Das 27 amostras de água coletadas no período seco em apenas 1 (3,7%) não foi detectada a presença de *Clostridium* sulfito redutor, enquanto nas demais (96,29%) amostras

foi confirmada a presença desse microorganismo. Já no período chuvoso, em 66,66% (18) das amostras foi detectada a presença dessa bactéria.

Wijesinghe et al. (2015), em estudo sobre a variabilidade espacial e temporal do gene da toxina de *Clostridium botulinum* tipo E, na região dos Grandes Lagos (nordeste dos EUA e sudeste do Canadá), analisou amostras de água, sedimentos e algas coletadas em vários pontos da área de estudo, comprovando que o gene da toxina de *Clostridium botulinum* tipo E é abundante naquela região. Vieira (2004) afirma que cepas do tipo E são comumente encontradas em meio aquático. No estudo a água teve a maior frequência de detecção, mas a concentração mais baixa em comparação com as outras matrizes: sedimentos e algas. A concentração do gene da toxina em algas foi significativamente mais elevada do que na água e no sedimento ($p < 0,05$), sugerindo que os tapetes de algas proporcionaram um melhor microambiente para o *C. botulinum*.

Quanto ao peixe, 16 (59,25%) amostras coletadas no período seco estavam contaminadas com *Clostridium* sulfito redutor, enquanto que, das amostras coletadas no período chuvoso, 18 (66,66%) estavam contaminadas com a bactéria, resultado semelhante ao da água no mesmo período, porém no período seco a água apresentou mais amostras contaminadas. Somente no caso dos *Clostridium* sulfito redutores houve maior concentração de bactérias nos peixes no período chuvoso do que no período seco, porém com pouca variação na quantidade de amostras contaminadas. Assim, pode-se sugerir que o peixe tenha proporcionado um melhor microambiente para o *Clostridium* Sulfito redutor (como aconteceu com a alga no estudo de Wijesinghe et al. (2015), garantindo alta concentração de bactérias na maioria das amostras, mesmo no período em que houve maior diluição dos contaminantes na água.

Sabry et al. (2016) investigando a ocorrência e diversidade de toxina de *C. Perfringens* associada com peixe fresco e em conserva, após isolamento e identificação de *C. Perfringens*, observou maior prevalência da bactéria em peixe fresco coletado a partir da aquicultura (54,5%), dos mercados (conserva) (71%), bem como em seres humanos que estavam em contato com o peixe (63 %), em comparação com a água utilizada para manter o peixe fresco (27,3%) e água usada em conservas de peixe (17,8%) .

Trabalhos com pescados já salgados, congelados ou defumados encontraram resultados diferentes. Mouchereck Filho et al.(2002) estudando a microbiologia do pirarucu seco e salgado comercializado nas feiras livres de Manaus – AM, não identificaram presença de *Clostridium* sulfito redutor nas amostras analisadas. Do mesmo modo, Manske et

al.(2011), estudando a composição centesimal, microbiológica e sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido ao processo de defumação, não encontraram *Clostridium* sulfito redutor nas amostras analisadas. Segundo os autores dos dois estudos isso evidencia que os processos de conservação e armazenamento foram adequados.

Sinde et al. (2009) fazendo um estudo bacteriológico sobre palitos de merluza congelados, a fim de avaliar a contaminação deste alimento após processamento, também não identificaram presença de *Clostridium perfringens* nas amostras estudadas. Segundo os autores isso pode ter relação com a origem marinha da matéria-prima, nas quais alguns microorganismos têm dificuldade de desenvolver-se, e ainda, por conta do congelamento final, podendo haver inibição de bactérias inicialmente presentes.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, em função da avaliação da qualidade microbiológica da água e do peixe do rio Mearim, as seguintes conclusões foram observadas:

Há maior concentração de coliformes totais na água, com diferença significativa em relação aos peixes, tanto no período seco quanto no chuvoso.

Há maior concentração de coliformes termotolerantes nas amostras de água coletadas no período seco, assim como também foi maior a concentração nas amostras de peixes coletadas nesse período, em comparação com a coleta do período chuvoso. Também foi observada maior concentração de coliformes termotolerantes na água, tanto no período seco quanto no chuvoso, em comparação com os peixes.

A *Escherichia coli* foi a bactéria com maior frequência de identificação nas amostras de água e peixes, tanto no período seco quanto no chuvoso.

No rio Mearim, com aumento do nível das águas no período chuvoso ocorre a redução dos microorganismos de origem fecal na água e nos peixes, porém o acúmulo de *Clostridium* sulfito redutores nos peixes, mesmo no período chuvoso, aponta que este ambiente sofre contaminação e proliferação quanto a este grupo de bactérias.

De modo geral, a qualidade microbiológica da água e dos peixes está insatisfatória, em função do percentual de amostras que apresentaram não conformidade com os padrões oficiais para coliformes termotolerantes, e pela presença de coliformes totais em concentrações consideráveis, tanto na água quanto nos peixes. Além disso, *Clostridium* sulfito redutores estavam presentes na maioria das amostras de água e peixes avaliados. Todas essas bactérias, além de indicarem baixa qualidade microbiológica do produto, podem comprometer a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. M. J.; OLIVEIRA, B. M. P. M.; RODRIGUES, S. S. P. Adolescents' eating out habits in a semi-urban city of Portugal. **Paper presented at the 7th International Conference on Culinary Arts and Science – ICCAS**, UK, Bournemouth, 2011.

ANDRADE, E. M. PALÁCIO, H. A. Q.; CRISÓSTOMO, L. A.; SOUZA, I. H.; TEIXEIRA, A. S. Índice de qualidade de água: uma proposta para o vale do rio Trussu, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 02, p.135-142, 2005.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19ed. Washington, DC, USA: ed. APHA, 2005.

_____. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington DC: American Public Health Association, 2001.

ARAÚJO, V. S.; SANTOS, J. P.; ARAÚJO, A. L. C. Monitoramento das águas do Rio Mossoró/RN, no perímetro de abril/2005 a julho/2006. **Revista Holos**, Ano 23, 2007.

ASSIS, DE L. **Alimentos Seguros: ferramentas para gestão e controle da produção e distribuição**. 2. ed. Rio de Janeiro: Senac Nacional, 2014, 376 p.

BARRETO, N. S. E. VIEIRA, R. H. S.; LIMA, E. A.; SOUSA, D. B. R.; NUNES, V. V. F.; RODRIGUES, D. P. Avaliação microbiológica de águas de lagoa e açude em Fortaleza, CE e sua relevância em saúde pública. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 139, p. 99-103, 2006.

BASSO, E. R. **Monitoramento e avaliação da qualidade da água de duas represas e uma lagoa no município de Ilha Solteira (SP)**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira-SP, 2006.

BECK, U. **Risk society: towards a new modernity**. Londres: Sage publication, 2005.

BERNET, D. H. SCHMIDT, T.; NAHLI, P.; BURKHARDT-HOLM. Effects of wastewater on fish health: an integrated approach to biomarker responses in brown trout (*Salmo trutta l.*). **Journal of aquatic ecosystem stress and recovery**, v. 8, p. 143-151, 2000.

BIRCH, D.; LAWLEY, M.; HAMBLIN, D. Drivers and barriers to seafood consumption in Australia. **Journal of Consumer Marketing**, v. 29, n. 1, p. 64-73., 2012.

BORDALO, A. A.; NILSIMRANCHIT, W.; CHALERMWAT, K. Water quality and uses of the Bangpakong river (eastern Thailand). **Water Research**, v.35, n.15, p.3635-3642, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção básica. **Guia Alimentar para a população brasileira**. 2 ed., 1. reimpr. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Comissão Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e

diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 23 fev. 16.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Impactos na saúde e no Sistema Único de Saúde decorrentes de agravos relacionados a uma saneamento ambiental inadequado**. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/estudosPesquisas_ImpactosSaude.pdf>. Acesso em: 12 jul. 16.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/legis/resol./1201redc.htm>>. Acesso em: 20 fev. 16.

_____. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2008.

BRUNSO, K. VERBEKE, W.; OLSEN, S. O.; JEPPESEN, L. F. Motives, barriers and quality evaluation in fish consumption situations: Exploring and comparing heavy and light users in Spain and Belgium. **British Food Journal**, v. 111, n.7, p. 699-716, 2009.

CAETANO, I. C. S. da; MARTINS, L. A. de; MERLINI, L. S. Análise da qualidade da água e dos peixes do lago Aratimbó, Umuarama PR - Brasil. **Arquivo Ciência e Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-157, 2011.

COMPANHIA DE DESENVOLVIMENTO DOS VALES DO SÃO FRANCISCO E PARNAÍBA (CODEVASF). **Bacia do Mearim**. Disponível em: <<http://www.codevasf.gov.br/noticias/2014/bacia-do-mearim-e-a-maior-do-maranhao/>>. Acesso em 10 out. 2015.

COSTA, A.B. Estratégias para o estudo de bactérias potencialmente patogênicas na piscicultura. In: **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. São Paulo: Tec Art, p.387-403, 2004.

CRISPINIANO, R. Cada gota de água é preciosa. **Revista Manuelzão: Saúde, Ambiente e Cidadania na Bacia do Rio das Velhas**. Belo Horizonte, n. 73, 2015. Disponível em: <http://www.manuelzao.ufmg.br/assets/files/Revista73bx.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2016.

CUNHA, A. H.; TARTLER, N; SANTOS, R. B.; FORTUNA, J. L. Análise microbiológica da água do rio Itanhém em Teixeira de Freitas- BA. **Revista Biociências**, Unita. v. 16, n. 2, p. 86-93, 2010.

DAVIDSON, K.; PAN, M.; HU, W.; POERWANTO, D. Consumers' willingness to pay for aquaculture fish products vs. wild-caught seafood - a case study in Hawaii. **Aquaculture Economics and Management**, Hawaii, v.16, n. 2, p. 136-154, 2012.

DIAS, V. L. N. FERREIRA, E. F.; CORÉIA, G. A.; SILVA, E. C. R.; OLIVEIRA, I. N.;

MOUCHREK FILHO, V. E.; LOPES, J. M.; CARVALHO, N. C. C. Avaliação da qualidade de peixe comercializado em Imperatriz, MA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, n. 186/187, p. 109-112, jul/ago de 2010.

DOI, S.A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H.L.A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananéia (SP). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.19 , n.2, p. 165-171, 2014.

DUTRA, D. R. **Condições higiênico-sanitárias e perfil da sensibilidade antimicrobiana de enterobactérias isoladas de pescados frescos do estuário do Bacanga, São Luís – MA.** 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2009.

EL-SHAFI, S.A. GIJZEN, H.J.; NASR, F.A; EL-GOHARY, F.A. Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environmental Research**, v. 95, p. 231-238, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **A aquicultura e a atividade pesqueira.** Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=aquic:::27>>. Acesso em: 14 nov. 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture Failler, P. Future prospects for fish and fishery products, 4. Fishconsumption in the European Union in 2015 and 2030, Part 1, European overview. , **FAO Fisheries Circular** n. 972/4, Part 1, 2012.

FARMER, J. J. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; TOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 8. ed., p. 636– 653, 2003.

FERREIRA, E.M.; COSTA, F.N. **Características microbiológicas, sensorias e químicas do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) desembarcado em Raposa-MA, e microbiologia do gelo utilizado na sua conservação.** 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO.; M.I.S. **Sistema de Gestão: Qualidade e Segurança dos Alimentos.** São Paulo: Manole, 2013.

_____. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** 3. ed. São Paulo: Manole, 2008.

GREGOLIN, A. Ministério de Aquicultura e Pesca. **Brasileiro come mais peixe.** Portal do Agronegócio, 13 de setembro de 2010. Disponível em: http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?tit=brasileiro_come_mais_peixe&id=43773. Acesso em: 15 nov. 2015.

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

HAMMER, Ø.; HARPER, D.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, n.1, p 9, 2001.

HOLT, J.G. et.al. Facultatively anaerobic gram-negative rods. In: **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 9. ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.

HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura - FAO**. Documento Técnico Sobre as Pescas. n. 334, 176 p., Roma, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Base cartográfica integrada do Brasil ao milionésimo digital. Rodovias e ferrovias**. Disponível em: <ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas/base_continua_ao_milionesimo/2-BCIMv3.0.1_dados/SAD69/shapefile/>. Acesso em: 15 jun. 2016.

_____. **Cidades**. Disponível em:<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php...>. Acesso em: 15 jun. 2016.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) . **Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**, 2 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The Genus *Hafnia*: from Soup to Nuts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1, p. 12–18, 2006.

JAWETZ, E.; MELNICK, J.A. & ADELBERG, E.A. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 175p.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

LOREZON, C.S. **Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do estado de São Paulo**. 2009, 41 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP., 2009.

LIBÂNIO, P. G. C.; CHERNICHARO, C. A. L.; NASCIMENTO, N. O. A dimensão da qualidade da água: Avaliação da relação entre os indicadores sociais, de disponibilidade hídrica, de saneamento e de saúde pública. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 219-228, 2005.

LIMA, U. A. **Matérias-primas dos alimentos**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010. 402 p.

MA, H.; TSAI, T. F.; LIU, C. C. Real-time monitoring of water quality using temporal trajectory of livefish. **Expert Systems with Applications**, n.7, v.37, p. 5158-5171, 2010.

MACÊDO, J. A. B. **Águas e águas**. São Paulo: Varela, 2001.

MACLELLAN, S. L.; FISHER, J. C. ; NEWTON, R. J. The microbiome of urban waters. **International Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 141-149, 2015.

MANSKE, C. MALUF, M. L. F. SOUZA, B. E. SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. Composição centesimal, microbiológica e sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido ao processo de defumação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 181-190, 2011.

MELO, R. R. **Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasiliensis*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil**. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP., 2015.

MERCK MANUAL – **Biblioteca Médica on line**. Disponível em: <<http://www.fnnde.gov.br/programas/alimentacao-escola>> . Acesso em: 23 out. 2015.

MOURA, A. P. CUNHA, L. M.; CASTRO-CUNHA, M.; LIMA, R. C. A comparative evaluation of women's perceptions and importance of sustainability in fish consumption: An exploratory study among light consumers with different education levels. **Management of Environmental Quality**, v. 23, n. 4, p. 451-461, 2012.

MINOZZO, M.G.I.; HARACEMIV, S.M.C.I.I.; WASZCZVNSKYJ, N.I.I.I. **Perfil dos consumidores de pescado nas cidades de São Paulo (SP), Toledo (PR) e Curitiba (PR) no Brasil**. 2010. Disponível em: <www.spcna.br>. Acesso em: 14 out. 2015.

MOLLERKE, R.O.; WIEST, J.M.; CARVALHO, H.H.C. Colimetrias como indicadores de qualidade de pescado artesanal do lago Guaíba, em Porto Alegre, RS. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 102-106, 2002.

MORAIS, J. A. **Caracterização higiênico-sanitária e socioambiental da pesca artesanal do rio Apodi, Mossoró – RN**. 2016, 98 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Semi - Árido, Mossoró- RN. , 2016.

MOUCHRECK FILHO, V. L. et. al. Avaliação Microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*) seco e salgado, Comercializado nas feiras livres da cidade de Manaus-AM. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 13, n. 1, p.14-21, 2002.

MUJICA, P. I. C; LIMA, M. M.; CARNEIRO, P. H. Avaliação da qualidade microbiológica de peixes comercializados nas feiras livres de Palmas, TO. **Higiene Alimentar**, v. 28, n.236/237, p.147-152, 2014.

NARAYAN, B.; HATHWAR, S. C.; HEMAVATHI, D. Lipid class and fatty acid composition of meat and nonmeat components of selected seafoods. **Indian Journal of Fisheries**, v. 59, n.1, p. 133-139, 2012.

NASCIMENTO, V. F. S.; ARAÚJO, M. F. F. Ocorrência de bactérias oportunistas em um reservatório do semiárido do árido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 7, n. 1, p. 91 a 104, 2013.

NÚCLEO DE GEOTECNIA (NUGEO). **Boletim Hidroclimático de Bacabal**. 2016. Disponível em:< <http://www.nugeo.uema.br/wp-content/uploads/2016/03/Boletim-Diario-Bacabal-MA-elaborado-em-30-03-2016.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2016.

OLIVEIRA, A. S. PINTO JÚNIOR, W. R.; ZANUTO, M. H.; BRITO, D. S.; PORTO, S. S.; DIAS, H. S. **Qualidade microbiológica de peixes *in natura* comercializados em feira livre do município de Vitória da Conquista no estado da Bahia.** 2010. Disponível em: <www.sovergs.com.br/site/higienistas/trabalhos/10322.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE(.OMS). **Temas de la salud.** 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/es/>>. Acesso em: 20 set. 2015.

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

PATERSON, D.L. Infections Due to Other Members of the *Enterobacteriaceae*, Including Management of Multidrug-Resistant Strains. **Goldman's Cecil Medicine**, v. 2, p. 1874–1877, 2012.

PAULA, S. M. **Qualidade da água do rio Dourados – MS – Parâmetros físico-químicos, microbiológicos e higiênico sanitários.** 2011, 87 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados. MS, 2011.

PEIXOTO, P.; OLIVEIRA, R.; SILVA, B.; BARBOSA, C.; PELLI, A. Isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter cloacae* Isolados em Curimba *Prochilodus lineatus* em Sistema Fechado. **Iniciação Científica Cesumar**, v. 15., p. 189-191, 2013.

PIENIAK, Z.; VERBEKE, W.; SCHOLDERER, J.. Health-related beliefs and consumer knowledge as determinants of fish consumption. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**. v. 23, n.5, p. 480-488, 2010.

PINTO FILHO, J. L. O.; SANTOS, E. G.; SOUZA, M. J. J. B. Proposta de índice de qualidade de água para a lagoa do apodi, RN, brasil. **Revista Holos**, Ano 28, v. 2, p. 69-76, 2012.

RALL. V. L. M.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes em pescado fresco e congelado. **PUBVET** [On line], Londrina, v. 2, n. 39, 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/material/cardoso357.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2016.

RAMÍREZ, L. C. C. OSPINA, M. A. A.; FONSECA, L. A. C.; BELTRAN, Y. C. C. Estudio bacteriológico de la calidad del pescado fresco, Bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) y Mojarra Roja (*Oreochromis sp.*) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia). **Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas**, v. 9, n. 15, p. 113 – 214, 2011.

RIBEIRO, E. B. **Ostras do gênero *Crassostrea* como bioindicadores de poluição aquática na Ilha de São Luís – MA.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2015.

RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Avaliação da qualidade das águas de duas áreas utilizadas para recreação do rio Piracuama - SP. **Revista Biociências**, UNITAU. v. 15, n. 2, 2009.

ROCHA, J. L. S.; REGO, N. A. C.; SANTOS, J. W. B.; OLIVEIRA, R. M.; MENEZES, M. Indicador integrado de qualidade ambiental à gestão da bacia hidrográfica do rio Jiquiriçá, BA, Brasil. **Revista Ambiente & Água**, v. 5, n. 1, p. 89-101, 2010.

RUXTON, C. H. S. et.al. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of the evidence. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 17, n. 5, p. 449-459, 2004.

SÁ, T. N. M. ALBUQUERQUE, T. L.; ARCANJO, M. R. A.; SOARES, M. V. L.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Índices de coliformes totais, termotolerantes e contagem total de bactérias heterotróficas em lagoas da cidade de Fortaleza, CE. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 198-199, p. 89-92, 2011.

SABRY, M.; ABD EL-MOEIN, K.; HAMZA, E.; ABDEL KADER, F. Occurrence of *Clostridium perfringens* Types A, E, and C in Fresh Fish and its public health significance. **Journal Food Protection**, 2016 v.79, n.6, p. 994-1000, 2016.

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

SECRETARIA DE PESCA E AQUICULTURA (SPA). **Boas práticas de manipulação de pescado**. Fortaleza, CE, 2012.

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL (SENAI DR/BA). **Tecnologia de Pescados**. Salvador, 2007.

SILVA JUNIOR, A. C. S. et. al. Avaliação microbiológica de pescada branca (*Cynoscion spp.*) comercializada na feira do pescado, Macapá – AP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 29, n. 246/247, p. 108-112, Julho/Agosto de 2015.

SILVA, D. F. **Utilização de indicadores biológicos na avaliação da qualidade da água da Baía do Guajará e do Rio Guamá (Belém – PA)**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. 2.ed.São Paulo: Varela, 2001. 31p.

SINDE, E. GALLARDO, C. S. ; SAA, A.; CASTILLO, A.; RODRÍGUEZ, L. A. Estudio bacteriológico de palitos de merluza congelados bacteriological study of frozen hake sticks estudo bacteriológico de paños de pescada conxelados. **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, p. 20–23, 2009.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Limnologia Aplicada à Aquicultura. **Boletim Técnico do CAUNESP** n.1, Jaboticabal: FUNEP, 70p, 1994.

SOUZA, J. R.; MORAES, M. E. B.; SONODA, S. L.; SANTOS, H. C. R. G. A Importância da Qualidade da Água e os seus Múltiplos Usos: Caso Rio Almada, Sul da Bahia, Brasil. **Revista Eletrônica do Prodema**, Fortaleza, CE, v.8, n.1, p. 26-45, abr. 2014.

SWAPNA, H. C. et. al. Lipid classes and fatty acid profile of selected Indian fresh water fishes. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n.4, p. 394-400, 2010.

TEIXEIRA, J. C.; GUILHERMINO, R. L. Análise da associação entre saneamento e saúde nos estados brasileiros, empregando dados secundários do banco de dados indicadores e dados básicos para a saúde 2003 – IDB 2003. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.11, n. 3, p. 277-282, jul/set 2006.

TONONI, J.R. **Indústria do Pescado**. Disponível em: < <http://vix.sebraees.com.br/arquivos/biblioteca/Industria%20do%20Pescado.pdf>>. Acesso em 10 out. 2015.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM F. **Microbiologia**. 6.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2015.

VERBEKE, W.; SIOEN, I.; PIENIAK, Z.; VAN CAMP, J.; DE HENAUW, S. Consumer perception versus scientific evidence about health benefits and safety risks from fish consumption. **Public Health Nutrition**, v. 8, n. 4, p. 422-429, 2005.

VERBEKE, W.; VACKIER, I. Individual determinants of fish consumption: Application of the theory of planned behaviour. **Appetite**, v. 44, n.1, p. 67-82, 2005.

VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; BRANQUINHA, M. H. S. **Bacteriologia Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VIEIRA, R. H. S. F.; OLIVEIRA, R. A. Avaliação do grau da contaminação fecal da água e camarão sossego (*Macrobrachium jelskii*), na Lagoa de Parangaba. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 80-81, p. 69-74, 2001.

VIEIRA, R. H. BARRETO, N.S.; SOUSA, O.V.; TÔRRES, R.C.; RIBEIRO, R.V.; SAMPAIO, S.S.; NASCIMENTO, S.M. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela; 2004.

WAN ROSLI, W. I. ROHANA, A. J.; GAN, S. H.; NOOR FADZLINA, H.; ROSLIZA, H.; HELMY, H.; KAMARUL IMRAN, M. Fat content and EPA and DHA levels of selected marine, freshwater fish and shellfish species from the east coast of peninsular Malaysia. **International Food Research Journal**, v. 19, n.3, p. 815-821, 2012.

WIJESINGHE, R.U. OSTER, R. J.; HAACK, S. K.; FOGARTY, L. R.; TUCKER, T. R.; RILEY, S. C.. Spatial, temporal, and matrix variability of *Clostridium botulinum* type E toxin gene distribution at Great Lakes Beaches. **Applied Environmental Microbiology**, v. 81, n. 13, p. 4306–4315, 2015.