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

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS DE TRAÍRA (Hoplias malabaricus) PROVENIENTE DA BAIXADA MARANHENSE, MUNICÍPIO DE SÃO BENTO, MA

Lucélia da Cunha Rodrigues

São Luís-MA

LUCÉLIA DA CUNHA RODRIGUES

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS DE TRAÍRA (Hoplias malabaricus) PROVENIENTE DA BAIXADA MARANHENSE, MUNICÍPIO DE SÃO BENTO, MA

Dissertação apresentada à Coordenação do mestrado em Ciência Animal como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientadora: Profa. Dra. Francisca

Neide Costa

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Clara

Gomes dos Santos

São Luís-MA

Rodrigues, Lucélia da Cunha.

Aspectos microbiológicos e parasitológicos de traíra (Homplias malavaricus) provenientes da Baixada Maranhense, município de São Bento. São Luís, 2011.

.130 f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2011.

Orientador: Profa. Drª. Francisca Neide Costa.

1. Peixe. 2. Aspectos higiênico-sanitários. 3. Parasitos. I. Título.

CDU: 579.67(812.1)

Dissertação de mestrado defendida e aprovada em//p banca examinadora composta pelos seguintes membros:	oela
Profa. Dra. Rejeana Márcia Lima Silva	
1º Membro	
Profa. Dra. Ana Clara Gomes dos Santos	
2º Membro	
Profa. Dra. Francisca Neide Costa	_ _

Orientadora

Dedico,

Aos meus pais, LUCIANO e ODETE, por minha formação humana, repleta de educação, amor e princípios, e pelo apoio, nas minhas escolhas de vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua constante presença em minha vida, por me ensinar qual o melhor caminho e me enviar pessoas certas para realização deste trabalho.

Aos meus pais Luciano e Odete por serem os melhores pais e orientadores do mundo, ensinando-me os verdadeiros valores da vida e quererem sempre meu bem;

À Prof^a Dr^a Francisca Neide Costa, pela sua orientação segura, paciência, apoio, profissionalismo, ensinamentos, disponibilidade e amizade essenciais na minha formação;

À Profa. Dra Ana Clara Gomes dos Santos por sua co-orientação, essencial para realização deste trabalho, pelo prazer de sua companhia. Meu muito obrigada é pouco diante de tudo que ganhei nesse período de convivência com esta pessoa maravilhosa;

À Profa. Dra Lúcia Maria Coêlho Alves a quem tenho orgulho de ter sido orientada e me introduziu no mundo da pesquisa;

Aos funcionários da Fazenda Escola de São Bento, aqui representados por Dona Léa e professora Adélia, pelo carinho e acolhida;

À Profa. Rita, pela acolhida no Laboratório de Parasitologia Veterinária;

À equipe de profissionais e amigos do Laboratório de Microbiologia Alimentos e Água - UEMA, Dona Ruth, Célia, Nancyleni, Viramy, Andreza, Isabella, pelas horas compartilhadas e experiências vividas;

Aos meus irmãos Lucidete, Lucilene, Luciana, Luciano, Lusandro, Luciandro, por todo o companheirismo, pela grande ajuda e força que me dão em todos os momentos da minha vida.

À meus sobrinhos Yasmin, Ângelo, Ana Sofia, Larissa, Felipe, Yane e afilhada Catarina, a quem eu tanto amo e por serem a minha maior alegria.

Aos cunhados Anderson, Fabiano, Josiana, Mayumi pela ajuda, carinho e companhia.

Aos pescadores e feirantes de São Bento-MA, pela paciência e ensinamentos valiosos para minha vida.

À Paulo Roberto, pela força e ajuda constante, durante a realização deste trabalho.

Às amigas Ilderlane e Elka, por serem ótimas companhias e compartilharem comigo as alegrias e dificuldades.

Aos meus "anjos da guarda", Débora Matos e Gabriel Gomes, pela amizade construída, apoio, incentivo e maravilhosa companhia, meu muito obrigada, amo vocês.

Aos amigos de mestrado: Fernando, Júlia, Aline, Joyce, Andréia, Herlon, José Manoel, Liani, Hildecy, Érico, em especial as amigas Lidiane e Ylisieux, pelo apoio, companhia e as palavras certas nas horas necessitadas. Obrigada pela convivência, momentos de descontração, aprendizado e apoio.

Ao amigo Rodrigo Miwa, por me acompanhar nas coletas e análises, enfim, em todo meu trabalho.

A todos os professores do Mestrado em Ciência Animal da Uema pelos ensinamentos que cada um nos proporcionou.

Aos funcionários do Curso de Medicina Veterinária e principalmente aos da segurança, em especial o senhor Ney, pela tranquilidade e companhia, que me deixaram trabalhar nos fins de semana.

A todos os que contribuíram de forma direta ou indireta neste trabalho.

À Universidade Estadual do Maranhão e ao Mestrado em Ciência Animal por serem responsáveis pela minha formação profissional;

À CAPES pelo apoio financeiro.

"A sabedoria é o dom que dá sabor a vida de quem a possui e de todos aqueles que a experimentam. Sabedoria dá forma à palavra sabor. Sábio é aquele que sente o sabor de algo, e ao sentir esse sabor usa-o para novas descobertas".

RODRIGUES, L.C. Aspectos microbiológicos e parasitológicos de Traíra (Hoplias malabaricus) proveniente da Baixada Maranhense, Município de São Bento, MA. (Microbiological and parasitological aspects of Traíra (Hoplias malabaricus) from the MARANHÃO state, SÃO BENTO city.). 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011.

RESUMO

Com o objetivo de verificar os aspectos microbiológicos e parasitológicos de traíras (Hoplias malabaricus), provenientes do município de São Bento/MA, avaliou-se 40 amostras de peixes quanto a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e a 45°C, contagem de bactérias aeróbias mesófilas, pesquisas de Staphylococcus coagulase positivo e negativo, Salmonella spp. e bactéria do gênero Aeromonas, segundo American Public Health Association (APHA), descrito por Silva et al. (2007). Analisou-se 12 amostras de águas quanto aos parâmetros físico-químico e microbiológicos, preconizados pelo CONAMA 357 (2005). Quanto aos aspectos parasitológicos, pesquisou-se endoparasitos, segundo técnica de Amato (1991) e Pavanelle (1940), em 70 peixes, verificando-se os índices e coeficiente de parasitismo. Os resultados microbiológicos mostraram valores de coliformes totais e a 45º, variando de < 3 a > 1,1 x 10^3 NMP/g, respectivamente, onde 24 (60%) das amostras estavam em desacordo com os padrões recomendados pela RDC Nº 012, de janeiro de 2001- ANVISA. Quanto aos isolados bacterianos, isolou-se E. coli em 14 amostras em relação as contagens de bactérias aeróbias mesófilas, os dados variaram de 9 x 10² a 10⁹ UFC/g e a população de Staphylococcus coagulase negativo variou de 10² até 1.8 x 10⁸ UFC/g. Detectou-se Salmonella spp. em 2 (5%) das amostras e quanto à pesquisa de Aeromonas spp, 36 (90%), estavam contaminadas por este microrganismo, sendo 7 (19,4%) amostras contaminadas por A. cavie e 29 (80,6%) por A. hidrophila. Os resultados das análise de água com valores médios foram: pH 6,9; turbidez de 543,8; condutividade elétrica de 882,7; Cálcio de 34,3; Magnésio de 97,5; dureza total de 131,8; alcalinidade total de 66,7 e cloretos de 400. O número mais provável de termotolerantes variou de 7 a > 1600NMP/mL. Quanto aos resultados parasitológicos foram identificados larvas de nematódeos, com potencial zoonótico do gênero Contracaecum spp., Pseudoterranova spp., Eustrongylides spp.; monogenéticos Gyrodactirus spp., Dactylogirus spp. e larva Acanthella de Acanthocephalo. Dos 70 (100%) peixes, 64 (91,4%) estavam parasitados, com prevalência de 82,8% (58) para o nematódeo Contracaecum spp., 65,7% (46), Pseudoterranova spp., 7,1% (5), Eustrongylides spp., 71,4% (50), monogenéticos e larva Acanthella de Acantocephalo, respectivamente. A maior amplitude de intensidade (1-30), coeficiente de variação foi verificado para o nematódeo *Pseudoterranova* spp., a intensidade média (7,3), índice de abundância (6,7), coeficiente de dominância (36,4) foi ao *Contacaecum* spp., todos os parasitos estavam no mesentério da cavidade abdominal, encistados em forma larval. Os resultados da pesquisa demonstraram que os peixes provenientes do município de São Bento- MA apresentavam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, tanto no aspecto microbiológico quanto ao parasitológico, expondo o consumidor a riscos de doenças veiculadas por alimentos.

Palavras-chaves: Peixes, aspectos higiênico-sanitários, endoparasitos.

RODRIGUES, L.C. Microbiological and parasitological aspects of Traíra (*Hoplias malabaricus*) from the MARANHÃO state, SÃO BENTO city. (Aspectos microbiológicos e parasitológicos de Traíra (*Hoplias malabaricus*) proveniente da Baixada Maranhense, Município de São Bento, MA). 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011.

ABSTRACT

With the objective of verifying the microbiological and parasitological aspects of fish (Hoplias malabaricus), coming from São Bento city, Maranhão state, it was evaluated 40 samples of fish as the determination of the most probable number (MPN) of total coliforms and to 45 Celsius degree, mesophyllas aerobic bacteria counting, Staphylococcus positive and negative coagulase researches, Salmonella spp. and Aeromonas bacterium, according to American Public Health Association (APHA), described by Silva et al. (2007). We analyzed 12 water samples for parameters I-chemical and microbiological recommended by CONAMA 357 (2005). As for the parasitological aspects, it was researched endoparasites, according Amato's technique (1991) and Pavanelle's technique (1940), in 70 fish, being verified the parasitism' indexes and coefficient. The microbiological results showed values of total coliforms and to 45 Celsius degree, varying to < 3 even $> 1.1 \times 10^3$ MPN/g, respectively, where 24 (60%) of the samples they were in disagreement with the recommended patterns by ANVISA RDC n° 012, January, 2001. As for the isolated ones bacterial, E. coli was isolated in 14 samples, the mesophyllas aerobic bacteria counting, the data varied from 9 x 10² to 10⁹ UFC/g and the population of Staphylococcus negative coagulase varied from 10² to 1.8 x 10⁸ UFC/g. Salmonella spp. was detected in 2 (5%) of the samples and as for the research of Aeromonas spp., 36 (90%), they were polluted for this microorganism, being 7 (19,4%) polluted samples for A. cavie and 29 (80,6%) for A. hidrophylla. The results of water analysis with average values were: pH 6.9, 543.8 turbidity, electrical conductivity of 882.7, 34.3 Calcium, Magnesium 97.5, 131.8 total hardness, total alkalinity chlorides of 66.7 and 400. The most probable number of coliform ranged from 7 to > 1600NMP/mL. As for the parasitological results they were identified nematodeos, with zoonotical potential of the Contracaecum Pseudoterranova spp., Eustrongylides spp.; monogenetics Gyrodactirus spp., Dactylogirus spp. and larva Acanthella of Acanthocephalo. Of the 70 (100%) fishes, 64 (91,4%) they were sponged, with prevalence of 82,8% (58) for the nematodeo Contracaecum spp., 65,7% (46), Pseudoterranova spp., 7,1% (5), Eustrongylides spp., 71,4% (50), monogenetics and larva Acanthella of Acantocephalo, respectively. The largest intensity width (1-30), variation coefficient was verified for the nematodeo *Pseudoterranova* spp., the medium intensity (7,3), abundance index (6,7), dominance coefficient (36,4) it went to

the *Contacaecum* spp., all of the parasites were in the mesenterio of the abdominal cavity, encysted in larval form. The results of the research demonstrate that the coming fish of the municipal district of São Bento-MA, they are in unsatisfactory hygienic sanitary conditions, so much in the microbiological and parasitological aspects, exposing the consumer to I scratch out of health.

Keywords: Fish, hygienic and sanitary aspects, endoparasites.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	24
2.1 Geral	24
2.2 Específicos	
3 REVISÃO DE LITERATURA	26
3.1 Biologia da traíra (Hoplias malabaricus)	
3.2 O peixe como fonte de alimento	
3.3 Deterioração do pescado (peixe)	
3.3.1 Deteriorações microbiológicas do pescado (peixe)	29
3.4 Microrganismos patogênicos carreados pelo pescado	
3.4 Contaminação por Coliformes	31
3.4.1 Escherichia coli	
3.4.1.1 Staphylococcus aureus	
3.4.3 Salmonella spp	
3.4.4 Aeromonas spp	
3.5 Importância dos campos alagados da Baixada Maranhense	
para atividade pesqueira	
3.6 Ictioparasitologia	43
3.7 Saúde pública	
3.8 Parasitos de peixes de importância sanitária	
3.9 Nematóideos	
3.9.1 Anisaquídeos	48
3.9.1.1 Ciclo de vida	
3.9.1.2 Anisaquíase em humanos	
3.9.1.3 Prevenção	
3.9.1.4 <i>Anisakis</i> spp. no Brasil	
3.8.2 Eustrongylides spp	
3.10 Trematódeos monogenéticos	
3.11 Acantocefala	58
4 MATERIAL E MÉTODOS	
4.1 Caracterização da área de estudo	
4.1.1 Região da Baixada Maranhense	
4.1.2 Município de São Bento	60
4.2 Colheita, acondicionamento e transporte das amostras	60
4.3 Unidade Experimental	
4.4 Análises microbiológicas	61
4.4.1 Preparo das Diluições	61
4.4.2 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais	
e a 45°C (Termotolerantes) e Escherichia coli	
4.4.3 Identificação de Escherichia coli	
4.4.3.1 Produção de indol	63
4.4.3.2 Teste de Voges-Proskauer	
4.4.3.3 Teste de Vermelho de Metila	
4.4.3.4 Teste de Citrato	
4.4.3.5 Interpretação dos resultados	64

4.4.4 Contagem Padrão em placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas	
(Contagem Padrão em Placas)	64
4.4.5 Contagem de Staphylococcus coagulase positivo	65
4.4.6 Pesquisa de Salmonella spp	65
4.4.7 Isolamento de <i>Aeromonas</i> spp	66
4.4.7.1 Identificação das espécies de <i>Aeromonas</i> pelos	
métodos bioquímicos	66
4.5 Análise físico – química da água	67
3 1	67
4.6 Pesquisa de parasitos em <i>Hoplias malabaricus</i>	67
4.6.1 Morfometria e avaliação parasitológica	68
4.6.2 Necrópsia em Hoplias malabaricus	68
4.6.3 Pesquisas de endoparasitos	69
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1 Avaliação microbiológica de traíras (Hoplias malabaricus)	71
5.2 Análise físico-química e microbiológica da água	80
	85
5.3.1 Morfometria	85
5.4 Identificação de endoparasitas de Hoplias malabaricus	86
5.4.1 Nematódeos da Família Anisakidae	87
5.5 Nematódeos da Família Eustrongylides	90
5.6 MONOGENÉTICOS	91
5.6.1 Girodactilídeos	92
5.6.2 Dactilogirídeos	93
5.7 Acanthocephala	95
5.8 Prevalência e incidência de endoparasitas em <i>Hoplias</i>	
malabaricus	97
6 CONCLUSÕES	104
7 CONSIDERAÇÃOES FINAIS	105
REFERÊNCIAS	106
REFERENCIAS	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	IMViC, caracterização bioquímica de Escherichia coli	64
Tabela 2.	Número Mais Provável (NMP/g) de Coliforme totais, a 45ºC e contaminação por <i>Escherichia coli</i> , em amostras de traíras (<i>Hoplias malabaricus</i>), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010	71
Tabela 3.	Número Mais Provável de Coliforme a 45°C e presença de <i>Salmonella</i> spp., de acordo e desarcodo com a RDC Nº 012, de janeiro de 2001 - ANVISA, para amostras de Traíras (<i>Hoplias malabaricus</i>), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.	74
Tabela 4.	Contagem de bactérias aeróbias mesófilas e <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase positivo e negativa em amostras de Traíras (<i>Hoplias malabaricus</i>), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.	76
Tabela 5.	Espécies de <i>Aeromonas</i> isoladas de amostras de Traíras (<i>Hoplias malabaricus</i>), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010	78
Tabela 6.	Análises físico-química das águas, provenientes do local de pesca, na baixada maranhense, município de São Bento, MA	82
Tabela 7.	Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes, em amostras de água, provenientes da região baixada maranhense, no período seco do ano, município de São Bento- MA	84
Tabela 8.	Prevalência, amplitude de intensidade, intensidade média, índice de abundância, coeficiênte de dominância, coeficiente de variação e local de infecção dos parasitos de <i>Hoplias malabaricus</i> , provenientes de São Bento, MA	99
Tabela 9.	Relação entre o comprimento total e quantidade de nematódeos presentes em traíras (Hoplias malabaricus), provenientes do município de São Bento-MA	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	(a) Diagrama de <i>Dactylogyrus</i> e <i>Gyrodactilus</i> , (b) Monogenéticos adultos fixados a tecidos de peixes e reprodução por ciclo de vida direto	56
Figura 2.	Mapa de localização da Baixada Maranhense e município de São Bento-MA	60
Figura 3:	Hoplias malabaricus (Traíra), proveniente do município de São Bento-MA	68
Figura 4.	Hoplias malabaricus (Traíra), provenientes de São Bento-MA: (a) Pesagem; (b) Morfometria (b') comprimento total, (b") comprimento parcial	68
Figura 5.	Necropsia realizada em <i>Hoplias malabaricus</i> (traíra), proveniente do município de São Bento- MA	69
Figura 6.	Processo de clarificação em AFA de nematódeos coletados de Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA	70
Figura 7.	Presença de nematódeos Anisakidae e de Classe Monogenea em <i>Hoplias malabaricus:</i> A) nematódeos encistados no mesentério; A') nematódeos em cecos pilórico; A") Anisakideos encistados em mesentério; B) monogenéticos encistados em nematódeos Anisakideos;B") Acantocephalo encistado em Anisakideos.	87
Figura 8.	Micrografia dos nematódeos do gênero <i>Contracaecum</i> spp. (Anisakidae) encontrado em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA. a, b, c) porção anterior; d, e) porção posterior (Oc. 10x e Ob. 5x; Oc. 20x e Ob. 5x). (50x e 100x)	88
Figura 9.	Micrografia de nematódeos do gênero <i>Pseudoterranova</i> spp. (Anisakidae), encontrado em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA. a, b,c) porção anterior; d, e) porção posterior. (Ob. 10x; Oc.5x; Ob.20x; Oc. 5x.)	89
Figura 10	Micrografia de nematódeos do gênero <i>Eustrongylides</i> spp., encontrado em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA. a) porção anterior; b) porção posterior. (Ob.20x; Oc. 5x.)	90
Figura 11	Micrografia de monogenéticos encontrados em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA: <i>Gyrodactilus</i> spp. (a-200x), comprimento total - 750μm (b-250x), largura - 315μm (c-250x), estrutura de fixação - 90μm (d-250), comprimento da estrutura de fixação internamente - 480μm (e-200x), (→) coroa de espinhos interna (haptor)	93

Figura 12	Micrografia de monogenéticos encontrados em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA: <i>Dactylogirus</i> spp., a) ganchos de fixação; b') coroa central com espinhos - 225μm (b'-250x); b') comprimento total - 675μm (b"-250x); c) largura - 300μm (c-250x); d) comprimento da região anterior - 135μm (d-250x) e), comprimento da região posterior - 150μm (e-250x)	94
Figura 13	Micrografia de larva de (a) Acanthella (Acantocephalidae). encontrados em <i>Hoplias malabaricus</i> , São Bento, MA: b) prosbócida com ganchos quitinosos; c) comprimento transversal da prosbócida - 225μm; d') parede espessa com cutícula quitinisada - 30μm e d") região mediana - 3450μm; e) presença de acúleos no tegumento - 150μm f, g) testículos, comprimento transversal - 105μm e longitudinal 150μm, respectivamente; h) poro excretor; i) comprimento tranversal da região posterior (a-50X, b,c,e,f,g, i-100x, h-200x)	96
Figura 14	Prevalência do parasitismo em traíras (<i>Hoplias malabaricus</i>), provenientes de São Bento, MA, de acordo com o gênero de nematódeos, monogenéticos e acantocefalos	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFA - Solução de Alcool, formalina e ácido acético.

APA - Área de Preservação Ambiental

APHA - American Public Health Association

NA - Ágar Nutriente

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF - Boas Práticas de Fabricação

ºC - grau Celsius

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

DAEC - Escherichia coli difusamente aderente

EAEC - Escherichia coli - enteroagregativa

EC - Escherichia coli

EHEC - Escherichia coli entero-hemorrágica

EIEC - Escherichia coli enteroinvasora

BEM - Ágar eosina azul de metileno

EPEC - Echerichia coli enteropatogênica

EPI's - Equipamentos de proteção individual

ETEC - Echerichia coli enterotóxica

HE - Ágar Entérico de Hectoen

IFAS - The Institute of Food and Agricultural Sciences

Kg - quilograma

Km - quilômetro

LST - Caldo Lauril Sulfato de Sódio

M - metro

MA - Maranhão

NMP -Número mais provável

OMS - Organização Mundial de Saúde

RVS - Caldo Rappaport-Vassilidis Soja

SIM - (meio Sulfeto Indol Motilidade)

sp. - espécie

spp. - subespécie

TSA - Agar Triptona de Soja

UFC - unidades formadoras de colônias

UNT - unidades nefelométricas de turbidez

VB - Verde brilhante

VM - Teste Vermelho de metila

VP - Voges-Proskaer

XLD - Ágar Xilose Lisina Desoxicolato

< - menor que

> - maior que

mL - mililitro

1 INTRODUÇÃO

O Estado do Maranhão é um dos principais produtores de pescado do Nordeste, responsável por cerca de 30% da produção regional, sendo a produção pesqueira praticamente gerada pelo setor artesanal (STRIDE, 1992). Possui aproximadamente 640 km de costa na sua porção setentrional, estendendo-se do Estuário do Gurupi até o Delta do Parnaíba (RIOS, 2001). O litoral maranhense é caracterizado por apresentar várias feições geomorfológicas, cujas principais são: as reentrâncias, golfão, lençóis, ilhas, as falésias, estuários, longas planícies costeiras e extensa plataforma continental (PALMA, 1979).

Neste contexto destaca-se a Baixada Maranhense por ser uma região ecológica de grande importância, não só pelo potencial hídrico, mas também pelo papel sócio econômico que representa para a população. A pesca constitui a atividade econômica mais importante, base de sustentação alimentar e de renda. O regime das chuvas dá à hidrografia e solos locais, uma dinâmica típica que submete grande parte dos agricultores familiares locais uma vida ligada à agricultura no período chuvoso e à pesca no período de estiagem (GUTMAN, 2005). Entretanto, a cada ano, os estoques naturais de peixes têm sido ameaçados, principalmente pela sobrepesca, captura predatória e introdução de espécies exóticas nos lagos e rios, o que tem afetado a reprodução das espécies nativas, assim como condições inadequadas de qualidade de água resultando em prejuízo ao crescimento, reprodução, saúde, sobrevivência, e a qualidade dos peixes.

A pesca artesanal caracteriza-se como aquela em que o pescador sozinho ou em parcerias participa diretamente da captura de pescado, utilizando instrumentos simples, baseando-se em conhecimentos adquiridos de pai para filho ou dos mais velhos da comunidade, estes são utilizados nas estratégias de pesca e podem ser úteis para o manejo de estoques pesqueiros (DIEGUES, 1995; SILVANO, 1997).

Dentre as espécies nativas provenientes das regiões alagadas da Baixada Maranhense, destaca-se a *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794),

conhecida popularmente como "traíra", um peixe neotropical pertencente à família Erythrinidae, que possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todas as bacias hidrográficas da América do Sul, com exceção da área transandina e dos rios da Patagônia (FOWLER, 1950; NELSON, 1994).

Em nutrição humana, o peixe constitui fonte de proteínas de alto valor biológico, tão importante quanto à carne bovina (LEDERLE, 1991).

Por ser considerado um alimento altamente perecível, o pescado exige muitos cuidados em relação a seu manuseio, tanto durante o processo de captura quanto durante a estocagem nos barcos pesqueiros (VIEIRA, 2004). Segundo Reis & Lima (2002) os peixes desempenham também um papel importante na transmissão de doenças de origem alimentar. Portanto para o controle e prevenção destas doenças o uso de indicadores de contaminação ambiental e fecal através da enumeração de coliformes e a pesquisa de patógenos como a *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*, são de grande importância para a saúde pública, sendo essencial sua investigação para a determinação da qualidade do produto. A presença destes microrganismos na matéria-prima pode estar relacionada com seu ambiente de desenvolvimento ou com a contaminação durante o seu processamento ou estocagem (OLIVEIRA & COSTA, 1988).

Sabe-se também que a contaminação por manipulação e processamento inadequados ou mesmo utilização de equipamentos e utensílios contaminados são fatores importantes para a presença dessas bactérias no pescado (MURATORI, 2000). Sendo nessas circunstâncias mais frequentes *Samonella* spp., *Escherichia coli, Vibrio parahaemolyticus, Staphylcoccus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens e Clostridium botulinun* (OGAWA & MAIA, 1999; VIEIRA, 2004).

Outro microrganismo patogênico carreado pelos peixes e de grande importância são as bactérias do gênero *Aeromonas* que podem ser encontradas no solo, água doce e salgada, água clorada e fezes de animais (SOUZA, 2003). São portadoras de vários fatores de virulência, que justificam sua ameaça como patógeno humano, uma vez que são responsáveis por diarréia, infecções extra-intestinais, e em imunocomprometidos, septicemia,

meningite e óbito (YAMADA et al., 1997). A gastroenterite é a forma de infecção humana mais comum causada por *Aeromonas*. Nos peixes, a doença pode apresentar uma variedade de sinais clínicos, tais como: exoftalmia, erosão de nadadeiras, septicemia hemorrágica, podendo chegar até a morte.

As *Aeromonas* estão associadas a infecções oportunistas, tanto no ser humano como nos animais homeotémicos e em peixes, tendo capacidade de apresentar resistência a múltiplas drogas (JANDA & ABBOTT, 1998; KO et al., 2000 & PALU et al., 2006).

Dentre os microrganismos podemos citar também as parasitoses de importância em saúde pública, que constituem fonte de preocupação, especialmente no pescado, requerem levantamento, identificação e diagnóstico preciso para garantir um controle eficaz, visando à segurança do consumidor (SOUZA, 2003).

No pescado de água doce e salgada, a presença de parasitos é frequente e possui consequências diversas relacionadas principalmente com aspectos econômicos e sanitários. Alguns parasitos provocam alta mortalidade nos peixes e podem também causar lesão tecidual acarretando perdas econômicas (FERRE, 2001).

O conhecimento dos parasitos de peixes é fundamental sob o aspecto de produção e para a inspeção sanitária, pois através da ação espoliativa, tóxica ou mecânica, estes bioagentes podem desencadear quadros patológicos que restringem o crescimento e até podem levar à morte de seus hospedeiros (SÃO CLEMENTE et al., 1998 & EIRAS, 1994).

As zoonoses parasitárias veiculadas por pescado cada vez mais vêm chamando a atenção de pesquisadores e autoridades sanitárias do mundo inteiro, por serem causas de problemas de saúde pública na população, a qual se infecta pelo consumo de pescado cru ou cozido insuficientemente (OKUMURA et al., 1999).

Os animais parasitados não são boas fontes alimentares para as dietas das pessoas, tanto em qualidade, como em quantidade, pois as mortes por doenças ictioparasitárias podem diminuir muito as quantidades nutricionais disponíveis para abastecer uma população. Deste modo, um peixe pode

constituir-se uma excelente fonte de proteínas e de outras substâncias, mas se for proveniente de um animal parasitado, debilitado e com seu metabolismo alterado pela presença de parasitas, torna-se pobre e insuficiente como fonte alimentar (LEITÃO, 1983).

No Brasil, o hábito de ingerir peixes, em especial crus ("sashimi" e "sushi"), ou mal cozidos exige ótima qualidade do pescado, para evitar a ação patogênica de bactérias e helmintos parasitos, que no homem, se forem ingeridos, são responsáveis pelo quadro clínico caracterizado por diarréia, dores abdominais, náuseas, vômitos, emagrecimento e febre (GERMANO; GERMANO & OLIVEIRA,1993).

Os estudos sobre a importância dos parasitos de peixes de interesse comercial no Brasil, visando à inspeção sanitária do pescado, ainda são bastante reduzidos. Simões & Lopes (2005) já afirmavam que desde tempos remotos, a sanidade dos produtos pesqueiros e alimentícios preocupa o homem que procurava conservá-los utilizando o frio natural ou secando-os ao ar livre.

A ocorrência de doenças veiculadas por alimentos vem aumentando de modo significativo em nível mundial. Em 1995, 1,8 milhões de pessoas morreram por doenças diarréicas. Uma grande proporção desses casos pode ser atribuída à contaminação de alimentos (WHO, 2007). Do ponto de vista de saúde coletiva, vários agentes podem interferir na qualidade dos peixes, sendo que os biológicos são mais sérios (ALMEIDA, 1998).

Tendo em vista a importância da atividade pesqueira artesanal, na região da baixada maranhense e considerando as características de venda do produto no comércio local, buscou-se avaliar as condições higiênico sanitárias da traíra (*H. malabaricus*), provenientes do município de São Bento-MA, quanto seus aspectos microbiológicos e parasitológicos.

Além do desenvolvimento de técnicas que melhorem a inspeção do pescado em relação às zoonoses por ele veiculada, para que se estabeleça uma maior proteção à saúde da população, uma vez que, os consumidores desejam por produtos de qualidade, saudáveis e preços justos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar os aspectos microbiológios e parasitológicos de traíras (*Hoplias malabaricus*) provenientes da Baixada Maranhense, município de São Bento-MA.

2.2 Específicos

- Determinar o número mais provável (NMP) de Coliformes Totais e a 45º em Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA;
- Quantificar bactérias aeróbias mesófilas em Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA;
- Pesquisar Staphylococcus coagulase positivo e negativo em Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA;
- Pesquisar Samonella spp. e bactérias do gênero Aeromonas spp. em Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA;
- Analisar as características físico-quimicas e microbiológicas da água provenientes das regiões de pesca, na Baixada Maranhense, conforme Resolução. nº 357 do CONAMA.
- Identificar larvas de nematódeos nos peixes da espécie Hoplias malabaricus (traíra), provenientes do município de São Bento-MA;
- Verificar a prevalência e incidência larvas de nematódeos em Hoplias malabaricus, provenientes do município de São Bento - MA;

Calcular os índices e coeficientes de prevalência, amplitude de intensidade, intensidade média, índice de abundância, coeficiênte de dominância e coeficiente de variação do parasitismo em *Hoplias* malabaricus (traíra), provenientes de São Bento, MA.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Biologia da traíra (Hoplias malabaricus)

O nome "traíra" significa "que arranca a pele" em tupi-guarani. A ordem Characiformes ocorre na África e nas Américas, possuindo mais de 1.600 espécies. A família Erythrinidae é um pequeno grupo de Characiformes, com apenas três gêneros, popularmente conhecidos como jejús (*Hoplerythrinus* e Erythrinus), trairões, traíras ou lobós (*Hoplias*) (BUCKUP, 2007).

Dentre as 12 espécies atualmente conhecidas do gênero *Hoplias*, uma das que possui maior distribuição geográfica é *Hoplias malabaricus* conhecida popularmente como **traíra** ou **traíra-preta**. Esta espécie tem corpo alongado e cilíndrico, coberto por escamas ciclóides, e uma cabeça alargada, com boca ampla. Sua nadadeira caudal é arredondada e apresenta pontos escuros. O corpo tem coloração marrom dourado, eventualmente com manchas escuras, mas este é um caráter que pode variar de acordo com a idade. Possui mandíbula maior que a maxila com dentes fortes, cônicos e de tamanhos diversos. O palato (céu da boca) tem duas fileiras de dentículos cônicos em forma de "V". Quando adulto, *H. malabaricus* chega a alcançar até 50 cm de comprimento e atinge massa de aproximadamente 1kg (BUCKUP, 2007).

A traíra (*H. malabaricus*) é um peixe carnívoro, essencialmente piscívoro (ZANIBONI-FILHO et al., 2004) predador de ampla distribuição na América do Sul, atua como importante hospedeiro definitivo, intermediário e paratênico de helmintos, com destaque para larvas de nematóideos. Encontrado em ambientes dulcícolas e de hábito preferencialmente noturno. Segundo Barbieri (1989), pode sobreviver em ambientes pouco oxigenados, o que explica sua grande capacidade de dispersão e adaptação. Constitui fonte alimentar de aves piscívoras e também mamíferos, incluindo o ser humano (OLIVEIRA, 2007).

3.2 O peixe como fonte de alimento

No Brasil, o consumo *per capita* de pescados é de 6 kg/habitante/ano e está muito abaixo daquele recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que é de 12 kg/habitante/ano (PESTANA & OSTRENSKY, 2007). O peixe é uma fonte de proteína tão importante para o homem quanto à carne bovina e com, aproximadamente, 60% menos de calorias (HANASHIRO, 2002). Pescados correspondem a 5,6% e a 15,6% do total de proteína animal consumida mundialmente (CATO, 1998). Além disso, apresenta teores satisfatórios de vitaminas e minerais, e devido à quantidade mínima de tecido conjuntivo, os peixes são de alta digestibilidade (FRANCO & LANDGRAF, 2003; HOLUB & HOLUB, 2004; BAUTISTA & ENGLER, 2005).

Embora extremamente variável, a composição química da carne do pescado, particularmente dos peixes, aproxima-se bastante da composição da carne de aves, bovinos e suínos. Seu principal componente é a água, cuja proporção, na parte comestível, pode variar de 64 a 90% seguido pelos protídeos, de 8 a 23% e pela gordura, de 0,5 a 25%. Entre os constituintes minoritários dos pescados encontram-se os sais minerais, cujo teor varia de 1 a 2%, os carboidratos, que no caso dos peixes, não chegam a representar 1% da sua composição, e as substâncias nitrogenadas não protéicas, sem importância nutricional, que não atingem a 0,5% na carne dos pescados frescos (BADOLATO et al., 1994).

Em muitos países, principalmente da Europa e da Ásia, é a proteína de origem animal mais consumida. O teor protéico das diferentes espécies de peixes varia de 15 a 20%. De acordo com Lederle (1991), o valor calórico dos peixes como alimento depende do teor de gordura; assim, tem-se:

- •Peixes magros, com menos de 1% de gordura: bacalhau (0,14%), carpa (0,5%), pescada (0,6%), truta (0,7%), linguado (0,8%) e outros:
- •Peixes meio gordos, com 7% a 8% de gordura: salmão, arenque, cavala, congro e outro; e,
- •Peixes gordos, com mais de 15% de gordura: atum, enguia e outros.

A demanda e o consumo de peixes de água doce e salgada têm apresentado aumento pelos seus benefícios nutricionais como o alto teor do ácido graxo poliinsaturado ômega 3, bem como de proteínas de boa qualidade e seu baixo teor de colesterol. Esses benefícios resultam em uma maior participação dos mesmos no mercado de alimentos (WIDJAJA et al., 2009). De acordo com Stansby (1973) apresenta vários componentes nutricionais, possuem baixo teor de gordura e alto teor de proteína, e são fonte de ácidos graxos poliinsaturados, além de ser abundante em todas as regiões do país.

Apesar da carne conter quantidades apreciáveis de vitamina B1, apenas nos peixes muito frescos é possível aproveitá-la, pois a tiaminase, presente na musculatura, incinde rapidamente a B1 em piridina e em tiazol, não há diferença entre o teor de sódio dos peixes do mar e dos rios (LEDERLE, 1991).

Quando comparadas a carne de boi com a de peixe, fica evidente que peixe é menos calórica, já que contém 80 calorias enquanto a bovina apresenta 111 calorias (FRANCO, 2001)

Dentre as pessoas que consomem pescado freqüentemente, pode-se notar que as principais razões são o prazer em comer a carne de peixe e o benefício que promove à saúde. Kubitza & Lopes (2002) ressaltam que as características do peixe de possuir "carne branca", de fácil digestão e com baixo teor de colesterol promovem ainda mais o seu consumo, já que estas características não precisam ser criadas no produto, pois são intrínsecas e precisam ser divulgadas para que os consumidores saibam da importância para o consumo.

3.3 Deterioração do pescado (peixes)

A perecibilidade do pescado fresco pode ser explicada devido à ação de enzimas autolíticas, ou seja, do próprio pescado, e pela relação menos ácida de sua carne, que favorece o crescimento microbiano. Também, a maioria da gordura dos peixes mostra maior susceptibilidade à deterioração pela rancidez, devido principalmente à elevada insaturação de seus lípideos (PEREIRA, 2009).

As alterações autolíticas são responsáveis pela perda inicial da qualidade do peixe fresco, mas contribuem muito pouco para a deterioração do peixe refrigerado e de outros produtos de pesca. Porém, o rápido desenvolvimento de cheiros desagradáveis e o aparecimento de manchas devido à ação das enzimas digestivas em alguns peixes não eviscerados constituem uma exceção (HUSS, 1997).

Destacam a importância da refrigeração e do congelamento no incremento do período de vida útil dos pescados, permitindo que produtos frescos de elevada qualidade sensorial estejam disponíveis em locais distantes dos de captura. Além disso, sabe-se que fatores como produção de histamina, principalmente em peixes da família Scombridae – cavala, bonito, atum – e Lutjanidae – guaiúba e pargo e o aparecimento de "black spot" (mancha negra) em camarões são inibidos pela rápida adoção do frio logo após a captura, aumentando a qualidade higiênico sanitária e tecnológica desse pescado (VIEIRA et al, 2003, GUIMARÃES, 2000, OGAWA & MAIA, 1999, MAYER & WARD, 1991). Os peixes que tenham boa comercialização "in natura" ou no estado fresco devem ser colocados no gelo imediatamente após a captura para vencer o tempo necessário para a conservação. Essa refrigeração poderá manter o peixe por um tempo limitado de no máximo oito dias, no entanto, a deterioração segue lentamente (OETTERER & CAMARGO, 1984).

3.3.1 Deteriorações microbiológicas do pescado (peixes)

Quando peixes são capturados e/ou coletados, retirado do seu habitat, até chegar à mesa do consumidor, a qualidade final deste produto será o resultado de todos os fatores que o afetaram, durante todas as etapas deste transporte. Podem ser capturados em rios e lagos; a microflora destes locais será completamente diferente daquela de água salgada. Esta pode ser uma das razões porque os peixes de água doce, quando devidamente acondicionados em gelo, mantém à qualidade por mais tempo, do que aqueles procedentes da pesca marítima (SANTOS; RAJADURAI, 1992).

A qualidade do pescado (peixes) deve ser entendida como um conjunto de propriedades, características e atributos, que atenda às exigências do mercado e do consumidor, mesmo que inconscientemente neste último (BARROS, 2003). Assim a qualidade de um pescado deve abordar desde sua composição intrínseca e grau de deterioração, passando pelas etapas de elaboração, armazenamento, distribuição e venda, até as propriedades sensoriais que irão contribuir para que o consumidor tenha o prazer de comer um peixe de boa qualidade (SANTOS, 2010).

Strauss (1985), a invasão da musculatura dos peixes por bactérias é muito provável ocorrer quando estes crescem em lagoas contendo concentrações de coliformes fecais e salmonelas, maiores que 10⁴ e 10⁵ por 100 mL, respectivamente; o potencial de invasão do músculo aumenta com a duração da exposição do peixe à água contaminada. Algumas evidências sugerem que existem poucos organismos entéricos patogênicos nos peixes quando a concentração de coliformes fecais na água é <10³/100 mL, no entanto, mesmo em baixos níveis de contaminação pode haver alta concentração de patógenos no trato digestivo ou fluidos peritoniais do peixe podendo contaminar a carne e outras partes comestíveis, constituindo um fator de risco ao consumidor, se os padrões de higiene são inadequados.

Yokoyama (2007) microrganismos deteriorantes são responsáveis pela decomposição do pescado devido a sua capacidade proteolítica, pectinolítica, lipolítica e outros. Esses microrganismos crescem a temperatura ambiente, podendo se desenvolver sob refrigeração. O pescado das regiões tropicais por apresentar uma microbiota predominantemente mesófila, tem um período de estocagem em gelo, mais longo do que os capturados em águas frias ou temperadas. Já a microbiota mesófila é pouco adaptada a multiplicação em temperaturas de refrigeração e teria uma menor produção de compostos de degradação e uma atividade metabólica diferente da psicrófila (DISNEY, 1976). Peixes tropicais podem deteriorar-se rapidamente em temperaturas ambientes. As tilápias tornam-se inaceitáveis 15 a 20 horas após sua morte (VIEIRA, 2004).

3.4 Microrganismos patogênicos carreados pelo pescado

O pescado pode constituir importante veiculador de microrganismos patogênicos ao ser humano, responsáveis por diversas enfermidades. A microbiota normal do peixe é uniforme e influenciada pela natureza do habitat e variação da temperatura. Patógenos ou indicadores de poluição fecal são raramente encontrados no pescado recém-capturado. Após a captura, a microbiota inicial é alterada pelo transporte, manipulação, contato com o gelo, superfície e equipamentos, estocagem e comercialização (CARDOSO et al, 2003). No habitat natural, os peixes são contaminados por determinados patógenos como Salmonella spp., Escherichia coli (E. coli), dentre outros organismos mesófilos (FILHO et al., 2002). O pescado pode ser veiculador de uma variedade de microrganismos patogênicos para o ser humano, sendo grande parte provavelmente da contaminação ambiental. O lançamento de esgotos nas águas de reservatórios, lagos, rios e no mar, contamina os pescados, oferecendo riscos a quem os consome. Outra fonte de contaminação importante é o manejo do pescado, desde a captura, ainda nos barcos pesqueiros, até sua destinação final, passando por fases de processamento e transporte (HUSS et al., 2000; SCHLUNDT, 2002; REIJ & DEN AANTREKKER, 2004; HAMADA-SATO et al., 2005; BASTI et al., 2006). Sabe-se também que a contaminação por manipulação e processamento inadequados ou mesmo utilização de equipamentos e utensílios contaminados são fatores importantes para a presença dessas bactérias no pescado (MURATORI, 2000; SANTOS et al., 2008). Sendo nessas circunstâncias mais frequentes Samonella spp., E. coli, V. parahaemolyticus, S. aureus (OGAWA & MAIA, 1999; VIEIRA, 2004).

3.4.1 Contaminação por Coliformes

Os coliformes totais e termotolerantes são grupos de bactérias indicadoras de contaminação utilizadas na avaliação da qualidade sanitária de alimentos. Pesquisa destes microrganismos, como indicadores, deve-se ao fato

de terem detecção e enumeração mais rápidas e com menor custo do que a pesquisa de patógenos (JAY, 1999).

Os coliformes são grupos de bactérias em forma de bastonetes, Gram negativas, anaeróbicas facultativas, não esporogênicas, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35ºC. Distribuídos amplamente na natureza, esses microrganismos são encontrados no solo, na água, nas plantas e no trato intestinal do homem e dos animais (SILVA et al., 2001), desempenhando nos dois últimos um papel importante na fisiologia intestinal (FRANCO & LANDGRANF, 2003). Os coliformes termotolerantes são um subgrupo de coliformes totais e incluem pelo menos três gêneros: *Escherichia, Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos possuem cepas de origem não fecal. Por isso a pesquisa de coliformes termotolerantes é menos eficiente que a pesquisa direta de *E. coli* (SILVA et al., 2001).

O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas (DELAZARI, 1998), sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem. Este índice fecais é empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias deficientes levando-se em conta que a população desse grupo é constituída de uma alta população de *E. coli* (PARDI et al., 1995), que pode indicar outros patógenos internos (SIQUEIRA, 1995).

Os coliformes apontam a possibilidade da presença de contaminação ocasionada por organismos que ocorrem em grande número na microbiota intestinal humana ou de animais homeotérmicos (PÁDUA, 2003).

Os coliformes não são habitantes normais da microbiota intestinal dos peixes, no entanto, têm sido isolados do trato gastrintestinal desses animais. Esse fato indica que a microbiota bacteriana do peixe pode revelar as condições microbiológicas da água onde o peixe se encontra (AL-HARBI, 2003; GUZMÁN et al., 2004).

3.4.1.1 Escherichia coli

Escherichia coli apresenta-se sob a forma de bastonetes retos, isolados ou aos pares. Microrganismo Gram-negativo, não esporogênico, anaeróbio facultativo. A temperatura ótima de crescimento é de 37ºC (VIEIRA, 2004). Considerada como um integrante da microbiota normal do intestino humano e dos animais, portanto, não patogênica, algumas cepas podem produzir infecções do trato urinário, enterites, intoxicações de origem alimentar e, ocasionalmente, septicemia e meningites. Na década de 40 foi comprovada a sua responsabilidade por graves epidemias de diarréia em clínicas infantis (FRAZIER & WHETOFF, 1985, VARNAN & EVANS, 1991; ELEY, 1992).

A *E. coli* patogênica é categorizada em 6 grupos: enteropatogênica (EPEC), enteroinvasora (EIEC), enterotóxica (ETEC), entero-hemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC) e difusamente aderente (DAEC). Os alimentos envolvidos em surtos causados por essa bactéria são: carne, aves, peixes, vegetais e água (MARTH, 1998).

As estirpes patogênicas da *E. coli* provocam doenças do trato digestório que podem variar, em gravidade, desde formas extremamente benignas até formas que podem ser letais, dependendo de fatores, tais como: o tipo de estirpes patogénicas, a susceptibilidade do paciente e o grau de exposição ao agente (RHODES & KATOR ,1988).

Não há indicação de que o pescado seja uma fonte importante de infecção por *E. coli*. A maior parte das infecções parece estar relacionada com a contaminação de água ou com o manuseio do produto alimentar em condições não higiênicas (HUSS, 1997).

3.4.2 Staphylococcus aureus

O Staphylococcus aureus pertence à família Micrococcaceae, sendo cocos Gram positivos, imóveis, oxidase negativo e catalase positivo, utilizando uma variedade de carboidratos para obtenção de energia. Seu crescimento ocorre sob condições de aerobiose e são também anaeróbios facultativos. O

gênero é mesófilo típico, com uma temperatura ótima de crescimento de 35°C, podendo crescer também entre 7 e 48 °C. São inativados em temperaturas superiores a 60°C por três minutos, e a estocagem sob temperaturas muito baixas por períodos prolongados pode reduzir o número de microrganismos viáveis. É capaz de crescer bem em concentrações de 7 a 10% de NaCl, existindo cepas que se desenvolvem em até 20%. Seu pH ótimo encontra-se entre 6 e 7, mas ele consegue se reproduzir na faixa de 4,0 a 9,8 (JAY, 1999).

Os estafilococos são organismos que se encontram por toda a parte e podem ser encontrados na água, ar, poeira, leite, esgotos, solo, superficies e todos os materiais que entram em contacto com o ser humano e sobrevivem muito bem no ambiente. Contudo, a principal origem e habitat é o nariz, a garganta a pele, nas membranas mucosas, o trato respiratório superior e intestinal e a pele do ser humano e dos animais (GERMANO & GERMANO, 2003). A bactéria *S. aureus* é um microrganismo muito conhecido por sua patogenicidade para o ser humano e outros animais, responsável por grande produção de enterotoxinas e, por tanto, agente causador de várias intoxicações (VIEIRA, 2004).

A proporção de portadores humanos pode atingir 60% dos individuos saudáveis, havendo uma média de 25 a 30% da população que é portadora de estirpes produtoras de enterotoxinas (AHMED, 1991).

Amplamente distribuído na natureza, os estafilococos podem estar presentes em seres humanos, principais reservatórios de *Staphylococcus* spp.. Embora o *S. aureus* não seja um microrganismo do ambiente marinho, ele pode ser encontrado no pescado e demais produtos marinhos pela contaminação cruzada entre utensílios e alimentos crus e cozidos, ou ainda pelo excesso de tempo nas temperaturas em que esses alimentos são submetidos (VIEIRA, 2004).

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

A manifestação clínica causada pelo *S. aureus* é considerada como uma intoxicação, e os sintomas habituais incluindo náuseas, vômito e diarréia, podem aparecer de trinta minutos a oito horas, após o consumo do alimento contaminado. Esses sintomas persistem em geral por 24 horas, mas em casos graves a desidratação pode levar ao choque hipovolêmico e ao óbito (FRANCO & LANDGRANF, 2003). A intoxicação em decorrência do *S. aureus* é provocada pela ingestão do alimento com a toxina pré-formada (SILVA JR, 2002). Quando a contagem de *S. aureus* no alimento é superior a 10⁴ células por grama, uma quantidade suficiente de enterotoxina pode ser produzida para causar intoxicação no consumidor (JAY, 1999).

Muitas são as descrições da presença de *Staphylococcus* em pescado e derivados,no entanto, não há qualquer indicação de sua associação com casos de intoxicação estafilocócica (SANTOS, 2010).

O Staphylococcus aureus é capaz de produzir uma variedade de toxinas, sendo as principais as do tipo A, B, C1, C3, D e E. Outras espécies como *S.hyicus* e *S. intermedius* podem produzir enterotoxinas, mas raramente o fazem. As toxinas do tipo A e D são as mais relacionadas às intoxicações, estas toxinas são termolábeis e apresentam estabilidade em pH extremos e radiação; logo, uma vez contaminado, fica difícil a remoção da toxina do alimento. Os sintomas principais da intoxicação ocorrem no período de 6 horas após a exposição, com o aparecimento de náuseas, vômitos, dor abdominal e diarréia, sendo a febre um achado ocasional. A desidratação, devido aos vômitos e diarréia, é a principal complicação, devendo o tratamento corresponder às medidas de suporte com hidratação oral ou venosa. Os sintomas desaparecem espontaneamente dentro de oito horas, e a antibioticoterapia não é recomendada (ACHESON, 2000).

De acordo com a Legislação brasileira, para o estafilococos coagulase positivo em pescado, em um plano de três classes o limite "m", que separa o lote aceitável daquele de qualidade intermediária, é de 5 x 10² UFC/mL, e o limite "M", que separa o lote de qualidade intermediária aceitável do inaceitável, é de 10³ UFC/mL (BRASIL, 2001). Pouco se sabe sobre a multiplicação de Estafilococos coagulase negativo em alimentos. Essas bactérias, por

produzirem baixíssima quantidade de enterotoxina, raramente foram implicadas em intoxicações alimentares, pois não se multiplicam rapidamente nesse meio. No entanto, estafilococos coagulase negativos podem contaminar o alimento, uma vez que, os seres humanos são portadores desses microrganismos e alguns destes podem estar relacionados a determinadas infecções humanas (PEREIRA & PEREIRA, 2005; CUNHA et al., 2006). Algumas das espécies coagulase negativos relatadas como produtoras de enterotoxinas são: *S. epidermidis, S. xylosus, S. hominis, S. haemolyticus* e *S. saprophyticus* (PEREIRA & PEREIRA, 2005; CUNHA et al., 2006; LANCELLOTTI, 2006). Estas espécies são associadas a uma série de outras infecções em seres humanos e animais. O *Staphylococcus* coagulase negativo pode produzir quantidades menores de enterotoxinas quando comparados com *S. aureus*, e devem ser considerados quando presentes em alimentos envolvidos em surtos de intoxicações alimentares (PEREIRA & PEREIRA, 2005; SANTANA et al., 2006).

3.4.3 Salmonella spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, composta por duas espécies: *Salmonella entérica*, com seis subespécies e *Salmonella bongori*, sendo no total, mais de 2324 sorotipos (YAN et al., 2003). As salmonelas são Gram negativas, anaeróbias facultativas e multiplicam-se em temperaturas entre 7 e 49 °C, sendo 37 °C o valor ideal para sua multiplicação e, como não formam esporos, podem ser destruídas a 60 °C por 15 a 20 minutos. A faixa de pH para sua multiplicação está entre 3,7 a 9,0, sendo o valor ótimo próximo de 7,0 (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A contaminação de alimentos de origem marinha por bactérias Gram negativas patogênicas ao ser humano é de grande interesse do ponto de vista da saúde pública. A salmonelose é uma das doenças zoonóticas mais prevalentes e apesar das constantes inspeções por parte de órgãos competentes, os surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) estão aumentando, particularmente nos países ocidentais (ALVES et al. 2001).

Vieira (2003) cita autores relatando que no Japão, onde é muito comum pratos a base de frutos do mar crus, 70% das DTA's que ocorrem nos meses de verão originam-se de produtos da pesca. Mohamed Hatha & Lakshmanaperumaisamy (1997) encontraram *Salmonella* em 14,25% das amostras de peixes e 17,39% nas de crustáceos em mercados de peixes em Coimbatore, Sul da Índia.

Segundo Popoff et al. (2001), existem 2.501 sorotipos de salmonelas dentre os quais 1.478 pertencem à subespécie entérica. As salmonelas são sorotipadas de acordo com seus antígenos somáticos (O), de envoltório (Vi) e flagelares (H). Os antígenos O são designados por algarismos arábicos (1,2,4 e etc.) e caracterizam os sorogrupos de Salmonella, enquanto os antígenos H são designados por letras minúsculas do nosso alfabeto (para fase 1) e por algarismos arábicos (fase 2). Como o número de antígenos flagelares é superior aos números de letras do alfabeto, a letra z é utilizada como expoente numérico (z4, z6, z13, z15, z23, z24, z28, z32, z35, z45, z47,z50 etc.) O antígeno de envoltório Vi é de natureza polissacáride, presente apenas em três sorotipos de *Salmonella* (S. Typhi, S. Paratyphi C e S. Dublin) (CAMPOS,1999). Enquanto a *E. coli* evoluiu como um organismo comensal de mamíferos e aves, *Salmonella* enterica tornou-se um patógeno intracelular facultativo, colonizando répteis, aves e mamíferos (BOYD e HARTL, 1997)

O principal habitat das salmonelas é o trato intestinal de aves, répteis e seres humanos (JAY, 1999). Geralmente, os alimentos são contaminados direta ou indiretamente pelas fezes dos animais no momento do abate, fezes de pessoas portadoras da bactéria e/ou pelo contato com águas poluídas. A ocorrência de salmonelose está relacionada com a ingestão de um grande número de células bacterianas em alimentos contaminados que não foram mantidos em temperatura adequada de conservação, permitindo a multiplicação desses microrganismos (CARVALHO, 2006). Salmonella tem sido frequentemente associada ao trato intestinal de animais homeotérmicos, mas também isolada em animais pecilotérmicos, no qual são capazes de sobreviver e multiplicar no intestino, muco e tecidos. Portanto, tornam os peixes um

potencial veículo de transmissão de doenças humanas (AMPOFO & CLERK, 2003).

Em relação aos parâmetros ambientais exigidos pela *Salmonella* salienta-se que, seu pH ótimo para multiplicação fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são bactericidas. Com relação à concentração de sal, as salmonelas não toleram concentrações superiores a 9%, o nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal encontra-se na faixa de 35-37 °C, sendo a mínima de 5°C e a máxima de 47°C (FRANCO & LANDGRAF, 1999).

Registros epidemiológicos em todo o mundo mostram a importância da *Salmonella* spp. como a maior causadora de doenças bacterianas de origem alimentar no ser humano, o qual se infecta mediante a ingestão de alimentos contaminados. Caracterizada como uma das zoonoses mais problemáticas para saúde publica, em decorrência do extraordinário número de fontes de infecção envolvidas, praticamente todos os vertebrados, alguns dos quais, fontes de proteínas animal para o ser humano (HOFER, 2000).

O período de incubação da salmonelose varia de 5 a 72 horas, com uma média de 12 a 36 horas, e os sintomas consistem em náuseas, vômitos, cólica, febre, cefaléia, diarréia (PINTO, 2000). Embora a maioria dos surtos envolvendo essa bactéria tenha como veículo mais freqüente aves e ovos, um grande número de alimentos incluindo carne bovina, peixe, sorvete e chocolate também têm sido implicados (DUFFY et al., 1999). De acordo com a Legislação Brasileira, o padrão de Salmonella spp. para pescados crus congelados é ausência em 25 g do produto (BRASIL, 2001).

3.4.4 Aeromonas spp.

Aeromonas são microrganismos classificados no domínio *Bacteria*, filo Proteobacteria, classe Gamaproteobacteria, ordem Aeromonadales, família Aeromonadaceae e gênero *Aeromonas* (PRESCOTT, 2002), sendo atualmente reconhecidas 35 espécies e subespécies (DSMZ, 2009). Os representantes do gênero *Aeromonas* (do grego aer-aire = ar ou gás e monas = unidade, portanto,

unidade produtora de gás), são bactérias Gram negativas de forma bacilar, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas, monotríquias, que utilizam a glicose como única fonte de energia. Ocorrem de forma autóctone em ambientes aquáticos (água doce, costeira, salobras, esgotos, etc.) e essas bactérias são ubíquas nos ambientes aquáticos incluindo lagos, rios, esgoto doméstico e água potável, podendo também ser encontradas em ambientes marinhos com baixa concentração de sal (KÜHN et al., 1997; SEN & RODGERS, 2004; GALINDO et al., 2006). (MAALEJ et al., 2003).

São anaeróbios facultativos, oxidase e catalase positivos, fermentam a glicose com produção de ácido com ou sem gás, reduzem nitrato a nitrito, por meio da desnitrificação, e são resistentes ao agente vibriostático 2,4- diamino-6,7-diisopropilpteridine (O/129) (POPOFF, 1984; COLWELL et al.,1986; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; JOSEPH & CARNAHAN, 2000). De modo geral, a temperatura ótima para o crescimento das *Aeromonas* spp. é em torno de 28°C (MACÊDO, 2001). Essas bactérias são ubíquas nos ambientes aquáticos incluindo lagos, rios, esgoto doméstico e água potável, podendo também ser encontradas em ambientes marinhos com baixa concentração de sal (KÜHN et al., 1997; SEN & RODGERS, 2004; GALINDO et al., 2006).

Um dos mais complexos problemas envolvendo as espécies de *Aeromonas* tem sido a sua confusa taxonomia, em constante modificação (JANDA, 1991). Somente na década de 1960 é que a definição do gênero *Aeromonas* foi estabelecida, e em 1974 houve consenso sobre a descrição de 3 espécies: *Aeromonas hydrophila, Aeromonas salmonicida* e *Aeromonas. punctata* (FARMER III, ARDUINO & HICKMAN-BRENNER, 2006). A recente edição do Manual Bergeys, lista três gêneros como pertencentes a família Aeromonadaceae: *Aeromonas, Oceanimonas* e *Tolumonas* (ABBOTT et al., 2003; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; JANDA & ABBOT, 2010).

Segundo Figueira et al. (2000), diversas abordagens foram aplicadas à caracterização das aeromonas, mas a identificação de algumas espécies ainda é problemática pois os testes bioquímicos nem sempre são reprodutíveis e existem discrepâncias entre os grupos fenotípicos (fenoespécies) e genéticos (genomoespécies).

Rodrigues & Ribeiro (2004) descreveram que, a partir de 1984, esse gênero foi separado fenotipicamente em quatro espécies: A. hydrophila, Aeromonas caviae, Aeromonas sobria e A. salmonicida. *Q*uando marcadores fenotípicos foram reconhecidos e houve clara separação dos grupos, novas espécies foram propostas, tais como: Aeromonas trota (Vogues Proskcauer-VP) negativa e Aeromonas jandaei (sacarose Investigações subsequentes resultaram no aumento do número de genomoespécies e atualmente o gênero contém 18 grupos de hibridização e 35 espécies e subespécies (ABBOTT, CHEUNG & JANDA, 2003; MARTIN-CARNAHAN & JOSEPH, 2005). Dentre as 17 espécies atualmente descritas no gênero Aeromonas, somente cinco (A. hydrophila, Aeromonas veronii, A. caviae, A. jandaei e Aeromonas schubertii) são reconhecidas como patógenos humanos, sendo associadas principalmente a gastrenterites em crianças e imunodeprimidos (JANDA & ABOTT, 1998). Outras espécies tais como A. salmonicida são bastante conhecidas como patógenos de peixes, causando mortalidade em massa em várias espécies. Este gênero apresenta espécies psicotróficas, imóveis, que crescem a uma temperatura máxima de 30ºC (Aeromonas media) ou inferiores (A. salmonicida) (DSMZ, 2009).

Essas bactérias são também resistentes ao agente vibriostático O/129 (2,4-diamino-6,7- diisopropilteridine), podendo ainda crescer e produzir enterotoxinas e hemolisinas à temperatura de refrigeração, aproximadamente 4ºC (MARTINS et al., 2002). Mesmo com as conhecidas limitações dos métodos fenotípicos, características bioquímicas podem ser de grande importância na identificação das espécies, em virtude da diversidade de substratos que podem ser aproveitados pelos membros desse gênero (CARNAHAN, 1993; JANDA & ABBOT, 2010).

A maioria dos laboratórios de microbiologia clínica, identificam *Aeromonas* spp. mesófilas, a partir de espécimes clínicos, com sistema Aerokey II (CAMA-HAN et al., 1991) ou uma modificação recente do mesmo sistema (FURUWATARI et al., 1994). Neste caso, seis espécies de *Aeromonas* são detectadas: *A. hydrophila, A. caviae, A. trota, A. schubertii jandaei* e *A. veronii*,

esta última com duas subespécies. O critério utilizado é baseada principalmente em testes bioquímicos (MERINO,1995).

Bactérias do gênero *Aeromonas* produzem uma vasta gama de fatores de virulência, tais como proteases, hemolisinas, citotoxinas, enterotoxinas, leucocidina, elastases e adesinas (CHOPRA & HOUSTON, 1999; JOSEPH & CARNAHAN, 2000; CASCÓN et al., 2000; GALINDO et al., 2006; VON GRAEVENITZ, 2007). A virulência é considerada multifatorial, e esta capacidade contribui para a patogênese da doença ocasionada por esse grupo bacteriano (TRABULSI & ALTERTHUM, 2005). A enterotoxina citotóxica, também conhecida como "aerolisinas" com atividade enterotóxica, citotóxica e hemolítica, tem sido descrita como o mais poderoso fator de virulência associado com doenças gastrintestinais mediadas por *Aeromonas* spp. (MARTINS et al., 2002).

A espécie *A. hydrophila* é potencial produtora de exoenzimas termorresistentes, como lipases e proteases, e esses produtos, mesmo tendo sua estrutura terciária danificada durante o processo de pasteurização, são capazes de reorganizar a estrutura tridimensional, tornando-se novamente ativos e passíveis de deteriorar os produtos posteriormente obtidos (CHEN, et al., 2003; BRAUN & SUTHERLAND, 2005).

As aeromonas são ainda, potencialmente significativas como agentes causadores de doenças de origem alimentar (KROVACEK et al., 1992). Várias espécies têm sido associadas aos casos de gastroenterites, septicemias e feridas em seres humanos (AUSTIN et al., 1996). Dentre elas, as *Aeromonas hydrophila e Aeromonas sobria* são as principais espécies consideradas patogênicas para o ser humano (MERINO et al., 1995), responsáveis por septicemias enquanto *Aeromonas caviae* é responsável por gastroenterites (MOYER, 1987), sendo também consideradas patógenos de peixes. Estas bactérias caracterizam-se por apresentar espécies heterogênicas, mesófilas e móveis, com temperatura de multiplicação na faixa entre 5 a 45°C, sendo a ótima de 28°C (POPOFF, 1984; CASTRO-ESCARPULLI, et al., 2003; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004).

São amplamente isoladas de amostras clínicas, ambientais e alimentícias, onde podem se desenvolver até mesmo em baixas temperaturas e produzir toxinas, o que aumenta significativamente o risco de intoxicação alimentar (CHOPRA & HOUSTON, 1999; GALINDO et al., 2006).

Entre as espécies de *Aeromonas* spp., atualmente *A. hydrophila, A. caviae* e *A. veronii* biovar sobria são as mais comumente associadas com infecções em seres humanos e somam mais de 85% dos isolados clínicos pertencentes a esse gênero (JANDA & ABBOTT, 1998; VILA et al., 2003; ALBENWAN et al., 2007; TSAI et al., 2009).

3.5 Importância dos campos alagados da Baixada Maranhense para atividade pesqueira

Os campos aluviais da Baixada Maranhense são drenados pelos baixos cursos dos rios Pindaré, Mearim, Grajaú a afluentes que deságuam na Baía de São Marcos. Estes lagos recebem água quando os rios sobem anualmente em virtude das cheias periódicas, armazenam durante o período de inundação e a devolvem em parte para os rios, quando seus níveis baixam (SEMATUR,1991). Sua importância ecológica advém da inundação de imensas áreas durante o ciclo das águas o que proporciona o desenvolvimento de um ecossistema típico e único no Estado cuja produtividade atinge altos níveis (NOGUEIRA, 2003). Além disso, apresenta duas estações bem definidas: seca e chuvosa, com intervalos aproximados de seis meses cada uma (IBANEZ et al., 2000). Um período de cheia, de janeiro a julho, quando os rios e lagos perenes transbordam inundando os campos e transformando-os em extensos lagos de pouca profundidade, e um período de seca, de julho a dezembro, quando os campos ficam secos e propiciam a atividade o aparecimento da vegetação, a qual é constituída principalmente por gramíneas e ciperáceas (COSTA-NETO et al., 2001/2002). O regime das chuvas dá à hidrografia e solos locais, uma dinâmica típica que submete grande parte dos agricultores familiares locais uma vida ligada à agricultura no período chuvoso e à pesca no período de estiagem (GUTMAN, 2005).

Segundo Araújo & Pinheiro (2008), entre as modalidades de pesca empregadas na região estão a pesca de tarrafa, camboa, rede parada ou de enganche, pesca de anzol, todas estas permitidas. E, as não permitidas são pesca de espinhel, choque, munzuá, landruá, rede de avesso, tapagem, espera e pesca de fojo. Não há fiscalização e controle sobre as modalidades de pesca.

Dentre as técnicas utilizadas para pesca de traíras encontra-se a tapagem, que acontece quando as águas estão baixando e começam a descobrir os pontos mais altos dos campos, até então submersos. Nesse momento os peixes começam a descer aos lagos e rios para que não morram no seco. Os pescadores barram a sua saída tapando os igarapés com cercas em todos os lugares possíveis, pelos quais, o peixe possa escapar, deixando apenas uma abertura na parte de cima, formando assim um verdadeiro "curral".

Os pescadores saem com suas canoas por volta das 4-5 horas da manhã e retornam entre 8-9 horas do mesmo turno, a venda é realizada nos portos e feiras, com o peixe ainda vivo, acondicionado em cestos de palha (cofos). O valor estimado do pescado (traíra) varia de acordo com a demanda, de 5 a 10 reais o quilo (ARAÚJO & PINHEIRO, 2008).

3.6 Ictioparasitologia

A ictioparasitologia é uma ciência que tem, entre seus objetivos, auxiliar o entendimento das interações entre os peixes e seus parasitos, uma vez que essa relação influencia e é influenciada de maneira direta e indireta pelos demais elementos constituintes da biosfera, segundo (Machado et al. 1996).

A fauna parasitária de peixes de água doce pode apresentar diferentes composições, dependendo da espécie de hospedeiro, do nível trófico deste hospedeiro na teia alimentar, da sua idade, do seu tamanho, do sexo, além de outros fatores bióticos e abióticos. Alguns parasitos podem causar patologias graves nos seus hospedeiros. De acordo com Eiras (1994) existem cerca de 10.000 espécies de parasitos de peixes, distribuídos em sete grupos zoológicos: Protozoa (1.750), Monogenea (1.500), Digenea (1.700), Cestoda (1.000), Nematoda (700), Acanthocephala (400), Crustácea (2.590).

Alguns merecem atenção especial, como os representantes da família Anisakidae, pois apresentam potencial zoonótico, podendo acarretar sérios problemas ao homem (CVE/SES-SP, 2001). Outros podem estar presentes causando pouco ou nenhum prejuízo (TAVARES-DIAS et al., 1999; TAKEMOTO et al., 1998). Sindermann (1990) considera também de importância para Saúde Pública, dentre eles, os cestódeos difilobotrídeos e os trematódeos heterofídeos.

Parasitos podem ser patogênicos para os peixes, pois costumam invadir órgãos como fígado, gônadas, mesentério e musculatura corporal, provocando extensa patologia, principalmente, quando um grande número de parasitas está presente (OKUMURA et al., 1999).

O processo de transmissão da maioria dos ictioparasitos realiza-se de forma indireta, evoluindo obrigatoriamente por um ou mais hospedeiros intermediários para completar o seu ciclo evolutivo (PÉREZ, 1999). É muito comum que algum molusco ou crustáceo esteja envolvido neste ciclo como primeiro hospedeiro intermediário e, o peixe, o segundo hospedeiro intermediário, podendo nesta fase ser consumido como alimento, por peixes maiores, aves e por mamíferos, incluindo o homem, considerados hospedeiros definitivos. Nestes, os parasitos tornam-se adultos e sexualmente maduros e as fêmeas fertilizadas reiniciam o ciclo com a eliminação dos ovos pelas fezes

Alguns exemplos de ictioparasitos com potencial zoonótico são: Anisakis Phocanema simplex, spp., Terranova spp., Contracaecum spp., Pseudoanisakis spp., Pseudoterranova decipiens, Eustrongylides sp., Capillaria, (OVERSTREET & MEYER, 1981; GRABDA, 1991; CROSS 1992; OKUMURA et al., 1999, CABRERA et al. 1999; MC CARTHY & MOORE, 2000; UBEIRA et al. 2000).

3.7 Saúde pública

No âmbito do comércio varejista, o pescado integra o grupo dos alimentos altamente perecíveis, e como tal, as ações da Vigilância Sanitária são de extrema importância para assegurar aos consumidores produtos com

boa qualidade higiênico-sanitária (SILVA, 1994). Um aspecto importante a ser considerado está na aparência da carne parasitada por helmintos. Segundo Thatcher (1981), o maior problema relacionado com a presença de larvas na musculatura dos peixes reside no fato da rejeição do pescado pelo consumidor, dificultando a comercialização do produto. As ações da inspeção e da vigilância sanitária são complementadas, normalmente através do apoio laboratorial, com vistas à realização de análises que certifiquem a qualidade do pescado. No pescado *in natura*, as análises microscópicas são recomendadas para a pesquisa de formas parasitárias e alterações histo-patológicas que comprometam a integridade do peixe como alimento (HRALY et al.,1984).

Os helmintos presentes no pescado extraídos de águas contaminadas, também, podem causar problemas de saúde pública. A irradiação no pescado é um método efetivo na eliminação da metacercária e outros parasitos (WHO, 1995). A aplicação de baixas doses de irradiação nos peixes crus, como os utilizados na prepração de "sashimi", permite destruir os parasitos e eliminar assim os riscos associados ao consumo destes alimentos (GERMANO, 2003). Estudos indicaram que para inativar *A. simplex* em sardinhas, as doses teriam que ser altas, sendo que os valores seriam entre seis a dez kGy (VAN MAMEREN; HOUWING, 1968).

Como zoonoses transmissíveis por pescado, pode-se citar: anisaquíase, eustrongilidíase, capilaríase, fagicolose, clonorquíase e a difilobotríase, dentre outras (OKUMURA et al., 1999).

A legislação da Comunidade Européia (Diretiva do Conselho 91/493, Decisão da Comissão de 19 de janeiro de 1993, Diretiva 93/143) não permite a comercialização de pescado ou parte dele que apresentem parasitos.

No Brasil, o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitário de Produtos de Origem Animal, no artigo 445 cita que, o pescado que apresentar infestação muscular maciça por parasitas que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor deve ser condenado (BRASIL, 1952).

Deste modo, uma das formas de se evitar as parasitoses de pescado é pela inativação das fases larvais infectantes. Howgate (1998) citou que a Diretiva FDA nº 493 de 1991 recomenda o congelamento do pescado por sete

dias a -20°C ou -35°C por 15 horas, enquanto Huss (2004) recomenda um período de 24 horas a -20°C e ressalta que a temperatura de 55°C por um minuto também é eficaz na inativação das formas infectantes. Isto significa que o pescado defumado a quente, pasteurizado e cozido a vácuo são seguros. Contudo, algumas tradições culinárias caseiras usuais podem não cumprir as regras de segurança em se tratando de tempo de refrigeração ou período de cozimento adequado.

Existe uma ampla variedade de parasitos que podem infectar o pescado, porém só um número relativamente reduzido pode causar enfermidade ao ser humano. Todos estes parasitos estão associados a fatores sócio-culturais e comportamentais que possibilitam a infecção, especialmente o hábito de comer pescado cru (QUIJADA et al., 2005), insuficientemente cozido, congelado, salgado ou defumado, contendo larvas infectantes vivas do nematóide (FABRESSE, 1984).

3.8 Parasitos de peixes de importância sanitária

Segundo Eiras (1994), os principais helmintos parasitos de peixes de água doce, são representados por monogênios, trematódeos digenéticos, cestódeos, acantocéfalos e nematódeos (MOREIRA, 2000). Os nematódeos são os mais encontrados nos peixes de água doce, segundo Pavanelli et al. (2002). A influência da qualidade ambiental, suscetibilidade natural do parasito e número ou capacidade de infecção devem ser considerados. Parasitas pode estar sempre presente em hospedeiros ou ambientes, mas se o equilíbrio entre parasita-hospedeiro e ambiente é quebrado, algumas doenças podem ocorrer, culminando com a morte (COUTANT, 1998).

A primeira descrição de infecção humana provocada por parasitas de peixes, em especial da família Anisakidae, ocorreu na Holanda em 1960 (THIEL et al., 1960) e em seguida foram relatados casos no Japão (YOKOGAWA; YOSHIMURA, 1965; YOKOGAWA; YOSHIMURA, 1967; SUGIMACHI, 1985; MATSUOKA, 1994, NOVAK, 1997), onde a população tem o hábito difundido e amplamente aceito de consumir carne de peixe cru, como

"sushi" e "sashimi", e onde a anisaquíase é considerada problema de Saúde Pública (YOKOGAWA; YOSHIMURA, 1967). No Brasil, já existem registros de parasitos de peixes com potencial zoonótico em vários hospedeiros, (PEREIRA JR. 1993; PÉREZ, 1999) e também de parasitos efetivamente causando zoonoses (CHIEFFI et al., 1990; CHIEFFI et al., 1992). Acredita-se que os registros sejam poucos por falta de diagnóstico e não ausência da doença na população (OKUMURA et al., 1999).

Nematóides da família Anisakidae, gêneros Contracaecum Phocanema, tem sido isolados recentemente a partir de peixe-espada, cavala, salmão e atum e causam no homem a denominada anisakiase (ADAMS et al., 1994; CHOR - AUGER et al., 1995), cujo quadro clínico caracteriza-se por granulomas eosinofílicos no aparelho gastrointestinal (CONNELL, 1988; MARQUES et al, 1995; NOVAK, 1997), podendo acarretar sérios problemas (CVE/SES-SP, 2001). Outro nematódeo de interesse para Saúde Pública refere-se aos Eustrongylides spp., no qual os primeiros relatos podem ser observados nos trabalhos de Travassos (1925), Travassos et al. (1927), Travassos et al. (1928), Travassos & Freitas (1942), Lordello & Monteiro (1959) e Travassos & Kohn (1965). Além da patologia provocada nas aves (SPALDING et al., 1993; BARROS, 2001) e nos peixes, as larvas de Eustrongylides podem provocar fibrose ao redor dos cistos contendo as larvas e aparentemente há baixo crescimento do hospedeiro (EIRAS; REGO, 1989). Relato de caso de eustrongilidíase, foi descrito por Wittner et al. (1989) em um paciente que se queixava de dor no quadrante baixo direito, e foi operado com suspeita de apendicite e verificou-se a presença de um parasita avermelhado de 4,2 cm de comprimento que surgiu movendo-se nos panos cirúrgicos. O tamanho e a morforlogia do parasita indicou ser uma larva de 4º estágio de Eustrongylides. Barros (2010), ao realizar um estudo com piranha vermelha, provenientes do rio Cuiabá, detectou a presença deste parasito em 14% dos peixes examinados, quanto a localização, 19% das larvas localizavam-se na musculatura esquelética, 8,7% na cavidade celomática e 8,7% na bexiga natatória, os dados ratificam a preocupação de transmissão para o homem no caso de consumo de carne crua ou mal cozida de piranha.

3.9 Nematóideos

3.9.1 Anisaquídeos

Dentro da Classe Nematoda, a família Anisakidae, composta por 24 gêneros, (UBEIRA et al., 2000), considerada a maior dentro da superfamília Ascaridoidea, inclui espécies que parasitam peixes, répteis, mamíferos e aves piscívoras (ANDERSON, 2000). Apresentam cutícula com ou sem cerdas ou estruturas acessórias ctenóides, esôfago com ventrículo posterior, apêndice ventricular e ceco intestinal presente ou ausente, respectivamente. Sistema excretor assimétrico, restrito ao cordão lateral esquerdo. Poro excretor situado próximo à base dos lábios subventrais ou ao nível do anel nervoso (MOSGOVOY, 1951; HARTWICH, 1974).

Todos os representantes dessa família são dependentes do ambiente aquático para o desenvolvimento de seu ciclo biológico e usualmente envolvem invertebrados e peixes como hospedeiros intermediários ou paratênicos (GIBSON, 1983; ANDERSON, 2000). As larvas dos gêneros Anisakis, Phocanema. Pseudoterranova, Belanisakis. Porrocaecum, Cleoascaris. Phocascaris e Contracaecum, podem ser responsáveis pela parasitose no homem, quando hábitos alimentares permitem a ingestão do pescado cru (sushi, sashimi, sunomono, ceviche, etc), mal cozido, defumado a frio, inadequadamente salgado ou resfriado (CHENG, 1982). Aliado ao pensamento acerca da qualidade das "comidas naturais", do não cozer demasiado os alimentos para preservação dos nutrientes do alimento (OKUMURA et al., 1999).

3.9.1.1 Ciclo de vida

O ciclo de vida, do parasita envolve dois tipos de hospedeiros intermediários (SMITH; WOOTTEN, 1978; GERMANO; GERMANO, 1998), ocorre inicialmente quando a larva adulta liberta os seus ovos, estes são

eliminados com as fezes do hospedeiro, na água, ocorrendo o desenvolvimento larvar. As larvas são ingeridas pelo primeiro hospedeiro intermediário, crustáceos como o camarão. Os segundos hospedeiros intermediários são peixes que se alimentam de crustáceos, adquirindo as larvas do terceiro estágio (L3, larva infectante) que migram para cavidades ou músculos.

Os peixes mais conhecidos por albergarem a larva (L3) são o bacalhau, arenque e o salmão (FABRESSE, 1984). Desta forma, o ser humano infecta-se ao comer peixe cru, mal cozido, salgado ou defumado infectado por L3, sendo quase sempre um hospedeiro acidental, uma vez que depende da habilidade das larvas se manterem vivas e capacidade de invadirem tecidos (KATES et al., 1973; OGAWA; MAIA, 1999; EIRAS, 1994). Após a ingestão, as larvas penetram na mucosa gástrica e intestinal, causando os sintomas da anisaquíase no homem (LÓPEZ et al., 2007; PRADO & CAPUANO, 2006). A infecção do homem pode fazer parte deste ciclo de vida ou constituir uma via paralela, causando ruptura no ciclo. Quando um mamífero marinho ingere algum peixe ou cefalópodo infectado, o ciclo biológico se completa com o desenvolvimento no tubo digestivo do hospedeiro e o homem atua como hospedeiro acidental quando ingere o pescado cru ou mal cozido infectado com esses parasitas (CDC, 2008).

3.9.1.2 Anisaguíase em humanos

A anisaquíase é uma zoonose que se caracteriza por uma infiltração eosinofílica que evolui para a formação de granulomas no trato digestivo do homem, pela migração das larvas (L3) de *Anisakis* spp., *Phocanema* spp., *Terranova* spp., *Contracaecum* spp. e *Pseudanisakis* spp. no interior da parede intestinal de pessoas previamente sensibilizadas a esses parasitas (LÓPEZ et al., 2007; PRADO & CAPUANO, 2006), sendo uma infecção que deve ser considerada em pacientes com dor abdominal e antecedente de ingestão de peixes e/ou mariscos crus que são seus hospedeiros intermediários. A doença no ser humano pode apresentar-se de duas formas distintas: a forma aguda, resultante do efeito local do parasita sobre a parede do tubo digestivo; e a

forma alérgica, devido à hipersensibilidade imediata (LÓPEZ et al., 2007), se ingeridos pelo homem ainda crus ou mal cozidos, podem originar um granuloma eosinofílico gastrointestinal, de interesse médico (MARQUES et al., 1995; NOVAK, 1997; CONNEL, 1998; PERÉZ, 1999).

A manifestação clínica pode ser variada com as larvas permanecendo nas cavidades estomacal e intestinal, podendo ser encontradas, na língua, faringe, pulmões, linfonodos e/ou pâncreas (ROSALES et al., 1999) ou assintomática. As localizações extra-intestinal são causadas por aquelas larvas que conseguem atravessar a parede gastrintestinal, causando lesões na cavidade abdominal, pâncreas, ovário, útero, linfonodos, fígado, pulmões ou tecido subcutâneo (CÉSPEDES et. al., 2000).

Estas infecções podem ser descobertas pela expulsão de larvas vivas com a tosse, vômitos ou defecação (TORRES et al. 2000). Apesar de não haver relato bibliográfico da infecção em humanos por *Contracaecum* spp., experimentalmente mamíferos têm sido infectados, resultando em efeitos danosos ao organismo, indicando a possibilidade da importância zoonótica também para este parasito pertencente à família Anisakidae (VIDAL-MARTINEZ et al. 1994; BARROS et al., 2004). Há relatos de anisaquíase em humanos na Holanda, Japão, América do Norte e França, Estados Unidos (LITTLE; MOST, 1973), no Chile (SAPUNAR et al., 1976; MERCADO et al, 2001), no Canadá (KOWALEWSKA-GROCHOWSKA et al., 1989) e no Brasil (ISHIKURA et al., 1993), sendo mais freqüente em países onde existe o hábito de ingerir peixe marinho cru ou mal cozido (OKUMURA et al., 1999).

A forma alérgica é provocada por antígenos do parasita, ocasionando quadros que podem variar de uma simples urticária a um angiodema, incluindo choque anafilático (LÓPEZ et al., 2007), devido o potencial alergênico de *A. simplex* os pesquisadores consideram esse agente como diagnóstico diferencial de urticária em humanos, com relato de ingestão de pescado (DAY, 1997; AUDICANA et al., 2002). É necessário que se faça o diagnóstico diferencial da anisaquíase com outras doenças como tuberculose intestinal, neoplasia intestinal, alergia alimentar, colite entre outros (MINETA et al., 2006). Casos severos de anisaquíase são extremamente dolorosos e requerem

intervenção cirúrgica. A remoção física do parasita é o único método conhecido para reduzir a dor e eliminar a causa (CVS/SES-SP, 2001).

3.9.1.3 Prevenção

As larvas de *Anisakis* spp. são difíceis de serem observadas macroscopicamente, devido sua coloração amarela clara ou rosásea e aderência ao músculo do peixe, normalmente necessitam de uma pessoa bem treinada para detectá-las na produção industrial de filé (GRABDA, 1991), desta forma a prevenção da anisaquíase pode ser feita pela abstinência do consumo de peixe cru ou mal cozido. Outros modos de prevenir estas zoonoses seria eliminar peixes infectados ou fazer a remoção dos parasitos, examinando-o sobre uma mesa iluminada (candling table) (OKUMURA et al., 1999) e análises microscópicas para pesquisa de formas parasitárias histopatológicas que comprometam a integridade do pescado (HEALY et al., 1984).

As BPF (Boas Práticas de Fabricação), atuam em diferentes níveis para garantir inocuidade do produto, ou seja, recebem matéria-prima somente de área aprovada, avaliando também o método de captura, tamanho e tipo do pescado, bem como verificando se é realizada a evisceração a bordo (BUTT et al., 2004; HOWGATE, 1998; BUTT et al., 2004).

Segundo Ogawa & Maia (1999), à temperatura acima de 60°C e sob congelamento e estocagem abaixo de -20°C ocorre à morte do nematódeo. Atualmente a Espanha, passou a obrigar os restaurantes a congelar todo o peixe destinado a ser servido cru (período mínimo de 24h à -20°C) no entanto alguns autores referem que se deveria prolongar a congelação para pelo menos uma semana, assegurando a morte das lavas (AESA, 2005), isto porque o parasita morre após alguns dias congelado a -20°C. No caso do parasito ser encontrado, pode-se utilizar a relação de tempo e temperatura ou irradiação, isto para inativar os mesmos (FDA, 1998).

Segundo Prado & Capuano (2006) marinar o peixe em vinagre e sal durante um mês e meio, fazer fumeiro a quente, ou treinar manipuladores para detectar o peixe infectado são outros métodos, embora nem sempre eficazes.

A *Food and Drug Administration* (FDA, 1998) recomenda como medidas preventivas para eliminar os parasitos a esterilização, cocção, pasteurização, congelamento, trituração.

3.9.1.4 *Anisakis* spp. no Brasil

Os nematóides da família Anisakidae foram registrados parasitando mais de 160 espécies de peixes marinhos, capturados em todos os continentes (LÓPEZ SABATER, 2000). No Brasil, existem relatos sobre a ocorrência de anisaquídeos em peixes de importância comercial, como cavalas (Scomber japonicus), pargos (Pagrus pagrus), anchovas (Pomatomus saltatrix), bacalhau (Gadus morhua), arenque (Clupea harengus), cangulos reais (Balistes vetula), cabrinha (*Prionotus punctatus*), peixes-espada (*Trichiurus lepturus*), merluza (Merluccius gayi), maria-luiza (Paralonchurus brasiliensis), xixarro (Trachurus murphyi), tainha (Mugil cephalus), sardinha (Sardinella brasiliensis), corvina (Micropogonias furnieri), jundiá (Rhamdia sebae), pargo (P. pagrus), dourado (Coryphaena hippuru), camarões e moluscos bivalves (TORRES et al., 1978; AMATO; AMATO, 1982; REGO; SANTOS, 1983; REGO et al., 1983; AMATO; BARROS, 1984; FABRESSE et al., 1984; WITTNER et al., 1989; BARROS, 1994; SÃO CLEMENTE et al., 1995; ADROHER et al., 1996; LUQUE, 1996; BARROS; CAVALCANTI, 1998; VALLES-RIOS et al., 2000; RIBEIRO et al., 2002; MARTINS et al., 2005; MADI; SILVA, 2005; BICUDO et al., 2005; ISHIDA et al., 2007; ITO et al., 2007).

Vicente e Pinto (1999) listaram a ocorrência das espécies de anisaquídeos e seus respectivos hospedeiros, bem como uma diagnose sucinta para superfamílias, famílias e gêneros. Luque e Poulin (2004) listaram 44 espécies de peixes marinhos do litoral do Rio de Janeiro parasitados por larvas de anisaquídeos e apontaram a necessidade do uso de outras ferramentas para o diagnóstico específico de *Anisakis*. No mesmo estado,

Bicudo et al. (2005) identificaram três espécies de Anisakidae, pertencentes aos gêneros *Anisakis, Hysterothylacium* e *Raphidascaris* provenientes do fígado e mesentério de cabrinha (*P. punctatus*). Knoff et al (2007), ao estudar *Genipterus brasiliensis* (congro-rosa) identificaram nove espécies de Anisakidae parasitando musculatura, mesentério, estômago, intestino e ovário, distribuídas nos gêneros *Anisakis* (três espécies), *Pseudoterranova* (duas espécies), *Hysterothylacium*, *Raphidascaris* e *Terranova*.

A ocorrência de larvas de *Contracaecum* spp. parasitando peixes marinhos no litoral do Estado do Rio de Janeiro foram registradas nos trabalhos de Barros (1994), Barros & Amato (1993), Rego & Santos (1983), Silva & São Clemente (2001). No Estado de São Paulo, esse anisakídeo foi registrado em tucunaré, corvina e traíra (MARTINS et al. 2003) e em espécimes de peixes piscívoros (MADI & SILVA, 2005). Em Minas Gerais, Carvalho et al. (2006), registraram o parasitismo em traíras capturadas em represa, com alta prevalência e abundância média. Martins et al. (2004), ao examinaram traíras provenientes do Estado do Maranhão observaram apenas larvas de *Contracaecum* spp., no território brasileiro. Estas larvas também tem sido registradas em várias espécies de peixes de água doce e marinhos, com maior número de notificações nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul.

3.8.2 Eustrongylides spp.

Os *Eustrongylides* spp. são parasitas nematóides da família Dioctophymatoidae, cujos adultos estão na mucosa do esôfago, pro - ventrículo ou intestino de aves, que podem alcançar 10 cm de comprimento, de coloração avermelhada. Os ovos libertados com larvas (L1) são ingeridos por anelídeos aquáticos, (*Lumbricus variegatus, Limnodrilus, Tubifex tubifex*) onde se desenvolvem em larvas (L3) infectantes. O peixe ingere o anelídeo e infecta-se, situa-se no mesentério, vísceras, musculatura ou gônadas (OKUMURA et al., 1999). O homem, hospedeiro acidental, infecta-se ao consumir peixes crus (PANESAR; BEAVER, 1979; EBERHARD et al., 1989; EIRAS, 1994). Sua ação

patogênica é discutida, mas às vezes causas de fibrose ao redor do cisto (EIRAS & REGO, 1989).

Nas aves jovens, a infecção apresenta alta mortalidade e nas adultas, a tendência é de apresentarem a forma crônica, podendo ser detectada em qualquer época do ano. Estes animais se infectam ao consumirem peixes infectados com larvas encapsuladas de quarto estágio (COLE, 1999). As larvas de *Eustrongylides* spp. encontradas em peixes são de coloração vermelho castanho, com comprimento variando de 4 a 7,8 cm (CHUNG et al., 1985), sendo comuns nos músculos do tucunaré da Amazônia (*Cichla ocellaris*) (THATCHER & NETO, 1994).

A presença de larvas *Eustrongylides* foi mencionadaa no *Cichla ocellaris* do Panamá (VASQUEZ & ROGERS, 1992), em *Thoracocharax sternicla* e *Aequidens pulcher* dos pequenos lagos Rio de Suripá, Venezuela (MORAVEC et al.. 1997), em acará (*Cichlasoma managuense*), Nicarágua (AGUIRRE-MACEDO et al. 2001) e no truta marrom (*Salmo trutta*) da Noruega (HAUGEN et al., 2008).

No Brasil, o parasitismo por larvas de *Eustrongylides* spp. foi relatado na musculatura esquelética, no mesentério e na serosa que reveste o fígado (BARROS et al., 2007), na musculatura e na cavidade geral (MULLER et al., 2004), e apenas na musculatura (EIRAS; REGO, 1989).

Em surubins (*Pseudoplatystoma coruscans* e *Pseudoplatystoma fasciatum*), foi relatado apenas no mesentério (SANTOS et al., 2003). Os primeiros relatos desse ictioparasito estão nos trabalhos de Travassos (1925), Travassos et al. (1927), Travassos et al. (1928), Travassos & Freitas (1942), onde foram identificadas larvas em cascarudo (*Callichthys Callichthys*), pintado (*Pimelodus Clarias*), mussum (*Symbranchus marmoratus*), dourado (*Salminus maxillosus*), surubim (*Pseudoplatystoma* sp.), cação (*Acesthrorhamphus* sp.), piaba (*Tetragonopterinae*sp.) e guarú (*Poecilia vivípara*), Lordello & Monteiro (1959) e Travassos & Kohn (1965). Mais tarde, Rego & Vicente (1988) identificaram a presença deste parasito em *H. malabaricus* de Pirassununga – SP e em espécies de peixes, popularmente conhecidos como arraias de antenas (*Paratrygon* sp.), piranha vermelha (*Pygocentrus nattereri*) e pintado

(P. corruscans), provenientes do Rio Cuiabá - MT (EIRAS & REGO, 1988).

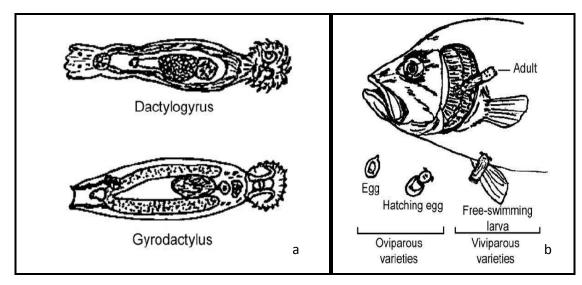
Dados sobre o parasitismo por larvas de *Eustrongylides* spp. foram registrados por Santos et al. (2004) nos rios Miranda, Aquidauana e Paraguai, estado de Mato Grosso do Sul, com registros de prevalência de 100% para este parasitismo nos peixes examinados.

Em função de não serem conhecidas todas as espécies de peixes que servem como hospedeiros intermediários para o *Eustrongylides*, as pessoas que costumam ingerir peixe cru ou cozido insuficiente, podem estar correndo risco de contrair eustrongilidíase. Eberhard et al. (1989) descreveram o caso de um paciente com intensa dor abdominal no quadrante baixo direito, com histórico de consumo de pequenas carpas não tratadas, do qual, foram removidos dois nematóides identificados como larvas de 4º estágio de *Eustrongylides*. O paciente adquiriu o parasita pela ingestão de "sushi" e "sashimi" um mês antes de apresentar a sintomatologia clínica. Não existe informação sobre a tolerância térmica do *Eustrongylides*, entretanto recomenda-se a abstinência de peixe cru ou insuficientemente cozido para a prevenção dessa zoonose. Uma das maneiras de prevenção é manter o pescado no frio ou eviscerá-lo assim que é embarcado, eliminando a ativação das larvas e a subseqüente migração para a musculatura do animal (OKUMURA et al., 1999).

3.10 Trematódeos monogenéticos

Os monogenéticos são parasitas do grupo dos platelmintos, caracterizando-se pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, o haptor. Essa estrutura é formada por um conjunto de ganchos, barras e âncoras, de número e tamanhos variáveis, responsáveis pela fixação (GERASEV, 1990; EIRAS; 1994). A utilização de monogenéticos como indicadores de alterações ambientais foi citada por Mackenzie et al. (1995), afirmaram que o baixo nível de oxigênio causam um aumento marcante nas populações parasitas.

Os monogenéticos de importância em pisciculturas pertencem a duas grandes famílias: Gyrodactylidae e Dactylogyridae (Figura 1 a, b).



Fonte: The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS, 2009).

Figure 1. (a) Diagrama de *Dactylogyrus* e *Gyrodactilus*, (b) Monogenéticos adultos fixados a tecidos de peixes e reprodução por ciclo de vida direto

Os girodactilídeos, em geral são vivíparos e na sua maioria, parasitas de brânquias e da superfície do corpo dos peixes, já os dactilogirídeos são ovíparos e podem apresentar manchas ocelares (olhos), em números de dois ou quatro. Estes parasitas quase sempre são encontrados nas brânquias, podendo se alojar também nas cavidades nasais e, mais raramente, em outras partes do corpo (KUBTIZA & KUBTIZA, 1999). Ainda, segundo Cribb et al. (2002), os monogenéticos são ectoparasitas de todos os grupos de peixes, mas a sua maior diversidade aparece em teleósteos. Os dactilogirídeos rivalizam com os girodactilídeos e os poliopistocotilídeos como parasitas de teleósteos, em termos de especiação (KEARN, 1994).

Gyrodactylus são geralmente encontrados no corpo e nadadeiras dos peixes. Cada indivíduo tem parasitas de ambos os sexo. Os parasitas adultos carregam embriões que se desenvolvem idênticos aos adultos. Esta estratégia reprodutiva permite populações de *Gyrodactylus* se multiplicar muito rapidamente, particularmente em um sistema fechado, na qual a troca da água. é mínima anexando-se as guelras de peixes. *Gyrodactylus* ao contrário dos *Dactylogyrus* que são camadas de ovos. Os ovos podem ser resistentes ao

tratamento químico. O tempo necessário para a maturação dos ovos de *Dactylogyrus* para adultos é dependente da temperatura. Em temperaturas de água 22-23 °C apenas alguns dias são necessários para conclusão do ciclo de vida, enquanto na água temperaturas de 1-2 °C o tempo de geração é estendido para cinco ou seis meses (IFAS, 2009). São responsáveis pela parasitose mais importante da piscicultura no Brasil (MARTINS, 1998). Considerados como ectoparasitas causadores de sérias afecções nas brânquias e na pele de peixes, podendo predispor os peixes a infecções bacterianas (PLUMB, 1997; PAVANELLI et al., 1998; ALEXANDRINO et al., 2000).

Os monogenéticos são hermafroditas e de ciclo direto, o que facilita as reinfestações parasitárias. Deste modo, os ovos abrigados no útero saem pelo poro genital, se fixam no hospedeiro por um filamento e neste a larva se desenvolve. Após um tempo a larva ciliada conhecida como oncomiracídeo eclode, nada livremente a procura de um novo hospedeiro no qual se fixa e gradualmente se desenvolve até a fase adulta (CHENG,1986), (Figura 1 b). São responsáveis por diversas reações fisiológicas no hospedeiro, como hiperplasia do tecido branquial, excessiva produção de muco e fusão dos filamentos branquiais, o que, dependendo do grau de severidade, pode levar o hospedeiro à morte por asfixia (PAVANELLI et al., 2002).

Cavichiolo et al. (2000), Tavares-Dias et al. (2000) e Vargas et al. (2000 e 2003), trabalhando com larvas e alevinos de tilápia, observaram que 80 a parasitados, 100% dos animais encontravam-se principalmente Dactylogyrus sp. e Gyrodactylus sp., Trichodina sp. e Icthyophthirius sp.. Alexandrino et al. (2000) detectaram, em 90 exemplares de tilápia, os monogenóides Dactylogyrus sp. e Gyrodactylus sp. em 72,22% e 5,55% dos raspados de brânquia e de tegumento, respectivamente. No Brasil já foram descritos 187 espécies pertencem à família Dactylogyridae (KOHN & COHEN, 1998). O método de identificação morfológico é baseado na análise das partes rígidas do aparato de fixação posterior, sendo que as características dos ganchos marginais são importantes estruturas na discriminação de muitas espécies intimamente relacionadas (HUYSE & VOLCKAERT; 2002).

3.11 Acantocéfala

Acantocéfalos são animais de simetria bilateral, de corpo geralmente achatado lateralmente, com musculatura sincicial, com tromba anterior guarnecida de espinhos. Aparelho digestivo ausente. Sexos separados. Parasitos heteróxenos (TRAVASSOS,1971). Existem, cerca de 1.150 espécies de Acanthocephala. As espécies da classe Archiacanthocephala são parasitas de animais terrestres, enquanto nas classes Eoacanthocephala e Palaeacanthocephala, os hospedeiros podem ser aquáticos ou terrestres (RUPPERT & BARNES,1994).

A presença de estádios imaturos de Acanthocephala em teleósteos bentônicos enfatiza a utilização destes animais como hospedeiros intermediários. Estes seriam teleósteos predados por outros elasmobrânquios, os hospedeiros definitivos (LUQUE et al., 1996).

No ciclo de vida as larvas não se desenvolvem até que os ovos sejam ingeridos pelos hospedeiros intermediários adequados. O hospedeiro intermediário é geralmente um microcustáceos (copépodos, anfípodes e isópodes), no intestino do crustáceo, as escotilhas de ovo e "larva acanthor" penetra na parede do intestino por meio de seus anzóis. Na hemocele do hospedeiro intermediário, o "acanthor" passa por uma transformação, perde os ganchos da larva e cresce um adulto com uma tromba. Esta segunda fase larval é chamada de "acanthella". Se o hospedeiro intermediário contendo a "acanthella" é ingerida pelo hospedeiro definitivo direto, desenvolvimento para a proxima fase adulta no intestino do último. Se a "acanthella" é ingerida por um hospedeiro inadequado, ela penetra à parede intestinal e encista, aguarda passagem para os hospedeiros definitivos. Os hospedeiros de transporte não realizam o desenvolvimento da "acanthella". Os peixes podem servir tanto como hospedeiros definitivos ou hospedeiros de transporte, por isso é comum encontrar a "acanthella" encistadas no mesentério, fígado e outros órgãos de peixes pequenos. Os peixes podem adquirir acantocéfalos adultos quer por ingestão de crustáceos (hospedeiros intermediários) ou pequenos peixes, que servem como hospedeiros de transporte (THATCHER, 2006).

Os Acanthocephala são considerados patogênicos por serem dotados de probóscide provida de ganchos, que perfuram a parede intestinal, causando lesões (THATCHER, 1981; ALEXANDRINO, 1999). Tanto o hospedeiro definitivo como o intermediário podem ser terrestres, dulciaqüícolas ou marinhos. Não se conhecem casos de infecção humana por parte destes animais (STERRER, 1986).

Garcia et al. (1983) assinalaram, pela primeira vez, a ocorrência de diversas espécies do parasita em peixes da costa do estado do Paraná. Dentre os peixes parasitados, foram encontrados uma média de 27 acantocéfalos por indivíduo, como: tainha (*Mugil lisa*), corvina (*M. furnieri*), garoupa (*Epinephelus guaza*), baiacu (*Sphaeroides testudineus*) e marimbá (*Diplodus argenteus*).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

4.1.1 Região da Baixada Maranhense

A Microrregião da Baixada Maranhense é composta por 21 municípios e tem grande importância social e ecológica no Estado (Figura 2). Situa-se na porção centro - norte da área de transição entre a Amazônia e o Nordeste Brasileiro e grande parte do seu território está incluso na Amazônia Legal (SILVA & MOURA, 2004).

Possui o maior conjunto de bacias lacustres do Nordeste, onde predominam terras planas, baixas e inundáveis, e vegetação de manguezais, campos aluviais e flúvio-marinhos (COSTA-NETO et al., 2001/2002; GASPAR et al., 2005). Sua população é constituída de 37.449 mil habitantes, segundo dados do IBGE (2010).

O clima da região, segundo a classificação de Koppen, é do tipo equatorial com transição para o tropical úmido. O regime pluviométrico é caracterizado por máximos no verão e outono (janeiro a julho) e mínimos no inverno e primavera (agosto a dezembro). A precipitação caracteriza-se por um aumento gradual a partir de dezembro, alcançando seu máximo nos meses de

fevereiro a abril e mínimos em setembro, outubro e novembro. As temperaturas médias anuais são superiores a 27°C. As mais elevadas ocorrem nos meses de setembro a novembro e as mais baixas, entre maio a julho (DCA, 2003).

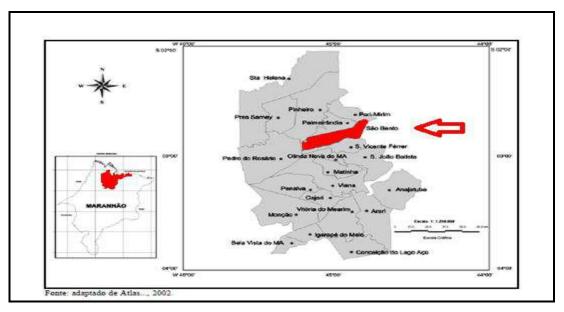


Figura 2. Localização da Baixada Maranhense e município de São Bento-MA

4.1.2 Município de São Bento

O município de São Bento (20 40'00"S e 44043"W) está localizado na mesorregião Norte maranhense e na microrregião baixada maranhense (estado do Maranhão - Brasil), apresentando uma área de 585,3 Km². Está inserido na Área de Preservação Ambiental (APA) da baixada maranhense (COSTA-NETO et al., 2002). O clima da região segundo a classificação de Thorntwaite (1948) é úmido. Apresenta temperatura média anual superior a 27° C, umidade relativa do ar anual superior a 82% e precipitação pluviométrica anual com totais entre 1600 e 2000 m (ATLAS DO MARANHÃO, 2002).

4.2 Colheita, acondicionamento e transporte das amostras

A pesquisa foi realizada de julho de 2010 a fevereiro de 2011 no município de São Bento (2º 40' 00" S e 44º 43' 12" W), no período no período

de estiagem (julho a janeiro). As traíra (*H. malabaricus*) foram colhidas no município de São Bento - MA, em locais de captura e feiras livres fornecedoras do produto, diretamente do pescador. As amostras de traíras, foram separadas em sacos de polietileno estéreis e as de água em frasco estéries, identificadas e acondicionadas em caixas isotérmica, transportadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA e Laboratório de Doenças Parasitárias da Fazenda Escola de São Bento-MA, para análises microbiológicas e parasitológicas, respectivamente.

4.3 Unidade Amostral

Foram obtidas 120 peixes traíra (*H. malabaricus*), sendo cada unidade amostral constituída de três unidades (peso médio de 250g por unidade amostral). Coletou-se 12 amostras de água dos campos alagados, sendo seis amostras no inicio e seis no final do período seco, provenientes das regiões de pesca do município de São Bento.

A unidade amostral para avaliação parasitológica era constituída de um peixe na forma inteira, totalizando 70 exemplares.

4.4 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água — UEMA, segundo a metodologia recomendada pela APHA- American Public Health Association (2001) e descritos no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (APHA 1992, VANDERZANT & SPLITTSTOESSER 1992; SILVA et al. 2001).

4.4.1 Preparo das Diluições

Foram pesados assepticamente 25 gramas (g) de peixe e adicionado em frascos contendo 225 mL de solução de água peptonada a 0,1%, constituindo a primeira diluição 10⁻¹. As diluições seguintes foram feitas pipetando-se 1mL da

primeira diluição para tubos contendo 9 mL do mesmo diluente, obtendo-se a diluição 10⁻² e assim sucessivamente até a diluição 10⁻⁶.

4.4.2 Determinação do Número Mais Provável de Coliformes Totais e a 45°C (Termotolerantes) em amostras de peixe e água

Para a avaliação dos coliformes totais e a 45ºC foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP) também conhecido como método dos tubos múltiplos. Na primeira etapa, foi retirado assepticamente 25 mL de amostra de peixe homogeneizada a partir das diluições anteriormente preparada e transferida a três tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato de Triptose (LST) com tubos de Durhan invertidos, os quais foram posteriormente incubados a temperatura de 35 a 37ºC por 24 horas(h). Das amostras que apresentaram formação de gás no Caldo LST, foram retirados alíquotas semeadas em tubos contendo 5 mL de Caldo Verde Brilhante 2% (VB) contendo tubos de Durhan invertidos para o crescimento de coliformes totais. Os cultivos positivos para VB foram transferidos para tubos contendo caldo Escherichia coli (E.C.), meio confirmatório para coliformes termotolerantes e incubados em banho-maria de 44,5 a 45°C, durante 24 h. A positividade do teste foi observada pela produção de gás no interior dos tubos de Durhan. Os resultados foram interpretados utilizando-se a tabela do Número Mais Provável (NMP). Os cultivos positivos no meio E.C. foram semeados em placas de Petri contendo meio de cultura ágar eosina azul de metileno (EMB) e, posteriormente incubadas a 35 e 37ºC por 24 horas. A caracterização dos coliformes termotolerantes e E. coli foi evidenciada pelo crescimento de colônias com centros enegrecidos e brilho verde metálico e testes bioquímicos (produção de Indol, teste de Voges-Proskaer, Teste Vermelho de metila e teste de Citrato), segundo o método APHA(2001), descrito por Silva et al. (2007). A análise bacteriológica de água, diferiu pela utilização de três series de cinco tubos, sendo a primeira série com tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose em concentração dupla, onde foram trasferidas 10 mL da amostra, e desses 1

mL e 0,1 adicionados em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose em concentração simples, respectivamente.

4.4.3 Identificação de Escherichia coli

A partir de cada cultivo positivo no caldo E.C. realizou-se o plaqueamento em ágar EMB (Eosina Azul de Metileno) com auxilio de alça de níquel cromo e incubodos a 35°C por 18 a 24 h. Transcorrido este tempo, foi verificado o crescimento de colônias com características de *E. coli*, ou seja, 2 a 3 cm de diâmetro, com brilho metálico esverdeado ou com centro escuro. De cada placa, correspondente a cada tubo, foi repicado de 2 a 3 colônias características para tubo com Agar Triptona de Soja (TSA) inclinado e incubado por 18-24 h a 35-37°C. A partir dos cultivos estocados em TSB foi realizado as provas bioquímicas, descritas a seguir:

4.4.3.1 Produção de indol

A partir das culturas em TSA inclinado, inoculou-se em tubos contendo o meio SIM (meio Sulfeto Indol Motilidade) e incuba-se a 35°C por 24 horas. Para o teste do indol, foi acrescentado de 0,2 a 0,3mL de reagente Kovacs. O aparecimento de um anel vermelho indicou a positividade do teste.

4.4.3.2 Teste de Voges-Proskauer

A partir das culturas em TSA inclinado, colônias foram repicadas para tubos de ensaio com MR-VP e incubadas a 35°C por 48horas. Após, esse período foi transferido 1mL do crescimento para um tubo de ensaio, acrescentando 0,6mL de uma solução de α-naftol e 0,2mL de uma solução de KOH a 40%. A amostra foi agitada vigorosamente após a adição de cada reagente e mateve-se em repouso por até 2 h. A positividade foi verificada com o surgimento de uma coloração vermelha ou rósea.

4.4.3.3 Teste de Vermelho de Metila

Os tubos de ensaio contendo MR-VP foram reincubados por mais 48 h, onde foi realizado o teste, após 96 h de incubação. Em seguida foi adicionando 4 gotas de Vermelho de Metila, cujo aparecimento da cor vermelha indica positividade.

4.4.3.4 Teste de Citrato

A partir das culturas em TSA inclinado estriou-se a superfície inclinada dos tubos contendo Ágar Citrato de Simmons e foram incubadas a incubação a 35°C por 96 horas. O desenvolvimento de uma cor azul indica a positividade do teste.

4.4.3.5 Interpretação dos resultados

Considerou-se a cultura positiva para *E. coli*, quando forem obtidos os seguintes resultados para o IMViC (Tabela 1).

Tabela 1. IMViC, caracterização bioquímica de *E.coli*.

Indol	VM*	VP*	Citrato	Tipo	
+	+	-	-	E. coli típica	
-	+	-	-	E. coli atípica	

^{*} VM – vermelho de metila, VP - Voges-Proskauer

4.4.4 Contagem Padrão em placas de Bactérias Aeróbias Mesófilas

Retirou-se assepticamente 25g da amostra e feitas as diluições sucessivas até 10⁶ UFC/mL, no qual foi retirado alíquotas de 1mL de cada diluição e transferidos para placas de Petri esterilizadas, adicionando-se a cada placa 15 - 20mL de Agar Padrão para contagem, previamente fundido e

resfriado a temperatura de 45°C. As placas foram homogeneizadas em movimentos rotativos e suaves (cerca de dez vezes) e colocadas em temperatura ambiente (27± 2°C), até a completa solidificação do Agar. Após a solidificação, as placas foram incubadas em posição invertida a 35-37°C/48 h. Considerou-se para contagem, somente as placas da mesma diluição que apresentaram de 30 a 300 colônias; o resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC /mL).

4.4.5 Contagem de Staphylococcus coagulase positivo

Pesou-se 25g da unidade amostral adicionando-se em um frasco estéril, contendo 225mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se assim uma diluição 10^{-1} . A partir de 1mL dessa diluição realizou-se diluições decimais sucessivas em tubos, contendo 9mL de água peptonada 0,1% estéril, originando assim as diluições 10^{-2} e 10^{-3} . Posteriormente, foram inoculados 0,1 mL de cada diluição sobre a superfície de placas com Ágar Baird-Parker, incubadas e invertidas a 35-37°C por 45-48 h. Logo após, as colônias típicas foram contadas e confirmadas através dos testes de coagulase. Os resultados foram expressos em UFC/g.

4.4.6 Pesquisa de Salmonella spp.

Foi pesada 25g da unidade amostral homogeneizada em 225mL de água peptonada e incubada a 37±1°C/18±2h. E, transferida 0,1mL da amostra para 10mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) e 1mL para 10mL de Caldo Selenito Cistina. A incubação ocorrereu a 37º/24 horas. De cada cultura estriou-se uma alçada em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), uma alçada em Ágar Entérico de Hectoen (HE) e VB. As placas de XLD, HE e VB foram incubadas invertidas a 37±1°C/24±3h. Após, a incubação foi verificodo o desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* spp. estas foram repicadas através da inoculação em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA) para comprovação bioquímica. A confirmação era realizada através de provas sorológicas, utilizando-se antígeno polivalente anti *Salmonella* sp..

4.4.7 Isolamento de Aeromonas spp.

Foi pesada 25 g da amostra em 225mL do Caldo Tripticase Soja (TSB) adicionado de ampicilina (30 mg/L), incubada a 28°C/24h, em seguido foi semeado alíquotas dessas culturas em placas contendo Ágar Vermelho de Fenol-amido-ampicilina (PALUMBO et al. 1985; MAJEED et al. 1990) e Ágar Dextrina-ampicilina, segundo Havelaar e Vonk (1988), adicionados de ampicilina (10mg/L) e incubadas a 28°C por 24 h. Para isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero, foram tomadas até cinco colônias típicas, para cada um dos meios utilizados. Estas colônias foram semeadas em Ágar Tripticase Soja (TSA) inclinado e incubadas a 28°C/24 h. Após a incubação foi realizada a coloração pelo método de Gram e leitura das culturas na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gramnegativas foram repicadas em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (SAAD et al. 1995). Após incubação a 28°C por 24 h, as culturas positivas foram submetidas às provas de oxidase, realizadas segundo o protocolo do fabricante do Kit e teste da catalase considerando-se como Aeromonas spp, os cultivos positivos nestas provas. As cepas caracterizadas como pertencentes ao gênero Aeromonas foram semeadas em TSA, a fim de manter as colônias viáveis, para posterior análise pelos métodos bioquímicos.

4.4.7.1 Identificação das espécies de *Aeromonas* pelos métodos bioquímicos

Foram submetidas à caracterização das espécies, utilizando-se a chave de classificação Aerokey II composta de sete provas bioquímicas (Anexo 1), dentre as quais utilizou-se três: hidrólise da esculina, as cepas foram inoculadas por picadas em profundidade e em estrias com o auxilio de uma agulha de níquel-cromo, em tubos contendo o Agar Bile-Esculina (CARNAHAN et al., 1991). O período de incubação foi de 24-48 h a 28°C. O teste positivo foi caracterizado pelo escurecimento do meio que passava a apresentar uma cor marrom escura ou preta; prova da produção de gás a partir da glicose (TSI), onde as culturas foram inoculadas em tubos contendo caldo vermelho de fenol base, adicionado de glicose e tubos de Durham invertido. Após incubação a temperatura de 28°C por 24-48 h foi realizada a leitura, considerando-se como

positivo o teste em que havia a produção de gás, no interior do tubo de Durham; prova de fermentação da arabinose que consiste em inocular os isolados em tubos contendo caldo vermelho de fenol base, adicionado do carboidrato a ser testado. A incubação foi realizada à temperatura de 28ºC por 24-48 h e considerada positiva as provas em que ocorria acidificação do meio, revelada pela mudança de cor do indicador de pH de vermelho para amarelo.

4.5 Análise físico-química da água

Foram coletadas amostras de água para avaliação físico-quimica em três pontos referentes ao local de pesca provenientes das regiões alagadas do município de São Bento- MA. Em cada ponto foi realizada quatro coletas, totalizando 12 amostras de água. As amostras foram coletadas o mais próximo aos locais de pesca, acondicionadas em frascos estéreis com capacidade de 1L, conservadas em recipiente térmico contendo gelo, encaminhados ao laboratório de Solos da Universidade Estadual do Maranhão.

4.5.1 Determinação dos parâmetros físico- químicos

Determinou-se a turbidez com auxílio de um turbidímetro (MICROPROCESSOR Meter –HANNA instruments); a determinação do pH foi realizada com phgâmetro digital (Digimed-DM - 21); e a condutividade com condutivímetro (Digimed DM - 32). As análises para determinação de cálcio, magnésio, dureza total, alcalinidade em HCO₃-, alcalinidade total, cloretos (Cl⁻), foram realizadas segundo Manual de Método de Análises do Solo da EMBRAPA (BRASIL, 1979).

4.6 Pesquisa de parasitos em Hoplias malabaricus

Foram utilizados para pesquisa de nematódeos em 70 amostras de peixe *H. malabaricus* (traíra), independente do sexo, provenientes da baixada maranhense, do município de São Bento - MA, no período de outubro de 2010 a janeiro de 2011 (Figura 3).



Figura 3. Hoplias malabaricus (Traíra), proveniente do município de São Bento-MA

4.6.1 Morfometria e avaliação parasitológica

Os animais foram identificados, pesados em balança analítica, mensurados quanto ao seu comprimento total e comprimento padrão, em seguida necropsiados (Figura 4 a, b).

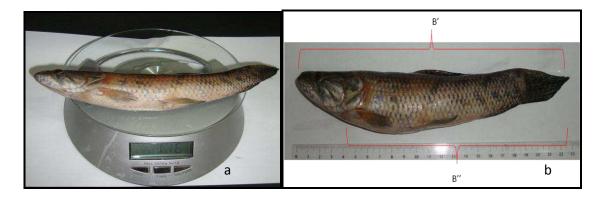


Figura 4. *Hoplias malabaricus* (traíra), provenientes de São Bento- MA: (a) Pesagem; (b) Morfometria (b') comprimento total, (b") comprimento parcial.

4.6.2 Necrópsia em Hoplias malabaricus

Foi realizado a inspeção macroscópica do tegumento com auxílio de lupa manual, em seguida realizou-se a remoção do opérculo para análise das brânquias, arcos branquiais, colocados em placas de Petri, contendo soro fisiológico para observação em esteriomicroscópio.

Realizou-se a abertura da cavidade visceral e exposição dos órgãos através da incisão ao longo da linha média ventral, começando pela região do ânus e prolongando-se ate a região anterior, rebatendo-se as paredes laterais da cavidade com exposição dos órgãos internos para exame *in situ*. Foi retirado os órgãos (tubo digestório, vesícula biliar, bexiga e coração e musculatura) e separados em placas de Petri contendo água destilada, os mesmos foram examinados ao esteriomicroscópio.

O digestório foi aberto em corte longitudinal para exame do conteúdo, com auxílio do esteriomicroscópio (40x), (PAVANELLI & EIRAS, 2002), (Figura 5).

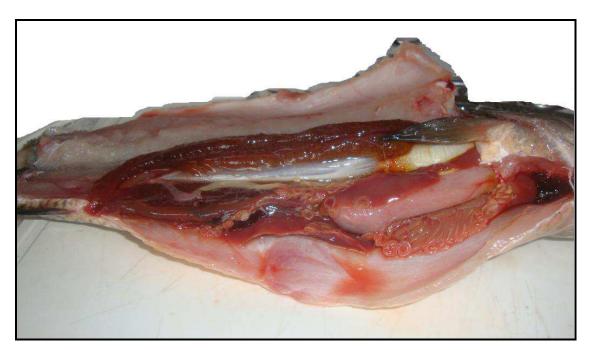


Figura 5. Necropsia realizada em *Hoplias malabaricus* (traíra), proveniente do município de São Bento- MA.

4.6.3 Pesquisas de endoparasitos

Os parasitos, foram coletados por órgãos com pinças retas com base fina, pinças anatômicas, colocados em placas de Petri, lavados em água destilada, quantificados, separados e comprimidos entre lâminas e lamínulas, transferidos para frascos de vidro com capacidade de 300mL, contendo solução conservante de AFA (Ácool, Formol e Ácido acético) (Figura 6), (Anexo 2).

Os parasitos foram clarificados em lactofenol de Amann através da técnica de montagem rápida (AMATO, 1991), observados entre lâminas e lamínulas para identificação em microscópio óptico eletrônico (ZEISS) (100x, 400x) acoplado a ocular micrométrica (25x) e registro microfotográfico (200x), (Figura 8) (HOFFMANN,1987), após identificação a conservação dos nematódeos foi feita em álcool 70ºGL com 5-10% de glicerina, realizados no Laboratório de Parasitologia do Curso de Medicina Veterinária-UEMA.

Os parasitos, monogenéticos e nematódeos, encontrados foram procesados e identificados conforme a técnica de Amato et al. (1991) e Travassos (1940), respectivamente.

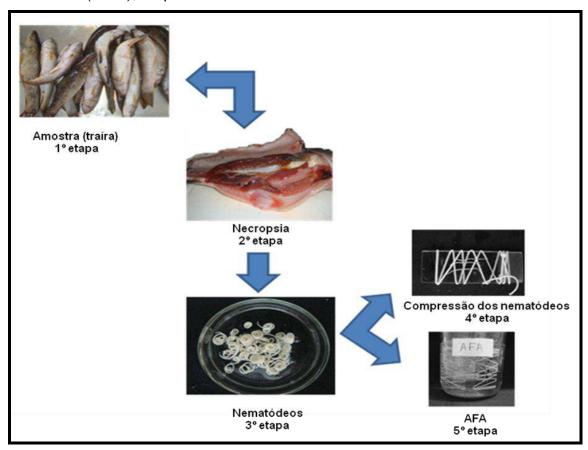


Figura 6. Processo de clarificação em AFA de nematódeos coletados de *Hoplias malabaricus* (traíra), provenientes do município de São Bento-MA.

A identificação dos parasitos foi realizada após observação de estruturas características com auxílio de microscópio óptico, segundo ABLA 1 – Thatcher: Parasitos de Peces Amazónicos, (2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação microbiológica de traíras (Hoplias malabaricus)

Os resultados dos números mais prováveis (NMP) de coliformes totais e a 45º, pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de bactérias aeróbias mesófilas e contagem de *Staphylococcus* spp. em 40 amostras de peixes (traíra) analisadas estão dispostos na tabela 2.

Das amostras analisadas os valores de Coliformes totais e a 45º encontrados no filé do peixe variaram de < 3 a > 1,1 x 10³ NMP/g, respectivamente. Quanto a contaminação por *E. coli*, do total de 40 amostras 14 (36,9%) estavam contaminadas por este patógeno (Tabela 2).

Tabela 2. Número Mais Provável (NMP/g) de Coliforme totais, a 45ºC e contaminação por *Escherichia coli*, em amostras de traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.

	Coliformes totais		Coliformes a 45º		Escherichia. coli			
	.o.uio				Presença		Ausência	
*NMP/g	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
< 3	0	0	5	12,5	0	0	5	12,5
3,6 a 9,3 x 10 ¹	13	32,5	15	37,5	5	12,5	10	25,0
1,5 a 4, 6x 10 ²	9	22,5	10	25,0	3	7,5	7	17,5
10 x 10 ²	1	2,5	0	0	0	0	0	0
>1,1x10 ³	17	42,5	10	25,0	6	15,0	4	10,0
TOTAL	40	100	40	100	14	36,9	26	63,1

^{*}Valores médios dos resultados obtidos nas análises microbiológicas.

O isolamento de patógenos e/ou organismos indicadores contribui para avaliar a qualidade e inocuidade do alimento, permitindo o controle sanitário. A RDC Nº 012, de janeiro de 2001- ANVISA, não contempla limites para coliformes a 45º em pescado *in natura*, não consumidos crus, determina

apenas para pescados consumidos crus, valores 10² NMP/g e ausência de *Salmonella* spp. em 25 g do produto (BRASIL, 2001) como insatisfatórias.

A presença de coliformes totatis, como foi observada, nas analises dos peixes não significa necessariamente a presença de patógenos, mas serve como indicativo da qualidade higiênica e informa o grau de contaminação a qual está exposto a este alimento.

A alta contagem destes microrganismos reflete as condições de higiene precárias do produto, sendo também responsáveis pela deterioração dos alimentos. Estes resultados podem ser atribuídos a extração de pesca em áreas poluídas, uma vez que em períodos de seca nas regiões alagadas, a mesma região de captura dos peixes é utilizada para criação de outras espécies animais como suínos, búbalinos, caprinos e bovinos aliados a ausência de rede de tratamento de esgoto na região.

Além dos cuidados durante a captura, Alves (1999) e Sales (1997), consideram que as elevadas contagens podem indicar contaminação pósprocessamento, limpeza e sanitização deficientes; tratamento térmico ineficiente ou multiplicação durante o armazenamento ou estocagem, fatos observados durante a coleta, considerando a forma como o produto era comercializado no mercado, em côfos abertos; utensílios impróprios para o uso como balança artesanais, faca enferrujadas com cabo de madeira e sacolas de polietileno coloridas e pouco resistentes; sem conservação do produto em gelo; aliada a manipulação inadequada do alimento, que era realizada simultaneamente com a troca do dinheiro ou uso de cigarro, favorecendo a exposição da mercadoria a um risco de contaminação cruzada e interferindo na qualidade final do produto.

Resultados semelhantes ao estudo foram observados por Lorezon et al (2010), ao avaliar peixes de cultivo, na qual verificou como número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, variação de 2,0 x 10 a 1,1 x 10^4 a < 3 a 5,1 x 10^3 NMP/g, respectivamente.

Pacheco et al; (2004), pesquisando coliformes em pescado, verificaram que, 15% das amostras apresentaram valores abaixo dos padrões sanitários exigidos para o consumo.

Vieira et al; (2000); Vieira & Ceballos, (2000) pesquisando peixes recém capturados e submetidos à avaliação de sobrevivência de microrganismos durante o processamento encontraram um valor mínimo de <3 NMP/g para enterobacteriaceas. Em Florianópolis, SC, em estudo realizado com a pescadinha (*Cystoscion striatus*) inteira foram observadas contagens que variaram de <3 até 2,4 x 10⁵NMP/g, para pescado inteiro fresco. Esses resultados foram superiores aos observados no presente estudo (DAMS et al.,1996).

Outro aspecto a ser considerado diz respeito a comercialização. Almeida et al., (2002), ao avaliarem pescados obtidos em supermercados, não isolaram coliformes termotolerantes em amostras de pintados (*Pseudoplastytoma fasciatum*), este fato pode ser atribuído as melhores condições de acondicionamento e tratamento do pescado, pois consumidores mais exigentes e fiscalização periódica, contribuem para diminuição dos risco e oferta de um produto com melhor qualidade, demonstrando a necessidade de adequação da venda do produto em feiras e mercados.

Em desacordo com os padrões recomendados pela RDC Nº 012, de janeiro de 2001- ANVISA; 2 (5%) das amostras estavam contaminadas por *Salmonella* spp. (Tabela 3). Portanto, quanto aos coliformes termotolerantes verifica-se na Tabela 3, que do total de 40 amostras de peixes analisadas, 16 (40%) estavam de acordo com o padrão recomendado e 24 (60%) estavam fora dos padrões recomendados pela Legislação vigente.

Tabela 3: Número Mais Provável de Coliforme a 45ºC e presença de *Salmonella* spp., de acordo e desarcodo com a RDC № 012, de janeiro de 2001 - ANVISA, para amostras de Traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.

Amostras	PADRÃO	Coliformes termotolerantes (NMP/g)		Pesquisa de <i>Samonella</i> SP		
Amostras de peixes (40)		N	%	N	%	
	DE ACORDO	16	40	38	95	
	DESACORDO	24	60	2	5	
TOTAL		40	100%	40	100%	

Em experimento realizado no Egito, de 101 tilápias do Nilo investigadas para organismos patogênicos e outros potencialmente patogênicos, em 7,9% das amostras foi detectada a *E. coli* e em 3,9%, *Salmonella* (YOUSSEF et al., 1992) resultados inferiores ao observado na pesquisa, que foram de 14% e 5%, respectivamente diferindo dos achados de Alvares et al. (2008), em São Paulo, que verificou 36,4% de amostras de pescado contaminadas por *Salmonella* spp.. A presença destes patógenos representam risco à saúde do consumidor, causando surtos relacionados à ingestão de alimentos contaminados, podendo ocasionar no ser humano náuseas, vômitos, cólica, febre, cefaleia e diarréia.

A ocorrência de *Salmonella* spp., em produtos da pesca pode ser em decorrência da contaminação do ambiente de criação ou provenientes de manipulação durante a despesca e processamento (KUMAR et al., 2003).

Na comercialização do pescado em feiras, quanto aos aspectos higiênicos sanitários, observou graves problemas que contribuem para presença destes microganismos patogênicos, comprometendo a qualidade e expondo o consumidor a riscos para saúde; como a presença de animais, lixo e esgoto a céu aberto; por sua vez, os feirantes não têm higiene pessoal e não foram treinados quanto às boas praticas de fabricação. Os produtos eram vendidos em locais e condições insalubres, nos quais o peixe era exposto em cestos, diretamente no solo, sem proteção.

Diversos autores consideram preocupante a presença de *Salmonella* no trato gastrointestinal de peixes, pois esta bactéria pode contaminar a carne durante sua manipulação. No Brasil uma pesquisa realizada em Botucatu – SP, onde se estudou a microbiota do conteúdo intestinal de 77 peixes de água doce, criados em sistema extensivo, foram isolados diferentes microrganismos do grupo das enterobactérias, entre eles a *Salmonella thyphimurium* em 2,28% (LANGONI et al., 1999).

Segundo Martins (2006), a cocção do alimento elimina o risco deste patógeno, mas em alguns casos, são necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* (de 1 a 10 células para alguns sorotipos) causam sintomas no ser humano (LINDER, 2002).

Com base no estudo, considera-se a importância do treinamento constante em boas práticas de fabricação, procedimentos padrões de higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle para manipuladores de alimentos.

Quanto as contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, verificouse que variaram de 9 x 10² a 10⁹ UFC/g e a população de *Staphylococcus* coagulase negativo variou de 10² até 1,8 x 10⁸ UFC/g (Tabela 4.)

Tabela 4. Contagem de bactérias aeróbias mesófilas e *Staphylococcus* coagulase positivo e negativo em amostras de Traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.

Bactéria aeróbias mesófilas			Staphylococcus				
			(coagulase +)		(coagulase -)		
(UFC/g)	N	%	ausente	(UFC/g)	N	%	
9 x10 ²	1	2,5%	ausente	Ausência	22	55,0%	
10³- 10⁴	7	17,5%	ausente	10 ² - 10 ³	4	10,0%	
10 ⁵ -10 ⁶	17	42,5%	ausente	10 ⁴ - 10 ⁵	8	20,0%	
10 ⁷ -10 ⁸	10	25,0%	ausente	10 ⁶ - 10 ⁷	4	10,0%	
10 ⁹	5	12,5%	ausente	1,8 x10 ⁸	2	5,0%	
TOTAL	40	100%	ausente	40	100%	40	

Em relação à contagem de bactérias aeróbias mesófilas, a legislação não determina um padrão, no entanto, uma contagem elevada destes microrganismos sugere a possibilidade de uma maior deterioração do produto, além da presença de bactérias patogênicas. As altas contagens não determinaram alterações macroscópicas características de deterioração do peixe, uma vez que os peixes adiquiridos na pesquisa, em sua maioria, eram recém capturados e mantinham características condizentes com o estado de frescor adequado para o produto, caso o peixe não seja armazenado de forma adequada.

Segundo Ykoyama (2007) microrganismos deteriorantes são responsáveis pela diminuição da vida de prateleira do pescado devido a sua capacidade proteolítica, pectinolítica e lipolítica. Desta forma uma maneira de se amenizar essas altas contagens seria a rápida refrigeração do pescado, já que a microflora mesofílica multiplica-se rapidamente a temperatura ambiente.

Agnese et al.(2001) relatam que valores de microrganismos mesófilos superiores a 10⁶ UFC/g de carne de peixe são considerados críticos em relação ao grau de frescor. Entretanto, Lira et al. (2001) observaram que alguns pescados que apresentaram número superior a 10⁶ UFC/g não estavam com

seus caracteres alterados, enquanto outros com número inferior, na análise sensorial, eram desclassificados, dados semelhantes ao observado no presente estudo.

Quanto à presença de *Staphylococcus* (Tabela 4), as amostras analisadas não apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo. Entretanto, a contaminação por *Staphylococcus* coagulase negativo variou de 10² a 1,8 x 10⁸ UFC/g. Estas contagens elevadas podem ser atribuídas à manipulação inadequada do produto, por pescadores e vendedores portadores da bactéria, albergando-a nas mucosas e superfície da pele. Ressalta-se a importância de implantar as boas práticas, orientando o vendedor quanto à higiene pessoal e o uso de EPI's – Equipamentos de proteção individual- (mascaras, luvas, tocas, batas), melhorando a qualidade do produto.

Apesar da Legislação Vigente não estabelecer padrão para *Staphylococcus* coagulase negativo, estes podem produzir enterotoxinas, queocasionam intoxicação alimentar. Lamaita (2003) enfatiza que os padrões legais para alimentos especificam apenas a presença de espécies coagulase positivo e reforça a necessidade de revisão da legislação brasileira, incluindo *Staphylococcus* coagulase negativo, dada sua importância do ponto de vista de segurança alimentar.

Rapini et al. (2005) ao estudar a presença de cepas de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina TSST-1, observaram que dos 28 *pools que* apresentaram potencial toxigênico, 96,4% corresponderam a espécies de *Staphylococcus* coagulase negativo, representadas por *S. epidermidis* e *S. cohnii*. Santos (2003) descreveu a toxigenicidade de 63,2% das cepas de *S. epidermidis* e de 84,6% das cepas de *S. cohnii* isoladas dos manipuladores de alimentos, envolvidos em surtos de intoxicação alimentar. A toxigenicidade das cepas coagulase negativo tem sido descrita (SENA, 2000; MACHADO, 2001; LAMAITA, 2003) e surtos de intoxicação alimentar veiculada por produtos lácteos (CARMO et al., 2002; VERAS et al., 2003) ressaltaram a importância desse grupo de microrganismos para a Saúde Pública.

A presença de *Staphylococcus* spp. esta associada as condições higiênicas inadequadas, desta forma torna-se um fator preocupante do ponto de vista sanitário, uma vez que reflete falta de higiene no manuseio, uma temperatura de armazenamento não eficaz e possibilitando a identificação de cepas de *Staphylococcus* coagulase negativo enterotoxigênicos. Torna-se imprescindível, exigindo, desta forma uma revisão urgente da atual legislação sanitária de alimentos pelos órgãos oficiais de inspeção e vigilância sanitária com inclusão de padrões para *Staphylococcus* coagulase negativo.

A tabela 5 apresenta a ocorrência de *Aeromonas* spp.. Das 40 amostras 36 (90%) dos peixes analisados estavam contaminados por este microrganismo. De 36 (90%) amostras verificou-se que 7 (19, 4%) estavam contaminadas pela espécie *A. cavie* e 29 (80,6%) por *A. hidrophila*.

Tabela 5. Espécies de *Aeromonas* spp. isoladas de amostras de Traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes do Município de São Bento-MA, 2010.

Amostra/ Espécies isoladas	Aerom	onas spp.
Isoladas	N	%
Aeromonas cavie	7	19, 4%
Aeromonas hidrophila	29	80,6%
Total	36	100%

O gênero *Aeromonas* é autótone do ambiente aquático e as espécies móveis e mesófilas são encontradas mundialmente em águas dúcicolas, salobras, características da região da baixada maranhense, onde foi realizado o estudo.

Outro fator que contribui para presença de *Aeromonas* é a correlação entre o número presente na matéria orgânica e o número total encontrado na água, detectada em canos de esgoto estourados de pia e efluentes domésticos (ARAÚJO et al., 1989).

A contaminação por estas espécies sugerem um risco à saúde dos consumidores uma vez que as mesmas são reconhecidas como patogênicas

para humanos, devido à produção de citotoxinas, enterotoxinas e hemolisinas produzidas e por causarem infecções de pele, principalmente em pacientes imunodeprimidos.

De acordo com Chopra & Houston (1999), *A. hidrophila* é considerada uma das principais cepas enteropatogênicas isoladas de pacientes com gastrenterites; embora *A. cavie* tenha sido implicada em alguns casos de diarréia.

Entre as espécies de *Aeromonas* spp., existentes, a *A. hydrophila, A. caviae* e *A. veronii* biovar sobria são as mais comumente associadas com infecções em humanos e somam mais de 85% dos isolados clínicos pertencentes a esse gênero (JANDA e ABBOTT, 1998; VILA et al., 2003; ALBENWAN et al., 2007; TSAI et al., 2009).

No Brasil existem relatos de isolamento de diferentes espécies de *Aeromonas* spp., de amostras clínicas de caso de diarréia infantil, infecção hospitalar ou gastroenterites causadas pela ingestão de alimentos como pescados, carnes e vegetais (PEREIRA, 2003). Estes dados reforçam a necessidade da implantação de medidas higiênico—sanitárias para pessoas que lidam diretamente com alimentos, minimizando a ocorrência do problema. Além disso, são também consideradas importantes patógenos de peixes (AUSTIN & ADAMS, 1996) e causam deterioração de pescados (GIBSON, 1992; GONZALEZ- SERRANO et al., 2001). Todas as espécies de peixes podem ser susceptíveis a infecções bacterianas por *Aeromonas* spp. uma vez que estes microrganismos estão naturalmente no ambiente aquático (COSTA, 1998).

Silva (2010) ao avaliar a presença de *Aeromonas* em tambaqui (*Colossoma macropomum*), tambacu (*C. macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*), tilápia (*Oreochromis niloticus*) e Curimatá (*Prochilodus lineatus*), provenientes das pisciculturas da região da baixada maranhense verificou que tais propriedades representavam, no período da investigação, um importante reservatório natural de *Aeromonas*, servindo como fator de risco para os animais cultivados e em caso de surtos, causaram prejuízos econômicos a essas propriedades.

Hirsch et al., (2005), ao avaliar tilápias, provenientes de pisciculturas em Minas Gerais, verificaram a ampla distribuição de diferentes espécies entre as propriedades estudadas, achados relevante devido ao fato de que foram encontradas espécies potencialmente patogênicas aos peixes (*A. hydrophila, A. sobria, A. veronii, A. caviae, A. schubertii*), e também espécies potencialmente patogênicas a seres humanos (*A. hydrophila, A. sobria, A. caviae, A. veronii bt veronii, A. schubertii*, e *A. jandaei*), implicados em casos de infecção para o consumidor.

Os isolados de *A. hydrophila*, encontrados no presente trabalho, foram obtidos de peixes sem nenhum tipo de sintomatologia, sugerindo que estes exemplares eram portadores dessa espécie bacteriana e a ingestão de peixes contaminados por esta espécie torna o indivíduo susceptível as gastroenterites.

Os isolados de *A. hydrophila* e *A. cavie*, no presente estudo, corraboram com os trabalhos de Rall et al. (1998), que ao realizarem estudo no Estado de São Paulo verificaram que 48% das amostras de pintado (*Pseudoplatystoma* sp.) coletadas de mercados estavam contaminadas por *Aeromonas*, sendo que *A. caviae* foi mais freqüente (60%), seguida de *A. hydrophila* (50%) e *A. sobria* (12%). KATOCH et al. (2001) verificaram que 66% das amostras de músculo de *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella*, *Carassius auratus* e *Hypophthalmichthys molitrix* continham *A. caviae*, ressaltando a importância destas em pescados.

Ao avaliar a qualidade sanitária de peixes comercializadas no mercado em São Paulo, Silva (2007), observou que em 10 (50%) das amostras isolou-se *Aeromonas* spp.. Os peixes avaliados neste trabalho eram comercializados na região em feiras livres, nas quais as condições de higiene muitas vezes são precárias, representando um potencial risco para a população consumidora, caso estejam contaminados por *Aeromonas*.

5.2 Análise físico-química e microbiológica da água

A tabela 6 sumariza as principais características físico-químicas da água provenientes dos locais de pesca das regiões alagadas da baixada

maranhense. Com valores médios de pH 6,9 \pm 0,05, e variação d 6,4 - 7,4; turbidez de 543,8 \pm 0,49UNT, (182-828); condutividade elétrica de 882,7 \pm 0,04 μ S/cm, (773 - 941,1); Cálcio de 34,3 \pm 1,2 mg/L, (27,5-45); Magnésio de 97,5 \pm 0,07 mg/L, (87,5-112,5); dureza total de 131,8 \pm 0,07 mg/L,(120 - 145); alcalinidade total de 66,7 \pm 0,42 mg/L, (38 - 145) e cloretos de 400 \pm 0,07 mg/L, (358,9 - 430). Os resultados foram avaliados segundo a resolução CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005.

Tabela 6. Análises físico-química das águas, provenientes do local de pesca, na baixada maranhense, município de São Bento, 2010.

	Análises/resultados								
Parâmetros	Média	Mín.	Max.	CV*	Dp*	CONAMA № 357/05 (classe1)	Und.*		
рН	6,9	6,4	7,4	0,05	0,3	6,0 a 9,0	-		
Turbidez	543,8	182	828	0,49	268,4	100 UNT	UNT*		
Condutividade	882,3	773	941,1	0,04	41,9	-	μS/		
Calcio	34,3	27,5	45	1,2	41,6	-	cm mg/L CaCO₃		
Magnésio	97,5	87,5	112,5	0,07	7,6	-	mg/L CaCO ₃		
Dureza total	131,8	120	145	0,07	9,4	-	mg/L CaCO ₃		
Alcalinidade total	66,7	38	145	0,42	28,5	58	mg/L CaCO₃		
Cloretos(CL ⁻)	400,9	358,9	430,9	0,07	30	250,0 mg/L	mg/L CL ⁻		

^{*} Valores médios para 12 amostras analisadas, CV- coeficiente de variação, Dp- desvio padrão; Und. – unidade; UNT - unidades nefelométricas de turbidez.

Os resultados demonstraram pH neutro a alcalino em todas as amostras, porém dentro dos padrões. Estes resultados indicam acidez ou alcalinidade, quando considerada ácida pode causar sérios problemas ao homem e ao ambiente. Percebeu-se que a água apresenta uma turbidez acima do permissível no CONAMA Nº357/05 (Classe1), demonstrando uma alta concentração de sedimentos, tornando-a uma água muito barrenta, o que pode ser justificado pelo simples fato de não ter havido renovação da água em tempo hábil. Segundo Ostrensky et al. (1998), a turbidez causada pelos sedimentos em suspensão impede a penetração da luz na água e o desenvolvimento do fitoplâncton, devendo sempre evitar o uso de águas barrentas em criações de peixes confinados. Jerônimo, (2009) indicou a possível relação entre a transparência da água e mecanismos de permanência dos parasitos nos peixes (BUCHMANN & LINDESTROM, 2002), influenciando positivamente para que haja significativo aumento do parasitismo.

A condutividade elétrica (C.E) e o pH fornecem subsídios para se avaliar a possibilidade de precipitação de sais e a indução da salinidade em função da prática da irrigação. Em relação ao magnésio (Mg2+) e Calcio (Ca2+), altas concentrações em estação seca, podem ser decorrentes das elevadas temperaturas que aumentaram o processo de ebulição da água das lagoas, deixando-a mais rasa e concentrada com relação a esses íons, o que pode variar em período chuvoso com uma entrada mais frequente de água do mar e incidência de chuvas, essenciais para que as concentrações desses elementos diminuam, em função de um maior volume de água ocasionando diluições.

Dentre os parâmetros avaliados, apenas o pH encontra-se em conformidade com a Resolução CONAMA nº 357(2005).

O bom desempenho e disponibilidade de peixes em ambiente natural é resultado de uma série de fatores que estão intimamente ligados. Devido ao seu íntimo contato com o ambiente aquático, complexo e dinâmico, e à sua condição pecilotérmica, os peixes estão sob desafios constantes que vão desde variações dos aspectos físico-químicos da água até práticas de manejo, transporte, tratamentos, altas densidades de estocagem (LIMA et al., 2006) e doenças infecciosas e parasitárias que culminam em estresse aos peixes com

significativos prejuízos econômicos (MORAES & MARTINS, 2004). Segundo Flores-Crespo et al. (1992), a qualidade da água pode influenciar na presença de parasitos da Classe Monogenoidea.

Os resultados das análises microbiológicas para as amostras de água vaiaram de 7,8 a >1600 NMP/mL (Tabela 7). Das doze análises realizadas, uma amostra da primeira coleta e três da segunda coleta estavam com contagem elevadas > 1600 NMP/mL, no entando para que a água fosse considerada imprópria seria necessário que 80% das amostras estivessem comprometidas, desta forma a água analisada está dentro dos padrões estipulados pelo CONAMA, Resolução nº 537 (20050 para uso de recreação, bem como dessedentação dos animais.

Tabela 7. Determinação do número mais provável de coliformes termotolerantes, em amostras de água, provenientes da baixada maranhense, no período seco do ano, município de São Bento- MA.

Período seco		Amo	ostras	Padrão	CONAMA	
do ano	N	%	NMP/mL		(classe 3)*	
nício	5	41,6	7,8- 1600	Própria	1000	
(6 amostras)					termotolerantes/ 100 mililitro para	
	1	16,6	>1600	Imprópria	dessedentação	
Final	3	25,0	17-540	Própria	2500	
(6 amostras)	3	25,0	>1600	Imprópria	termotolerantes/ 100 mililitros	
Total	12	100			para recreação	

^{*} Valores de referência para uso da água Classe 1, 2 e 3, CONAMA №357.

Segundo o CONAMA, Resolução nº 357 (2005), os padrões microbiológicos de coliformes termotolerantes para o uso de recreação de contato secundario não deverá ser excedido um limite de 2500 coliformes termotolerantes por 100 mililitros, bem como para dessedentação de animais

criados confinados não deverá ser excedido o limite de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% das amostras, CONAMA nº 357 (2005).

As regiões alagadas da baixada maranhense por sevir como áreas de confinamento para pesca artesanal, bem como lazer, deve-se atentar as condições higiênicas e a balneabilidade do seu uso. Acredita-se, então, que toda água possuindo mais de 1 a 2 coliformes/100 mL deve conter também bactérias patogênicas, logo imprópria para consumo se não houver prévia desinfecção (BIER, 1978). Enquanto, vazões mais baixas, favorecem a incidência de doenças de veiculação hídrica (DVH) por se relacionarem diretamente com as precipitações pluviométricas, podendo a princípio significar menor diluição de microrganismos patogênicos (BRANCO, 1996).

5.3 Avaliação parasitologica

Os nematódeos e monogenéticos obtidos nas amostras de *H. malabaricus* foram do gênero *Contracaecum* spp., *Pseudoterranova* spp., *Eustrongylides* spp., *Gyrodactirus* spp., *Dactylogirus* spp. e larva *Acanthor* de *Acanthocephala*, que foram observados em microscópio óptico, totalizando 1290 parasitos identificados.

5.3.1 Morfometria

Das 70 unidades de *H. malabaricus*, examinadas apresentaram peso médio de 97 ± 43,4, com variação de 39 - 235 g; média de comprimento total de 20, 7 cm ± 2,23 cm (15,5 - 30 cm); média de comprimento parcial de 16,1 cm ± 43,4 (12 – 22 cm). Martins (2009) ao estudar a sazonalidade de larvas de *Eustrongylides* spp. em *H. malabaricus*, em peixes do rio Paraná, Sudeste do BRASIL, observou que a alta prevalência foi entre peixes com 425-550 g e 800 -1.650 g, nesse estudo foi atestado que o tamanho dos peixes influencia, quando considerada a prevalência de *Eustrongylides*, (HAHN et al.,1999).

Barros et al. (2009), ao estudarem cacharas, (Pseudoplatystoma fasciatum) provenientes do rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil não observaram correlação significativa entre o comprimento do peixe e a intensidade de infecção por Contracaecum e Eustrongylides. Ao relacionar o peso e o comprimento com o fator de condição relativo estimado não foi significativa essa correlação com a intensidade de infecção por Contracaecum e Eustrongylides.

5.4 dentificação de endoparasitas de Hoplias malabaricus

Os nematódeos do gênero *Anisakis e Eustrongylides* estavam na cavidade interna dos peixes, encistados ao mesentério. Não foram observadas alterações nas estruturas internas, como fígado, coração e musculatura. A alta concentração de nematódeos foi encontrada em região próxima aos cecos pilóricos (Figura 7 (A', A")). Os monogenéticos se concentraram principalmente na porção anterior do intestino, diferindo dos Acantocephalos que foram encontrados, em sua maioria, aderidos aos nematódeos (Figura 7(B, B')).

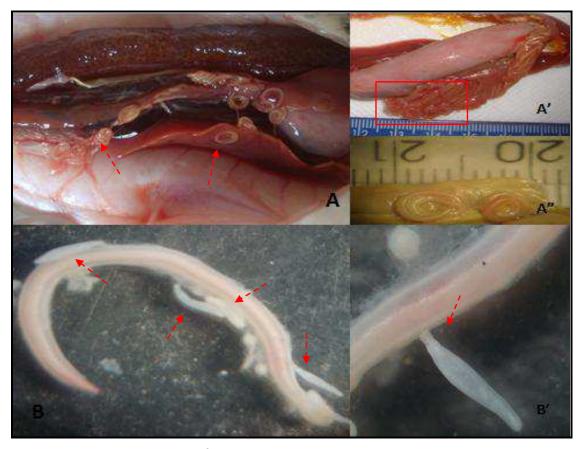


Figura 7. Presença de nematódeos Anisakidae e de Classe Monogenea em *Hoplias malabaricus:* A) nematódeos encistados no mesentério; A') nematódeos em cecos pilórico; A") Anisakideos encistados em mesentério; B) monogenéticos encistados em nematódeos Anisakideos; B") Acantocephalo encistado em Anisakideos.

5.4.1 Nematódeos da Família Anisakidae

Os Anisakideos pertencentes ao gênero *Contracaecum* spp., apresentam como características o esôfago provido de ventrículos, apêndice ventricular posterior, ceco anterior intestinal presente e o poro excretor situado na base dos lábios (Figura 8), estas descrições estão de acordo com Kohn et al.,(1985); Moravec (1998). As larvas podem levar o peixe à morte ao perfurar os órgãos vitais, como o coração ou provocar patologias que debilita os hospedeiros, facilitando a predação por outros animais, que podem ser tidos como hospedeiros definitivos.

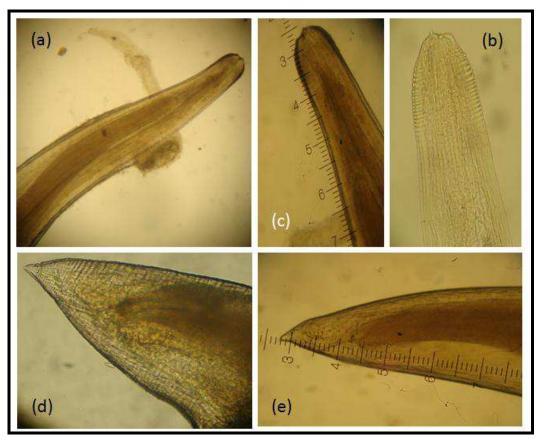


Figura 8. Micrografia dos nematódeos do gênero *Contracaecum* sp. (Anisakidae) encontrado em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA. a, b, c) porção anterior; d, e) porção posterior (Oc. 10x e Ob. 5x; Oc. 20x e Ob. 5x). (50x e 100x).

Embora as larvas de anisakídeos tenham sido encontradas no mesentério existe o risco em termos de Saúde Pública, considerando – se a possibilidade de migração das larvas para a musculatura do peixe, que poderá ocorrer *in vivo* e/ou após captura, além do tempo de exposição e permanência em barco ou entreposto sem evisceração, uso do gelo, assim como a comercialização sem tratamento prévio (evisceração).

Um fator importante aliado a ingestão de pescado infectado por anisakídeos, mesmo após cocção adequada, é a capacidade de desenvolver reações alérgicas de grau variável, descritas em pacientes hipersensíveis. A resposta imunológica é desencadeada pelo potencial antigênico das partículas parasitárias, existentes no pescado mesmo após a cocção. Fato comprovado por Fernandez de Corres et al., (1996) e Montoro et al. (1997), no caso de *A. simplex. O*s peixes que se alimentam da fauna bentônica são parasitados principalmente por *Pseudoterranova* spp., devido a particularidades do ciclo

evolutivo desses helmintos. Aqueles que se alimentam de outros peixes albergam muitas vezes dois agentes (EIRAS, 1994).

Outro nematóideo encontrado em *H. malabaricus* foi do gênero *Pseudoterranova* spp. que são caracterizados por possuirem lábios pouco dilatados anteriormente com margens denteadas e interlábios ausentes. Poro excretor localizado próximo à base dos lábios subventrais. Glândula excretora situada ventralmente, se estendendo posteriormente sem atingir o nível do intestino; porção localizada próximo à metade do esôfago larga, com diâmetro correspondendo entre 25-31% do diâmetro do corpo. Apêndice ventricular ausente. Ceco intestinal presente. Machos com espículos subiguais; três margens denteadas pós-cloacais. Fêmeas com vulva situada no terço anterior do corpo (Figura 9), características morfológicas compatíveis com os trabalhos realizados por Mosgovoy (1951); Gibson & Colin, (1982); Gibson, (1983); Vicente et al., (1985).

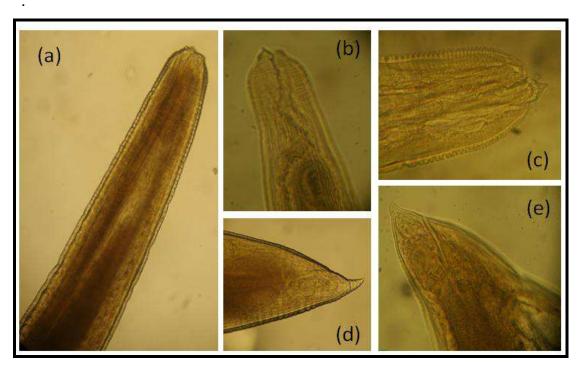


Figura 9. Micrografia de nematódeos do gênero *Pseudoterranova* sp. (Anisakidae), encontrado em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA. a, b,c) porção anterior; d, e) porção posterior. (Ob. 10x; Oc.5x; Ob.20x; Oc. 5x.).

Trabalhos realizados por Rego & Santos, (1983), São Clemente et al. (1994) e Luque & Poulin (2004), no litoral do estado do Rio de Janeiro,

relataram o parasitismo de peixes marinhos por larvas de *Pseudoterranova* spp.. Segundo Gibson (1983), para a determinação genérica entre *Pseudoterranova* e *Terranova* é necessária a observação das estruturas componentes do sistema excretor e a presença de cauda com mucron terminal como um caráter usualmente observado nas descrições de larvas pertencentes à *Pseudoterranova*.

5.5 Nematódeos da Família Eustrongylides

O gênero *Eustrongylides*, pertence ao filo Nematoda, classe Adenophorea, ordem Enoplida, família Dioctophymatidae, superfamília Estrongyloidea (ROHDE, 2005).

Superfamília *Strongyloidea* apresentam boca primitivamente bilabiada; esôfago simples, claviforme; aparelho genital feminino duplo, geralmente anfidelfo; machos com bolsa copuladora com raios bursais dois espículos com ou sem gubernáculo; características observadas em nosso estudo, que estão de acordo com Travasso, (1925). Esses nematódeos podem alcançar de 4 a 10 cm de comprimento, com coloração avermelhada ou vermelho castanho,. sendo comuns nos músculos de peixes (Figura 10).

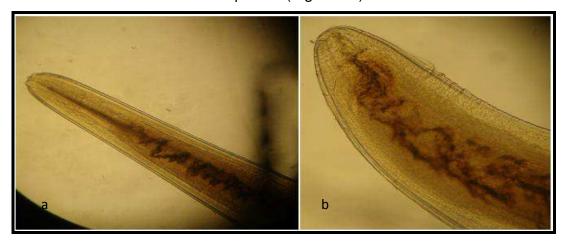


Figura 10. Micrografia de nematódeos do gênero *Eustrongylides* sp., encontrado em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA. a) porção anterior; b) porção posterior. (Ob.20x; Oc. 5x.).

Nos peixes os nematódeos apresentam-se na fase intermediaria, e alcançam a fase adulta em aves. Estão presentes em vários órgãos dos peixes,

principalmente na superfíciee externa do estômago. No estudo realizado, verificou-se a presença de *Eustrongylides* spp. encistados no mesentério da cavidade abdominal, mas é comum a presença em fase adulta, quando o período de encistamento foi encerrada na fase de transferência de hospedeiros (peixes), penetrando nos ógãos vitais e musculatura, habitando no corpo do animal, como verificamos nos achados das necropsia, nesse estudo.

5.6 MONOGENÉTICOS

Segundo, Eiras (1993), a patogenia provocada pelos monogenéticos é variável com as espécies e com o local de fixação. Quando fixados ao tegumento ocorrem lesões de gravidade pouco acentuada, variável com a espécie, podendo verificar-se necrose das células, destruição de escamas e hipersecreção de muco. As lesões serão tanto mais graves quanto mais abundantes forem os parasitas, que podem alcançar elevadas densidades. Em casos de intensidade de infecção elevada os monogenéticos podem provocar mortalidades especialmente em peixes pequenos e diferentes espécies (NOGA, 1995; CONE et al., 1993; ERGENS, 1983; LESTER & ADAMS, 1974; MACKENZIE, 1970).

Diferente do que se verifica usualmente, foi observado no estudo grande quantidade de girodactilídeos e dactilogirídeos em cavidade interna do peixe, este fato pode ser atribuído a alta densidade populacional destes parasitos no ambiente aquático, aliada ao habito alimentar de *H. malabaricus* que é um peixe piscívoro, desta forma favorecendo a ingestão de ectoparasitos; assim como as adversidades do ambiente (como poluição), que contribuem para estresse animal e consequentemente uma queda na imunidade do mesmo.

Em termos evolutivos, novas espécies podem ser geradas internamente por especiação. Um processo semelhante determina a riqueza de parasitas que afetam uma população de hospedeiros, Segundo Lupchinski Jr. (2006), em relação à diversificação de linhagens de parasitas, a especiação intrahospedeiro pode ser importante. Brooks & McLennan (1993) sugeriram que,

entre monogenéticos, a especiação simpátrica (especiação intra-hospedeiro) pode ser mais usual que em outros grupos de parasitas, por causa de algumas características biológicas, como: ciclo de vida direto e relativa longevidade. Espécies congêneres de monogenéticos explorando o mesmo hospedeiro podem representar casos de simpatria. Os monogenéticos pertencem principalmente a duas grandes famílias: Gyrodactilídae e Dactylogyrídae (VARGAS, 2001; PAVANELLI et al., 2002).

5.6.1 Girodactilídeos

A maioria das famílias de monogenéticos é classificada, segundo características morfológicas, sobretudo em relação ao haptor (CRIBB et al., 2002). A localização preferêncial nos peixes é nas brânquias, narinas, olhos e na superfície corporal, essas características favorecem as lesões, tornando-se uma porta de entrada para outros agentes. Todos os monogenéticos, exceto Gyrodactylideos são ovíparos. O útero contém poucos ovos, muitas vezes, apenas um, mas a produção diária total pode variar de 5 até 60. Condições adversas de vida (devido a respostas da qualidade da água ou de acolhimento) frequentemente aceleram a oviposição (IZUMOVA, 1958).

Nos girodactilídeos, as estruturas do haptor apresentam um alto grau de variação, na forma e tamanho, relacionados com a temperatura da água; idade dos parasitas; espécies de peixes hospedeiros; distribuição geográfica e localização no hospedeiro (ERGENS *apud* MATEJUSOVÁ et al., 2001). Essa estrutura é formada por um conjunto de ganchos, barras e âncoras, de número e tamanhos variáveis, responsáveis pela fixação. Provocam uma série de reações fisiológicas no hospedeiro, como hiperplasia do tecido branquial, excessiva produção de muco e fusão dos filamentos branquiais, o que, dependendo do grau de severidade, pode levar o hospedeiro à morte por asfixia (PAVANELLI et al., 2002) (Figura 11).

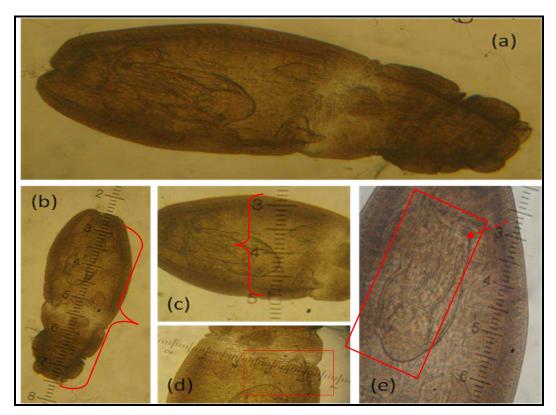


Figura 11. Micrografia de monogenéticos encontrados em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA: *Gyrodactilus* spp. (a-200x), comprimento total - 750μm (b-250x), largura - 315μm (c-250x), estrutura de fixação - 90μm (d-250), comprimento da estrutura de fixação internamente - 480μm (e-200x), (→) coroa de espinhos interna (haptor).

A média do comprimento total para $1693.5 \pm 410.7 \,\mu\text{m}$, com variação de $1200 - 2250 \,\mu\text{m}$; comprimento parcial médio de $603 \pm 183.2 \,\mu\text{m}$, ($375 - 900 \,\mu\text{m}$); média da largura de $540 \pm 52.9 \,\mu\text{m}$ ($480 - 630 \,\mu\text{m}$); média da largura da base superior de $223.5 \pm 47.5 \,\mu\text{m}$ ($450 - 600 \,\mu\text{m}$); média da largura da base inferior de $277 \pm 68.6 \,\mu\text{m}$ ($150 - 375 \,\mu\text{m}$); média da coroa de espinho central de $504 \pm 47.5 \,\mu\text{m}$ ($450 - 600 \,\mu\text{m}$), para os exemplares em estudo.

5.6.2 Dactilogirídeos

Os parasitas da família Dactylogyridae pertencem à subordem Dactylogyrinea, ordem Dactylogyridea, subclasse Polyonchoinea, conhecida como Monopisthocotylea, classe Monogenea, filo Platyhelminthes e ao reino Animalia (BOEGER & KRITSKY, 2001). Eiras (1994) considerou o gênero *Dactylogyrus* como o mais freqüente da família Dactylogyridae.

A maior parte dos dactilogirídeos tem corpo alongado, ligeiramente achatado dorso - ventral e um aparelho de fixação com estruturas esclerotizadas (ganchos, âncoras e barras). Os adultos têm geralmente dois pares de receptores de luz pigmentados, que se localizam em frente e por cima da abertura oral. Em alguns exemplares podem ser substituídos por grânulos dispersos, ou até mesmo não existir (EIRAS, 1994) (Figura 12).

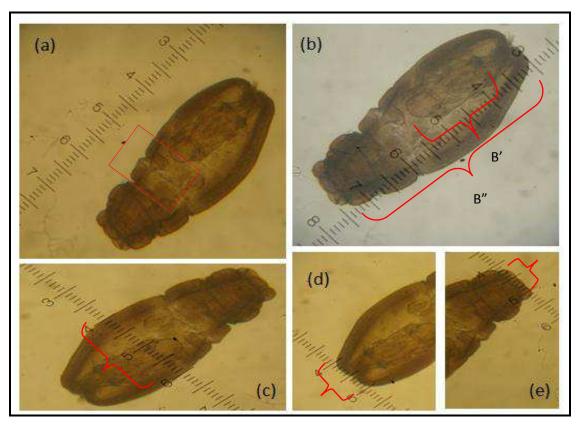


Figura 12. Micrografia de monogenéticos encontrados em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA: *Dactylogirus* sp., a) ganchos de fixação; b') coroa central com espinhos - 225μm (b'-250x); b") comprimento total - 675μm (b"-250x); c) largura - 300μm (c-250x); d) comprimento da região anterior - 135μm (d-250x) e), comprimento da região posterior - 150μm (e-250x).

A média do comprimento total 1429,5 \pm 188,8 μ m, com variação de 1125 - 1500 μ m; comprimento parcial médio de 600 \pm 169,6 μ m (375 - 990 μ m); média da largura de 600 \pm 59,6 μ m (480 a 630 μ m); média da largura da base superior de 225 \pm 33,1 μ m (180 a 300 μ m); média da largura da base inferior de 291 \pm 64,1 μ m (180 - 300 μ m); média da coroa de espinho central de 483 \pm 88,2 μ m (375 - 675 μ m), para os exemplares em estudo.

Poulin (2002) relatou que a maioria dos dactilogirídeos tem menos de um milímetro de comprimento corporal. Na parte anterior do corpo apresentam dois lobos cefálicos que contém secreções das células glandulares adesivas. O haptor tem dois pares de ganchos centrais ("hamuli") e 14 ganchos marginais. Na maioria dos dactilogirídeos, os quatro "hamuli" são conectados funcionalmente em dois pares laterais, cada par contendo um "hamulus" dorsal e ventral que se contrapõem, empalando a base de duas lamelas secundárias entre as quais está localizado o haptor. Os ganchos marginais têm uma importância complementar com dois pares normalmente localizados dorsalmente (EIRAS, 1994; KEARN, 1994).

A alternância de locais deve ocorrer antes que o haptor fique preso aos tecidos do hospedeiro, sendo esse o primeiro passo no processo de eliminação, seguido da expulsão do nódulo em que o parasita está fixo. Porém alguns dactilogirídeos reverteram esse processo de encapsulamento de seu haptor como vantagem, pois isso lhes confere uma estabilidade que diminui os perigos durante sua vida reprodutiva e que permite uma fixação segura sem um constante dispêndio de energia (KEARN, 1994).

5.7 Acanthocephala

Os acantocéfalos têm organização característica e peculiar. O corpo é alongado, mais ou menos cilíndrico, tendo quase sempre pregas transversais. Suas dimensões variam muito, as menores espécies medem apenas alguns milímetros e as maiores atingem decímetros de comprimento. A largura, porém, não varia proporcionalmente ao comprimento e são raras as espécies de mais de 5 mm de diâmetro. As suas extremidades são muito diferentes; a anterior apresenta uma tromba retratil ou invaginável que serve para fixação do parasito e a posterior tem a abertura genital (Figura 13), características sememlhantes as descritas por Travassos, (1945).

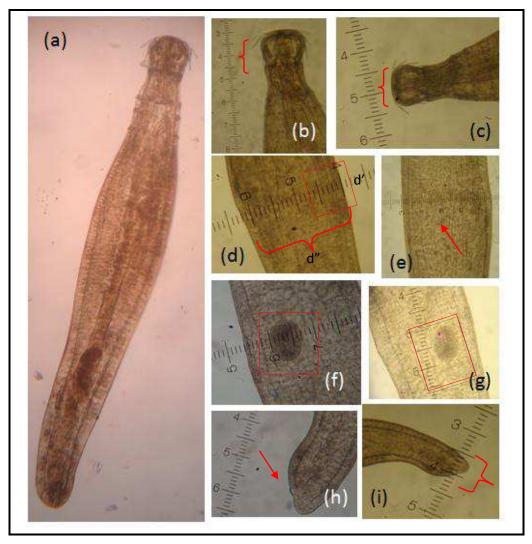


Figura 13. Micrografia de larva de (a) Acanthella (Acantocephalidae). encontrados em *Hoplias malabaricus*, São Bento, MA: b) prosbócida com ganchos quitinosos-218,7 μm; c) comprimento transversal da prosbócida - 225μm; d') parede espessa com cutícula quitinisada - 30μm e d") região mediana - 3450μm; e) presença de acúleos no tegumento - 150μm f, g) testículos, comprimento transversal - 105μm e longitudinal 150μm, respectivamente; h) poro excretor; i) comprimento tranversal da região posterior (a-50X, b,c,e,f,g, i-100x, h-200x).

As paredes do corpo são constituídas por um sincício rico em fibrilas musculares dispostas em todas as direções, tendo ainda, algumas vezes, camadas de células musculares dispostas anular e longitudinalmente. Os testículos, em número de dois, são esféricos ou elipsóides mais ou menos alongados, situados geralmente na parte média do corpo (TRAVASSO, 1945).

A mensuração média do comprimento da prosbócida foi de 218,7 ± 44,06 μm, com variação de 150 - 300μm; comprimento transversal da prosbócida (porção anterior) 247± 96,4 μm (180 - 300μm); comprimento

tranversal da região posterior 178,7 \pm 30,9 µm, (150 - 225µm); região mediana 6355 \pm 39,6 µm (555-675µm), comprimento vertical do testículo de 72, 5 \pm 119,2 µm (75 - 180µm); média do comprimento transversal do testículo de 107,5 \pm 46,4 µm (75 – 187,5µm), para este estudo.

5.8 Prevalência e incidência de endoparasitas em Hoplias malabaricus

Do total de 70 peixes examinados, 64 (91,4%) apresentaram parasitismo de nematódeos, identificadas como Contacaecum por Pseudoterranova spp., Eustrongylides spp., larva de Acantella (Acantocephala) e monogenóides (Dactylogyrus spp. e Gyrodactylus spp.). Dentre os peixes examinados observou-se prevalência de 82,8% (58) com o nematódeo Contracaecum spp., 65,7% (46); Pseudoterranova spp., 7,1% Eustrongylides spp., 71,4% (50); monogenéticos e larva Acantella de Acantocephalos, respectivamente (Figura 14). Esses resultados estão compatíveis com os observados por Moreira et al., (2005) que estudaram peixes parasitados com prevalência de 80%, em pelo menos uma espécie de parasita.

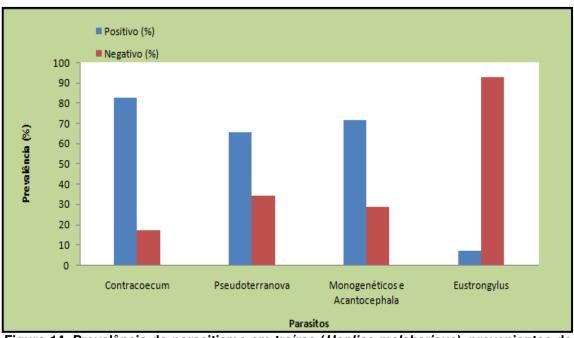


Figura 14. Prevalência do parasitismo em traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes de São Bento, MA, de acordo com o gênero de nematódeos, monogenéticos e acantocefalos.

As traíras (*H. malabaricus*) parasitadas apresentaram larvas no mesentério com exceção de um exemplar que estava inserida na bexiga natatória. A intensidade média total da infecção foi de 20,1 parasito/peixe, sendo 7,3 larva/peixe de *Contracaecum* spp.; 4,3 larva/peixe de *Pseudoterranova* spp.; 0,07 larva/peixe de *Eustrongylides* spp. e 1,5 de larva de Acantocephala; 6,9 de monogenéticos (3,7 de *Gyrodactylus* spp. e 3,2 de *Dactylogyrus* spp.).

Amplitude de intensidade, intensidade média, índice de abundância, coeficiente de dominância, coeficiente de variação, assim como o local de infecção estão registrados na tabela 8.

Tabela 8. Prevalência, amplitude de intensidade, intensidade média, índice de abundância, coeficiênte de dominância, coeficiente de variação e local de infecção dos parasitos de *Hoplias malabaricus*, provenientes de São Bento, MA.

Parasitos	A.I*	I.M *	I.A*	CD*	C.V(%)*	Local de infecção
Contracaecum	1-27	7,3	6,7	36,4	6,7	Mesentério
spp. <i>Pseudoterranova</i> spp.	1 -30	4,3	3,9	21,5	4,08	Mesentério
Eustrongylus spp.	0- 1	0,078	0,071	0,38	0,07	Mesentério
Acantocephala	-	1,5	1,3	7,5	-	Mesentério
Gyrodactylus spp.	-	3,7	3,3	18,3	-	Mesentério
Dactylogyrus spp.	-	3,2	2,9	16	-	Mesentério

^{*}Amplitude de intensidade (A.I), Intensidade média (I.M), Índice de abundância (I.A), Coeficiente de dominância (C.D), Coeficiente de Variação (C.V %)

Entre os nematódeos identificados, a maior e menor amplitude de abundância foi verificada para o Anisakideo do gênero *Pseudoterranova* com variação de 1 - 30 parasitos/peixe, seguido de *Eustrongylides* com 1 parasito/peixe, respectivamente. Os índices mais elevados de intensidade média, coeficiente de dominância e coeficiente de variação foram para o gênero *Contracaecum*, seguido dos monogenéticos *Gyrodactylus* spp., *Dactylogyrus* spp. e larva de Acantocephala.

Barros et al. (2009), ao estudarem a ocorrência de endoparasitos em peixes consumidos no estado do Pará, dentre eles *H. malabaricus*, constataram que a maior prevalência e intensidade média de parasitismo foram de helmintos da família Anisakidae encontrados em cavidade abdominal, estes achados corraboram com o presente estudo, no qual observou-se a maior amplitude de intensida (1 - 30 larvas/peixe), para nematódeos do gênero *Pseudoterranova* e intensidade média de 7,3 para nematódeos do gênero *Contracaecum*, seguidos do coeficiente de dominância, com 36,4 e 21,5, para *Contracaeum* spp. e *Peseudoterranova* spp., respectivamente.

A presença de Acantocephala em peixes pode ser decorrente da ingestão de ostracados (pequenos crustáceos), que contem Acanthella completamente desenvolvidas. No trato digestório de peixes os ostracodos são

ingeridos, liberando as Acanthellas que vão penetrar na parede do intestino e as que já são infectantes vão alojar-se no fígado, sendo recoberta por material grandular em forma de cistos (OLSEN,1977).

Em estudo comparativo entre espécies diferentes, Martins (2009), observou que *H. malabaricus* apresentou maior intensidade média do que aquela observada em tucunaré (*C. ocellaris*), constatando-se que a abundância média parasitária de *H. malabaricus* foi significativamente maior do que em corvina (*P. squamosissimus*), embora não houvesse diferença significativa sobre a taxa de prevalência, intensidade média e abundância média que nas diversas estações do ano. Durante dois anos de prevalência, 100% das larvas de *Contracaecum* em tucunaré (*C. monoculus*) também foi registrado por Machado et al. (2000), no rio Paraná.

Dentre os nematódeos identificados foram encontrados espécimes da Família Anisakidae (*Contracaecum* spp. e *Pseudoterranova* spp.) e *Eustrongylides* spp., resultado também verificado por Barros et al. (2005), ao estudarem *H. malabaricus*, provenientes de áreas alagadas do Rio Cuiabá, Mato Grosso, encontraram larvas de *Contracaecum* spp. e *Eustrongylides*, distribuídas na musculatura esquelética e vísceras dos peixes, com prevalências de 73 e 33%, respectivamente, prevalência superior a observada para o gênero *Eustrongylides* que foi de 7,1% em *H. malabaricus*, provenientes das áreas alagadas da baixada maranhense.

Os parasitos identificados nesse estudo em *H. malabaricus* foram observados encistados no mesentério da cavidade abdominal, com alta concentração em ceco pilórico, semelhante aos achados de Muller et al. (2004), que ao estudarem traíras provenientes de São Paulo, verificaram larvas de *Contracaecum* spp. no fígado e no ceco pilórico e larvas de *Eustrongylides* spp. na musculatura e na cavidade geral. Os endoparasitos foram os principais componentes da fauna parasitária de *H. malabaricus*, coincidindo com os trabalhos realizados por Luque et al., (1996); Takemoto et al., (1996); Silva et al., (2000) e Martins et al., (2009).

Estudos demonstraram que a prevalência de larvas de *Eustrongylides* foi de 40,8% em tucunaré (*C. ocellaris*), 38,6% em corvina (*P. squamosissimus*) e

68,8% em traíra (*H. malabaricus*). Machado et al. (1994) relataram menor prevalência (1,8%) de *Eustrongylides* em pintado (*P. corruscans*) coletadas em rio. Estes baixos índices podem estar relacionado a ausência de aves piscívoras que fazem parte do ciclo biológico desta espécie de parasito, uma vez que os *Eustrongylides* só se desenvolvem em adultos se forem ingeridos acidentalmente na fase intermediaria.

Considerando os monogenéticos *Gyrodactylus* spp. e *Dactylogyrus* spp., foram identificados e encontrados internamente, na cavidade abdominal no terço final do trato digestório, aderidos ao mesentério ou fixos em outros Anisakideos, diferindo de sua característica habitual como ectoparasitos de brânquias em peixes. Verificou-se nesse estudo que o coeficiente de dominância de 18,3 e 16, para *Gyrodactylus* spp. e *Dactylogyrus*, respectivamente. A presença destes monogenéticos internamente podem ser atribuída a elevada prevalências em lagos poluídos, decorrentes da queda de imunidade dos peixes hospedeiros, em virtude da poluição química. Segundo, Skinner (1982), ambientes eutrofizados ou com níveis de turbidez elevados devido ao aumento de material em suspensão na água ou poluição, mesmo em diferentes graus, possibilitando uma maior ocorrência de irritação nos filamentos branquiais dos peixes, aumentando, assim, a susceptibilidade aos parasitos como os monogenéticos.

Na maioria das espécies de peixes associadas a monogenéticos, a incidência é alta (próxima dos 100%) e a intensida de 2 - 10 ou mais vermes por peixe são comuns (PAPERNA, 1974; BATRA, 1984).

Segundo São Clemente et al. (1997), a percentagem de infecção aumenta de acordo com a idade dos peixes. Estes dados corraboram com o estudo, uma vez que animais maiores apresentaram alto grau de parasitismo (Tabela 9).

Tabela 9. Relação entre o comprimento total e quantidade de nematódeos presentes em traíras (*Hoplias malabaricus*), provenientes do município de São Bento-MA.

	Comprimento total (cm)						
	15-17cm	18-20cm	21-23cm	24-26cm	27-30cm		
Nº de peixes	8	30	19	11	2		
Nº total de nematódeos	21	256	210	190	76		
Média (parasito/peixe)	2,62	8,53	11,05	17,27	38		
*DP	2,56	8,93	8,36	14,48	14,14		
*CV (%)	0,97	1,04	0,75	0,83	0,37		
*LI	0	0	0	0	28		
*LS	6	34	26	52	48		

*DP – desvio padrão, CV – coeficiente de variação, LI – limite inferior, LS – limite superior

Os peixes de maior comprimento (27-30 cm) apresentaram média 38 parasios/peixe, com limites superiores e inferiores de 28 e 48, respectivamente, peixes menores (15 - 17 cm), apresentaram média de 2,62 de parasitos/peixes, com limites inferior de 0 e superior de 6, por unidade de peixes.

Martins et al. (2003) assinalaram para *H. malabaricus*, 600 a 750 g de peso, como a maioria dos peixes parasitados por larvas *de Contracaecum* spp.. No presente estudo os peixes analisados apresentaram peso médio de 97g ± 43,3, com variação de 39 a 235 g, inferior aos trabalhos realizados por Martins (2003), no entanto os resultaos semelhantes com um índice de dominância de 36,4 para nematodeos do gênero *Contracaecum* spp.

Martins et al. (2003) relataram que as fêmeas de *H. malabaricus* estudadas na região do Rio Paraná foram mais suscetíveis que os machos nessa região, corroborando com os achados de Guidelli et al. (2003). Essa hipótese é apoiada pelo fato de machos e fêmeas habitarem diferentes ambiente ecológico, em qualquer momento de seu ciclo de vida.

O hábito alimentar de peixes piscívoros facilita a transmissão de larvas de parasitos de um peixe para outro. A freqüência de distribuição das larvas *Eustrongylides* pode ser relacionada à dieta e ao ambiente (MEDIDAS,1988).

Embora consequências clínicas ainda não tenham sido investigadas para *Contracaecum* spp. o potencial patogênico dessa espécie é comprovado em mamíferos infectados experimentalmente, justificando a necessidade de inspeção prévia do pescado quando destinado ao consumo humano, bem como os demais Anisakideos encontrados.

6 CONCLUSÕES

- Os peixes provenientes e comercializados no município de São
 Bento MA, apresentam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias com presença de coliformes totais, a 45º e *E.coli*;
- A vida de prateleira do produto pode estar comprometida face as elevadas contagens de bactérias aeróbias mesófilas presente;
- Os peixes nativos dos campos alagadiços da Baixada Maranhense, município de São Bento, podem representar riscos de veicular Salmonella spp., e espécies de bactérias do gênero Aeromonas para o consumidor, o que representa perigo de doenças de origem alimentar;
- Os espécimes de Hoplias malabaricus comercializados em São Bento-MA estão infectados com larvas de Contracaecum spp., Pseudoterranova spp. e Eustrongylides spp. que apresentam potencial zoonótico, sugerindo risco para a população regional consumidora;
- As águas provenientes dos locais de pesca no município de São Bento estão de acordo com os padrões microbilógicos permissíveis pelo CONAMA 357.
- A presença de pequenos crustáceos nas águas dos campos alagados da Baixada Maranhense contribui para infecção da traíras (Hoplias malabaricus) pela larva Acanthella.
- A presença de monogeneticos (*Gyrodactyrus* spp. e *Dactylogyrius* spp.), associado aos altos índices de prevalência observados, caracterizam um ambiente poluído, uma vez que estes parasitos atuam como indicador de alteração ambiental e tem sua população aumentada devido ao estresse do animal e as condições do meio em que vivem.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Baixada Maranhense representa uma região de grande potencial pesqueiro devido sua diversidade e abundancia de especies de peixes, daí a importância de estudos e pesquisas que qualifiquem a atividade, bem como, contribua para o bem estar e saúde da população em parceria com os órgãos de fiscalização.

Há necessidade de incluir na RDC Nº 012, de janeiro de 2001/ ANVISA, parâmetros para o microrganismo *Staphylococcus* coagulase negativo, pois estes podem produzir toxinas, podendo causar enfermidade tanto em humanos quanto nos animais.

Considerando que as condições de comercialização encontradas foram preicárias é importante que os manipuladores disponham de treinamentos quanto as boas práticas de fabricação (BPF) principalmente referente ao pescado que é um produto altamente perecível com potencial zoonótico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, S.L.; CHEUNG, W.K.W; JANDA, J.M. The genis Aeromonas: Biochemical Characteristic Atypical reacstions and phenotypic identification schems. **Journal of Clinical Microbiology**, Washigton, 41(6):2 348-2357, 2003.

ACHESON, D.W.K- Pediatric Gastrointestinal Disease- 3ª edition- 2000 – pp 485-501, 2003.

ADAMS, A. M.; MURRELL K. D.; CROSS, J. H. Parasites of risks to public health. **Rev. Sci. Tech Off Int Epiz**. v. 16, p. 652-660, 1997.

AGNESE, et al. Contagem de bactérias heterotrófica aeróbias mesófilas e a numeração de coliformes totais e fecais em peixes frescos comercializados no município de Seropédica – RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n.88, p.67-70, set. 2001.

AHMED, F.E. (Ed.). National Academy Press, Washington D.C., USA, **Seafood safety**, 1981.

AL-BENWAN, K. et al. Cystitis caused by *Aeromonas caviae*. **Journal of Clinical Microbiology.** v.45, n.7, p.2348-2350, 2007.

AL-HARBI, A.H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. **Aquaculture Research**, v.34, p.517-524, 2003.

ALEXANDRINO DE PEREZ, A.C. Empreendimentos piscícolas e o médico veterinário. **R. Educ. Cont. CRMV** – S. Paulo, v. 2, n. 2, p. 43-65, 1999.

ALEXANDRINO, A.C. et al. Ectoparasitose diagnosticada em tilápias Oreochromis sp em Pisciculturas e Pesqueiros nos vales do Paranapanema, Paraíba e Ribeira, do Estado de São Paulo, Brasil. In: INTERNATIONAL SIMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 5., 3- 7/set./2000, Rio de Janeiro. Proceeding... Rio de Janeiro: American Tilapia Association, ICLARM, 2000. v.2, p. 474-478.

ALMEIDA, E. S. et al. Características microbiológicas de "Pintado" (Pseudoplatystoma fasciatum) comercializado em supermercados e feira livre, no município de Cuiabá - MT. **Revista Higiene Alimentar,** v. 16, n. 99, p. 84-88, 2002.

ALMEIDA, R. C. O sistema HACCP como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. **Rev. Hig. Alim.**, v. 12, n. 53, p. 12-20, 1998.

- ALVES, L. M. C. et al. Toxinfecção alimentar por *Salmonella*Enteretidis: relato de um surto ocorrido em São Luís-MA. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 80-81, p. 57-58, 2001.
- AMATO, J.F.R.; AMATO. S.R. Sulcascaris sulcata (Nemaloda, Anisakinae) Infecting Sea Scallops Baind Exported for Southeastern Brasil. **Arq. Univ. Fed. Rural Rio de Janeiro**, Itaguai, 5 (1): 61–67, 1982
- AMATO, J.F.R.; WALTER, A. B.; AMATO, S. B.. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**, 1º ed. imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, p 81., 1991.
- APHA, American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington, APHA, 2001.
- APHA American Public Health Association. **Compendium of methods for microbiological examination of foods** (3rd ed.). Washington, D C: American Public Health Association, 1992.
- AMPOFO, J. A.; CLERK, G. C. Diversity of bacteria in sewage treatment plant used as fish culture pond in southern Ghana. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 667-675, 2003.
- ARAÚJO, R. M. et al. Relation betwen *Aeromonas* and fecal colifirmes in fresh Waters. **Journal of Applied Bacteriollogy**, Oxford. V.67, p. 213-217, 1998.
- ARAUJO, N. A.; PINHEIRO, C. U. Avaliação sócio-econômica da pesca artesanal e do potencial aquícola na região lacustre de penalva apa da baixada maranhense. **BOLETIM DO LABORATÓRIO DE HIDROBIOLOGIA**, 21:41-50. 2008
- AUSTIN, B; ADAMS C. **Fish pathogens**. In: *The Genus* Aeromonas (eds B. Austin, M. Altwegg, P.J. Gosling & S. Joseph). John Wiley & Sons, New York: 197–243, 1996.
- AYRES, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Estudos, irrigação e drenagem, 29. Revisado 1º 2º edição.Tradução H.R. Ghety e J. f. de Medeiros, UFPB, Campina Grande-PB. 153p, 1999.
- BADOLATO, E.S.G. et al. Sardinhas em óleo comestível. parte II. Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54,n. 1, p.21-26, 1994
- BARBIERI, G. **REVISTA BRASILEIRA DE ZOOLOGIA.** Dinâmica da reprodução e crescimento de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae) da Represa do Monjolinho, São Carlos/SP. Revista bras. Zool., 6 (2): 2 25- 2 33 15/VIII/1989.

- BARROS, G. C.; AMATO, J. F. R.; Larvas de anisakídeos de peixe-espada, Trichiurus lepturus I.,da costa do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Bras. Biol., 53 (2): 241-245,1993.
- BARROS, G. C. Perda de qualidade do pescado, deterioração e putrefação. **Revista CFMV**, n.30, set/dez., 2003.
- BARROS, L. A., et. al. Análise do parasitismo por Contracaecum sp. e Eustrongylides sp. em cacharas, Pseudoplatystoma fasciatum (Linnaeus, 1766) (Pisces: Pimelodidae) provenientes do rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 16, n. 2, p. 58-61, maio/ago. 2009
- BARROS, L. A. FILHO, J.M; OLIVEIRA, R.L. nematodes com potencial zoonótico em peixes com importância econômica provenientes do rio Cuianá. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.59 no. 2 Belo Horizonte Apr., 2007
- BARROS, L. A.; MORAES FILHO, J.; OLIVEIRA, R.L. Larvas de nematóides de importância zoonótica encontradas em traíras (Hoplias malabaricus Bloch,1794) no município de Santo Antonio do Leverger, MT. **Arq. Bras. Med. Vet.Zootec.**, v.59, n.2, p.533-535, 2007.
- BARROS, L. A. Parasites and parasitic diseases of South American Ciconiiforms In: *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals*. Iowa State University Press, p. 131-139, 2001
- BARROS, L. A.; TORTELLY, R.; PINTO, R.M.; GOMES, D. C. Effects of experimental infections with larvae of Eustrongylides ignotus Jäegerskiold, 1909 and Contracaecum multipapillatum (Drasche, 1882) Baylis, 1920 in rabbits. **Arq Bras Med Vet Zootec**, v. 56, n 3, p. 325-332, 2004.
- BASTI, A. A. et al. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food Control* 2006; 17: 183-188.
- BATRA, V. 1984. Prevalence of helminth parasites in three species of cichlids from man-made lake in Zambia. **Zool. J. Linn. Soc.**, 82: 319–333.
- BAUTISTA M.C.; ENGLER M. M.The mediterranean diet is it cardiognotective? Progress in cardiovascular Nursing 2005; 20(2):70-76.
- BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J.A. (Ed.) *A bacia do rio Tibagi*. Londrina: EDUEL, 2002. p. 403-423.
- BIER, O. **Bacteriologia e Imunologia**. 19^a ed. São Paulo: Melhoramentos; 1978.
- BOEGER, W. A.; KRITSKY, D. C. Phylogenetic relationships of the Monogenoidea In: LITTLEWOOD, D. T. J.; BRAY, R. A. *Interrelationships of the Platyhelminthes*. London: Taylor & Francis, 2001. p. 92-102.

- BOYD, E. F., AND D. L. HARTL, 1997 Recent horizontal transmission of plasmids between natural populations of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. J. Bacteriol. **179:** 1622–1627.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Manual de métodos de análises de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/SNLCS, 1979.
- BRASIL. Resolução nº12, de 02 jan 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan 2001
- BRASIL 2001. Ministério da Saúde, Agência de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. In: Associação Brasileira das Industrias de Alimentos. **Compêndio de Legislação de Alimentos**. Vol.1/ A. São Paulo.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA (2001). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em 3 de janeiro de 2009.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de Março de 1952, alterado pelo Decreto nº 6385, de 27 de Fevereiro de 2008). **Leis, Decretos, etc.** Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1952. 154p.
- BRASIL. EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. **Manual de métodos de análise do solos**. Rio de Janeiro, 1979.
- BRAUN, P.; SUTHERLAND, J. P. Predictive modelling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of selected Enterobacteriaceae and *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, n. 2, p. 257-266, 2005.
- BROOKS, D. R. & McLENNAN, D. A. Historical ecology: examining phylogenetic components of community evolution. *In*: RICKLEFS, R. E. & SCHLUTER, D. (Eds.) **Species diversity in ecological communities**. Chicago: University of Chicago Press, 267-280p, 1993.
- BUCHMANN, K.; LINDESTROM, T. Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. **Inter. J. Parasitol.**, Lawrence. v. 32, p.309–319, 2002.
- BUCKUP P. A.; MENEZES N. A.; GHAZZI. E M. S. Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro: Museu Nacional. 195p, 2007.

- CAMPOS, L. C. Shigella. In: TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. p. 235-238.
- CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M.C.P.B.; SERAFIM, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. **Revista Higiêne Alimentar**, v.17,n 109, p.81-87, jun 2003.
- CARMO, L.S.; DIAS, R.S.; LINARDI, V.R. et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas Cheese and raw milk in Brasil. *Food Microbiol.*, v.19, p.9-14, 2002.
- CARNAHAN, A. M. Aeromonas taxonomy: sea of change. **Medical Microbiology Letters**, v. 2, p. 206-211,1993.
- CARNAHAN, A. M., BEHMAN, S. and JOSEF, S.W.(1991) Aerokey II: a flexibile key for identifying clinical laeromonas species. J. Clin. Microbiol. 29, 2843-2849, 1991.
- CARNAHAN, A. M.; JOSEPH, S. W. *Aeromonadaceae*. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T.; GARRITY, G.M. (Eds): **The proteobacteria, Part B, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2nd edition, v.2, Springer-Verlag, New York, NY. 2005.
- CASCON, A *et al.* A major secreted elastase is essential for pathogenicity of A*eromonas hydrophila*. **Infection and Immunity**. v.68, n.6, p.3233–3241, 2000.
- CASTRO-ESCARPULLI, G.; et al. Characterization of *Aeromonas spp.* isolated from frozen fish intended for consumption in México. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 84, p.41-49, 2003.
- CARVALHO, A. A. T. Atividade inibitória da bovicina HC5 sobre as bactérias deterioradoras da polpa de manga. 2006. **Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)**, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. Disponível em:http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo= 58> acesso em 25 out. 2009.
- CATO, J. C. Economic values associated with seafood andHazard Analysis Critial Control Point (HACCP) programmes. **FAO Fisheries Techical paper. Rome: FAO**, nº311, 70 p, 1988.
- CAVACHIOLO, F. et al. Efeito da suplementação de vitamina C e vitamina E na dieta, sobre a ocorrência de ectoparasitas, desempenho e sobrevivência em larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante a reversão sexual. **Acta Sci.**, v.24, n.4, p.943-948, 2000.
- CHENG, T.C. General Parasitology. Orlando: Academic Press; 1986. 827p.

- CHIEFFI,P.P; GORLA, M.C.O. et al. Human infection by *Phagicola* sp. (Trematode, Heterophyidae) in the municipality of registro, São Paulo state, Brazil. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v. 95, p. 346 348, 1992.
- CHIEFFI,P.P; LEITE, O.H. et al. Human parasitism by *Phagicola* sp. (Trematode, Heterophyidae) in Cananéia, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 32, n.4, p. 285-8, 1990.
- CHOPRA, A. K.; HOUSTON, C. W. Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. **Microbes and infection.** v.1, n.13, p.1129-1137, 1999.
- COLWELL, R. R.; MACDONELL, M. R.; DELEY, J. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae*. fam. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology.** New York, v. 36, p. 473-477, 1986.
- CONAMA (2005). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/>. Acesso em 17.jan 2011.
- CONE, D.K.; BEVERLY-BURTON, M.; WILES, M.; DONALD, T.E. The taxonomy of *Gyrodactylus* (Monogenea) parasitizing certain salmonid fishes of North America, with description of G. nerkae n. sp. **Can. J. Zool.**, v.61, p.2587-2597, 1993.
- CONNEL, J. J. Control de la Calidad del Pescado. Zaragoza, Acribia, 1998.
- COSTA, A.B. 1998 Ictiopatologia e manejo sanitário em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., Campinas, 1998. *Anais...* Campinas: CBNA. p.73-96.
- COSTA-NETO, J. P.; BARBIERI, R. IBÁÑEZ, M. S. R.; CAVALCANTE, P. R. S.; PIORSKI, N. M. Limnologia de três ecossistemas aquáticos característicos da Baixada Maranhense. **Boletim Laboratório de Hidrobiologia**, São Luis, n. 14/15, p. 19-38, 2001/2002.
- COUTANT, C.C., 1998. What is normative for fish pathogens? A perspective on the controversy over in interactions between wild and cultured fish. *J. Aquat. Anim. Health*, Bethesda, v. 10, p. 101-106.
- CUNHA, M.R.L.S. et al. Detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 70-74, 2006.

- CVE/SES-SP, 2001. Manual das doenças transmitidas por alimento. *Anisakis simplex* e vermes relacionados. Disponível em www.cve.saude.sp.gov/htm/hidrica/anisakis.htm acesso em 15 fevereiro 2008.
- DCA. Dados climatológicos do Nordeste do Brasil.Disponível em http://www.dca.ufpb.br Acesso em 16 de agosto de 2003.
- DELAZARI, I. **Aspectos microbiológicos ligados a segurança e qualidade da carcaça de aves**. In: Semana Acadêmica Veterinária, 8., 1998, São Paulo. Anais. São Paulo: 1998. p. 71- 77.
- DIEGUES, A.C. 1983. Pescadores, Camponeses e Trabalhadores do Mar. **Povos e Mares: Leituras em Sócio- Antropologia Marítima.** São Paulo, NUPAUB- USP. São Paulo: Ática.1995
- DSMZ. Bacterial nomenclature up-to-date (approved lists, validations lists November 2009). **DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH**. Braunschweig, Alemanha.Disponível em http://www.dsmz.de/download/bactnom/bactname.pdf> Acesso em 10 de janeiro de 2010.
- DUFFY, G., M.O. CLOAK, M.G.O SULLIVAN, A. GUILLET, J.J. SHERIDAN, I.S. BLAIR AND D.A. MCDOWELL, 1999. The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella enteritidis*. on Irish retail meat products. Food Microbiol., 16: 623-631.
- EIRAS, J. C. A importância econômica dos parasitas de peixes. Higiene Alimentar. São Paulo: v. 8, n. 31, p. 11-13. 1994.
- EIRAS, J. C. Elementos de ictioparasitologia. **Porto: Fundação Eng. António de Almeida**, 1994. 339p.
- EIRAS, J. C.. **Elementos de Ictioparasitologia**. Ed. Fundação Eng. Antonio de Almeida, Porto, Portugal. 339 p. 1994.
- EIRAS, J. C.; REGO, A. A. Histopatologia da parasitose de peixes do rio Cuiabá (Mato Grosso) por larvas de Eustrongylides sp. (Nematoda, Dioctophymidae), Rev Brasil Biol, v. 48, p. 273-280, 1988.
- EIRAS, J.C.; REGO A. A. Histopatologia em peixes resultantes de infecções parasitárias. **Publ. Inst. Zool.** *Dr. Augusto Nobre*, v.208, p.1-2, 1989.
- ELEY, A. Intoxicaciones alimentarias de etiologia microbiana. Zaragoza: Acríbia,1992, p.208.
- ERGENS, R. *Gyrodactylus* from Eurasian freshwater Salmonidae and Thymolidae. **Folia Parasitol**., v.30, p.15-26, 1983.

- EBERHARD, M. L.; HURWITZ, H., SUN, A.; COLETTA, D. Intestinal perforation caused by larval Eustrongylides (Nematodo: Dioctophymatoidae) in New Jersey. Am Soc Trop Med Hig. v. 40. p. 648-650, 1989.
- FABRESSE, F. X. et al. Polyarthritis in anisakiasis. La Presse Médicale, v. 13, n. 16, p. 1004, 1984
- FARMER III, J.J; ARDUINO, M. J.; HICKMAN-BRENNER, S. W. The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. **The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria**. ed.3, v.6, p.564-596, 2006.
- FERNANDEZ DE CORRES, L.; ALDICANA, M.; DIEZ, J.M. et al. *Anisakis simplex* induces not only anisakiosis: report of 28 cases of allergy caused by this nematode. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, v.6, p.315-319, 1996
- FERRE I., (2008). Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. Departamento de Sanidad Humana y Animal, Centro de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad Cardenal Herrera, Valencia. España. **Revista Aquatic**, n. 14.
- FIGUEIRA, L. B.; CECCARELLI, P. S. Possíveis problemas de saúde devido ao uso de excretas na aqüicultura. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 63, p. 38-40, jan./fev. 2001.
- FILHO, E.S.A.; Características microbiológicas de pintado (Pseudoplastinoma fasciatum) comercializada em feira livre no município de Cuiaba-MA. Revista Higiene Alimentar.v.16,n.99 p.84-88,ago.2002.
- FLORES-CRESPO, J.; VELARDE, F.I.; FLORES-CRESPO, R. et al. Variación estacional de Dactylogyrus sp. En dos localidades productoras de tilapia del Estado de Morelos. **Téc. Pecu. Méx.**, México, v. 30, n. 2, p. 109-118, 1992.
- FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Ateneu; 2003. 250 p.
- FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia S. A. 1993.
- FURUWATARI, C. et al. Proposal for na Aeroschem (modified Aerokey II) for the identification of clinical *Aeromonas* species. **Medical Science Research**, Surrey, v.22, p. 617-619, 1994.
- GALINDO, C. L. et al. Host immune responses to *Aeromonas* virulence factors. **Currente Immunology Reviews**. v.2, p.13-26, 2006.

- GARCIA, R.G.F., GARCIA, M.M.P.F.; SCHÖNHOFEN, C.A. parasitos de peixes do litoral paranaense, 2: presença de Acanthocephala. Acta Biológica Paranaense, 12(1-4): 167-177, 1993.
- GASPAR, S. M. F. S.; NUNES, G. S.; PINHEIRO, C. U. B., AMARANTE JUNIOR, O. P. A. Avaliação de riscos de pesticidas aplicados no município de Arari, Maranhão, Brasil: base para programa de controle ambiental do rio Mearim. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, n.15, p.43-54, 2005.
- GERASEV, P. I. Principles for Revision of the Genus *Dactylogyrus* (Monogenea). *Journal of Ichthyology*, Madison, v.30, n.5, p.110-119, 1990.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e Vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 2003.
- GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M.I.S.O pescado como causa de toxinfeções bacterianas. Higiene Alimentar, 7(28):40-5,1993.
- GIBSON, D. I.; COLIN, J. A.. The *Terranova* enigma. *Parasitology*, v. 85, p. 36 37, 1982.
- GIBSON DI. The systematics of ascaridoid nematodes a current assessment. In AR Stone, HM Platt, LF Khalil (eds), *Concepts in Nematode Systematics*. *The Systematics Association Special*, Vol 22, Academic Press, New York, USA, p. 321-338, 1983.
- GUIDELLI, G.M.; ISAAC, A.; TAKEMOTO, R.M. and PAVANELLI, G.C. 2003 Endoparasite ifracommunities of Hemisorubim platyrhynchus (Valenciennes, 1840) (Piscies: Pimelodidae) of the Baia River, upper Paraná River flood plain, Brazil: specific composition and ecological aspects. Braz. J. Biol., São Carlos, 63 (2): 261-268.
- GUIMARÃES, J.L. Conservação pelo frio –refrigeração e congelamento de pescado. In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA, 2000, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: 2000. p. 176.
- GUTMAN, S.M. Caracterização do sistema de produção lavrador-pescador em comunidades rurais no entorno do Lago em Viana, na Baixada maranhense. São Luís, MA:UEMA, 2005. [Dissertação de mestrado].
- 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.

- HAMADA-SATO, N., USUI,K., KOBAYASHI,T., IMADA,C., WATANABE,E. Quality assurance of raw fish base on HACCP concept. *Food Control*, n.16, p.301-307, 2005.
- HANASHIRO, A.; Avaliação da qualidade higiênico-sanitária e nutritiva de Bentôs comercializadas no Bairro da Liberdade, São Paulo. Dissertação de mestrado. Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo: 2002
- HARTWICH. G. Keys to genera of the Ascaridoidea. In: ANDERSON; CHABAUD; WILLMOT. (eds.) *CIH keys to the nematode parasites of vertebrates.* Farnham Royal, Commonwealth Agricultural Bureau, 1974. p. 1-15
- HAVELAAR, A. H.; VONK, M. The preparation of ampicillin dextrin agar for the enumeration of *Aeromonas* in water. **Letters in Applied Microbiology**, v.7, p.169-171, 1988.
- HOFER, E. et al. Resistência a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* isoladas de água, sedimento e camarão de quatro fazendas de carcinicultura do Estado do Ceará. In: SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS, 3., 2006, Rio de Janeiro.
- HOFFMANN, R. P., **DIAGNÓSTICO DE PARASITISMO VETERINÁRIO.**Porto Alegre: Sulina, 1987, 156p.
- HOFFMAN G.L. & PUTZ, R. Studies on *Gyrodactylus macrochiri* n. sp. (Trematoda: Monogenea) from *Lepomis macrochirus*. **Proc. Helm. Soc. Wash**., 31: 76–82, 1964.
- HOLUB D.J., HOLUB B. J. Omega-3 fatty acids from fish oils an cardiovascular disease. **Molecular an cellular biochemistry**; 263 (1-2) 217-25, 2004.
- HOWGATE, P. **Chapter 16: Parasites**. Disponível em: http://seafood.ucdavis.edu/HACCP/Compendium/Chapt16.htm Acesso em: 5 de março de 2010.
- HUSS, H. H. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. In: HUSS, H. H. **Parasites**, paper 444, 2004. 229p.
- HUSS, H.H. **Garantia da Qualidade dos Produtos da Pesca.** Roma: FAO,1997. (FAO Documento Técnico Sobre as Pescas 334). Disponível em:http://www.fao.org/. Acesso em 10/09/2010
- HUSS,H.H., REILLY A, EMBAREK P. K. B. Prevention and control of hazard in seafood. **Food Control.** 2000; 11:149-156.
- HUYSE, T.; VOLCKAERT, F. A. M. Identifi cation of a hostassociated species complex using molecular and morphometric analyses, with the description of

- *Gyrodactylus rugiensoides* n. sp. (Gyrodactylidae, Monogenea). **International Journal for Parasitology,** Sydney, v. 32, n. 7, p. 907-919, Jun. 2002.
- IBAÑEZ, M. S. R. et al. Limnological characteristics of three aquatic systems of the pré-amazonianfloodplain, Baixada Maranhense (Maranhão, Brasil). **Aquatic Ecosystem Health and Management**, The Netherlands, n. 3. p. 521-531, 2000.
- IBGE. Censo Demográfico 2010. Disponível em:HTTP://WWW.ibge.gov.br/Acesso em: 02/01/2011.
- ICMSF- INTERNATIONAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD **Microrganisms in Food. I** Their significance and methods of enumeration. 2ed., Toronto: University Press. 439p, 2000.
- ICMSF International Commission On Microbiological Specifications For Foods. Sampling for microbiological analysis: **Principles and specific applications**, 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986.
- IFAS- Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Original publication date June, 1996. Reviewed May 2009. Visit the EDIS Web Site at http://edis.ifas.ufl.edu.
- INSTITUTO ADOLPHO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz: Métodos Químicos para Análise de Alimentos. 3.ed. São Paulo. 1985.
- IZIUMOVA, A.N. Oxygen regime of a basin as one of the factors influencing the biology of *Dactylogyrus solidus* and *Dactylogyrus vastator*. **Parasitologicheski Sbornik Zoologicheskovo Instituta Akad. Nauk SSSR**, 18: 295–303 (in Russian, English summary),1958.
- OLSEN, O. Wilford. Parasitologia animal. Barcelona: Aedos, p.209-210. 1977.
- JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. Envolving concepts regarding the genus Aeromonas: na expanding panorama the species, diseases presentations, and unanswered questions. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 27, p. 332-344, 1998.
- JANDA, J. M. & ABBOTT, S. L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogeniticy and infection. **Clinical Microbiology Revnews**, Washington, v. 23, p. 35–73, 2010.
- JAY, J.M. **Microbiología Moderna de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 804p.
- JOSEPH, S.W.; CARNAHAN, A.M. Update on the genus *Aeromonas*. **ASM News**. v.66, n.4. p.218-223, 2000.

- KEARN, G. C. Evolutionary expansion of the Monogenea. **International Journal for Parasitology**, Sydney, v. 24, n. 8, p. 1227-1271, Dec. 1994.
- KOHN, A. & COHEN, S. C., 1998, South American Monogenea list of species, hosts and geographical distribution. **Int. Jour. Parasitol.**, *28*: 1517-1554.
- KUBITZA, F; LOPES, T. G. G. Com palavra, os consumidores. **Revista Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, v.12, n.69. p.48-53, 2002.
- KÜHN, I. *et al.* Diversity, persistence, and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden. **Applied and Environmental Microbiology.** v.63, n.7, p.2708-2715, 1997.
- KUMAR H.S. et al. Detection of *Salmonella* spp. in tropical seafood by polymerase chain reaction. *International Journal Food Microbiology*, v. 88, p.91-95, 2003.
- LAMAITA, H.C. Freqüência de espécies de Staphylococcus, de TSST-1 e de enterotoxinas estafilocócicas em leite cru refrigerado em propriedades de Minas Gerais. 2003. 74f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LANCELLOTTI, M. Estudo epidemiológico de *Staphylococcus* spp em ambientes, água e portadores sadios e determinação da sensibilidade a antimicrobianos. 2006. 126f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) UNESP- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2006.
- LANGONI, H. et al. Flora microbiana intestinal aeróbica de peixes de diferentes hábitos alimentares. **Boletim técnico do CEPTA- IBAMA,** Pirassununga, 1999.
- LEDERER, J. Enciclopédia moderna de higiene alimentar. São Paulo, Manole Dois, 1991.
- LEITÃO, J. S. **Parasitologia veterinária**. v. 2., 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 878 p, 1983.
- LEMOS, M.; NETO FERREIRA, M.; DIAS, N.S; Sazonalidade e variabilidade espacial da qualidade da água na Lagoa do Apodi, RN .Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v.14, n.2, p.155–164, 2010.
- LESTER, R.J.G. & ADAMS, J. R. *Gyrodactylus alexanderi*: reproduction, mortality and effect on it's host *Gasterosteus aculeatus*. **Can. J. Zool.**, v.52, p.827-833, 1974.

- LIMA, C. L. et al. Estresse em peixes. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.113-117, 2006.
- LIMA, M. G.; REIS, R. B. Incidência de Salmonella spp. Comparação entre metodologias de detecção em amostras de pacu (Piaractus mesopotamicus) de rio e cultivado comercializadas no município de Cuiabá MT. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 101, p. 43-49, out. 2002.
- LINDER, C.E. *Salmonella spp.* EM SISTEMA INTENSIVO DE CRIAÇÃO DE PEIXES TROPICAIS DE ÁGUA DOCE (Dissertação): Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, São Paulo. 2002.
- LIRA, G.M. et al. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. *Higiene Alimentar*, v.15, n.84, p.67-74, 2001.
- LORENZON, C. E. Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do estado de SÃO PAULO. Dissertação. Programa de Pós- Graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da UNESP. São Paulo, 2010.
- LUPCHINSKI JR. E. et al, A importância da utilização da técnica RAPD para a identifi cação de dactilogirídeos em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arq. ciên. vet. zool.** *UNIPAR*, *Umuarama*, v. 9, n. 1, p.49-57, 2006
- LUQUE, J. L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. **Rev. Bras.Parasitol. Vet.** v.13, suplemento 1. 2004.
- LUQUE, J.L.; AMATO, J.F.R.; TAKEMOTO, R.M. Comparative analysis of the metazoan parasites of *Orthopristis ruber* and *Haemulon steindachneri* (Osteichthyes: Haemulidae) from the Southeastern Brazilian littoral: I. Structure and influence of the size and sex of hosts. *Rev. Brasil. Biol.*, São Paulo, *56*: 279-292, 1996.
- LUQUE, J. L.; POULIN, R. Use of fish as intermediate hosts by helminth parasites. *Acta Parasitol.*, v. 49, p. 353 361, 2004.
- MAALEJ, S., MAHJOUBI, A., ELAZRI, C. & DUKAN, S. (2003). Simultaneous effects of environmental factors on motile Aeromonas dynamics in an urban effluent and in the natural seawater. Water Res 37, 2865–2874.
- MACEDO, R; Distribuição inteligente. *Guia Log* [Em linha]. Ago. (2001). [Consult. 9 Abr. 2008]. Disponível em WWW: http://pt.wikipedia.org/. Acesso em 22 de maio de 2011.
- MACHADO, M. H.; PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M. Introdução ao estudo dos parasitas de peixes. Apostila. Universidade Estadual de Maringá/Nupelia. 1996.

MACHADO, M.H. et al. Influence of host's sex and size on endoparasitic infrapopulations of *Pseudoplatystoma corruscans* and *Schizodon borelli* (Osteichthyes) of high Paraná River, Brazil. **Rev. Brasil. Parasitol. Vet.**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 143-148, 1994.

MACKENZIE, K. et al. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. **Advances in Parasitology**, v. 35, p. 85-144, 1995.

MACKENZIE, K. *Gyrodactylus unicopola* Gluxhova, 1955, from yong plaice Pleurinectes platessa L., with notes on the ecology of the parasite. **J. Fish Biol.**, v.2, p.23-34, 1970.

MAJEED, K. N.; EGAN, A. F.; Mac RAE, I. C. Production of exotoxins by *Aeromonas* spp at 5°C. **Journal of Applied Bacteriology**, v.69, n.3, p.332-337, 1990.

MARGOLIS, L.; ESCH, G. W.; HOLMES, J. C.; KURIS, A. M. & SCHAD, G. A. The Use of Ecological Terms in Parasitology (Report of an Ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists). **The Journal of Parasitology**, 68(1): 131 - 133, 1982.

MARTH, E. H. Food borne illness caused by *Escherichia coli*. A REVIW j. **Food Prot**., v 45:1051-1067, 1982.

MARTINS, M.L. **Doenças infecciosas e parasitárias de peixes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 1998. (Boletim Técnico, n.3).

MARTINS M.L; et al. SEASONALITY OF Eustrongylides sp. (NEMATODA: DIOCTOPHYMATIDAE) LARVAE IN FISHES FROM PARANÁ RIVER, SOUTH-WESTERN BRAZIL. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 35(1): 29 - 37, 2009

MARTINS M.L.; ONAKA, E.M.; FENERICK Jr., J. Larvas de *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) em *Hoplias malabaricus* e *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes:Erythrinidae) de importância econômica no estado do Maranhão. In: **EMBRAPOA, 8, Anais...** Laguna, SC. p.25, 2004.

MARQUES, M. C.; SÃO CLEMENTE, S. C.; BARROS, G. C.; LUCENA, F. P. Utilização de frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematóides anisakídeos em *Trichiurus lepturus* (L.). **Revista Higiene Alimentar**, v. 9, n. 39, p. 23-28, 1995.

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

MARTINS, M.L.; SANTOS, R.S.; TAKAHASHI,H.K.; MARENGONI, N.G. and FUJIMOTO, R.YInfection and susceptibility of three fish species from the

- Paraná River, Presidente Epitácio, State of São Paulo, Brazil, to Contracaecum sp. larvae (Nematoda: Anisakidae). Acta Sci., Maringá, 25: 73-78, 2003.
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M. and FENERICK JR, J. Larval Contracaecum sp. (Nematoda: Anisakidae) in *Hoplias malabaricus* and *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Osteichthyes: Erythrinidae) of economic importance in occidental marshlands of Maranhão, Brazil. Vet. Parasitol., 127: 51–59, 2005
- MARTINS, M.L.; ONAKA, E.M. *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp.(Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae)from Rio do Peixe Reservoir, São José do Rio Pardo, São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.**,v.137, n.3-4, p.253-61, 2006.
- MAYER, B.K.; WARD, K.R. Microbiology of finfish and finfish processing. In: WARD, D.R.; HACKNEY, C.R. **Microbiology of marine food products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. Cap. 1, p.1-17.
- MERINO, S. et al. Emerging pathogens: Aeromonas spp. International Journal of Food Microbiology. v.28, p.157-168, 1995.
- MOHAMED HATHA, A.A.;LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India. *Food Microbiology*, v. 14, p. 11-116, 1997.
- MONTORO, A.; PERTERGUER, M.J.; CHIVATO, T. et al. Recidivuous acute urticaria caused by *Anisakis simplex*. *Allergy*, v.52, p.985-991, 1997.
- MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. Condições pré-disponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSI, D.M.; CASTANGNOLLI, N. (Ed) *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. São Paulo: Tec Art, 2004, p. 343-386.
- MORAVEC, F.; PROUZA, A. and ROVIERO, R. 1997 Some nematodes of freshwater fishes in Venezuela. Folia Parasitol., Prague, 44: 33-47.
- MOREIRA, N. I. B. Helmintos parasitos de peixes de lagos do médio Rio Doce, Minas Gerais, Brasil, Belo Horizonte MG. Tese de doutorado (Doutorado em Parasitologia) Curso de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2000
- MOSGOVOY, A. A. Ascaridata. In:SKRJABIN; SHIKHOBALOVA; MOSGOVOY. *Key to parasitic nematodes.* Moscow: Akademiya Nauk SSSR Publishers,. v. 2, p. 407-566, 1951.
- MOYER, N. P. (1987). Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 25,2044-2048.

- MULLER, M.I.; MADI, R.R.; UETA, M.T. Fauna helmíntica de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) nos tanques da fazenda das pedras, Campinas, SP. **In:** *EMBRAPOA*, **8.**, *Anais*... Laguna, SC. 2004. p.34, 2004.
- MURATORI, M.C.S. Consórcio suíno peixe: riscos ambiental e sanitário. Proposta alternativa para descontaminação. 2000. 71f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- NELSON, J. S.. Fishes of the world. 3rd ed. John Wiley is Sons, New York, USA, 1994.
- OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca.** São Paulo: Livraria Varela, 1999.
- NOGA, E.J. Fish Disease. Missouri, Mosby-Year Book, 1ª ed., 367p. 1995.
- NOGUEIRA, N.M.C. Estrutura da comunidade fitoplanctónica, em cinco lagos marginais do Rio Turiaçu, (Maranhão, Brasil) e sua relação com o pulso de inundação.São Carlos: Universidade Federal de São Carlos.2003. Tese(doutorado).
- NOVAK, S. M. Parasitas associados aos alimentos exóticos. **Higiene Alimentar**, 11(48): 9-11, 1997.
- OETTERER, M.; CAMARGO, R. Tecnologia de Alimentos e Nutricao. **TECNOLOGIA DOS PRODUTOS AGROPECUARIOS-ALIMENTOS**. SAO PAULO: NOBEL, 1984, v., p. 0009-0034.
- OGAWA, N.B.P.; MAIA, E.L. *Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado*. São Paulo: Livraria Varela, v.1, 430p, 1999.
- OLIVEIRA A.G ;ROCHA M.P., , MACHADO MH. Estudo do ciclo de vida de cestóides de peixes do Lago do Ingá, Maringá, PR. I. Infecção experimental com plerocercóides em aves. **Arq Mudi**.;12(Supl 1):81, 2007.
- OKUMURA, M. P.M.; PÉREZ, A. C. A.; ESPÍNDOLA FILHO, A. Principais zoonoses parasitárias transmitidas por pescado revisão. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo: v. 2, n.2, p.66-80.1999.
- OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. *Piscicultura:* fundamentos e técnicas de manejo. Guaíba: Agropecuária. 211p, 1998.
- PACHECO, T. A. et al. Análise de Coliformes e Bactérias Mesofílicas em Pescado de Água Doce. **Higiene Alimentar**, 18 (16), 68-72, 2004.
- PÁDUA, H.B. Informações sobre os Coliformes totais/ fecais e alguns outros organismos indicadores, em sistemas aquáticos. 2003. 19p. Disponível em: www.pescar.com.br/helcias. Acesso em: 15 dez, 2008.

- PALMA, J. J. C. Geomorfologia da Plataforma Continental Norte Brasileira, p. 25-51, in *Projeto REMAC. Geomorfologia da Margem Continental Brasileira e das Áreas Oceânicas Adjacentes*. PETROBRÁS/CENPES/DINTEP,Série Projeto REMAC, 7, Rio de Janeiro, 1979.
- PALU, A. P. et al. Antimicrobial resistance in food and clinical Aeromonas isolates. Food Microbiology, Oxford, v.27, p. 504-509, 2006.Pardi, M.C.; Santos, I.F.; Souza, E.R.; Pardi, H.S. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*: Riscos microbiológicos da carne, Goiânia: UFG, 1995. v.1, p.294-308.
- PALUMBO, S. A. et al. Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, n.4, p. 1027-1030, 1985.
- PAPERNA, I. Monogenea of inland water fish in Africa. Annal. Mus. Roy. d'Afr. Cent. Tervurn Belg., Ser. IN-8 **Science Zoologiques** no. 226, 131pp. 1979.
- PAVANELLI, G.C., EIRAS, R.C., TAKEMOTO, R.M. **DOENÇAS DE PEIXES PROFILAXIA, Diagnóstico e Tratamento.Maringá**: Eduem, 2 ed. 305p, 2002.PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C. TAKEMOTO, R.M. **Doenças de Peixes**.EDUEM- Editora da Universidade Estadual de Maringá. 264p. 1998.
- PAVANELLI, G.C. Relação parasito-hospedeiro em peixes de pisculturas da região de Assis, Estado de São Paulo, Brasil. 1. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Acta Sci. Biol. Sci.** Maringá. v.29, n.2, p.223-231, 2007.
- PEREIRA, A. C. S. A qualidade do gelo utilizado na conservação dos pescados e sua importância para a qualidade do pescado: estudo de revisão.2009. 31p. **Monografia** (Curso de Especialização *Latu sensu* em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal)- Universidade Castelo Branco.
- PEREIRA, K.S.; PEREIRA, J.L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 19, n.129, p. 32-34, 2005.
- PÉREZ, A. C. A. Empreendimentos piscícolas e o médico veterinário. Revista de educação continuada do CRMV-SP. São Paulo: v. 2, n. 2, p. 43-65. 1999.
- PESTANA, D.; OSTRENSKY, A. Aspectos da viabilidade econômica da aquicultura em pequena e média escala. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. (Editores). **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável,** Curitiba: GIA,. 2007, 279p. /AR
- PINTO, P. S. A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Higiene Alimentar,** São Paulo, v. 14, n. 73, p. 39-43, 2000.
- POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyver and Van Niel. In: DRIEG, N.R. (Ed.). **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1984. p. 545-548.

- PLUMB, J.A. 1997 Infectious disseases of tilapia. In: B. A. COSTA-PIERCE AND J. E. RAKOCY, (eds.). Tilapia Aquaculture in the Americas, v.1. Baton Rouge, Louisiania: World Aquaculture Society. p.212-288.
- POULIN, R. The evolution of Monogenean diversity. *International Journal for Parasitology*, Sydney, v. 32, n. 3, p. 245-254, Mar. 2002.
- PRESCOTT, L. M.; Microbiology. Appendix IV: Classification of Procaryotes according to the Second Edition of Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed. The McGraw-Hill Companies, ed.5, 2002.
- RAPINI, L.S.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S. et al. Presença de *Staphylococcus spp* produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, p.825-829, 2005.
- REGO, A. A. & SANTOS, C. P. Helmintofauna de cavalas, Scomber japonicus. Houtt., do Rio de Janeiro. **Mern. Ins. Oswaldo Cruz Rio de J**. 78: 443–448, 1983.
- REIS, M.W; DEN AANTREKER E. D. Recontamination as a source of pathogens is processed foods. International journal of Food Microbiology 2004; 91:1-11
- RHODES, M.W., I.C. ANDERSON AND H.I. KATOR. 1983. In situ development of sublethel stress in *Escherichia coli*: effects on enumeration. Appl. Environ. Microbiol. 45: 1870 1876.
- RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V.; Aeromonas. In: VIEIRA, R. H. F. **Microbiologia**, **higiene e qualidade do pescado- teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004, 380 p.
- ROHDE, K., 2005. **Mariane parasitology**. CABI., Extension Bearu Iranian Fisheries Org., pp: 322-395. pp: 565-566
- RUPPERT, E.E. & D.R. BARNES. **Zoologia dos Invertebrados.** São Paulo, Rocca, 6ª ed., 1029p, 1996.
- SAAD, S. M. I.; IARIA, S. T.; FURLANETTO, S. M. P. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, v.26, n.1, p.22-27, 1995.
- SANTANA, E.H.W; BELOTI, V.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; MORAES, L.B.; TAMANINI, R.; SILVA, W.P. Estafilococos: morfologia das colônias, produção de coagulase e enterotoxina a, em amostras isoladas de leite cru refrigerado. **Semina**: Ciências Agrárias, v.27, n. 4, p. 639-646, 2006.

- SANTOS, C. A. L. dos. A Qualidade do Pescado e a segurança dos alimentos. Trabalho apresentado no **II Simpósio de controle do pescado**, São Vicente, 2006. Disponível em: ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade_pescado.pdf>. **Acesso em: 15 de julho de 2010.**
- SANTOS, C .A. M. L **DOENÇAS TRANSMITIDAS POR PESCADO NO BRASIL.** Trabalho apresentado no Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2010. no 37º. Rio de Janeiro, RJ, 2010.
- SANTOS L. C. A. M. & RAJADURAI, P.N. The need for fish inspection and quality assurance. **FAO/INFOFISH Technical. Training Manual 1**, Kuala Lumpur, Malaysia: 33p, 1992.
- SANTOS, S.M.C.; RÊGO, R.F.; ADRIANO, E.A.; CECCARELLI, P.S.Helmintos em Peixes do Pantanal Matogrossense: Quarta Expedição do Programa Pantanal. In: VIII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 2004, Laguna SC, Brasil. Resumos do VIII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos. Londrina PR, Brasil: Copyright, p. 71, 2004.
- SANTOS, D.A. O papel do manipulador de alimentos em surtos de intoxicação alimentar causados por espécies de Staphylococcus ocorridos em quatro cidades do Estado de Minas Gerais, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2003.
- SANTOS, T. M. et al. Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físicoquímica da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*) congelada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.60 n°6 Belo Horizonte Dec. 2008
- SÃO CLEMENTE, S. C.; MATOS, E.; TORTELLY, R.; LIMA, F. C. Histopatologia do parasitismo por metacercárias de Clinostomum sp em Tamoata hoplosternum littorale (Hancock, 1828). Parasitol. Día v.22 n. 1-2 Santiago, 1998.
- SÃO CLEMENTE, S. C. et al. Análise do parasitismo de peixe espada *Trichiuris lepturus* L. do litoral do Rio de Janeiro Brasil. **Parasitologia al Día**, v. 19, n. 3/4, p. 146-149, 1995.
- SÃO CLEMENTE, S. C. et al. *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) Dollfus, 1942(Eucestoda: Trypanorhyncha) of *Prionace glauca* (Linneaeus, 1758), from the coast ofstate of Rio Grande do Sul, ando f *Coryphaena hippurus* Linnaeus, 1758, from the coast ofetate of Rio de Janeiro, Brazil. **Parasitol. al Dia.** v. 25, n.3-4, 2001.
- SÃO CLEMENTE SC, UCHOA CMA, Serra Freire NM. Larvas de anisakídeos em *Pagrus pagrus* L. e seu controle através de baixas temperaturas. *Rev Bras*

- Cienc Vet 1: 21-24, 1994.
- SCHLUNDT,J.. *New directions in foodborne disease prevention. International* **Journal of Food Microbiology** 2002; n.78, p. 3-17.
- SEMATUR Secretaria de Estudo de Meio Ambiente e Turismo. **Diagnóstico** dos principaisproblemas ambientais do estado do maranhão. São Luís: SEMATUR, 1991.
- SEN, K.; RODGERS, M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification. **Journal of Applied Microbiology.** v.97, p.1077-1086, 2004.
- SENA, M.J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema de lactoperoxidase de Staphylococcus spp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife. 75f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.
- SHIBATTA, O.A.; ORSI, M.L.; BENNEMANN, S.T.; SILVASOUZA, A.T. Diversidade e distribuição de peixes na bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M.E.;
- SILVA JR., E. A. *Manual de controle higiênicosanitário em alimentos.* 5. ed. São Paulo:Varela, 2002.
- SILVA, L. S. Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da região da Baixada Ocidental maranhense. 2010.97 f. Dissertação (Doutor em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva) -Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, 2010.
- SILVA N. D.A, JUNQUEIRA V.C.A, SILVEIRA N.F. de A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** 2ª edição. São Paulo: Varela; 2001. 295p.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA,V. C. A.; SILVEIRA,N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; ROSANA, F. S. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. 3ªEd. São Paulo: Varela; 2007. 536 p.
- SILVANO, R. A. M.1997. Ecologia de Três Comunidades de Pescadores do Rio Piracicaba (SP). Dissertação de mestrado.SIMÕES, A. C.; LOPES, R. G. Instituto de Pesca Pescado: alimento saudável, porém facilmente perecível. 2005. Disponível em: www.pesca.sp.gov.br . Acessado em 20/ 10 /2009 Siqueira, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 159 p
- SIQUEIRA, R. S. Manual de microbiologia de alimentos. 1995.

- SOUZA, A. T. S. Certificação da Qualidade de Pescados. **Biológico**, São Paulo, v.65, n.1/2, p.11-13, jan./dez., 2003.
- SPALDING, M.G., BANCROFT, G.T.; FORRESTER, D.J. The epizootiology of eustrongylidosis in wading birds (Ciconiiformes) in Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 29, p. 237-249, 1993
- STERRER, W. 1986. Phylum Gnasthotomulida. In: Sterrer, W. & Schoepfer-Sterrer, C. (eds) Marine fauna and flora of Bermuda: a systematic guide to the identification of marine organisms. Nova Iorque: John Wiley & Sons. p. 211-213, 1986.
- STRAUSS M. 1985. Health Aspects of Nightsoil and Sludge in Agriculture and Aquaculture. Part II. **Pathogen Survival**. Int. Ref. Center of Waste Disposal (IRCWD), No.4/85, 87p.
- STRIDE, R.K. Diagnóstico da pesca artesanal marinha do Estado do Maranhão. CORSUP/EDUFMA, 205 p., São Luís, 1992.
- SKINNER, R. H. The interrelation of water quality, gill parasites, and gill pathology of some fishes from south Biscayne Bay, Florida. **Fishery Bulletin**, v. 80, n. 2, p. 269-280, 1982.
- TAPHORN, D.C. The characiform fishes of the Apure River drainage, Venezuela. Monografias Cientificas del Museo de Ciencias Naturales.Guanare: BioLlania, 1992. 537 p. (Edición Especial No. 4.)
- TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; KRONKA, S.N. 2000 Fator de condição e relação hepato esplenossomática em teleósteos de água doce naturalmente parasitados. Acta Scientiarum Biological Sciences, Maringá, 22: 533-537.
- TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H. C.; MARTINS, M. L.; SILVA, E. D.; MORAES, F. R.; PERECIN, D. 1999. Hematologia de teleósteos brasileiros co infecção parasitária. I. Variáveis do *Leporinus macrocephalus* Garavelo e Britski, 1988 (Anostomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). *Acta Scientiarum 21*(2):337-342.
- THATCHER, V.E. Patologia de peixes da Amazônia brasileira. **Acta Amaz.**, v. 11, n. 1, p. 125-140,1981.
- THATCHER, V.E. 2006. **Amazon Fish Parasites.** Sofia, Pensoft Publishers, 2nd ed., 508p.
- THIEL, P. H. V.; KUIPERS, F. C.; ROSKAM, R. T. H. A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. Tropical Geographic Medicine. v. 2, p. 97-113. 1960.

TAKEMOTO, R. M.; ISAAC, A.; LIZAMA, M. de los A. P. 1998. Relação parasitohospedeiro em *Salminus maxillosus* (Osteichthyes, Characidae) da planície de inundação do alto rio Paraná, Brasil. In: V ENBRAPOA e I ELAPOA: Maringá, Resumos..., p. 146.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 4. ed. Sao Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.

TRAVASSOS, L. Contribuição ao conhecimento da evolução dos Dioctophymoidea. **Braz. Méd.**, v. 2, n. 19, p. 286-287, 1925.

TRAVASSOS, L.P. Introdução ao estudo da helmintologia. **Ed da Ver Brasil Biol.** Rio de Janeiro. 169 p., 1950.

TRAVASSOS, L.; ARTIGAS, P.T.; PEREIRA, C.Fauna helmintológica dos peixes de água doce do Brasil. **Arch. Inst. Biol.**, São Paulo, 1: 5-67, 1928.

TRAVASSOS, L. and KOHN, A. Lista dos helmintos parasitos de peixes encontrados na Estação Experimental de Biologia e Piscicultura de Emas, Pirassununga, Estado de São Paulo. Pap. Av. Dep. Zool., São Paulo, 17: 35-52, 1965.

TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.T. Relatório da 6ª excursão do Instituto Oswaldo Cruz, realizada à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em novembro de 1941. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 37, n. 3, p. 259-286, 1942.

TRAVASSOS L, FREITAS J.F.T.; BÜHRNHEIM P.F.; Trematódeos de peixes do litoral Capixaba: *Acanthocollaritrema umbilicatum* gen. n., sp. n. (Acanthocollaritrematidae fam. n.), parasito de robalo. **Atas Soc Biol Rio de Janeiro** 9: 49-51,1965.

TRAVASSOS, L. Informações sobre a fauna helmintológica de Mato Grosso. Oxyroidea, Kathlaniidae. **Folha Med.**, v. 4, n. 4, p. 29-30, 1922.

TRAVASSOS, L. Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz realizada no Estado de S. Paulo em novembro e dezembro de 1946. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 45, n. 3, p. 619-627, 1947.

TRAVASSOS, L.; KOHN, A.; COSTA, S.C.G. Excursão à Pirassununga, Estado de São Paulo. *Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro*, v. 6, n. 1-2, p. 9-11, 1962.

TRAVASSOS, L.; KOHN, A. Lista dos helmintos de peixes encontrados na Estação Experimental de Biologia e Piscicultura de Emas, Pirassununga, Estado de São Paulo. *Pap. Avulsos Dep. Zool. S. Paulo*, v. 17, p. 35-52, 1965.

TRAVASSOS, L.; PINTO, C.; MUNIZ, J. Excursão científica ao Estado de Mato Grosso na zona do Pantanal (margens dos rios São Lourenço e Cuiabá) realizada em 1922. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 20, n. 2, p. 249-269, 1927.

- TRAVASSOS, L.; TEIXEIRA DE FREITAS, J.F.; KOHN, A. *Trematódeos do Brasil.* Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1969. 886 p.
- TSAI, Y. H. *et al.* Fatal Necrotizing Fasciitis Caused by Aeromonas sobria in Two Diabetic Patients. **Clinical Orthopaedics and Related Research** v.467,846–849, 2009.
- QUIJADA, J.; LIMA, C.; AVDALOV, N. Enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América Latina. **Infopesca Internacional**, v. 24, p. 16-23, 2005.
- VANDERZANT C, SPLITTSTOESSER DF. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed. Washington: American Public Health Association (APHA); 1992.
- VARGAS, L.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; MOREIRA, H.L.M. Ocorrência de ectoparasitas em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de origem tailandesa, em Maringá-Paraná. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v.3, p.31-37, 2000.
- VARNAN, A.H.; EVANS, M.G. **Foodborne pathogens:** an illustrated text. London, Mosby Year Book, p. 235-265, 1991.
- VICENTE J.J.; PINTO, R.M. Nematóides do Brasil: Nematóides de peixes. Atualização: 1985-1998. *Rev. Bras. Zool.*, v.16, p.561-610, 1999
- VIEIRA, K.V.M; MAIA, D.C.C.; JANEBRO, D.I.; VIEIRA, R.H.S.F.; CEBALLOS, B.S.O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreocrhomis niloticus*) em filé congelados. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.
- VIEIRA, R. H. S. F. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. São Paulo: Varela, 2004.
- VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.;BARRETO, N.S.E. *et al. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo: Livraria Varela, 2003.
- VILA, J. et al. Aeromonas spp. and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. **Emerging Infectious Diseases**. v.9, n.5, p.552-555, 2003.
- VON GRAEVENITZ, A. The role of *Aeromonas* in diarrhea: a review. **Infection**. v.35,n.2, p.59-64, 2007.
- WEIBLEN, A. M., BRANDÃO, D. A. Levantamento parasitológico em *Hoplias malabaricu*s, Bloch. (1794) (traíra) de águas da região de Santa Maria RS. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 203-208, 1992.

- WHARTON, D. A.; HASSAL, M. L.; AALDERS, O. *Anisakis* (Nematoda) in some NewZealand inshore fish. **N. Z. J. Mar. Freshwater Res.,** v. 33, p. 643-648,1999.
- WHO. Control of foodborne trematode infections, report of a study group. **World Health Organization Technical Report Series**, n. 849, 1995. 157 p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION: **Food safety and foodborne illness.** Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en. Acesso em 09 de out. 2010.
- WIDJAJA, W. P.; ABDULAMIR, A. S.; SAARI, N. B.; BAKAR, F. B. A.; ISHAK. Z. B. Fatty Acids Profile of Tropical Bagridae Catfish (*Mystus nemurus*) During Storage. *American Journal of Food Technology*. v. 4, p. 90 95, 2009.
- YAMADA, S.; MATSUSHITA, S.; DEJSIRILERT, S.; KUDOH, Y. Incidence and clinical symptoms of Aeromonas associated traveller's diarrhea in Tokyo. **Epidemiology and Infection**, Cambrigde, v.119, n.2, p.121-126,1997.
- YAN, S.S. et al. An overview of *Salmonella* typing Public health perspectives. **Clinical and Applied Immunology Reviews** 4: 189- 204, 2003.
- YOKOGAWA, M.; YOSHIMURA, H. *Anisakis* like larvae causing eosinophilic granulomata in the stomach of man. American Journal Tropical Medicine. v. 14, pg. 770–773. 1965.
- YOKOGAWA, M.; YOSHIMURA, H. Clinicopathologic studies on larval anisakiasis in Japan. American Journal Tropical Medicine. v. 16, p. 723–728. 1967.
- YOKOGAWA, M.; YOSHIMURA, H. *Anisakis* like larvae causing eosinophilic granulomata in the stomach of man. American Journal Tropical Medicine. v. 14, pg.770–773. 1965.
- YOKOGAWA, M.; YOSHIMURA, H. Clinicopathologic studies on larval anisakiasis in Japan. American Journal Tropical Medicine. v. 16, p. 723–728. 1967.
- YOKOYAMA, V. A.; FURLAN, É. F; GALVÃO, J. A.; SALÁN, E. O.; OETTERER, M. Estabilidade físico-química e mercado do mexilhão (*Perna perna*) cultivado em Ubatuba SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 516-523, jul.-set., 2007
- YOUSSEF, H.; EL-TIMAWI, A. K. AHMED. Role of pathogens of freshwater fish in transmission of humans diseases. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 9, p. 739-740, 1992.

ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S.; SHIBATTA, O. A.; NUÑER, A. P. de O. Catálogo de peixes ilustrado do alto Rio Uruguai. Florianópolis: Ed. da UFSC: Tractebel Energia, 2004. 128 p