

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

**CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DA ÁGUA E DO
CAMARÃO EM DUAS FAZENDAS DE CULTIVO DE
PEQUENO E MÉDIO PORTES, NO ESTADO DO CEARÁ.**

LUCÉLIA SABOIA PARENTE

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciências Marinhas
Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira

Fortaleza – CE
Junho/2005

**CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DA ÁGUA E DO
CAMARÃO EM DUAS FAZENDAS DE CULTIVO DE PEQUENO
E MÉDIO PORTES, NO ESTADO DO CEARÁ.**

LUCÉLIA SABOIA PARENTE

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

Instituto de Ciências do Mar
Universidade Federal do Ceará

Fortaleza

2005

A ESTRADA DA VIDA

Ao longo do caminho resolvi parar,
Olhei para traz e quantas coisas boas aconteceram.

Sorrisos, beijos, abraços.

Amores, lembranças, amigos.

Também vi tristezas,

Abandonos, rejeições, imperfeições.

Coisas que não foram feitas,

Palavras que não foram ditas,

Aflições e desesperos.

Enfim tudo superado.

E quando olho à frente,

Para esse longo caminho a percorrer,

A construir,

Às vezes vem à fraqueza,

A incerteza e o medo.

Mas as forças reaparecem, do íntimo do ser já esgotado.

E este ser ainda fragilizado diante do caminho

Compreende que a vida é dinâmica e não pára,

Não espera por ninguém.

E então ele se ergue, toma novamente as rédias do seu caminho.

E segue caminhando.

Às vezes sozinho, por outras vezes acompanhado.

Porém sempre caminhando, seguindo a diante,

Sem olhar para traz.

Hilcélia Sabóia Parente

Aos meus pais
José Dílson (*In Memoriam*) e Expedita

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR.

Aos professores do Curso de Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais.

Ao Professor Antonio Aduato Fonteles Filho, pela contribuição no tratamento estatístico.

À Eliane Falavina dos Reis do Departamento de Bacteriologia da FIOCRUZ, pela contribuição na identificação das cepas de *Salmonella*.

À Fazenda Samarisco, na pessoa do Thales e a Fazenda Atlântico, na pessoa do Ricardo.

Aos colegas do Mestrado: Janaína, Isabel, Gleire, Carolina, Marcos, André, Esaú, Sérgio, Gualdino, Geraldo, Leonardo, Givanildo, Luís Ernesto, Guelson.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia do Pescado e Ambiental do LABOMAR: Cristiane, Ana Isabel, Gleire, Hilda, Cláudia, Gardene, Karla, Waleska, Suzy, Oscarina.

Às amigas Edite e Cristiane pelo apoio, amizade e contribuição.

À Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, pela disponibilidade de suas instalações, na pessoa do Professor Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental da UVA: Jozeanne, Wagner, Vinícius, Elizabette.

Aos meus irmãos: Nacélio, Hilcélia, Jocélia, pelo apoio, incentivo e amizade.

À minha tia: Francisca Leite Sabóia Vieira, pelo carinho, apoio e amizade.

À FUNCAP – Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa – pela concessão de bolsa de estudos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento dessa dissertação.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Professor Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira, pela orientação, paciência, amizade, dedicação, apoio e por toda contribuição ao longo desta pesquisa e ao longo de minha vida acadêmica.

À Professora Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, pela confiança, amizade, carinho e por toda contribuição nessa pesquisa, que mesmo distante se fez presente.

ÍNDICE

	LISTA DE TABELAS	
	LISTA DE FIGURAS	
	RESUMO	01
	ABSTRACT	02
1	INTRODUÇÃO	03
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	05
2.1	Carcinicultura	05
2.2	Sistemas de Cultivo	06
2.3	Micorganismos no viveiro	07
2.3.1	Doenças no cultivo	07
2.4	Coliformes Totais e Fecais ou Termotolerantes	08
2.4.1	<i>Escherichia coli</i>	09
2.4.2	Fatores abióticos importantes no crescimento dos coliformes	12
2.4.2.1	pH	12
2.4.2.2	Temperatura	12
2.4.2.3	Salinidade	13
2.5	<i>Salmonella</i>	13
2.5.1	Fatores abióticos	15
2.5.1.1	pH	15
2.5.1.2	Temperatura	16
2.5.1.3	Salinidade	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1	Área de estudo	17
3.2	Amostragem	17
3.3	Diluições	18
3.4	Número Mais Provável de coliformes feciais ou termotolerantes	18

3.4.1	Prova Presuntiva	18
3.4.2	Prova confirmatória para coliformes totais e fecais	18
3.4.3	Isolamento e Identificação dos Coliformes	19
3.4.3.1.1	Produção de Indol	19
3.4.3.1.2	Prova do Vermelho de Metila (VM)	19
3.4.3.1.3	Prova do Vogues – Proskauer (VP)	20
3.4.3.1.4	Teste de Citrato	20
3.5	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	21
3.5.1	Sorologia	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5	CONCLUSÕES	45
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

LISTA DE TABELAS

Tabela I - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de água de cultivo de camarão marinho nos Viveiro V1 e Viveiro V4 da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).	24
Tabela II - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de camarão marinho cultivado nos Viveiro V1 e Viveiro V4 da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).	25
Tabela III – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de água de cultivo de camarão marinho nos Viveiro V6 e Viveiro V7 da Fazenda de Médio Porte (FMP).	28
Tabela IV – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de camarão marinho cultivado nos Viveiro V6 e Viveiro V7 da Fazenda de Médio Porte (FMP).	29
Tabela V – Análise estatística dos níveis de coliforme total (CT) e coliforme fecal (CF) da água e do camarão na Fazenda de Pequeno Porte (FPP) e na Fazenda de Médio Porte (FMP).	32
Tabela VI – Análise estatística comparando a Fazenda de Pequeno Porte (FPP) com a Fazenda de Médio Porte (FMP) quanto à contaminação por coliforme total (CT) e coliforme fecal (CF) na água e no camarão.	32
Tabela VII – Parâmetros físico-químicos relativos as amostras de água oriundas dos viveiros da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).	34
Tabela VIII – Parâmetros físico-químicos relativos as amostras de água oriundas dos viveiros da Fazenda de Médio Porte (FMP).	35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Proporção das cepas de *Escherichia coli* identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V1 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará. 36
- Figura 2 –Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão cultivado, no viveiro V1 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará. 37
- Figura 3 –Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V4 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará. 38
- Figura 4 –Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V4 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará. 38
- Figura 5 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V6 – Fazenda Médio Porte, Granja –Ceará. 39
- Figura 6 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V6 – Fazenda de Médio Porte, Granja –Ceará. 40
- Figura 7 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V7– Fazenda Médio Porte, Granja –Ceará. 41
- Figura 8 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V7 – Fazenda de Médio Porte, Granja –Ceará. 41

RESUMO

O cultivo do *Litopenaeus vannamei* representa destaque comercial na aquicultura do Nordeste do Brasil. Devido o elevado crescimento deste setor, tem-se observado, nos últimos anos grandes perdas ocasionadas por doenças causadas por bactérias, uma vez que muitas doenças são veiculadas através de águas e alimentos contaminados. O objetivo desse trabalho foi avaliar as condições higiênico-sanitárias da água utilizada nos tanques de cultivo e dos camarões neles cultivados de duas fazendas de cultivo de médio e pequeno portes no Estado do Ceará e comparar as condições higiênicas entre elas. Para isso foi feita uma estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes toais (CT) e fecais (CF), quantificação de *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella*. Foram analisados dois viveiros em cada fazenda e feitas 41 coletas de água e 37 de camarão em ambas fazendas, durante os meses de março a outubro de 2004. Os resultados mostram que a contaminação por CT e CF na água dos viveiros foi igual nas duas fazendas de médio e pequeno portes, e que a contaminação por CT e CF no camarão foi maior na Fazenda de Pequeno Porte. Das 80 cepas isoladas de água de todos os viveiros 65% foram de *Escherichia coli* e das 124 cepas isoladas de camarão *E. coli* representou 58,1%. A pesquisa de *Salmonella* foi confirmada em duas amostras de água e em uma de camarão dos quatro viveiros analisados. A detecção de cepas do sorogrupo de *Salmonella* e a presença de *E. coli* nas amostras de água e camarão é preocupante, uma vez que estes patógenos são de origem fecal e seu hábitat é o trato intestinal dos animais de sangue quente. É necessário um monitoramento permanente das águas utilizadas para o cultivo de camarão, uma vez que estes patógenos são causadores de enfermidades para o homem.

Palavras-chaves: Camarão; Coliformes; *Escherichia coli*; *Salmonella*.

ABSTRACT

The shrimp species *Litopenaeus vannamei* is the single most important aquiculture resource in Northeastern Brazil. However, the rapid expansion of the activity has brought with it a number of water and food-borne bacterial diseases. The objective of the present study was to evaluate and compare the sanitary conditions of shrimp and pond water sampled at one small and one medium-sized shrimp farm in Ceará State. Thus, *Escherichia coli* was quantified by determining the most probable number (MPN) of fecal coliforms (FC) and total coliforms (TC) in a total of 41 water and 37 shrimp samples collected from two ponds at each farm between March and October 2004 and tested for *Salmonella*. FC and TC levels were roughly the same in water from the two farms, but shrimp collected from the smaller farm were more severely contaminated. Considering all four ponds investigated, 65% of the 80 strains isolated from water samples and 58.1% of the 124 strains isolated from shrimp samples could be identified as *E. coli*, while *Salmonella* was detected in two water samples and one shrimp sample. Since these pathogens are of fecal origin and inhabit the intestines of warm-blooded animals, their presence in local shrimp culture is of great relevance to public health and should be carefully monitored by the authorities to prevent contamination through human consumption.

keys -Words: Shrimp; Coliforms; *Escherichia coli*; *Salmonella*.

1. INTRODUÇÃO

A carcinicultura marinha no Brasil tem se desenvolvido significativamente nos últimos anos e apresenta excelentes condições para expansão (Vinatea *et al.*, 2003), além de se apresentar como líder em termos de produtividade do hemisfério ocidental superando o Equador e o México (Rocha *et al.*, 2003).

A aquicultura é um dos sistemas de produção de alimento que mais se desenvolve no mundo e a carcinicultura seu segmento de maior importância sócio-econômica e ambiental (FAO, 2000).

O cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, no Brasil, representa o setor de maior destaque comercial na aquicultura, sendo o nordeste responsável por 94% de toda produção nacional (Plataforma tecnológica, 2001; Rocha, 2002). O cultivo de camarão no Brasil, em 2003, atingiu 90.190 toneladas. O Ceará ocupa o segundo lugar neste agronegócio com uma produção de 12.491 toneladas, tendo uma produtividade média de 7.676 kg/ha/ano (Rocha & Rodrigues, 2004).

No Brasil, principalmente na região nordeste, a carcinicultura desempenha um papel econômico significativo com geração de emprego e renda. Apesar do elevado crescimento no setor tem – se observado, nos últimos anos, grandes perdas ocasionadas, em grande parte, por doenças causadas por bactérias.

O equilíbrio dos ambientes cultivados envolve a estreita relação entre a degradação das condições do sistema de cultivo e a diminuição da resistência imunológica provocada pelo estresse e conseqüentemente o aumento no risco do surgimento de enfermidades (Lightner *et al.*, 1998).

De um modo geral, o estresse é habitualmente referido pelos epidemiologistas como um fator iniciante de doenças em cultivos de animais (Moullac & Haffner, 2000). Os agentes estressantes podem ser de ordem física, química ou biológica e o contato com estes agentes, invariavelmente resultará na redução efetiva da resistência imunológica dos animais, aumentando assim a presença de patógenos oportunistas e a incidência e/ou severidade de inúmeras enfermidades (Brock, 1994).

A necessidade de se determinar quando um corpo d'água está contaminado por esgotos já era conhecida desde que doenças clássicas oriundas da ingestão de água contaminada, tais como febre tifóide, shigelose, amebíase e cólera eram tratadas e a causa apontava sempre para os esgotos como fonte desses patógenos. As descargas de esgotos em

águas marinhas costeiras e a sobrevivência de patógenos humanos nestes ambientes aquáticos trazem conseqüências à saúde pública (Fujioka, 1997).

Dentre os diversos microrganismos que têm sido isolados de ambientes marinhos, destacam-se *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Vibrio* sp (Mendes *et al.*, 2002).

Dentre os coliformes a *E. coli* é a bactéria mais representativa e importante, é uma enterobactéria bastante conhecida (Carranza, 1991), usada como indicador de contaminação fecal da água e do estado higiênico dos alimentos (Bell *et al.*, 1998).

E. coli é isolada dos intestinos de humanos e de fezes de animais e sua presença na água é considerada como indicadora de contaminação fecal (Bopp *et al.*, 1999).

Leclerc *et al.* (2001) afirmam que amostras de *E. coli* que colonizam o intestino humano são inofensivas. Entretanto, dentro da espécie existem variantes patogênicas que causam síndromes distintas como a diarreia, por possuírem fatores de virulência tais como, enterotoxinas e enteroadesinas.

Além dos coliformes fecais, outro indicador de contaminação fecal são as salmonelas, que de acordo com a legislação de alimentos devem estar ausentes em 25 gramas de qualquer alimento para consumo humano (ANVISA, 2001).

As salmonelas são muito difundidas, podendo estar presentes no solo, no ar, na água, em águas residuais, nos animais, em seres humanos, nos alimentos, nas fezes, já tendo sido isoladas de equipamentos industriais. Entretanto, seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos e dos animais (Siqueira, 1995).

O gênero *Salmonella* representa uma das mais importantes bactérias que causam infecções alimentares provenientes de alimentos contaminados de origem animal (Cardoso *et al.*, 2002). Ela é uma enterobactéria que pode causar infecções gastrintestinais de origem alimentar, o que torna sua presença em alimentos um relevante problema de saúde pública (Reis *et al.*, 2002).

A presente dissertação objetiva avaliar as condições higiênico-sanitárias de duas fazendas de criação de camarão de pequeno e médio porte no Estado do Ceará, através da análises do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais e sua identificação e a pesquisa de *Salmonella* nas águas dos tanques de cultivo e nos camarões cultivados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Carcinicultura

O cultivo de camarão marinho teve início na Ásia onde os fazendeiros colhiam safras provenientes dos viveiros abastecidos por mares. O cultivo moderno tal qual como conhecemos, surgiu na década de 30, quando cientistas japoneses iniciaram trabalhos de larvicultura com o camarão *Marsupenaeus japonicus*, obtendo as primeiras pós-larvas produzidas em laboratório (Shrimp EST Genome Project, 2004).

O cultivo de camarões peneídeos tem crescido desde seu começo experimental há mais ou menos três décadas, tornando-se uma indústria de bases mundiais, que proporciona não apenas centenas de milhares de empregos envolvendo mão-de-obra especializada e não especializada, mas também bilhões de dólares em renda, sendo uma fonte de produtos alimentares de alta qualidade (Lightner *et al.*, 1998).

No Brasil a carcinicultura teve início na década de 70. Entretanto a prática de cultivo de camarão em termos empresariais somente teve início nos anos 80, com a utilização de uma espécie exótica o *Penaeus japonicus*. Ainda nessa década, a falta de pesquisas que possibilitassem o alcance de uma produtividade economicamente aceitável e ante a inaptação do *P. japonicus* às baixas salinidades, a carcinicultura brasileira redirecionou seus objetivos para as espécies nativas, o *P. subtilis*, *P. schmitti*, *P. brasiliensis* e *P. paulensis*. Devido à baixa produtividade e a pouca lucratividade dessas espécies, diversas fazendas de cultivo na região Nordeste foram desativadas (Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2004).

Na década de 90 a opção pelo cultivo do *Litopenaeus vannamei*, espécie exótica nativa da costa do Pacífico, com capacidade de adaptação as mais variadas condições e locais de cultivo, contribuiu para torná-la a principal espécie da carcinicultura brasileira (Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2004).

O rápido crescimento mundial do cultivo do camarão marinho nas últimas duas décadas, notadamente nos países costeiros tropicais emergentes da Ásia e das Américas, teve e continua tendo por base de sustentação a crescente demanda do produto no mercado internacional, o atrativo nível de rentabilidade do agronegócio e sua capacidade de gerar renda, emprego e divisas para o desenvolvimento dos países produtores (ABCC, 2004).

A produtividade da carcinicultura marinha brasileira já é a maior do mundo. De um indicador anual de 1,68 t/ha em 1998, a produção brasileira alcançou o patamar de 6,4 t/ha/ano em 2003 e deverá atingir 8,0 t/ha/ano até 2005. A produtividade média dos

carcinicultores cearenses em 2002 foi a maior dentre os Estados, atingindo 7,25 t/ha (Ormand *et al.*, 2004).

Das fazendas de cultivo de camarão marinho existentes no Brasil, 97% estão situados na região Nordeste, que é responsável por cerca de 95% da produção do país (Shrimp EST Genome Project, 2004).

2.2 Sistemas de cultivos

Desde seu começo na década de 70, até os dias atuais, a carcinicultura brasileira presenciou uma forte mudança nas características do sistema de produção, na mudança de espécies cultivadas, na formulação de rações próprias e instalação de novos maquinários. Para se chegar ao atual sistema de produção, o Brasil experimentou algumas formas de cultivo que se caracterizaram, principalmente, pela densidade de estocagem (Plataforma Tecnológica, 2001).

O cultivo de camarão marinho compreende basicamente duas fases: a larvicultura, responsável pela produção de larvas e a engorda, responsável pelo crescimento do camarão até a idade comercial (Shrimp EST Genome Project, 2004).

De acordo com a densidade do tanque de engorda e do tipo de alimentação que é fornecido, o cultivo de camarões pode ser classificado em três sistemas principais:

- Sistema extensivo com densidade de pós-larvas de camarão dos viveiros de 5 a 10 camarões / m² e o alimento é natural.
- Sistema semi-intensivo com densidade de povoamento nos viveiros que varia de 20 a 50 camarões / m². Nesses cultivos são empregados alimentos naturais e suplementares, aeradores mecânicos e bandeja de alimentação.
- Sistema intensivo caracteriza-se por ter uma alta densidade de cultivo de 60 a 100 indivíduos / m², com purificação da água, uso de alimentos concentrados e aeração mecânica (Plataforma Tecnológica, 2001).

2.3 Microrganismos no Viveiro

Os microrganismos têm uma importante função nos tanques de aquicultura, particularmente em relação à produtividade, ciclagem de nutrientes, nutrição dos animais cultivados, qualidade da água, controle de doenças e do impacto ambiental de efluentes (Mariarty, 1997).

Os agentes causadores de doenças infecciosas em camarões são principalmente vírus e bactérias pertencentes à família Vibrionaceae (Bachère, 2000). Mas não são apenas estas bactérias que podem ser encontradas nos tanques de cultivo, bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae também são encontradas no ambiente de cultivo.

2.3.1 Doenças no Cultivo

No início da indústria camaroneira, doenças eram conhecidas como uma ameaça à produtividade, sendo que algumas delas causaram sérias perdas econômicas. Apesar de alguns contratemplos causados por elas, a indústria da carcinicultura continuou seu rápido crescimento (Lightner *et al.*, 1998).

O risco de doenças no camarão cultivado aumenta com o sistema de cultivo intensivo, pois há o aumento da densidade dos estoques nos tanques, e isto facilita a disseminação dos patógenos entre os viveiros (Kautsky *et al.*, 2000).

A escassez do suprimento de água limpa e a remoção insuficiente de resíduos para a sobrecarga de metabólitos, a descarga ambiental e uma baixa qualidade da água, têm afetado o camarão, tornando o mesmo mais propenso a doenças. As variações excessivas dos fatores abióticos como oxigênio, salinidade e temperatura, aumentam o estresse e a suscetibilidade a doenças (Kautsky *et al.*, 2000).

O ambiente pode variar de inóspito a ideal para o animal cultivado, favorecendo ou não agentes causadores de doenças (Lightner *et al.*, 1998).

2.4 Coliformes Totais e Fecais ou Termotolerantes

O grupo dos coliformes totais incluem bactérias Gram-negativas, não esporuladas, aeróbios e anaeróbios facultativos, em forma de bastonetes curtos capazes de fermentar a lactose com produção de ácido e gás em 24 a 48 horas a 35⁰C (Hagler & Mendonça-Hagler, 1988; Siqueira, 1995; Silva *et al.*, 2001; Mendonça-Hagler *et al.*, 2001).

O indicador microbiológico de poluição fecal mais empregado é o grupo dos coliformes que abrange um número de espécies de enterobactérias, incluídas nos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* (Mendonça-Hagler *et al.*, 2001). Os coliformes fecais ou termotolerantes crescem a temperatura de incubação elevada de 44,5⁰C, que tem como objetivo evitar o crescimento de outros microrganismos (Hagler & Mendonça-Hagler, 1988).

Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal dentro do grupo dos coliformes fecais, *E. coli* é a mais conhecida (Silva *et al.*, 2001). Esta bactéria é considerada a indicadora mais específica de contaminação fecal recente e da eventual presença de organismos patogênicos (Ministério da Saúde, 2000).

E. coli é um coliforme fecal dominante e é considerada uma inquestionável indicadora de contaminação fecal de animais de sangue quente (Bhaskar *et al.*, 1995), podendo ser usada como indicador fecal na orientação para a utilização da água para irrigação e para aqüicultura (Shafai *et al.*, 2004).

Alguns coliformes são encontrados no solo e em vegetais, e têm a capacidade de se multiplicar na água com relativa facilidade (Vieira *et al.*, 1999).

A importância da detecção de coliformes fecais na água é que nos conduz à presença de outros patógenos, tais como vírus e bactérias e sua presença indica uma contaminação por fezes (Castro *et al.*, 2002).

2.4.1 *Escherichia coli*

Em 1885, Theodor von Escherich descreveu um organismo isolado de fezes de crianças, denominado *Bacterium coli commune*, também chamado *Bacillus coli*, que em sua homenagem foi finalmente denominado *Escherichia coli* (Ashbolt *et al.*, 2001; Torre, 2004).

E. coli é uma espécie pertencente à família Enterobacteriaceae (Nataro & Kaper, 1998). Apresenta-se sob a forma de bastonetes retos de 1,1 a 1,5 µm x 2,0 a 6,0 µm, isolados ou aos pares, Gram-negativo, não esporogênico, anaeróbio facultativo. Quando móvel possui flagelos peritríquios. A temperatura ótima de crescimento é de 37⁰C (Tôrres, 2004).

O habitat e principal reservatório de *E. coli* é o trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente (Leitão, 1988). É um comensal do intestino suprimindo bactérias nocivas e participa da síntese de numerosas vitaminas. Representa 80% da flora intestinal aeróbia, sendo eliminada nas fezes, o que propicia a contaminação do solo e das águas (Germano & Germano, 2003).

Segundo CONAMA (2000), esta espécie está presente em número abundante nas fezes humanas e de animais, tendo sido isolada de esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente.

Por ser uma bactéria de origem fecal, *Escherichia coli* é um dos patógenos de maior importância nos estudos onde se deseja constatar contaminação por esgotos. Todavia à semelhança das demais bactérias, ela necessita de condições favoráveis para se desenvolver. A água do mar, devido a grande concentração de sais, pode funcionar como um fator limitante para a multiplicação da *E. coli* aliado a outros fatores, tais como a temperatura, radiação solar e competição com outros seres vivos (Vieira *et al.*, 2001).

Por não fazer parte da microbiota do pescado marinho, a presença de *E. coli* está associada à contaminação fecal da água do local de captura e/ou transporte e manuseio do pescado (Tôrres, 2004).

O sistema de classificação sorológica básica da *E. coli* compreende: antígenos O relacionados com os polissacarídeos, antígenos H relacionados com a flagelina e antígenos K relacionados com a presença da cápsula (Meng *et al.*, 2001; Bell *et al.*, 1998).

Segundo Nataro & Kaper (1998), esta bactéria foi dividida em seis grupos baseados em fatores definidos de virulência, manifestações clínicas produzidas, epidemiologia e sorotipagem. Os grupos que são reconhecidos como causadores de diarreias são: *E. coli* produtora de Shiga Toxina (ST) também referida como *E. coli* Entero hemorrágica (EHEC); *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* Enteropatogênica (EPEC); e *E. coli* Enteroinvasiva

(EIEC). Existem vários outros grupos de *E. coli* diarreia-gênica, incluindo *E. coli* Enteroagregativa (EaggEC) e difusamente agregada (DAEC) sendo que ainda existem várias outras cepas de *E. coli* produtoras de toxinas, mas o significado clínico destes organismos não é claro.

2.4.1.1 *Escherichia coli* Enteropatogênicas Clássicas (EPEC)

As *Escherichia coli* Enteropatogênicas Clássicas (EPEC) são associadas a uma diarreia intensa, principalmente em recém-nascido e lactentes jovens, geralmente acompanhada de dores abdominais, vômitos e febre. A doença pode ter duração de 6 horas até 3 dias, e o período de incubação pode variar de 17 a 72 horas (Franco & Landgraf, 2004).

A dose infecciosa não é conhecida, mas se presume ser muito baixa. Não se sabe as razões da relativa resistência de adultos e crianças mais velhas à referida infecção. Uma possibilidade é a perda de receptores específicos com a idade. As EPEC não têm sido implicadas como uma causa da diarreia dos viajantes em países com altas incidências de EPEC e ETEC. Essa resistência sugere uma base fisiológica preferencialmente à imunidade ou exposição do hospedeiro (Nataro & Kaper, 1998).

2.4.1.2 *Escherichia coli* Enterotoxigênicas (ETEC)

Escherichia coli Enterotoxigênicas (ETEC) produzem as chamadas enterotoxinas termolábil (LT) e termoestável (ST). Algumas cepas produzem as duas toxinas e outras produzem somente uma delas (Campos & Trabulsi, 1999). São uma importante causa de diarreia em países subdesenvolvidos, atinge pessoas de todas as faixas etárias, sendo um dos principais agentes etiológicos da chamada “diarreia do viajante” (Franco & Landgraf, 2004).

A doença típica tem início repentino com um curto período de incubação de 14 a 50 horas. Geralmente causa diarreias aquosas, com presença de muco ou pus, sem sangue, com febre e vômitos. Quando intensa, causa diarreia severa similar ao que se observa em infecções por *Vibrio cholerae* (Nataro & Kaper, 1998).

2.4.1.3 *Escherichia coli* Enteroinvasoras (EIEC)

As infecções causadas por *E. coli* Enteroinvasoras (EIEC) são mais frequentes em crianças maiores e adultos. O reservatório da bactéria é o próprio homem e a transmissão se faz pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados, bem como pelo contato interpessoal (Franco & Landgraf, 2004).

A patogenicidade das EIEC consiste na capacidade de invadir e se espalhar lateralmente para as células adjacentes da mucosa do cólon, onde prolifera, levando à morte celular (Campos & Trabulsi, 1999).

Em casos esporádicos, muitas cepas são provavelmente semelhantes a *Shigella* spp ou a sorogrupos de *E. coli* não patogênicas. Os sintomas provocados por EIEC são: diarreia profusa, cólicas abdominais, febre, dor de cabeça e dores musculares. O período de incubação é de 8 a 24 horas e a infecção pode durar desde dias até semanas (Bell *et al.*, 1998). Apenas uma minoria de pacientes apresenta disenteria, manifestada com sangue, muco e leucócitos nas fezes (Nataro & Kaper, 1998).

2.4.1.4 *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC)

O mecanismo de patogenicidade está associado com a produção de citotoxinas, denominadas verotoxinas (VTs) ou toxinas “Shiga – Like” (SLTs) já que são semelhantes com as toxinas produzidas pelo bacilo *Shigella dysenteria* tipo 1, que causam a disenteria bacilar (Franco & Landgraf, 2004).

A transmissão da EHEC se faz através de alimentos, água e pelo contato interpessoal. O período de incubação é de 3 a 4 dias, pode ficar incubada por um período mais longo de 5 a 8 dias ou em curto período de 1 a 2 dias descrito em surtos (Nataro & Kaper, 1998).

Habitualmente, a síndrome hemolítica urêmica (HUS) causada por EHEC é caracterizada por uma insuficiência renal aguda, anemia hemolítica e trombocitopenia, e apresentando-se em meninos com menos de 5 anos (Bell *et al.*, 1998).

2.4.1.5 *Escherichia coli* Enteroagregativa (EaggEC)

As *E. coli* Enteroagregativas (EaggEC) são definidas como cepas que não secretam enterotoxinas LT e nem ST e aderem as células HEp-2 pela sua capacidade de aderência

agregativa. A primeira descrição de EaggEC foi em Santiago no Chile nos anos 80, como causa de diarreia em crianças (Meng *et al.*, 2001).

A EaggEC pode causar danos à mucosa do intestino grosso e delgado, com período de incubação de menos de oito horas e pode durar até 18 ou 20 dias. Apresenta-se como uma diarreia com ou sem sangue, vômitos e pouca febre, sendo em algumas ocasiões necessário uma reidratação (Rodrigues-Angeles, 2002).

2.4.1.6 *Escherichia coli* Difusamente Aderente (DAEC)

O termo "*E. coli* difusamente aderente" (DAEC) foi inicialmente usado para referir-se as cepas de *E. coli* que aderem difusamente à superfície das células HEp-2. Com a descoberta da EAEC, muitos autores já reconheceram DAEC como uma categoria independente de *E. coli*, potencialmente diarreica. (Nataro & Kaper 1998).

2.4.2 Fatores Abióticos Importantes no Crescimento dos Coliformes

2.4.2.1 pH

O pH próximo do neutro propicia condições ótimas para o desenvolvimento da *E. coli*; a multiplicação pode ocorrer abaixo dos 4,4, sendo que o ótimo é de 7,5, apesar de apresentar grande tolerância a variações (Germano & Germano, 2003).

2.4.2.2 Temperatura

A temperatura é, provavelmente, o mais importante fator ambiental que afeta o crescimento microbiano (Leitão, 1988).

A *E. coli* é um mesófilo típico capaz de se desenvolver entre 7^o C e 46^o C, sendo 37^o C a temperatura ótima, embora existam cepas que possam se multiplicar a 4^o C. Não apresenta termoresistência, sendo destruída a 60^o C, em poucos segundos, mas é capaz de resistir por longo tempo em temperaturas de refrigeração (Germano & Germano, 2003).

2.4.2.3 Salinidade

A *E. coli* é relativamente sensível ao NaCl, embora estando em soluções salinas de 6,5% se desenvolvam lentamente (Germano & Germano, 2003).

Segundo Lebaron *et al.* (1994) mesmo em águas estuarinas ou marinhas, a *Escherichia coli* que é a maior representante das coliformes fecais, é capaz de conjugar em meio salino, podendo em alguns casos transferir plasmídeos, resistentes a metais pesados e diferentes antibióticos à população autóctone.

2.5 *Salmonella*

A contaminação de alimentos de origem marinha por bactérias Gram-negativas patogênicas ao homem 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 (Barreto, 2004).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e são bacilos Gram-negativos (Franco & Landgraf, 2004), não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, catalase positivo, oxidase negativo, redutores de nitrato a nitritos e geralmente móveis com flagelos peritríquios, com exceção da *S. Gallinarum* e da *S. Pullorum* (Germano & Germano, 2003).

Atualmente existem aproximadamente 2.501 sorovares de salmonela (Popoff *et al.*, 2001), dentre os quais 60% destes pertencem à subespécie entérica. A classificação das salmonelas baseia-se na hibridação DNA-DNA. A literatura mostra que ainda não há consenso definitivo. Admite-se que o gênero *Salmonella* contém uma espécie única, a *S. enterica* (Germano & Germano, 2003).

A *S. enterica* é um importante patógeno humano relacionado com a *Escherichia coli*. Alguns estudos acreditam que as mesmas divergiram de um ancestral comum há 140 milhões de anos (Ochman & Wilson, 1987). Enquanto a *E. coli* evoluiu como um organismo comensal de mamíferos e aves, a *S. enterica* tornou-se um patógeno intracelular facultativo, colonizando répteis, aves e mamíferos (Boyd *et al.*, 1997).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi). O

antígeno O localiza-se na fração lipopolissacarídica (LPS) da membrana externa, a qual é constituída de um lipídio, denominado lipídeo A, ligado a uma porção polissacarídica (cerne), de onde partem cadeias monossacarídicas (Franco & Landgraf, 2004).

Os antígenos H são de natureza protéica e também são espécies-específicos. Podem apresentar – se sob duas formas genotipicamente diferentes na mesma célula (fase 1 e fase 2). Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100°C por duas horas, enquanto que os antígenos H são termolábeis (Franco & Landgraf, 2004).

A *Salmonella* spp. é uma bactéria entérica bastante difundida, que é agente etiológico das salmoneloses transmitidas por alimentos e também causam a febre tifóide e paratifóide (Baudart *et al.*, 2000).

Embora *Salmonella* esteja presente em toda parte, seu reservatório primário é o trato intestinal (Antunes *et al.*, 2003) do homem e de animais, tais como: aves, suínos, eqüinos, roedores, anfíbios, répteis, cães, gatos, pássaros, etc (Franco & Landgraf, 2004).

Salmonella pode causar graves infecções gastrintestinais de origem alimentar, o que torna sua presença em alimentos um relevante problema de saúde pública (Reis *et al.*, 2002).

De acordo com Tauxe (1997) uma infecção emergente causada por cepas não tifóides da *Salmonella* vem aumentando a incidência, década à década, desde a Segunda Grande Guerra Mundial.

A salmonelose é uma das doenças mais freqüentes de origem alimentar (Antunes *et al.*, 2003) e uma das zoonoses mais problemáticas para a saúde pública em todo o mundo, em razão da elevada endemicidade e, sobretudo, pela dificuldade de controle (Santos *et al.*, 2002), pois leva mais à morte do que as toxinfecções provocadas por outros microrganismos (Cardoso *et al.*, 2002).

O aumento da aplicação de antibióticos em ambos, animais e humanos, acredita-se ser o grande responsável pela emergente resistência bacteriana à drogas (Duffy *et al.*, 1999).

Atualmente, *Salmonella* é um dos microrganismos mais freqüentes envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar, em diversos países, inclusive o Brasil. Na Inglaterra e países vizinhos, 90% dos casos são causados por *Salmonella*. Dados recentes publicados nos Estados Unidos, Canadá e Japão indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a cada ano (Franco & Landgraf, 2004).

Segundo Mason (1994) entre os anos de 1985 e 1989, 217 surtos de *Salmonella* Enteritidis foram registrados nos Estados Unidos, envolvendo 7.370 pacientes dos quais 44 morreram.

De acordo com Duffy *et al.* (1999), embora a maioria dos surtos envolvendo essa bactéria tenha como veículo mais freqüente aves e ovos, um grande número de alimentos inclusive carne bovina, peixe, sorvete e chocolate também têm sido implicados.

A *Salmonella* Typhimurium DT 104 tornou-se a maior causa de infecções entéricas em vários países incluindo Grã Bretanha, Estados Unidos e Canadá (Beaudin *et al.*, 2002).

Após a ingestão da *Salmonella*, esta fica na luz intestinal e penetra no epitélio do intestino delgado provocando inflamação (Germano & Germano, 2003). Ao contrário do que ocorre na febre tifóide e nas febres entéricas, nas enterocolites a penetração desta bactéria fica limitada à lâmina própria. Nestes casos, raramente observa-se septicemia ou infecção sistêmica, ficando a infecção restrita à mucosa intestinal. A resposta inflamatória está relacionada à liberação de prostaglandinas, que são estimuladoras de adenilciclase, o que resulta em um aumento de secreção de água e eletrólitos, provocando diarreia aquosa (Franco & Landgraf, 2004).

De acordo com Murase *et al.* (2000) a excreção fecal prolongada dos organismos é bem conhecida como uma consequência da infecção intestinal por *Salmonella*.

O período de incubação médio da salmonelose é de 18 horas; embora a doença ocorra entre 12-36 horas. Os sintomas podem se manifestar desde 6 horas após a ingestão do alimento contaminado ou até depois de 72 horas, sendo a manifestação clínica da doença traduzida por cólicas abdominais, náuseas, diarreia, calafrios, febre e cefaléia (Germano & Germano, 2003).

Kaku *et al.* (1995) registraram um surto envolvendo *Salmonella* Enteritidis, que afetou 211 pessoas em uma escola. O número desta bactéria no alimento foi compatível com a quantidade de células necessária para desencadear a doença (10^4 e $10^5/g$).

2.5.1 Fatores Abióticos

2.5.1.1 pH

O pH ótimo para a multiplicação das samonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas (Frango & Landgraf, 2004).

2.5.1.2 Temperatura

As salmonelas são mesófilas, com temperatura ótima no intervalo de 35 a 37⁰ C, evidenciando certo crescimento na faixa de 5⁰ a 45⁰ C. Abaixo de 10⁰ C sua velocidade de crescimento é bastante reduzida (Leitão, 1988). Vários estudos indicam, que os valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (Franco & Landgraf, 2004).

2.5.1.3 Salinidade

As salmonelas são relativamente sensíveis ao cloreto de sódio, não tolerando concentrações de sal superiores a 9% (Franco & Landgraf, 2004), tendo seu crescimento interrompido em concentrações salinas de 8%, embora células viáveis possam ser constatadas após a sua permanência durante 30 dias em salmouras a 12% de salinidade (Leitão, 1988).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de Estudo

As áreas de estudo, duas fazendas de cultivo de camarão marinho, estão localizadas no estuário do rio Coreaú no litoral Oeste do Estado do Ceará. A fazenda (01) está situada na Rodovia CE-085 que liga Sobral a Camocim Km 12, e é uma Fazenda de Pequeno Porte (FPP) com um total de nove viveiros em 25 hectares. A fazenda (02) está localizada na Rodovia Granja/Camocim-CE 085 Km 03 e é uma Fazenda de Médio Porte (FMP) contendo onze viveiros em 50 hectares.

3.2 Amostragem

Foram realizadas 41 coletas de água e 37 de camarão nas duas fazendas, num total de 78 coletas realizadas de março a outubro de 2004. Foram acompanhados dois viveiros em cada fazenda estudada, sendo que a primeira amostragem foi feita da primeira água do viveiro, ou seja, antes do povoamento dos mesmos, e a partir da segunda amostragem, foram coletadas água e camarões nos respectivos viveiros.

Os ciclos de cultivo, povoamento dos viveiros até a despesca, variaram de 130 e 180 dias. Os viveiros analisados foram acompanhados desde antes do seu povoamento com pós-larvas, fase de pós-larvas e engorda, até sua despesca. Todas as amostras foram coletadas quinzenalmente, a partir do enchimento dos viveiros.

As amostras de águas eram coletadas em garrafas de vidro esterilizadas, de cor âmbar, com capacidade para um litro, em cinco pontos diferentes de cada viveiro. As amostras de camarão eram coletadas e colocadas em sacos plásticos nos mesmos pontos em que a água era obtida. As amostras tanto de água como de camarão eram acondicionadas em caixas térmicas com gelo até chegarem no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA, onde o material era processado imediatamente após a sua chegada.

3.3 Diluições

Cada amostra de água e/ou camarão, resultante da homogeneização de cinco sub-amostras de cada ponto de coleta, foi diluída em solução salina (0,85%) estéril. As amostras de água foram diluídas tomando-se um volume de água para nove volumes de salina, compondo-se, assim, diluições de 10^{-1} a 10^{-5} . As diluições das amostras de camarão constituíram-se de 50g de material para 450mL de salina, formando-se a diluição de 10^{-1} . Por diluições sucessivas obtiveram-se as demais diluições de 10^{-2} a 10^{-5} .

3.4 Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Fecais ou Termotolerantes

O Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais (CF) foi determinado através da técnica de fermentação em tubos múltiplos (Blodgett, 2003). O teste foi realizado em três etapas distintas: prova presuntiva, prova confirmatória e prova completa ou bioquímica (Feng, 2002).

3.4.1 Prova Presuntiva

O caldo lauril sulfato triptose (Difco) foi utilizado para a prova presuntiva que após reidratação, conforme o rótulo, foi distribuído em tubos (10mL) contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos (esterilizados) em série de cinco, foram inoculados com 10mL da amostra, na primeira diluição (1:1), 1mL na segunda série de cinco tubos e 1mL nas demais diluições até a última diluição de 10^{-5} . Os tubos eram, então, incubados a 35°C por 48 horas.

3.4.2 Prova Confirmatória para Coliformes Totais (CT) e Coliformes Fecais (CF)

Os tubos positivos na prova presuntiva eram inoculados em novos tubos contendo 10mL de caldo bile verde brilhante (CBVB) (Difco), com tubos de Durham invertidos os quais foram incubados a 37°C por 48 horas. A prova foi considerada positiva pela presença de turvação no meio e ar nos tubos de Durham. Caso contrário, a prova era negativa. Nessa etapa consultava-se a tabela do NMP (Blodgett, 2003) e verificava-se o resultado para os coliformes totais (CT).

Dos tubos positivos da prova presuntiva, foram retiradas alíquotas que eram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo EC (Difco) e incubados em banho-Maria a

45°C por 48 horas para a estimativa dos coliformes fecais (CF) ou termotolerantes. De acordo com os tubos positivos, a tabela de Número Mais Provável (NMP) era consultada para que se obtivesse o NMP dos coliformes fecais (CF).

3.4.3 Isolamento e Identificação dos Coliformes

Dos tubos positivos do caldo E.C. foram retiradas alíquotas e com auxílio de uma alça de níquel cromo foram estriadas em placas de ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Merck) e incubadas à temperatura de 35⁰C por 18 a 24 horas.

As colônias que apresentaram crescimento característico de coliformes, com ou sem brilho metálico, esverdeadas ou com centro escuro abrangendo praticamente toda a colônia, foram semeadas em tubos de ensaio contendo ágar Triptose Soja (TSA) (Difco) inclinado. Os tubos de TSA foram incubados em estufa a 35 - 37⁰C por 18 a 24 horas. Após esse período as cepas isoladas foram submetidas aos testes bioquímicas do IMViC, Indol, Vermelho de Metila (VM), Vogues Proskauer (VP), Citrato de Simmons de acordo com Koneman *et al.* (1993).

3.4.3.1.1 Produção de Indol

A partir do crescimento no meio TSA, era retirado um inóculo com o auxílio de uma agulha de níquel cromo previamente flambada e esfriada e então, introduzida no meio ágar SIM (Vetec), o qual foi mantido em estufa por 24 horas a 35°C. Após esse tempo 0,2mL do reagente de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldeído) foram adicionados à cultura. O aparecimento de um anel róseo indicou a positividade da prova, caracterizando a produção de indol oriundo da degradação do aminoácido triptofano pela enzima bacteriana triptofanase.

3.4.3.1.2 Prova do Vermelho de Metila (VM)

Para a realização desta prova, foi retirada uma alíquota do crescimento em TSA com uma alça de níquel cromo e adicionada ao caldo VM-VP (Micro-MED), com incubação por 96 horas a 35°C. Após o período de incubação, foram adicionados 5 gotas do indicador de pH Vermelho de Metila. O aparecimento da cor vermelha, resulta em prova positiva, caso contrário, coloração original (amarela), a prova é negativa.

3.4.3.1.3 Prova do Vogues-Proskauer (VP)

Da cultura crescida em TSA, foi retirada uma alíquota com a alça de níquel cromo e adicionado ao caldo VM-VP (Micro-MED), sendo incubado por 48 horas a 35°C. Após o período de incubação, foi adicionado para cada 1mL do meio, 0,6 mL do reagente Barrit I (α -naftol) e 0,2 mL do reagente Barrit II (KOH a 40%). O tubo era agitado e deixado em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente. O surgimento de uma coloração rósea a vermelho, indicou prova positiva, mostrando a presença do acetil-metil-carbinol (acetoína), que através do KOH e do oxigênio atmosférico é convertida em diacetila, a qual é convertida em um complexo vermelho sob a ação catalítica do α -naftol e da creatina. Caso ocorra ausência de coloração rósea ou vermelha, a prova é negativa.

3.4.3.1.4 Teste de Citrato

Da cultura crescida em TSA, foi retirada uma alíquota com uma alça de níquel cromo previamente flambada e então, foi realizado um estriamento sobre o meio inclinado de ágar Citrato de Simmons (Vetec). Após 96 horas em estufa a 35°C, a mudança da cor verde para uma coloração azul indica a presença de produtos alcalinos no meio e uma prova da utilização do citrato como única fonte de carbono. Quando isto acontece à prova é considerada positiva, sendo que a manutenção da cor verde indica negatividade da prova.

3.5 Pesquisa de *Salmonella*

As amostras de água foram constituídas da homogeneização de 1L de água de cinco partes diferentes dos reservatórios, totalizando, portanto, 5L de água por amostra. Cada amostra era filtrada através de papel de filtro esterilizado que em seguida, era adicionado a um erlenmeyer contendo 225mL de caldo lactosado (CL) (Difco) estéril, com incubação em estufa a 35° C por 24 horas. Similarmente, cada amostra de camarão era constituída por cinco sub-amostras coletadas em cada viveiro e homogeneizadas. As amostras foram então, homogeneizadas com 225mL de caldo lactosado (CL) (Difco) através de liquidificador. Em seguida, o homogenato foi incubado em estufa a 35° C por 24 horas.

Após esse enriquecimento eram retirados 9 mL e 0,9 mL da amostra e, inoculados em 90 mL de caldo Tetrionato (TT) (Difco) e em 90 mL caldo Rappaport (RV) (Difco), respectivamente. A incubação dos erlenmeyer era feita por 24 horas, à temperatura de 35° C. Depois de observado o crescimento nesses dois caldos, eram retiradas alíquotas com auxílio de uma alça de níquel-cromo, que eram semeadas em placas de ágar Hectoen (Difco) e de ágar Macconkey (Difco).

As colônias que apresentaram crescimento característico de *Salmonella* em ágar Hectoen (coloração verde-azulada) e em ágar Macconkey (coloração esbranquiçada) foram inoculadas em ágar Ferro Açúcar Triplo (TSI) (Difco) e em ágar Lisina Ferro (LIA) (Difco). As colônias com crescimento positivo nestes meios eram semeadas em TSA (Difco), para a posterior realização do teste de sorologia.

3.5.1 Sorologia

De acordo com Silva *et al.* (2001) este procedimento é um teste dos antígenos “O” da parede celular de uma bactéria suspeita de ser *Salmonella*, utilizando o anti-soro somático polivalente (poli O:H).

Em uma lâmina de vidro foram marcados dois círculos usando lápis de marcar vidro. A partir de uma cepa suspeita de *Salmonella* crescida em TSA após 24 horas, transferiu-se uma alíquota do inóculo para cada um dos círculos demarcados. Depois foi adicionado uma gota de solução salina 0,85% estéril em cima dos inóculos e homogeneizados. Sobre um dos inóculos adicionou-se uma gota do anti-soro somático polivalente com imediata

homogeneização. A lâmina foi colocada contra um fundo preto e foram feitos movimentos delicados de inclinação e rotação da lâmina para movimentar a emulsão, observando se ocorria aglutinação (reação entre anticorpos do anti-soro com antígenos homólogos da parede celular bacteriana) no círculo que havia recebido o anti-soro. Foi comparado a aparência da emulsão do círculo com salina (sem o anti-soro) para não confundir a reação turva da emulsão com reação de aglutinação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas I e II mostram os dados do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF) relativos às amostras de água e de camarão coletadas na Fazenda de Pequeno Porte (FPP). Os teores de CT e CF variaram de <1,8 a 14.000 nas amostras de água do viveiro V1 e de <1,8 a 81.000 naquelas do viveiro V4 (Tabela I), respectivamente.

Os dados de CT e CF nas amostras de camarão da citada fazenda mostram um valor máximo de 15.000 e de 11.000/g, respectivamente, para o viveiro V1. Para o viveiro V4 este dados foram de 11.000/g para CT e de 4.600/g para CF. Os valores mínimos variaram de 23 coliformes totais/g e <3,0 para CF no viveiro V1, enquanto no V4 o mínimo de CT foi de 75 e <3,0/g para CF (Tabela II).

A Resolução 357 (CONAMA, 2005) preconiza que águas salobras, onde há pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo, não poderão exceder um limite de 2.500 coliformes termotolerantes por 100mL. Comparando os dados do presente trabalho com o que estabelece a citada Resolução, observamos que apenas uma (10%) amostra da água do viveiro V1 ficou acima de 2.500 CF/100mL.

A pesquisa de coliformes fecais ou termotolerantes nos alimentos fornece-nos, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e é a melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (Landgraf, 2004). Para Torres (2004), a principal causa de doenças diarreicas é a ingestão de alimentos e/ou águas contaminadas por microrganismos patogênicos, sendo *E. coli* um dos principais agentes etiológicos das infecções entéricas.

Com a pesquisa de CT e CF, podemos avaliar as condições higiênico-sanitárias da água de cultivo devido à influência que as condições microbiologias exercem na qualidade sanitária da água. Segundo Shumway *et al.* (2003), o monitoramento do nível de CF é usado como indicador para a presença de bactérias patogênicas na água. Vieira & Torres (2004) afirmam que as bactérias do grupo dos coliformes têm sido consideradas como indicadoras de poluição fecal em águas.

Tabela I - Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de água de cultivo de camarão marinho no Viveiro V1 e Viveiro V4 da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).

Coletas	Data	NMP/100mL	
		Coliforme Total	Coliforme Fecal
VIVEIRO – 01			
1	17/3/2004	<1,8	<1,8
2	03/04/2004	2100	<1,8
3	17/4/2004	780	<1,8
4	8/5/2004	370	<1,8
5	15/5/2004	<1,8	<1,8
6	29/5/2004	<1,8	<1,8
7	12/6/2004	<1,8	<1,8
8	26/6/2004	<1,8	<1,8
9	10/07/2004	<1,8	<1,8
10	16/07/2004	14000	7900
VIVEIRO – 04			
1	01/03/2004	<1,8	<1,8
2	17/03/2004	780	780
3	03/04/2004	2400	2400
4	17/04/2004	680	<1,8
5	08/05/2004	930	<1,8
6	15/05/2004	<1,8	<1,8
7	29/05/2004	81000	<1,8
8	12/06/2004	1800	<1,8

Tabela II – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de camarão marinho cultivado no Viveiro V1 e Viveiro V4 da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).

Coletas	Data	NMP/g	
		Coliforme Total	Coliforme Fecal
VIVEIRO – 01			
1	03/04/2004	15000	11000
2	17/4/2004	2400	430
3	8/5/2004	150	38
4	15/5/2004	>1100	3,0
5	29/5/2004	93	3,6
6	12/6/2004	210	3,6
7	26/6/2004	23	<3,0
8	10/07/2004	1100	<3,0
9	16/07/2004	9300	9300
VIVEIRO – 04			
1	17/03/2004	11000	4600
2	03/04/2004	4600	4600
3	17/04/2004	110000	4600
4	08/05/2004	2700	280
5	15/05/2004	24000	430
6	29/05/2004	75	23
7	12/06/2004	4600	<3,0

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) estabelece para crustáceos refrigerados ou cozidos um índice de coliforme termotolerante máximo de $10^2/g$. No viveiro V1 três amostras (33,3%) apresentaram um índice de coliformes termotolerantes acima do permitido, enquanto no viveiro V4 cinco amostras (71%) tiveram esse índice acima do estabelecido pela ANVISA. A presença de várias bactérias patogênicas, semelhante ao presente estudo, têm sido evidenciadas em alimentos e, em particular em camarão (Reis *et al.*, 2004; Bhaskar *et al.*, 1995; Hatha *et al.*, 2003), fato que se reveste de grande importância visto que expõe o consumidor a vários tipos de agentes causadores de infecções.

A presença de coliformes fecais ou termotolerantes refere-se a uma indicação de contaminação fecal e a possível presença de patógenos microbianos. Para Pádua (2003), o monitoramento dos níveis de CT e CF ao nível de saúde pública são obrigatórios quando os produtos são destinados à alimentação humana.

Pela variação dos índices de CF observados nos camarões dos viveiros V1 e V4 da Fazenda de Pequeno Pote, podemos supor, que de alguma forma estes tanques estão recebendo carga microbiana, quer seja de humanos ou de animais. De acordo com Mussel & Garcia (1993); Muratori, *et al.* (2004), a ocorrência de coliformes fecais ou termotolerantes no pescado é um indicativo da eventual presença de enteropatógenos e das condições higiênico-sanitárias do produto, ou seja, indica que estes foram capturados em ambientes com elevados índices de contaminação bacteriana.

A qualidade sanitária de pescados é influenciada pelos seus hábitos alimentares e pelos microrganismos que estão presentes no ambiente (Cahill, 1990), sendo que populações microbianas associadas ao intestino de camarões podem estar diretamente relacionadas à poluição ou a contaminação das águas em que vivem (Pagnocca *et al.*, 1989).

Os dados referentes à Fazenda de Médio Porte (FMP) relativos ao NMP de CT e CF da água de cultivo e nas amostras de camarão encontram-se nas tabelas III e IV. Os NMPs relacionados as amostras de água coletadas no viveiro V6 mostram um valor mínimo de $<1,8$ e um valor máximo de 240.000 para CT, enquanto que para CF houve uma variação de $<1,8$ a 140.000/100mL. No viveiro V7 o CT da água atingiu um máximo de 180.000 e um mínimo de $<1,8$ enquanto para CF o mínimo permaneceu de $<1,8$ e o máximo atingiu 1.800 coliformes fecais por 100mL (Tabela III).

De acordo com o limite recomendado pelo CONAMA (2005), (2.500 CF/100mL) apenas uma (10%) amostra do viveiro V6 ficou acima desses valores.

A variação de coliformes CT e CF ocorrida em todos os viveiros demonstra que o aporte de material orgânico recebido pelos tanques é variável. Considerando que Vieira *et al.* (2001) assinalam que o elevado número de coliformes está correlacionado a uma maior concentração de material orgânico no ambiente, pode-se deduzir que os citados viveiros estão recebendo freqüentemente nutrientes que favorecem o aumento dos coliformes na água e nos camarões.

Nas amostras de camarão oriundas do viveiro V6 o valor de 24.000 para CT por grama foi o mais elevado, sendo que o menor valor foi de 20 coliformes totais por grama. Para CF o valor máximo foi de 21.000 e o menor foi de <3,0. No viveiro V7 CT e CF variaram de 75 a >1.100 e de <3,0 a 4.600, respectivamente. Considerando o que estabelece a ANVISA (2001), já citada acima, duas amostras do viveiro V6 e duas do viveiro V7 estariam acima do limite permitido (Tabela IV).

Reis *et al.* (2004), estudando camarão de água doce, encontraram altos índices de CT e CF variando de <3,0 a >1.100/g e de <3,0 a 460/g respectivamente. Bhaskar *et al.* (1995) em seus estudos com camarão cultivado obtiveram índices de CT e CF variando de 84 a 920 CT/g e de <3,0 a 540 CF/g respectivamente. Semelhante variação foi observada no presente estudo, tanto para CT e CF/g. A microbiota de peixes e camarões recém-capturados reflete a qualidade microbiológica da água de onde foram retirados.

Os viveiros V1 (FPP) e V6 (FMP) apresentaram elevados níveis de CT e CF tanto para as amostras de água como para as de camarão na ocasião da despesca, ou seja, na última coleta. Putro *et al.* (1990) em estudos realizados no momento da despesca, encontraram o índice de CT e CF mais elevado no camarão do que na água.

Tabela III – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de água de cultivo de camarão marinho no Viveiro V6 e Viveiro V7 da Fazenda de Médio Porte (FMP).

Coletas	Data	NMP/100mL	
		Coliforme Total	Coliforme Fecal
VIVEIRO – 06			
1	08/05/2004	14000	<1,8
2	15/05/2004	1400	400
3	29/05/2004	4700	1100
4	12/06/2004	<1,8	<1,8
5	26/06/2004	<1,8	<1,8
6	10/07/2004	7800	<1,8
7	24/07/2004	1100	200
8	07/08/2004	400	<1,8
9	21/08/2004	450	<1,8
10	31/08/2004	240000	140000
VIVEIRO – 07			
1	08/05/2004	180000	1800
2	15/05/2004	2700	450
3	29/05/2004	<1,8	<1,8
4	12/06/2004	450	200
5	26/06/2004	<1,8	<1,8
6	10/07/2004	200	<1,8
7	24/07/2004	200	<1,8
8	07/08/2004	400	<1,8
9	21/08/2004	400	<1,8
10	04/09/2004	2200	<1,8
11	18/09/2004	<1,8	<1,8
12	02/10/2004	<1,8	<1,8
13	04/10/2004	<1,8	<1,8

Tabela IV – Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Total e Fecal detectados nas amostras de camarão marinho cultivado no Viveiro V6 e Viveiro V7 da Fazenda de Médio Porte (FMP).

Coletas	Data	NMP/g	
		Coliforme Total	Coliforme Fecal
VIVEIRO – 06			
1	15/05/2004	24000	21000
2	29/05/2004	>1100	15
3	12/06/2004	430	<3,0
4	26/06/2004	290	43
5	10/07/2004	150	<3,0
6	24/07/2004	240	93
7	07/08/2004	21	<3,0
8	21/08/2004	20	<3,0
9	31/08/2004	100	210
VIVEIRO – 07			
1	15/05/2004	29000	4600
2	29/05/2004	>1100	43
3	12/06/2004	150	9,2
4	26/06/2004	2400	380
5	10/07/2004	430	<3,0
6	24/07/2004	21	3,6
7	07/08/2004	210	<3,0
8	21/08/2004	200	<3,0
9	04/09/2004	430	<3,0
10	18/09/2004	150	<3,0
11	02/10/2004	93	<3,0
12	04/10/2004	75	3,6

O NMP de CF em todas as amostras de água e camarão analisadas nas fazendas de médio e pequeno porte, se mostrou relativamente baixo, com exceção do viveiro V4, que apresentou os maiores níveis de CF para as amostras de água e de camarão. Cruz *et al.* (1990), em pesquisas com camarão cultivado, encontraram ausência de coliformes fecais nos tanques de cultivo, e no camarão *Penaeus monodom* (Fonseka e Widanapathirana, 1990).

Comparando-se os resultados obtidos nas análises feitas na Fazenda de Médio Porte (FMP) e na Fazenda de Pequeno Porte (FPP) quanto ao NMP de CF, pode-se observar que ambas apresentaram um baixo teor de CF na água dos viveiros. Isto pode ser explicado pelo trabalho de Davis & Evison (1991) quando afirmaram que vários fatores podem causar o decréscimo do número de bactérias entéricas presentes em águas ambientais, incluindo sedimentação, predação, luz solar, temperatura, salinidade e deficiências nutritivas.

Segundo Martins *et al.* (2002), a presença de bactérias coliformes no pescado é considerada como sinal de contaminação por dejetos orgânicos e indica possível contaminação por bactérias patogênicas, podendo causar gastroenterites.

Segundo Grimes *et al.* (1986) a descarga de esgotos em áreas estuarinas e marinhas representa grave risco para a saúde pública. Algumas das situações resultantes desses aportes são a presença de nutrientes que estimulam a multiplicação de patógenos autóctones, além de substâncias químicas tóxicas para algumas espécies de bactérias, favorecendo populações resistentes aos agentes químicos.

Comparando as duas fazendas quanto ao nível de CF no camarão cultivado, observamos que o viveiro V4 (FPP) apresentou cinco (71%) amostras com valores acima de 10^2 CF/g, sendo seguido pelo viveiro 06 (FMP) apresentando duas (22,2%) amostras com valores acima de 10^2 CF/g. De acordo com Huss (1997), os microrganismos encontram-se na superfície externa do corpo (casca) e no trato intestinal do camarão, e os processos de descabeçamento, retirada do trato intestinal, reduzem significativamente a carga microbiana.

Na Tabela V estão os resultados estatísticos relativos à comparação da carga de coliformes entre amostras de água e de camarão na Fazenda de Pequeno Porte (FPP) e na Fazenda de Médio Porte (FMP). Observando os valores de CT e CF entre as amostras de água e camarão na Fazenda de Pequeno Porte, podemos observar que há uma diferença significativa, sendo maiores no camarão que na água. Na Fazenda de Médio Porte os níveis de CT e CF mostraram-se iguais na água e no camarão (Tabela V).

Comparando-se os teores de CT e CF das amostras de água entre as duas fazendas (Tabela VI) observa-se que não há diferença significativa, entretanto, os níveis de CT e CF do camarão da Fazenda de Pequeno Porte foram significativamente superiores aos da Fazenda de Médio Porte. Alguns fatores, como a presença de animais dentro e no entorno da fazenda, manejo inadequado e presença de aves nas proximidades dos viveiros, contribuíram para que os níveis de CT e CF se mostrem mais elevados nos camarões cultivados na Fazenda de Pequeno Porte.

Comparando todos os viveiros quanto aos níveis de CT e CF nas amostras de água e de camarão, verificou-se que não há correlação, mas podemos constatar que os índices de CT e CF foram mais elevados no camarão do que na água (Tabela VI). Bhaskar *et al.* (1995) encontraram o NMP de CT mais elevado no camarão do que na água, sendo os dados observados neste estudo compatíveis com os encontrados pelo autor.

Tabela V – Análise estatística dos níveis de coliforme total CT e coliforme fecal CF da água e do camarão na Fazenda de Pequeno Porte (FPP) e na fazenda de Médio Porte (FMP).

	Fazenda de pequeno porte		Fazenda de médio porte	
	Água	Camarão	Água	Camarão
COLIFORMES TOTAIS				
Média	4,503	7,419	5,487	5,703
Variância	14,395	5,675	14,294	3,806
Valor de t	2,642		0,235	
Valor de P	0,0126		0,8153	
Significância	Significante		Não-significante	
COLIFORMES FECAIS				
Média	1,790	4,698	2,541	2,851
Variância	7,819	11,110	10,545	6,956
Valor de t	2,765		0,345	
Valor de P	0,0094		0,7319	
Significância	Significante		Não-significante	

Tabela VI – Análise estatística comparando a Fazenda de Pequeno Porte (FPP) com a Fazenda de Médio Porte (FMP) quanto à contaminação por coliforme total (CT) e coliforme fecal (CF) na água e no camarão.

	Água		Camarão	
	FPP	FMP	FPP	FMP
COLIFORMES TOTAIS				
Média	4,504	5,487	7,419	5,703
Variância	14,392	14,294	5,675	3,806
Valor de t	0,825		2,408	
Valor de P	0,4143		0,0214	
Significância	Não-significante		Significante	
COLIFORMES FECAIS				
Média	1,791	2,541	4,698	2,851
Variância	7,819	10,545	11,110	6,956
Valor de t	0,780		1,883	
Valor de P	0,4402		0,0680	
Significância	Não-significante		Significante	

As tabelas VII e VIII, mostram os parâmetros físico-químicos (temperatura, pH e salinidade), que foram medidos durante as amostragens de água nos tanques de cultivo de camarões nos viveiros da Fazenda de Pequeno Porte (FPP) e nos viveiros da Fazenda de Médio Porte (FMP).

As temperaturas da água verificadas durante as coletas nos tanques de cultivo variaram de 27,7^o C a 32,0^o C (Tabelas VII e VIII), situando-se na faixa das mesófilas, favorecendo o crescimento das coliformes. Esta faixa de temperatura possibilita o crescimento normal das coliformes, pois situa-se no intervalo das mesófilas não sendo portanto um fator que viesse a influir na quantificação das coliformes nos respectivos viveiros. Bhaskar *et al.* (1990 e 1995), encontraram em viveiros de cultivo de camarão, uma variação de temperatura entre 26,0^o C a 32,0^o C. Dessa forma não há por que se pensar numa possível influência da temperatura das águas dos viveiros estudados frente à população dos coliformes.

O pH, que variou de 5,4 a 9,6 (Tabelas VII e VIII), é um parâmetro muito importante a ser considerado em aqüicultura, já que possui um profundo efeito sobre o metabolismo e processos fisiológicos de peixes, camarões e outros organismos aquáticos (Arana, 1997).

Dos 37 valores medidos para o pH das amostras de água, 91% situaram-se na faixa alcalina, sendo que em apenas três amostras o pH foi inferior a 6,0. Pela simples observação entre os valores de pH e o NMP dos coliformes, pode-se inferir que aqueles não tiveram influência sobre a população de coliformes, pois não há uma tendência lógica entre valor de pH e quantidade de coliforme. Aliás, Jay (1986) cita que os coliformes desenvolvem-se dentro de uma ampla faixa de pH que varia de 4,4 a 9,0.

A salinidade das amostras de todos os viveiros variou de 0 a 11,2‰ (Tabelas VII e VIII), sendo que 45% das 37 amostras tiveram um valor zero. Segundo Breveridge (1996), a água do mar tem salinidade de 30‰ a 35‰, já as águas estuarinas podem variar de 0‰ a 30‰. Se as águas marinhas ou estuarinas forem colocadas dentro de tanques de aqüicultura, a evaporação pode incrementar a salinidade (Arana, 1997). Segundo Barbosa & Torres (1998) os coliformes podem crescer normalmente até em 0,05% de salinidade, podendo, contudo suportar salinidades mais altas. Devido a irregularidades entre os valores de salinidade e a população de coliformes, observa-se que para os valores encontrados não há nenhuma relação entre os dois parâmetros.

Tabela VII – Parâmetros físico-químicos relativos as amostras de água oriundas dos viveiros da Fazenda de Pequeno Porte (FPP).

Coleta	Data	Temperatura (⁰ C)	pH	Salinidade (‰)
VIVEIRO – 01				
1	17/3/2004	–	–	–
2	03/04/2004	30,0	7,0	Zero
3	17/4/2004	30,1	9,6	Zero
4	8/5/2004	30,0	9,6	2,0
5	15/5/2004	30,8	8,4	2,0
6	29/5/2004	29,5	7,6	2,0
7	12/6/2004	29,1	6,1	3,0
8	26/6/2004	29,5	5,7	4,0
9	10/07/2004	29,5	6,0	5,0
10	16/07/2004	29,4	7,2	5,0
VIVEIRO – 04				
1	01/03/2004	–	–	–
2	17/03/2004	30,0	7,0	2,0
3	03/04/2004	30,0	7,0	Zero
4	17/04/2004	30,1	9,4	Zero
5	08/05/2004	30,0	8,4	2,0
6	15/05/2004	30,1	8,7	3,0
7	29/05/2004	29,1	7,5	2,0
8	12/06/2004	29,0	6,5	4,0

Tabela VIII – Parâmetros físico-químicos relativos as amostras de água oriundas dos viveiros da Fazenda de Médio Porte (FMP).

Coleta	Data	Temperatura (°C)	pH	Salinidade (‰)
VIVEIRO – 06				
1	08/05/2004	–	–	–
2	15/05/2004	30,0	8,2	Zero
3	29/05/2004	30,0	8,2	Zero
4	12/06/2004	28,9	7,7	0,3
5	26/06/2004	29,5	7,1	0,7
6	10/07/2004	30,1	6,3	0,4
7	24/07/2004	29,4	5,8	Zero
8	07/08/2004	28,6	6,0	Zero
9	21/08/2004	28,9	7,2	Zero
10	31/08/2004	32,0	8,2	3,0
VIVEIRO – 07				
1	08/05/2004	–	–	–
2	15/05/2004	29	8,3	Zero
3	29/05/2004	30,6	8,3	Zero
4	12/06/2004	29,7	7,1	Zero
5	26/06/2004	30	7,7	Zero
6	10/07/2004	30	6,2	Zero
7	24/07/2004	29,1	5,4	Zero
8	07/08/2004	27,9	6,3	Zero
9	21/08/2004	27,7	7,2	Zero
10	04/09/2004	28,3	7,2	2,0
11	18/09/2004	29,0	7,7	7,0
12	02/10/2004	28,3	8,0	11,0
13	04/10/2004	32	8,2	11,2

Nas figuras 1 e 2 é apresentada a distribuição de coliforme referente as amostras de água e camarão no viveiro V1 da Fazenda de Pequeno Porte (FPP), respectivamente. Das 16 cepas de coliformes isoladas da água 75% eram de *Citrobacter* e 25% de *E. coli* (Figura 1). Nas 27 cepas isoladas de camarão, a espécie prevalente foi *E. coli* (48,1%), seguida de *Klebsiella* (22,2%), *Citrobacter* (18,5%) e *Enterobacter* (11,2%) (Figura 2). Os gêneros *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* não são de origem exclusivamente fecal, podendo ser encontrados também na vegetação e no solo, razão pela qual não se caracterizam especificamente como indicadores de contaminação fecal (Geldreich, 1996).

O uso de *E. coli* como um indicador de contaminação de origem fecal presente em água foi proposto em 1892, uma vez que esse microrganismo é encontrado no conteúdo intestinal do homem e de animais de sangue quente (Landgraf, 2004).

A *E. coli* da microbiota do intestino humano e de outros animais de sangue quente pode contaminar, colonizar e subsequenteamente causar infecções intestinais (Dias *et al.*, 1994) quando ingeridas através de alimentos e águas contaminados. A presença destas bactérias em águas marinhas ou estuarinas, implica na constatação de um aporte contínuo de dejetos (Hagler & Hagler, 1988).

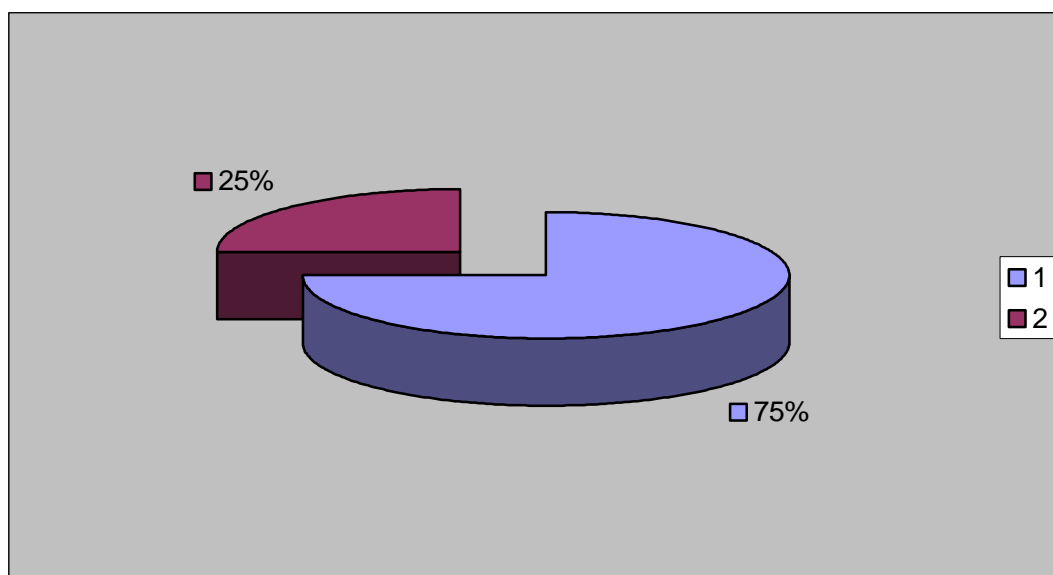


Figura 1 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V1 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará.

- 1- *Citrobacter*
- 2- *Escherichia coli*

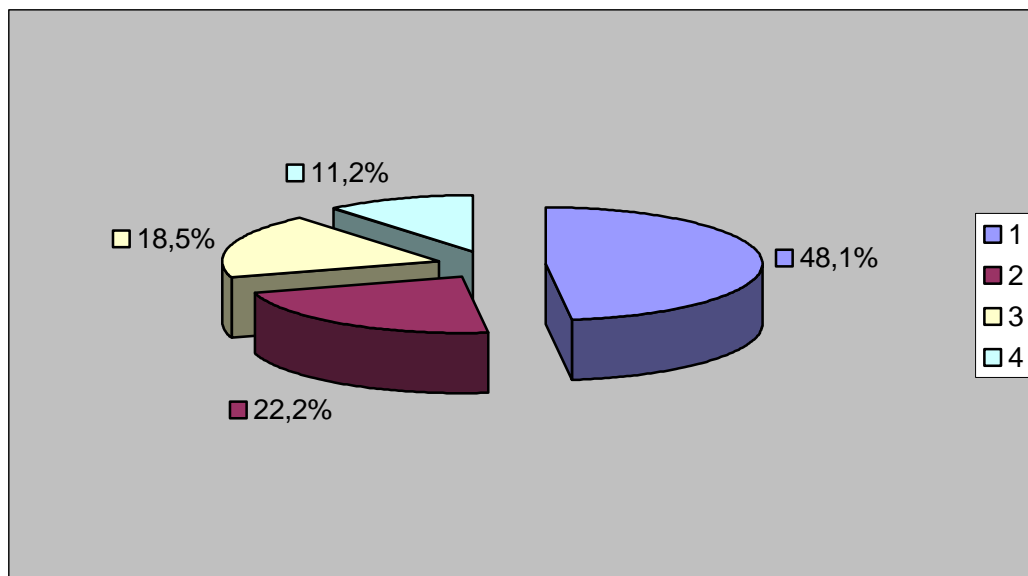


Figura 2 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão cultivado, no viveiro V1 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Klebsiella*
- 3- *Citrobacter*
- 4- *Enterobacter*

As figuras 3 e 4 mostram a distribuição das várias espécies de coliformes isoladas da água e do camarão referentes ao viveiro V4 (FPP). Das 30 cepas isoladas das amostras de água *E. coli* (80%) foi predominante sobre *Klebsiella* (20%) (Figura 3). Enquanto que das 41 cepas isoladas das amostras de camarão, verificou-se a presença mais elevada de *E. coli* (53,6%) em relação a outras enterobactérias como *Enterobacter* (26,8%), *Klebsiella* (12,2%) e *Citrobacter* (7,3%) (Figura 4).

Segundo Borges *et al.* (2002) a observação de coliformes, considerados como bons indicadores biológicos em qualquer água, é indício do risco de existência de patógenos da família Enterobacteriaceae, fato aceito pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e por Órgãos Nacionais de Meio Ambiente e Vigilância Sanitária.

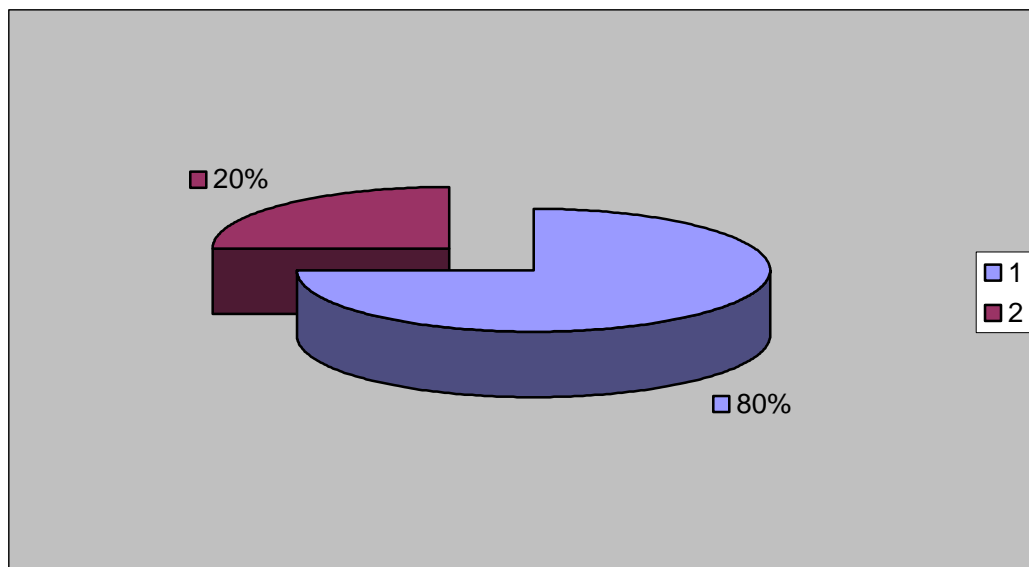


Figura 3 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V4 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Klebsiella*

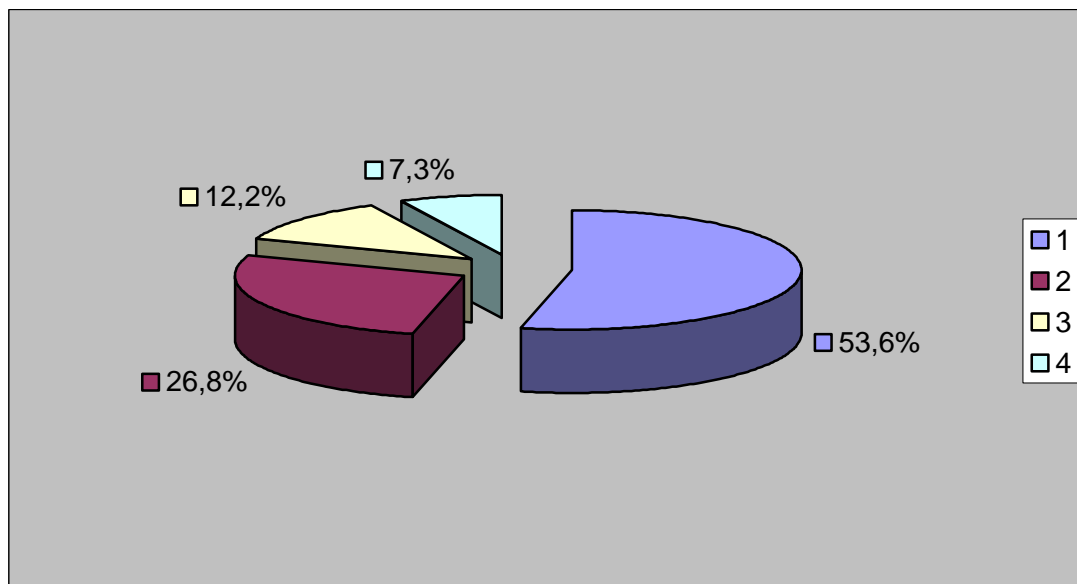


Figura 4 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V4 – Fazenda de Pequeno Porte, Camocim –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Enterobacter*
- 3- *Klebsiella*
- 4- *Citrobacter*

A distribuição das coliformes isoladas das amostras de água e de camarão do viveiro V6 (FMP) está representada nas figuras 5 e 6. Nas amostras de água foram isoladas 20 cepas, das quais a *E. coli* (85%) foi predominante em relação a *Enterobacter* (10%) e *Citrobacter* (5%) (Figura 5). Nas 31 cepas isoladas de camarão, a espécie *E. coli* (71%) apresentou-se de forma dominante em relação as demais enterobactérias, *Enterobacter* (22,6%) e *Klebsiella* (6,4%) (Figura 6).

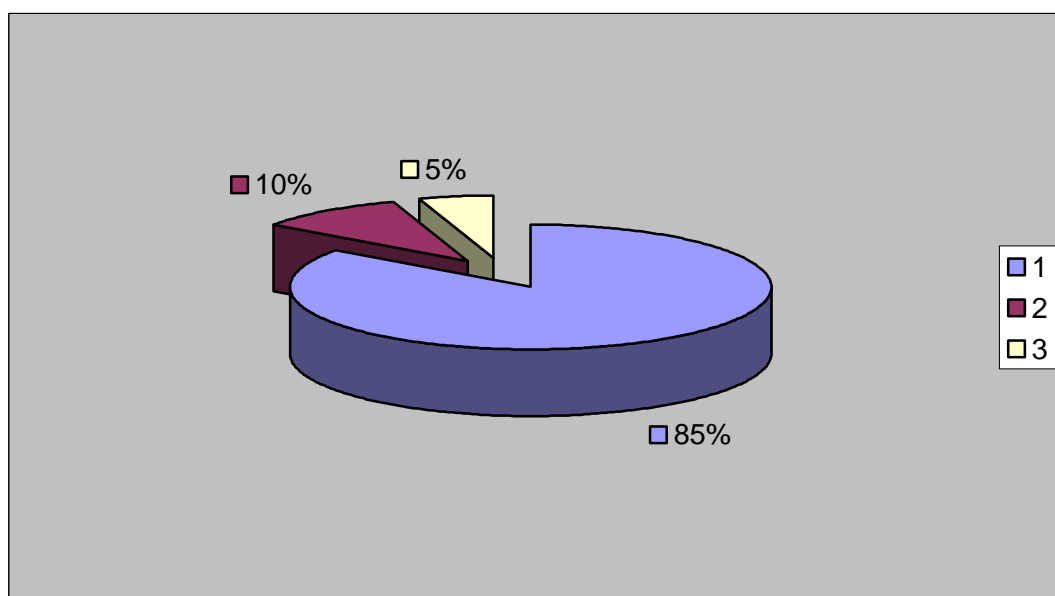


Figura 5 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V6 – Fazenda Médio Porte, Granja –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Enterobacter*
- 3- *Citrobacter*

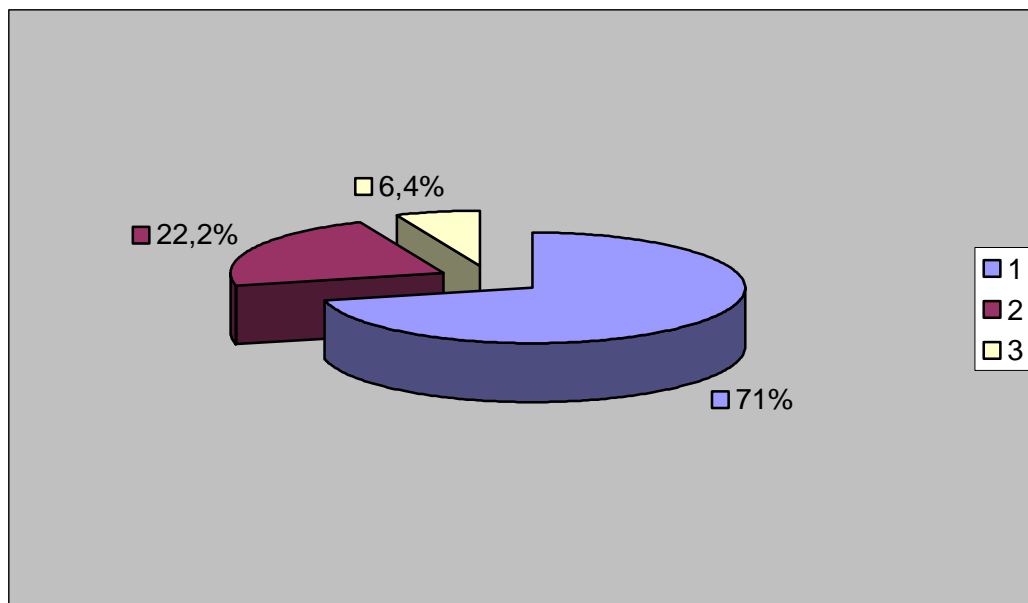


Figura 6 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V6 – Fazenda de Médio Porte, Granja –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Enterobacter*
- 3- *Klebsiella*

As figuras 7 e 8 apresentam a distribuição das bactérias isoladas do viveiro V7 (FMP) nas amostras de água e camarão, respectivamente. Das 14 cepas isoladas das amostras de água houve predominância de *E. coli* (70%) sobre a quantidade de *Klebsiella* (30%) (Figura 7). Nas amostras de camarão foram isoladas 25 cepas, das quais a de *E. coli* (60%) foi predominante em relação à presença de *Enterobacter* (20%), *Citrobacter* (12%) e *Klebsiella* (8%) (Figura 8).

A detecção destas bactérias na água significa dizer que esta deve estar recebendo constantemente aporte fecal, o que pode ocasionar a contaminação do ambiente por outras bactérias como *Salmonella* e *Vibrio* (Hagler & Hagler, 1988).

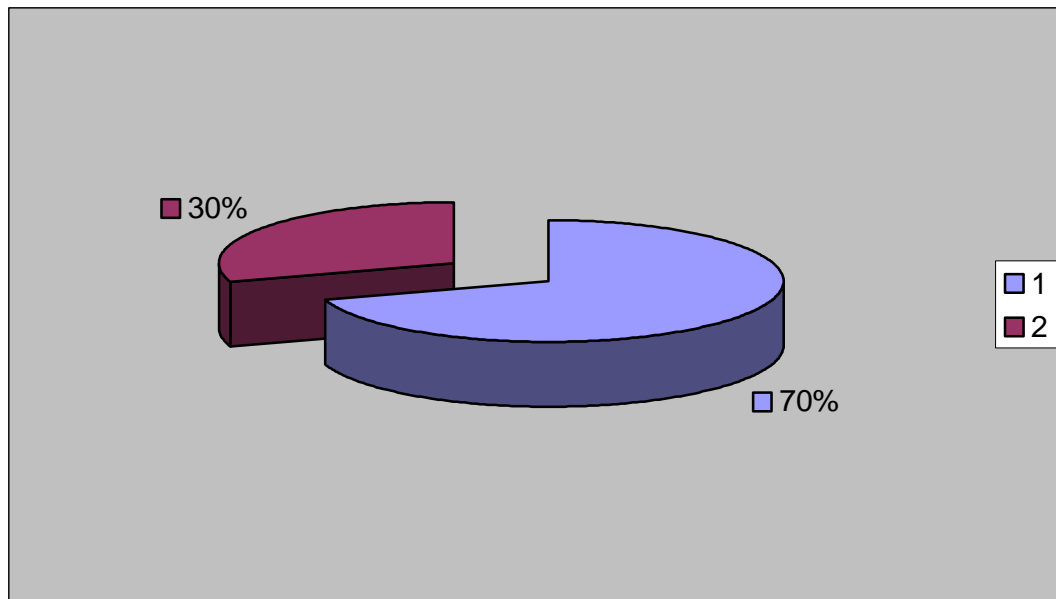


Figura 7 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de água de cultivo, coletadas no viveiro V7– Fazenda Médio Porte, Granja –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Klebsiella*

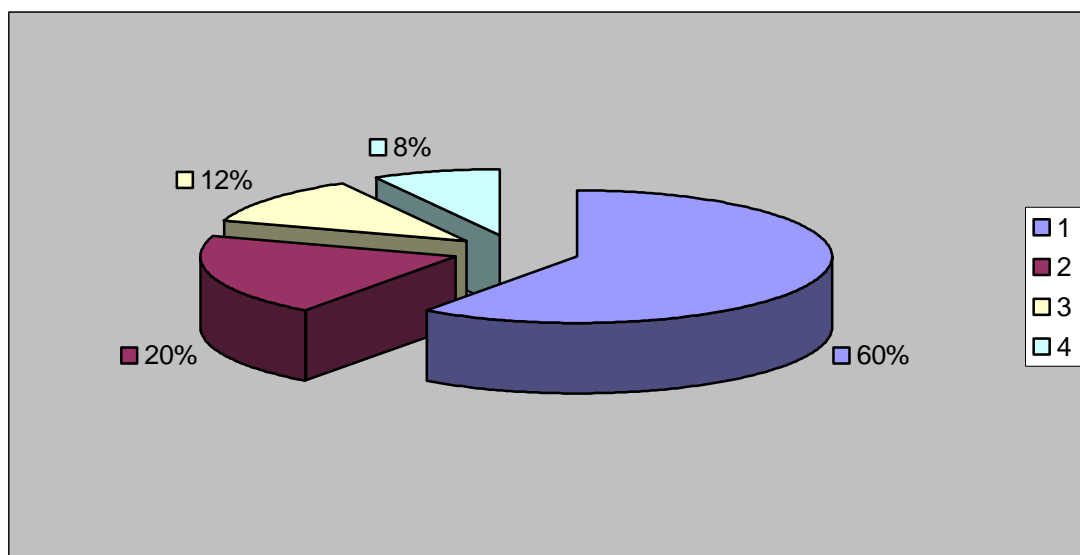


Figura 8 – Distribuição das cepas de coliformes identificadas nas amostras de camarão, cultivado no viveiro V7 – Fazenda de Médio Porte, Granja –Ceará.

- 1- *Escherichia coli*
- 2- *Enterobacter*
- 3- *Citrobacter*
- 4- *Klebsiella*

Fonseka (1990) observou, em seus estudos sobre cultivo de camarão, que a contagem de *E. coli* foi mais alta no camarão do que na água. Dos quatro viveiros que tiveram cepas isoladas para identificação dos coliformes, três apresentaram predominância de *E. coli* nas amostras de água e somente o viveiro V1 teve como coliforme predominante *Citrobacter*. De outra forma, das 80 cepas isoladas de água de todos os viveiros 65% eram de *E. coli*, enquanto de 124 cepas isoladas de camarão *E. coli* representou 58,1%.

Há de se notar que praticamente todas as amostras de água eram constituídas de apenas duas espécies de coliformes, enquanto nas amostras de camarão estavam presentes quatro tipos. Isto pode ser devido ao fato de que no camarão as bactérias encontram um meio bem mais propício para seu crescimento e reprodução, ao contrário da água que não favorece o crescimento por ser pobre em nutrientes.

Das amostras de água dos quatro viveiros das duas fazendas foram isoladas 52 cepas com características de *Salmonella* pelos testes de LIA e TSI. Destas somente duas foram positivas quando submetidas à caracterização antigênica. O tipo *Salmonella* Newport foi identificada nas amostras de água da Fazenda de Pequeno Porte (FPP) e *Salmonella* Saintpaul nas águas da Fazenda de Médio Porte (FMP). Para as amostras de camarão 63 cepas foram suspeitas, entretanto, somente uma cepa foi confirmada pela sorologia como sendo *Salmonella* Santpaul, originária do viveiro V7 da Fazenda de Médio Porte.

A ocorrência de *Salmonella* nas amostras de água e camarão é preocupante devido ao fato de que a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001), impõe ausência total dessa bactéria para qualquer 25g de amostra. A presença de *Salmonella* em qualquer amostra representa um risco à saúde, pois segundo Franco & Landgraf (2004) todas as salmonelas são patogênicas.

Se compararmos o NMP de CT e CF com a ocorrência de *Salmonella*, podemos observar que não houve relação ente eles. Dalsgaard *et al.* (1995) encontraram em seus estudos com camarão cultivado na Tailândia, ausência total de *Salmonella* em amostras de camarão, apesar do alto índice de coliformes totais e fecais.

Uma baixa correlação foi observada por Bhaskar *et al.* (1998) em estudos com camarão cultivado, entre o nível de organismos indicadores (coliformes) e a incidência de *Salmonella*, *Vibrio* e *Listeria monocitogenes*.

A cada ano, aproximadamente 800.000 a 4 milhões de casos de salmonelose resultam em 500 mortes nos Estados Unidos (CDC, 1999). Neste país, salmonelas não tifóides têm sido associadas a peixes e crustáceos, enquanto *Salmonella* Paratyphi e *S. Enteritidis* são relacionadas a camarão e moluscos bivalves (Feldhusen, 2000).

As toxinfecções por *Salmonella* assumem um caráter especial, pois sua presença não é denunciada por alteração do aspecto, sabor ou outras características visíveis nos alimentos (Frazier & Westhoff 1993).

Os sorotipos das salmonelas podem estar estritamente adaptados a um hospedeiro particular ou podem ser ubiqüitários. O homem é o único reservatório natural de *S. Typhi* e *S. Paratyphi*. Alguns sorotipos são adaptados a uma determinada espécie animal, enquanto que outras podem infectar indiretamente o homem e grande variedade de animais, como é o caso da *S. Typhimurium*, responsável por grandes infecções de origem alimentar (Campos, 1999).

De acordo com Jakabi *et al.* (1999), em função da grande capacidade de disseminação no meio ambiente, *Salmonella* pode ser isolada de águas doces, superficiais, da costa

marítima e conseqüentemente, de diversas matérias-primas alimentares. Devido ao grande desenvolvimento da aqüicultura no Brasil, devemos voltar a atenção para os alimentos que estão sendo produzidos, quanto à qualidade higiênico-sanitária destes, e para os possíveis danos que estes produtos possam vir a causar na saúde dos consumidores.

5. CONCLUSÕES

Do presente estudo podemos deduzir as seguintes conclusões:

1. A detecção acentuada de coliformes totais e fecais nas amostras de água e de camarão cultivado é um fato preocupante, uma vez que a qualidade microbiológica do camarão reflete as condições higiênico-sanitárias onde estes foram capturados.
2. Os altos níveis de coliformes fecais nas águas e nos camarões demonstram que as condições higiênicas e de manejo nas fazendas estudadas são insatisfatórias.
3. A detecção de cepas pertencentes ao sorogrupo *Salmonella* em amostras de água e camarão é um risco para o consumidor, uma vez que este grupo é altamente patogênico. Além disso, existe a probabilidade de sua concentração aumentar caso as práticas de manejo não sejam melhoradas e se essas águas continuarem recebendo aporte significativo de material orgânico.
4. A presença de coliformes fecais nas amostras de água e de camarão indica que as fontes fornecedoras de água são constantemente contaminadas por dejetos animais, e isto determina sérios riscos à saúde dos consumidores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 15 out. 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm.
- Associação Brasileira de Cultivo de Camarão Marinho (ABCC). Agronegócio do Camarão Marinho Cultivado. Disponível em: <http://www.abccam.com.br/agronegocio/agroindex.htm>. Acesso em: 22.08.2004.
- Antunes, P.; Réu, C.; Sousa, J.C.; Peixe, L. & Pestana, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, v.82, p.97-103, 2003.
- Arana, L.V. *Princípios Químicos de Qualidade da Água em Aquicultura* – Uma revisão para peixes e camarões. Editora – UFSC, Florianópolis, 1996p., 1997.
- Ashbolt, N.J.; Grabow, W.O.K. & Snozzi, M. Indicators of microbial water quality. *World Health Organization* (WHO). Water Quality Guidelines, Standards and Health, 2001.
- Bachère, E. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture*, v.191, p.3-11, 2000.
- Barbosa, H.R.; Torres, B.B.; Nutrição. In: *Microbiologia Básica*, São Paulo, Atheneu, cap. 4, p.89-101, 1998.
- Barreto, N.S.E. *Salmonella*, p.111-123, in Vieira, R.H.S.F (ed.), *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática*. Varela, 380 p., São Paulo, 2004.
- Baudart, J.; Lemarchand, K.; Brisabois, A. & Lebaron, P. Diversity of *Salmonella* strains isolated the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. *Applied an Environmental Microbiology*, v.66, p.1544-1552, 2000.
- Beaudin, B.A.; Brasnikaff, C.A.; Grimsrud, K.M.; Heffner, T.M.; Rennie, R.P. & Talblot, J. Susceptibility of human isolates of *Salmonella typhimurium* DT 104 to antimicrobial agents used in human and veterinary medicine. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v.42, p.17-20, 2002.

Campos, L.C. *Salmonella*. In: *Microbiologia*. 3^a ed, São Paulo: Ed. Atheneu, cap. 29, 586p., 1999.

Cardoso, A.L.S.P.; Tessari, E.N.C.; Castro, A.G.M.; Kanashiro, A.M.I. & Gama, n.M.S. Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos comerciais, analisados no Laboratório de Patologia avícola de Descalvado, SP. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.92/93, p.76-79, janeiro/fevereiro, 2002.

Carranza, G.C. *Microbiologia de Alimentos Marinos*. CONCYTEC, 164p., Lima – Peru, março, 1991.

Castro, H.M.P.; Vieira, R.H.S.F. & Torres, R.C.O. Balneabilidade e doenças de veiculação hídrica: situação das praias de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v. 35, p. 119-124, 2002.

Centro For Disease Control and Prevention (CDC). *Outbreaks of Salmonella serotype enteritidis infection associated with consumption of raw shell eggs, United States, 1994-1995*. MMWR, v.45, p. 737-742, 1996.

CONAMA. Resolução N° 274, de 29 de novembro de 2000, Conselho Nacional do Meio Ambiente, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2000.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Dispõem a classificação de 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 República Federativa do Brasil*. Acesso em 10.04.2004.

Cruz, A.R.G.; Santos, L.M. Agudo, F. & Dangla, E. Microbiology of prawn processing. *FAO Fish. Rep. Suppl.*, v.401, p.86-98, 1990.

Dalsgaard, A.; Huss, H.H.; H-Kittikeen, A. & Larsen, J.L. Prevalence of *Vibrio cholerae* and *Salmonella* in major shrimp production area in Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, v.28. p.101-113, 1995.

Davis, C.M. & Evison, L.M. Sunlight and the survival of enteric bacteria in natural waters. *J. Applied Bacteriology*, v.70, p. 265-274, 1991.

Dias, A.M.G.; Kano, E.; Nakahara, L.K.; Fernandes, S.A.; Kato, M.A.M.F. & Irino, K. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from blood and cerebrospinal fluid. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v.25, n.2, p.77-82, 1994.

- Duffy, G.; Cloak, O.M.; Sullivan, M.G.O.; Guillet, A.; Sheridan, J.J.; Blair, I.S. & McDowell, D.A. The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. on Irish retail meat products. *Food Microbiology*, London, v.16, p.623-631, 1999.
- FAO. Yearbook of Fishery Statistic 1998. Vol 86/2. Aquaculture Production. FAO Statistics Series N. 154 and Fisheries Series N. 56, Rome, FAO. 182p. 2000.
- Feldhusen, F. The role of seaffod in bacterial fodborne diseases. *Microbes and infection*, Paris, v.2, p.1.651-1.660, 2000.
- Feng, P. & Weagent, S.D. Diarrheagenic *Escherichia coli*. in U.S. Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition. *Bacteriological Analytical Manual online*. FDA/CFSAN.sept 2002. Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~bam/bam-4a.html>. acesso em 25/11/2003.
- Fonseka, T.S.G. & Widanapathirana, G.S. A study of aerobic microflora of shrimp (*Penaeus indicus*) caught in the sea off Negombo. *FAO Fish. Rep. Suppl.* v.401, p. 78-85, 1990.
- Fonseka, T.S.G. Microbial flora of pond cultured prawn (*Penaeus monodon*). *FAO Fish. Rep. Suppl.* v.401, p.24-31, 1990.
- Franco, B.D.G.M. & Landgraf, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 182p., 2004.
- Frazier, W.C.; Westhoff, D.C. *Microbiología de los Alimentos*, 4.ed. Zaragoza: Acibria, 1993.
- Fujioka, R.S. Indicators of marine recreational water quality, p. 176-183, in Hurst, C.J., Knudsen, G.R.; MeInerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. & Walter, M.V. (eds.), *Manual of environmental microbiology*. ASM, 893 p., Washington, 1997.
- Gelderich, E.E. Sanitary Significance of fecal coliforms in the environment. *Water Pollut. Control. Fed.* V.20, p.122-130, 1966.
- Germano, P.M.L. & Germano, M.I.S. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. Varela, 655p. São Paulo, 2003.
- Grimes, D.J. *et al.* The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments. *Microbiological Sciences*, Oxford, v.3, n.11, p.324-329, 1986.
- Hagler, A.N. & Mendonça-Hagler, L.C.S. *Indicadores microbiológicos de qualidade sanitária*, p.88-9, in Roitman, I.; Travassos, L.R. & Azevedo, J.L. (eds.), *Tratado de Microbiologia*. Manole, São Paulo, 1988.

- Hatha, A.A.M.; Maqbool, T.K. & Kumar, S.S. Microbial quality of shrimp products of export trade produce from aquaculture shrimp. *International Journal of Food Microbiology*, v82, p.213-221, 2003.
- Huss, H.H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca. FAO. *Documentário técnico sobre as pescas*. Roma, p.1-176, 1997.
- Jakabi, M.; Buzzo, A.A.; Ristori, C.A.; Tavechio, A.T.; Sakuma, H.; Paula, A.M.R & Gelli, D.S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp. Ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. *Revista do Instituto Adolfo Luz*, São Paulo, v.58, n.1, p. 47-51, 1999.
- Jay, J.M. *Modern Food Microbiology*. Van Nostrand Reinhold Company (ed.), 3^a ed. 641 p., New York, 1986.
- Kaku M. *et al.* Surto de intoxicação alimentar causada por *Salmonella enteritidis* no noroeste do Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.29, p.127-131, 1995.
- Kautsky, N.; Ronnback, P. Tedengren, M. & Troell, M. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*, v.191, p.145-161, 2000.
- Koneman, E.W.; Allen. S.D.; Dowell, Jr.V.R. & Sommers, H.M. *Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido*. Panamericana 2^a. ed., São Paulo, 1993.
- Landgraf, M. *Microrganismos Indicadores*. In: Franco, B.D.M.G., Landgraf, M. *Microbiologia de Alimentos*. São Paulo, Atheneu, cap. 3, p. 27-32., 2004.
- Lebaron, Ph.; Batailler, N. & Baleux, B. Mobilization of a recombinant nonconjugative plamid at the interface between wastewater and the marine coastal environment. *FEMS Microbiology Ecology*, v.15, p.61-70, 1994.
- Leclerc, H.; Mossel, D.A.; Edberg, S.C. & Struijk, C.B. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, p.201-234, 2001.
- Leitão, M.F.F. Microbiologia de alimentos, p. 3-76, in Roitman, I.; Travassos, L.R & Azevedo, J.L. (eds.), *Tratado de Microbiologia*, 186 p. , Manole Ltda, São Paulo, 1988.
- Lightner, D.V. & Redman, R.M. Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture*, 164: 201-220, 1998.

- Martins, C.V.B.; Vaz, S.T. & Minozzo, M.G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo-PR. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16 ,n.98, p.51-56, 2002.
- Mason, J. *Salmonella enteritidis* Control Programs in the Unites States. *International Journal of Food Microbiology*, v.21, p.155-169, 1994.
- Mendes, E.s.; Mendes, P.P.; Coelho, m.i.s.; Souza, j.c.r.; Cruz, m.c.s.; Assis, a.s. & Alves, A.B. Aspesctos microbiológicos do camarão *Litopenaeus vannamei* defumado e sua vida de prateleira. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.99, p. 75-80, agosto, 2002.
- Mendonça - Hagler, L.C.; Vieira, R.H.S.F; Hagler, A.N. In: Faria, B.M.; Farjalla, V.F.; Esteves, F.A. (ed). Microbial Quality of water, sediment, fish and shellfish in some brazilian coastal regions. *Aquatics Microbial Ecology in Brazil. Series Oecologia Brasiliensis*, Rio de Janeiro, v. 9, p. 197-216. 2001.
- Meng, J.; Feng, P. & Doyle, N.P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Publical Health Association (APHA), Wasington, 676p., 2001.
- Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Histórico da Carcinicultura Brasileira. Disponívem em: http://www.mercadodapesca.com.br/cadeias_camarao_marinho.php. Acesso em: 18.08.2004.
- Ministério da Saúde (Brasil). Portaria MS n. 1.469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. D.O.U., Brasília, DF, 2 jan. 2001. disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469_00.htm. Acesso em 10.09,2004.
- Moullac Le, G. & Haffner, P. Environment factors affecting immune responses. *Aquaculture*, v.191, p. 121-131, 2001.
- Moriarty, D.J.W. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, v.151, p.333-349, 1997.
- Muratori, M.C.S.; Costa, A.P.R.C.; Viana, C.M.; Rodrigues, P.C. & Podestá Jr, R.L. Qualidade sanitária de pescado “ in natura”. *Higiene Alimentar*. São Paulo, v.18. n.116/117, p.50-54, janeiro/fevereiro, 2004.

- Mussel, D.A.A. & Garcia, M.B. *Microbiologia de los Alimentos Fundamentos Ecologico para Garantizar y Comprobar la Inocuidad y la Calidad de los Alimentos*. Saragoza, Acriba, 375p., 1993.
- Murase, T.; Yamada, M.; Muto, T.; Matsushima, A. & Yamai, S. Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium following a food-borne outbreak. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 38, n. 9, p. 3495-3497, 2000.
- Nataro, J.P. & Kaper, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. American Society for Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v.11, n.1, p.142-201, 1998.
- Ochman, H., Wilson, A.C. Evolution in bacteria evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *Journal of Molecular Evolution*, New York, v. 26, p. 74-86, 1987.
- Ormand, J.G.P.; Mello, G.A.T.; Ferreira, P.R.P. & Lima, C.A.O. Carcinicultura brasileira. *Banco Nacional de Desenvolvimento Social – BNDS-Setorial*, Rio de Janeiro, n.19, p.91-118, março, 2004.
- Pádua, H.B. Informações sobre coliformes totais/fecais e alguns outros organismos indicadores em sistemas aquáticos – aquíicultura. *Carderno de Dustrina Ambiental*, p.1-19, 2003.
- Pagnocca, F.C.; Mendonça, H.L.C. & Hagler, A.N. Yeasts associated with the White shrimp *Penaeus schmitti*, sediment, and water of Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Yeast*, n.5, p.479-483, 1989.
- Plataforma Tecnológica do Camarão Marinho Cultivado: Brasília: MAPA/SARC/DPA, CNPq, ABCC, 279 p. 2001.
- Popoff, M.; Bockemuhl, J.; Brenner, F.W.; Gheesling, L.L. Supplement 2000 to the Kauffman-White scheme. *Research in Microbiology*, Paris, v.152, n.44, p.907-909, 2001.
- Putro, S.; Angawait, A.M.; Fawzya, Y. N. & Ariyani, F. Studies on the microbiology of farmed shrimp. *FAO Fish. Rep. Suppl.* V.401, p.6-17, 1990.
- Reis, R.B.; Mamizuka, E.M. & Franco, B.D.M. Padronização de um teste imunoenzimático para detecção de *Salmonella* em alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.22, n.2, p.105-110, maio-agosto, 2002.
- Reis, J.A.; Hoffmann, P.; Marcos, L.M.; Taddei, F.G.; Gonçalves, T.M.V. & Hoffmann, F.L. Estudo higiênico-sanitário dos camarões dulcícolas *Macrobrachim amazonicum* e *M. Jelskii*. *Higiene Alimentar*, v.18, n116/117, p.58-67, 2004.

- Reilly, P.J.A.; Twiddy, D.R. & Fuchs, R.S. Review on the occurrence of *Salmonella* in cultured tropical shrimp. *Fao Fish. Circ.* V.851, 19p., 1992.
- Rocha, I.P.; Rodrigues, J. & Amorim, I. A carcinicultura brasileira em 2003. Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC. Disponível em: <http://www.abccam.com.br/revista/set2003>. Acesso em 22.08.2004.
- Rocha, I.P. de & Rodrigues, J. Considerações sobre a produção mundial de camarão cultivado e a competitividade do Brasil. *Revista da ABCC*, 3:75-81, 2002.
- Rocha, I.P. de & Rodrigues, J. O agronegócio do camarão cultivado em 2003. Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC. Recife-PE, Agosto, 2004.
- Rodríguez-Angeles, G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, v.44, n.5, p.464-475, 2002.
- Santos, L.R.; Nascimento, V.P.; Flores, m.L.; Rosek, H.; D'Andréa, A; Albuquerque, M.C.; Rampanelli, Y.; Machado, N.P.; Reis, S. & Fernandes, S.A. *Salmonella enteritidis* isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996, no Estado do Rio Grande do Sul. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.16, n.102/103, p.93-99, 2002.
- Shafai El, S.A.; Gijzen, H.J.; Nasr, F.A. & El-Gohary, F.A. Microbial quality of tilapia reared in fecal contaminated ponds. *Environmental Research*, v.95, p.231-238, 2004.
- Shrimp EST Genome Project. Histórico – O Cultivo do Camarão Marinho. Disponível em: <http://www.shrimp.ufscar.br/historico/cultivo.php>. Acesso em 18.08.2004.
- Shumway, S.; Davis, C; Downey, R.; Karney, R.; Kraeuter, J; Parsons, J.; robert Rheault, R.; Wikfors, G. Shellfish aquaculture – In praise of sustainable economics and environments. *World Aquaculture*, vol. 34, n. 4, p. 15-17, december 2003.
- Silva, N. & Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Detecção de *Salmonella*. In: *Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos*. São Paulo: Varela, p. 41-110, 2001.
- Siqueira, R.S. *Manual de Microbiologia de Alimentos*. Embrapa – Merck, 159 p., Rio de Janeiro, 1995.
- Tauxe, R.V. Emerging Foodborne Diseases: An envolving public health challenge. *Emerging Infections Diseases*. V.3, n.4, p.425-433, 1997.
- Tôrres, R.C.O. *Escherichia coli*, p.125-138, in Vieira, R.H.S.F (ed.), *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática*. Varela, 380 p., São Paulo, 2004.

Vieira, R.H.S.F & Tôrres, R.C.O. Estimativa da população de coliformes totais e fecais (termotolerantes) e *Escherichia coli* Através do Número Mais Provável (NMP), p.219-226, in Vieira, R.H.S.F (ed.), *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática*. Varela, 380 p., São Paulo, 2004.

Vieira, R.H.S.F.; Silva, A.I.M.; Sousa, O.V.S.; Hofer, E.; Vieira, G.H.F.; Sampaio S.S. & Lima, E.A. Análise experimental sobre a viabilidade de *Escherichia coli* em água do mar. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.34, p. 43-48, 2001.

Vieira, R.H.S.F.; Silva, P.R.G.; Lehueur, L.G.O. & Sousa, O.V. Colimetria da água da praia da Barra do Ceará – Fortaleza – Ceará. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.32, p.119-122, 1999.

Vinatea, L.; Oliveira, A.; Seiffert, W.; Lima, M.; Marinho, M. & Bouvy, M. Caracterização dos efluentes das fazendas de cultivo de *Litopenaeus vannamei* na região do Nordeste do Brasil. Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC, Recife-PE, set., 2000.