



## **Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras**

Monografia para a Obtenção do Grau de Licenciatura em Biologia  
Marinha

Tema:

**Qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis  
mossambicus* (Peters 1852) em tanques escavados no distrito de  
Quelimane - Província da Zambézia**

**Autor:**

Francelina Francisco Soquiço

**Supervisor:**

\_\_\_\_\_  
dr. Mauro Gabriel Uqueio

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, por iluminar meus caminhos ate hoje.

Agradecer a familia Soquiço, ao meu pai em especial, pois sem o seu apoio não seria possível chegar ate aqui, agradeço ainda a minha querida mãe pelo apoio moral, pela força, pelo incentivo e por ser a melhor mãe do mundo.

Ao meu supervisor e docente, Mauro Uqueio pelo seu tempo dedicado, puchões de orelha e por ajudar nas minhas análises microbiológicas, o pouco que sei de microbiologia devo a esta pessoa maravilhosa e de muito bom coração, pós aprendi muito com ele.

Aos técnicos do laboratório do instituto nacional de inspeção de pescado, pelos bons momentos durante o meu estágio, sem eles não seria possível realizar as análises das minhas amostras.

Aos meus docentes do curso de Licenciatura em Biologia Marinha da Universidade Eduardo Modlane, Escola Superior de Ciências Marinha e Costeiras pelos conhecimentos transmitidos durante o período de formação.

A todos os meus colegas, em especial a turma de Biologia Marinha ingresso no ano 2014.

Aos meus amigos Brazil Eduardo, Gilda Mário, Maria Isabel, Ana Dimas pelos bons momentos em todo este percurso. Ao meu querido Ali Loa pela cumplicidade, presença, apoio e pela ajuda na colheta de dados.

A UEM e ESCMC ( Escola Superior de Ciências Marinhas) pela oportunidade de fazer a licenciatura em Biologia Marinha.

## DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, **Francelina Francisco Soquiço**, declaro por minha honra que o presente trabalho académico para a obtenção do grau de licenciatura em Biologia Marinha intitulado, “*Qualidade microbiológica da água de cultivo de Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) em tanques escavados no distrito de Quelimane - Província da Zambézia”, é resultado do meu empenho com orientação do dr. Mauro Gabriel Uqueio e a informação aqui contida reflecte fielmente os resultados obtidos. Não tendo recorrido a quaisquer fontes para além das que encontram-se adequadamente identificadas e citadas, com observância das convenções em vigor no Regulamento do Trabalho de Licenciatura da Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras.

Declaro que esta tese não foi apresentada para efeitos de avaliação a qualquer outra entidade ou instituição, e que as versões impressa e eletrónica são inteiramente coincidentes.

Assinatura

---

**(Francelina Francisco Soquiço)**

## DEDICATÓRIA

*A família Soquiço, aos meus pais, Francisco José Soquiço e Florência Naftal Mazivila, pelo amor, força e apoio em todos momentos durante a caminhada na concretização desse sonho.*

*Dedico*

## RESUMO

A piscicultura é uma actividade praticada em quase todo o mundo, por constituir uma fonte de dieta alimentar, emprego e divisas. Entretanto, a água usada na piscicultura é um potencial reservatório de microorganismos que quando não monitorada pode comprometer qualidade dos peixes. A presente pesquisa teve por objectivo avaliar a qualidade microbiológica da água de cultivo da *Oreochromis mossambicus* na cidade de Quelimane. Foram feitas análises microbiológicas em 12 amostras de água provenientes de 4 tanques, através das técnicas de membrana filtrante, de tubos multiplos e de semeadura em placa. Os coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* foram detectados nos tanques 3 e 4. A contagem de bactérias aeróbicas totais foi de  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml;  $1,4 \times 10^3$  ufc/ml;  $4,1 \times 10^3$  ufc/ml e  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml nos tanques 1, 2, 3 e 4 respectivamente. Não foram identificados *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus* e a *Salmonella* spp em todas as amostras. A qualidade microbiológica da água foi insatisfatória nos tanques 3 e 4.

**Palavra chave:** Piscicultura, água de cultivo, qualidade microbiológica, coliformes e bactérias patogénicas.

## ABSTRACT

Fish farming is an activity practiced almost everywhere in the world, as it is a source of diet, employment and foreign exchange. However, the water used in fish farming is a potential reservoir of microorganisms that, when not monitored, could compromise the quality of tilapia. The present research had the objective of evaluating the microbiological quality of *Oreochromis mossambicus* in the city Quelimane.

Microbiological analyzes were carried out in 12 water samples from 4 tanks, through filtering, multiple tube and seeding techniques. The total coliforms, thermotolerant and *Escherichia coli*, were detected only in tanks 3 and 4. The total aerobic bacteria count was  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml;  $1,4 \times 10^3$  ufc/ml;  $4,1 \times 10^3$  ufc/ml e  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml in the tanks 1, 2, 3, and 4 respectively. *Salmonella*, *Vibrio cholera* and *Vibrio parahaemolyticus* were not identified in all samples. The microbiological quality of the water was unsatisfactory in tanks 3 and 4.

**Key words:** fish farming, cultivation water, microbiological quality, coliforms and pathogenic bacteria.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Sigla</b>	<b>Designação</b>
pH	Potencial de hidrogénio
NaCl	Cloreto de Sódio
UFC/ml	Unidades Formadoras de Colónia por mililitro
NMP/ml	Número Mais Provável po mililitro
INIP	Instituto Nacional de Inspensão de Pescado



<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
1. Introdução.....	1
1.1. OBJECTIVOS.....	2
Objectivo geral.....	2
Objectivo específico.....	2
1.2. Problematização.....	2
1.3. Justificativa.....	3
<b>CAPÍTULO II</b> .....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Piscicultura.....	4
2.1. Qualidade da água do cultivo de <i>Oreochromis spp.</i> (tilápia).....	5
2.2. Papel dos microorganismos nos tanques de cultivo.....	6
2.3. Indicadores de qualidade microbiológica da água de cultivo.....	6
2.4. Implicação da qualidade microbiológica da água no cultivo da <i>Oreochromis spp.</i> (tilápia).....	8
2.5. Bactérias patogénicas para o homem associadas ao consumo do pescado.....	9
<i>Salmonella spp.</i> .....	10
<i>Vibrios spp.</i> .....	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	11
<i>Enterococcus</i> .....	11
<b>CAPÍTULO III</b> .....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1. Descrição da área de estudo.....	13
3.2. Amostragem.....	15
3.3. Procedimentos de análise.....	15
3.3.1. Preparação das deluições e meios de cultura.....	15
a) Quantificação de bactérias aeróbicas a 22°C.....	15
b) Detenção e quantificação de coliformes totais.....	16
c) Detenção e quantificação de termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> .....	16
d) Detenção e quantificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
e) Detenção de <i>Salmonella</i> .....	17
f) Detenção de <i>Vibrio cholera</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	17

g) Detenção e quantificação de <i>Enterococcus</i> .....	18
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	19
4. Resultados.....	19
5. Discussão.....	21
6. Conclusão.....	24
7. Recomendações.....	25
8. Referências bibliográficas.....	26
9. Anexos.....	31

# CAPÍTULO I

## 1. Introdução

A piscicultura é uma actividade que se dedica ao cultivo de peixes, cuja sua importância destaca-se pela providência de pescado (Josupeit, 2004). Em busca de uma alimentação saudável com baixo teor calórico, o consumo do pescado vem crescendo em todo o mundo principalmente em regiões costeiras, pós para além de ser fonte importante de dieta alimentar, tem sido fonte emprego, lucros e divisas (Almeida, 2004).

A prática da piscicultura a nível mundial contribui para suprir a demanda do pescado, facto este, que tem se observado actualmente onde a produção mundial cresceu de maneira expressiva com 330.1 milhões de toneladas no período de 2013 a 2014, comparativamente ao período de 2011 a 2012 onde a produção aquícola total foi de 313.3 milhões de toneladas (FAO, 2016).

Em Moçambique a piscicultura é praticada desde 1952, porém ainda não é desenvolvida devido á guerra civil, falta de financiamento e desastres naturais (inundações e seca). É praticada em quase todas as províncias por pequenos aquacultores com vista a garantir a subsistência e renda familiar. Esta actividade é caracterizada por sistemas extensivos, em tanques escavados, fertilização com esterco de gado, baixa densidade de estocagem e sem controlo da qualidade da água (INAQUA, 2010; Boane, 2008). Também é praticada a piscicultura industrial, em tanques escavados ou de PVC, com fornecimento de ração, controlo de parâmetros físicos e químicos, sexagem e biometria com vista a maximização de lucros e divisas para o país (Mozpesca, 2004). Ao longo do ano 2015 a produção em aquacultura atingiu 1132 toneladas, correspondente a 67%, representando um decréscimo de 4% comparativamente ao ano 2014 (Ministerio do Mar, Águas Interiores e Pesca, 2016).

A *Oreochromis* spp. é uma das espécies mais procuradas para criação devido ao seu rápido crescimento e carne de óptima qualidade, porém, estas características em princípio vantajosas, podem tornar-se perigosas no aspecto higiénico-sanitário do próprio pescado, pós proporcionam certa tranquilidade e conseqüente negligência no maneo da produção, permtindo a aocorrência de contaminações microbiológicas (Rodrigues, 2007). Deste modo o pescado é tido como veículo de transmissão de patógenos e intoxicações, constituindo um problema de saúde pública (Sousa, 2011). A ocorrência de inadequadas condições de saneamento devido a deficiência no maneo, interfere directamente na qualidade microbiológica da água de cultivo. Desta forma, a análise microbiológica da água torna-se necessária para determinar e monitorar a presença de microorganismos indicadores

Qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) em tanques escavados no distrito de Quelimane -  
Província da Zambézia  
na água de cultivo de *Oreochromis mossambicus* no distrito de Quelimane, para que não sirva de  
veiculador de bactérias patogénicas ao público consumidor.

## 1.1. OBJECTIVOS

### Objectivo geral

- Avaliar a qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis mossambicus* em tanques escavados no distrito de Quelimane.

### Objectivo específico

- Quantificar as bactérias aeróbicas totais a 22°C;
- Identificar e quantificar os coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*;
- Identificar bactérias patogénicas (*Salmonella*, *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* ).

## 1.2. PROBLEMATIZAÇÃO

A água de piscicultura é um potencial reservatório de microorganismos, alguns dos microorganismos podem ser naturais da flora bacteriana dos peixes, e outros transitórios provenientes do solo, dejectos industriais e domésticos. Os coliformes e bactérias patogénicas (*Salmonella*, *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus*) são microorganismos cujo sua presença pode ser evidência de contaminação da água de cultivo, podendo assim comprometer a qualidade do pescado cultivado [ CITATION Smi96 \l 1046 ].

A nível nacional não tem se feito estudos sobre as condições microbiológicas da água de cultivo, o que limita o conhecimento sobre a qualidade da água na indústria aquícola que é de extrema importância visto que essa qualidade da água pode reflectir na qualidade do pescado.

A contaminação microbiológica da água de piscicultura pode influenciar a qualidade da tilápia, prejudicando o crescimento, reprodução, saúde e sobrevivência que pode levar ao encerramento de farmas e perdas de divisas. A ingestão de tilápia contaminada por microorganismos pode constituir risco a saúde.

### 1.3. JUSTIFICATIVA

A contaminação microbiológica da água de piscicultura é determinada pela presença de bactérias patogénicas e coliformes, que podem entrar nos sistemas de cultivo vindos de esgotos domésticos e industriais. As bactérias patogénicas e a *Escherichia coli* podem contaminar o peixe em cultivo.

Segundo Sperling (2005) em termos da avaliação da qualidade da água, os microorganismos assumem um papel importante dentre os seres vivos, devido a sua grande predominância em ambientes aquáticos, e a sua associação com as doenças ligadas a água.

O estudo de coliformes e bactérias patogénicas nos tanques de piscicultura, fornece informações relevantes das condições higio-sanitárias de cultivo pela ocorrência de contaminação de origem fecal e também sobre a provável presença de patógenos que quando não controlados podem por em risco a saúde de quem consome o peixe cultivado nesse ambiente uma vez que são responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica (Cesteb, 2008).

A relevância do presente estudo situa-se no facto de que este irá fornecer informações sobre o estado de contaminação da água usada para o cultivo de *Oreochromis mossambicus*, que é um pescado que faz parte da dieta básica de muitas famílias no distrito de Quelimane.

## CAPÍTULO II

### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1. Piscicultura

No inicio dos anos 50 a prática da piscicultura em Moçambique tinha como finalidade alimentar funcionários de grandes plantações. Porém nos anos 60 o governo introduziu estações de piscicultura em umbeluzi, sussundenga e chokwe, com objectivo de repovoar as albufeiras, lagoas e reservas naturais de água. Actualmente existem tanques de cultivo distribuidos em todo território nacional com destaque para as províncias de Inhambane, Manica, Niassa, Maputo, Gaza, Tete, Zambézia e Cabo Delgado [CITATION CUR10 \l 1046 ].

Ao longo do ano 2015 a produção atingiu 1132 toneladas, correspondente a 67%, representando um decréscimo de 4% comparativamente ao ano 2014 ( Ministério do Mar, Águas Interiores e Pesca, 2016). A produção aquícola no exercício económico de 2016 atingiu cerca de 1180 toneladas de pescado, sendo 241 toneladas advindas da aquacultura industrial e 939 toneladas da aquacultura de pequena escala. Estes valores de produção indicam que a aquacultura em 2016 realizou-se em 61%, o que representa um crescimento de 4%, comparativamente ao ano de 2015, destacando-se as províncias de Inhambane com 453 toneladas, Manica com 208 toneladas e Niassa com 135 toneladas. O plano económico social para 2016 previa 285.6 toneladas para a produção aquícola, contudo, não foi atingido esse objectivo devido ao impacto da seca e estiagem que afectou uma área de 16,320 m<sup>2</sup> [CITATION REP17 \l 1046 ].

As principais espécies de peixe cultivadas em Moçambique são: *Oreochromis mossambicus* (tilápia moçambiana), *Oreochromis niloticus* (tilápa-do-Nilo), *Tilápia rendalli* (tilápia rendalli), *Cyprinus carpio* (carpa comum) e *Ctenopharyngodon idella* (carpa –capim) [ CITATION CUR10 \l 1046 ].

A tilápia tem sido vista como "um novo pescado branco" por apresentar requisitos típicos de peixes preferidos pelo mercado do consumidor, tais como carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não apresentando espinhas em "Y" nem odor desagradável [ CITATION Lui03 \l 1046 ].

Características como a facilidade de reprodução e obtenção de alevinos, possibilidade de manipulação hormonal do sexo para obtenção de populações masculinas, boa aceitação de diversos tipos de alimentos, grande capacidade de aproveitar alimentos naturais em viveiros, grande rusticidade, tolerância a baixos níveis de oxigénio dissolvido na produção e sua grande resistência

às doenças, colocam as tilápias no pódio das principais espécies cultivadas comercialmente em todo o mundo [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

A tilápia pode ser cultivada em tanques rede ou gaiola, tanques escavados, em ambientes abertos (rio, lago, reservatório de usinas, lagoa, estuários, açudes) ou fechados. Este género apresenta bom desempenho em diferentes sistemas de cultivo, em sistema extensivo, apenas com adubação dos viveiros pode alcançar produtividades de 3.500 kg/ha/ano em densidades de 8.000 e 10.000 peixes/ha e em sistema semi-intensivo com renovação da água (10L/seg./ha) e rações de boa qualidade, produzem em média 15.000 kg/ha/ano em densidade de 20.000 a 30.000 peixes/ha (souza, 2002).

## 2.2. Qualidade da água do cultivo de *Oreochromis* spp. (tilápia)

Qualidade da água de piscicultura refere-se a qualidade de água que prové sucesso na produção do peixe, e esta qualidade é determinada pelo tipo de organismo cultivado, factores abióticos e bióticos.

As tilápias adaptam-se bem às diferentes condições de qualidade de água. A qualidade é resultado de influências externas como manejo do viveiro [ CITATION Mer04 \l 1046 ], qualidade da fonte de água, características do solo, clima, introdução de alimentos (Moura *et al.*, 2013), características da água de abastecimento, (produtividade primária, concentração de material orgânico, elementos químicos, presença de microorganismos, percurso da água); e influências internas (densidade de peixes, interações físico-químicas e biológicas) [CITATION SIP06 \l 1046 ].

As tilápias são bastante tolerantes ao baixo oxigénio dissolvido, porém, ficam mais susceptíveis às doenças e reduzem o desempenho produtivo. Quando a concentração de oxigénio dissolvido atinge 3 a 3,5 mg/litro (45 a 50% da saturação) a temperatura entre 28-30°C as tilápias reduzem a sua atividade e conseqüentemente o consumo de oxigénio. Elas podem sobreviver à faixa bastante ampla de acidez e alcalinidade, e toleram altas concentrações de amónia tóxica comparadas à maioria dos peixes cultivados [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

A faixa óptima de pH da água no cultivo de tilápias é de 6 a 8,5. Valores abaixo de 4,5 e acima de 10,5 os organismos podem apresentar sinais de asfixia, o corpo e as brânquias com excesso de muco e a mortalidade é significativa. Por serem espécies tropicais que apresentam conforto térmico entre 27 a 32°C, o cultivo sob baixas temperaturas (14-27°C) reduzem o apetite e crescimento, aumentando o risco de doenças que resultam em grande mortalidade [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

As tilápias são muito tolerantes à ambientes com alta salinidade. A *Oreochromis mossambicus* e a tilápia de Zanzibar podem crescer e reproduzir-se de forma mais eficiente em águas salobras e salgadas (32ppt). A tilápia azul e a tilápia-do-Nilo também podem ser aclimatadas à água salgada, contudo a tilápia-do-Nilo se reproduz em salinidades de até 15ppt [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

A inadequada qualidade da água (baixo oxigénio dissolvido e elevados níveis de amónia tóxica e nitrito , carga elevada de microorganismos) e o excessivo acúmulo de resíduos orgânicos nos tanques de cultivo cria condições favoráveis para a multiplicação de bactérias patogénicas, predispondo as tilápias a infecções por bactéria (bacterioses) [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

### **2.3. Papel dos microorganismos nos tanques de cultivo**

Os microorganismos na piscicultura podem ser benéficos ou prejudiciais aos organismos em cultivo. Moriarty (1998) chamou os microorganismos benéficos de *agentes de control biologico*, que são bactérias bastante activas que exercem um papel muito importante na reciclagem de nutrientes nos viveiros de piscicultura. Essas bactérias podem ser saprófitos normais que fazem parte do grupo de bactérias que decompõem matéria orgânica e ocorrem bastante em ambiente com muita concentração de matéria orgânica prontamente digerível, também podem ser heterotróficas decompositoras que optimizam a produtividade primária através da reciclagem do fosforo, redução da matéria orgânica através do consumo de oxigénio e libertação de dióxido de carbono, fermentação activa libertando ácidos, alcoois, dióxido de carbono, hidrogénio reduzido e redução do nitrato presente no sedimento ou na coluna de água para nitrogénio, por bactérias nitrificantes [ CITATION Mor97 \l 1046 ].

Essas bactérias podem se tornar patogénicas e causar doenças na piscicultura quando os organismos encontram-se estressados por factores como aglomeração, baixo oxigénio, altas concentrações de amónia e sulfeto, ou alimentação inadequada, causando perdas na produção de até 100% principalmente em sistema intensivo [ CITATION Mor97 \l 1046 ].

### **2.4. Indicadores de qualidade microbiológica da água de cultivo**

Segundo Chan (1996) o termo microorganismos indicadores refere-se a um tipo de microorganismo cuja presença na água é evidência de que ela está poluída com matéria fecal de origem humana ou de outros animais de sangue quente. Este tipo de poluição indica que qualquer microorganismo



patogénico que ocorre no trato intestinal desses animais pode também estar presente na água de cultivo. Algumas das características importantes de um microorganismo indicador são: estar presente em águas poluídas e ausentes em água não poluídas, estar presente na água quando os microorganismos patogénicos estão presentes, sobreviver melhor e por mais tempo na água do que os microorganismos patogénicos, ser inofensivo ao homem e animais de sangue quente, estar presente em maior número do que os patogénicos e ser facilmente evidenciado por técnicas laboratoriais padronizadas.

Os microorganismos indicadores mais usados para a avaliação das condições sanitárias de água são as bactérias do grupo coliforme, que são indicadores de poluição fecal recente, componentes de avaliação ambiental importante, capazes de quantificar alterações na qualidade do meio, os quais são importantes pela sua implicação na saúde pública (vieira, 2004).

O grupo de coliformes é constituído por vários géneros de bactérias pertencentes à família enterobactereaceae. A definição histórica deste grupo tem sido baseada no método utilizado para detecção, fermentação da lactose (Rice *et al.*, 2012).

Os coliformes são classificados em totais e termotolerantes, onde a presença de coliformes totais na água não indica necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos, mas sim falha no tratamento da água e inadequadas condições de higiene no manuseio do, em quanto os coliformes termotolerantes indicam a probabilidade de haver microorganismos patogénicos na água (Tortora, 2000; Barbosa, 2013)

Nos coliformes totais incluem-se organismos que diferem nas características bioquímicas, sorológicas e quanto ao habitat, por conseguinte, quando se utiliza a técnica de fermentação, todo este grupo é definido como bactérias facultativas anaeróbicas, gram-negativas, não formadoras de esporos, em forma de bastonetes que fermentam lactose com formação de gás e ácido dentro de 48 horas a temperatura de 35-37°C (Rice *et al.*, 2012).

As bactérias representantes no grupo dos *Coliformes totais* são: *Klebsiela*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, sendo a *E. coli* presente somente no trato intestinal de animais de sangue quente [CITATION Bar09 \l 1046 ].

Os coliformes termotolerantes são subgrupos das bactérias do grupo coliforme que fermentam lactose a 44,5°C ± 0,2 °C em 24 horas e possui a *Escherichia coli* como o principal bioindicador de poluição que por não fazer parte da microbiota normal do pescado, indica a contaminação recente de origem fecal [CITATION Bar09 \l 1046 ].

Neste grupo de coliformes evidencia-se a *Escherichia coli* como indicador de contaminação por apresentar-se em grande quantidade nas fezes, sendo facilmente isolado e identificado na água por meio de técnicas simples. No entanto, os coliformes termotolerantes na água não são por si so prejudicial a saúde humana, apenas indicam a possibilidade da presença de quasquer organismos patógenos (Cesteb, 2008).

## **2.5. Implicação da qualidade microbiológica da água no cultivo da *Oreochromis* spp. (tilápia)**

A carga microbiana muitas vezes excede a capacidade natural de diluição do ambiente aquático, incidindo diretamente na qualidade microbiológica do peixe cultivado, representando riscos para a saúde pública [CITATION Bar09 \l 1046 ].

As bactérias patogénicas coexistem com as tilápias no ambiente de cultivo e desencadeiam enfermidades ao hospedeiro debilitado devido a qualquer desequilíbrio no meio, em decorrência de alguns fatores, entre os quais ressalta-se o estresse provocado por alterações na qualidade da água, associados à elevada densidade de estocagem de peixes, má nutrição e o manuseio grosseiro, favorecendo o aumento de populações bacterianas e outros agentes patogénicos oportunistas e aumentando a chance de incidência doenças [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

Factores como condições sub-ótimas de temperatura aumentam a predisposição das tilápias às bacterioses. Baixas temperaturas (16 a 18°C) inibem a imunidade e a habilidade das tilápias reagirem a diferentes antígenos e a atividade bacteriana no tanque de cultivo também é reduzida. No entanto, as bactérias retomam sua atividade de forma mais rápida comparado à habilidade dos peixes em restaurar de forma eficiente o funcionamento do seu sistema imunológico quando ocorre uma elevação da temperatura ambiente,. Isto explica a maior incidência de doenças em tilápias nos períodos de inverno [ CITATION Kub09 \l 1046 ].

Segundo Kubitzka (2009) as bacterioses nas tilápias são diversas e surgem pelo fato de serem de fácil disseminação e por apresentarem carácter oportunista, porem as bacterioses mais frequentes são as de importância econômica: *Streptococcus*, *Aeromonas* e *Pseudomonas* e *Flavobacterium columnare*.

A infecção por *Streptococcus* é uma das doenças mais sérias nos cultivo, ela causa infecção em tilápias cultivadas em água doce e salobra, a transmissão do *Streptococcus* ocorre de forma horizontal, sendo que a bactéria é liberada do peixe já morto para a água. Outra via de infecção é o

uso de peixes contaminados com *Streptococcus* no preparo de rações. Os sinais clínicos externos são: coloração escura do corpo, corpo levemente curvado, hemorragia difusa na pele, ao redor da boca, do ânus, na base das nadadeiras e no opérculo;

Infecção pela bactéria *Flavobacterium columnare* causa a columnariose ou “doença da boca de algodão”, tem maior incidência no verão (28 e 30°C), se instala em ferimentos ou lesões corporais das tilápias. Os sinais clínicos são perda de apetite e natação vagarosa, asfixia, lesões nas margens das nadadeiras com aspecto de apodrecimento.

Septicemias causadas por *Aeromonas* e *Pseudomonas* em tilápias ocorrem com maior frequência em períodos de temperaturas baixas ou amenas, quando a resposta imunológica dos peixes é mais reduzida. Nestas condições a mortalidade e os prejuízos podem ser consideráveis; os sinais clínicos são perda de apetite; natação vagarosa com os peixes se posicionando nas áreas mais rasas dos tanques; escurecimento do corpo; perda do equilíbrio; perdas de escamas; erosão ou destruição das nadadeiras; olhos saltados (exoftalmia) e de aspecto opaco e hemorrágico

## **2.6. Bactérias patogénicas para o homem associadas ao consumo do pescado**

A qualidade microbiológica da água na piscicultura, influência na qualidade microbiológica do peixe, e muitas vezes, o pescado tem sido associado a doenças humanas visto que este é veiculador de vários agentes patogénicos, responsáveis por diversas enfermidades no ser humano, notadamente as toxinfecções [ CITATION Reb10 \l 1046 ]. Estas bactérias no ambiente de cultivo podem contaminar o pescado e desencadear doença aos humanos.

Os microorganismos são introduzidos no organismo humano pelo contacto primário com águas de recreação e ainda por ingestão do pescado contaminado durante o preparo de alimentos ou em seu ambiente de origem. Mais de 100 organismos patogénicos podem ser encontrados no pescado, como vírus, parasitas e bactérias (Yamaguchi *et. al.*, 2013).

A FAO (2012) classifica os microorganismos patogénicos encontrados no pescado em indígenas e não indígenas. As bactérias indígenas são mais frequentes no pescado e encontram-se amplamente distribuídas nos ambientes aquáticos de várias partes do mundo, e são elas *Yersina enterocolítica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio Cholerae*, *Aeromonas Hydrophila*, *Bcillus cereus*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum* (vieira, 2004).

As bactérias não indígenas são menos frequentes em peixes, elas estão relacionadas aos processos inadequados de cultivo e processamento, são destacados a *Salmonella* spp., *Shigella* spp. *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (FAO, 2012). Dentre os agentes potencialmente patogénicos, relacionados ao consumo de peixes, estão a *Salmonella* spp., que está amplamente dispersa na natureza (Rabsch *et al.*, 2002).

#### ✓ *Salmonella* spp.

A *Salmonella* spp. pertence a família Enterobacteriaceae, morfologicamente é bastonete Gram negativo, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, móveis em sua grande maioria devido à presença de flagelos peritríquios, são capaz de formar acido e gás a partir da glicose, fermenta arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol (Ministério da saúde, 2011). Crescem numa faixa de temperatura de 5 °C a 46 °C, entretanto, a temperatura óptima é de 35 °C a 43 °C. Crescem bem em pH entre 3,8 a 9,5, sendo 7 o pH ideal. Atividade de água (Aw) mínima para crescimento é de 0,94 (Silva *et al.*, 2007).

Estirpes de *Salmonella* enterica são responsáveis por ocasionar o maior número de infecções bacterianas de origem alimentar (Oliveira e Moreira, 2013).

A *Salmonella* spp. Esta amplamente distribuição na natureza, sendo o seu principal reservatório o trato intestinal do homem e animais homeotérmicos e pecilotérmicos, exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais contaminam-se após a captura e durante a manipulação (Barbosa, 2013). A *Salmonella* spp é eliminada em grande número nas fezes, contaminando o solo e a água, e pode sobreviver no meio ambiente por muito tempo (meses á anos) (Ministério da Saúde, 2011). Pode permanecer viável no material fecal por longo período, particularmente em fezes secas, podendo resistir mas de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses no estrume bovino, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto como resultado de contaminação fecal (Lazaro *et al.*, 2008).

A penetração no organismo humano ocorre mediante o consumo do pescado de água contaminada, podendo persistir de 4 a 7 dias, os sintomas que caracterizam as salmoneloses de origem alimentar são: náuseas, vômito, febre, cólicas, cefaléia e diarreia (Pinto, 2001). Os mais susceptíveis a salmonelose são aquelas são idosos, mulheres grávidas e imunocomprometidos. A salmonelose é considerada um dos mais importantes problemas de saúde pública, estando a *Salmonella* entre os principais agentes envolvidos nos surtos de toxinfecções alimentares (Pui *et al.*, 2011).

✓ ***Vibrios spp.***

O género *vibrio* é o o maio dentro da família Vibrionaceae. Esses microrganismos fermentam glicose sem produção de gás, são gram-negativas, anaerobios facultativos não esporogênicos, com motilidade pela presença do flagelo monotríquio, oxidase e catalase positivas. O *vibrio* spp. na sua maioria necessita de NaCl (2-3%) para crescer, ocorrem naturalmente em ambientes marinhos, costeiros e estuários, e a sua ocorrência não está correlacionada com a ocorrência de coliformes fecais [ CITATION Per02 \I 1046 ].

O género *Vibrio* contém 12 espécies que podem provocar doenças veiculadas por alimentos de origem aquática, a maioria das quais é provocada por *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* ou *V. Vulnificus* (Oliver e Kaper, 1997; Dalsgaard, 1998).

O consumo de peixe cru ou mal coleccionado, contaminados por *Vibrio parahaemolyticus* provoca doenças gastroenterites responsável pela cólera, uma doença endêmica em extensas áreas do mundo [ CITATION Cos06 \I 1046 ].

✓ ***Pseudomonas aeruginosa***

O género *Pseudomonas* constitui a família denominada Pseudomonadaceae, os membros desta família caracterizam-se como bacilos gram-negativos retos ou ligeiramente curvos, aeróbios estritos, a maioria das cepas apresenta motilidade por meio de um ou mais flagelos polares, utiliza glicose e outros carboidratos oxidativamente e em geral são citocromo oxidase positivos, estes são diferenciados por meio de provas bioquímicas. Esta espécie habita o solo, água, vegetais e ocasionalmente em animais. A sua presença muitas vezes está relacionada com a poluição fecal, sendo por isso indicadora das condições higiénicas da água [ CITATION Mou131 \I 1046 ].

As *Pseudomonas* são agentes patogénicos oportunistas para humanos, que pode causar doenças como: infecções do trato urinário, infecções no sistema respiratório, infecções da pele e dos tecidos moles, infecções oftalmológicas, infecções ósseas e articulares e outras infecções sistêmicas (Ministério da saúde, 2011).

✓ ***Enterococcus***

Os enterococos constituem um importante grupo de microrganismos que se destacam, cada vez mais, como patógenos oportunistas. O género *Enterococcus*, engloba espécies como *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, anteriormente chamadas *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus*

*faecium*, além de outras 17 espécies (Martins, 1999). *E.faecalis* pertence a flora comensal de humanos e animais. Pode também ser encontrado em diversos alimentos, normalmente produtos cruz de origem animal, mas também em locais com poucas condições de higiene, onde a sua presença indica contaminação fecal (Martin *et al.*, 2008).

*Enterococcus* são bactérias Gram-positivas, de catalase negativa sem formação de esporos, anaeróbias facultativas, geralmente dispõem-se aos pares e em curtas cadeias. Pertencem a um grupo de organismos conhecidos como bactérias do ácido láctico (Gómez *et al.*, 2009). Têm capacidade de sobreviver em grandes níveis de stress e ambientes hostis, como temperaturas entre os 5-65°C, valores de pH entre 4.6-9 e também altas concentrações de sais (6,5%NaCl) [ CITATION Bar14 \l 1046 ].

*E.faecalis* desenvolve-se num intervalo de pH entre 4.6 e os 9., sendo o seu pH ótimo de 7.5, esta resistência deve-se a durabilidade e impermeabilidade da membrana aos ácidos. Tolerância a presença de 40% de sais biliares e cresce em elevadas concentrações salinas (6.5% NaCl) (Nakajo *et al.*, 2006).

O género *Enterococcus* tem capacidade de crescimento entre os 5 e 50°C, sendo a sua temperatura ótima 42.7°C em condições aeróbicas, embora o desenvolvimento possa também ocorrer em atmosferas anaeróbicas. *Enterococcus faecalis* consegue mesmo sobreviver durante 30 minutos e temperaturas que rondam os 60°C, capacidade que os distingue dos *Streptococcus*. Estudos demonstram que esta competência está relacionada com a estrutura da membrana, nomeadamente com os lípidos e ácidos gordos (Folquié *et al.*, 2006).

São bactérias amplamente distribuídas na natureza e participam da microbiota normal do homem e de animais, particularmente em nível do trato intestinal (Martins, 1999). *E.faecalis* é responsável por inúmeras infeções, nomeadamente do trato urinário, endocardites, infeções de feridas cirúrgicas, abscessos intra-abdominais, sepsis neonatal e hepatobiliar. Atualmente estima-se que mais de 90% das infeções humanas provocadas por *Enterococcus* são causadas por *E.faecalis* (Gómez *et al.*, 2009).

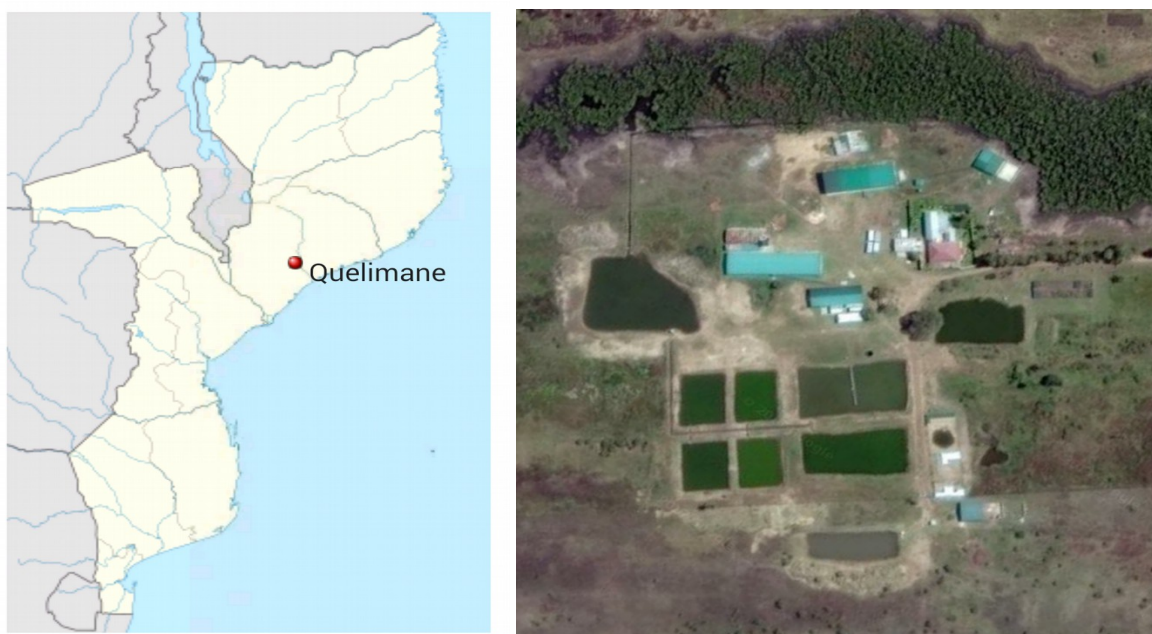
As infeções por *E.faecalis* são maioritariamente assintomáticas e duradouras devido à capacidade de sobrevivência desta espécie por extensos períodos de tempo em canais radiculares obturados.

## CAPÍTULO III

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Descrição da área de estudo

O estudo foi realizado na farma de cultivo de *Oreochromis mossambicus* com as coordenadas 17°49'14"S 36°54'51"E, que situa-se na cidade de Quelimane 16°51'00"S 36°59'00"E, localizada no ambiente estuário do rio dos Bons Sinais, cerca de 20 km do Oceano Índico [ CITATION Sou14 \l 1046 ].



**Figura 1:** A esquerda esta o mapa de Moçambique e direita esta a farma de cultivo de *Oreochromis mossambicus* (fonte:Google earth, 2017).

O cultivo era feito em tanques terra em sistema extensivo, sem nenhum tipo de tratamento de água. Não havia controle de parâmetros de crescimento, físicos, químicos e microbiológicos, a alimentação era natural disponível nos tanques.

## Equipamentos

- Autoclave (121±3) °C/ 15min
- Incubadoras (37±1, 41.5 ±0.5; 22±1, 30±1) °C
- Banho termostático (45±1, °C; 37±1; 44.5±0.5) °C

## Material

- Ança de inoculação;
- Pipetas de 1 ml, 10 ml;
- Placa de petri;
- Tubos de insaio;
- Tubos de duhan;
- Suportes;
- Bico de Bunsen.

## Meios de cultura

- Extracto de Levedura Agar;
- Caldo Lauril Triptone;
- Caldo Lactosado Verde Brillhante Bile (BGBLB);
- Caldo Escherichia coli (EC Broth);
- Triptone Water;
- Nutriente agar (NA);
- Pseudomona Agar base/glicerina;
- Acetamide broth;
- Água Peptonada Tamponada (BPW);
- Thiou sulphate Citrate Salte Sucrose (TCBS);
- Água peptonada (AP);
- Rapaport Vassiliadis Peptona de soja;
- Xilose Lisina Desoxicolato (XLD);
- Água Peptonada Alcalina (APA);
- Bile Aesculin;
- Slantz-Batlery Agar.



### **Diluyente e Reagente**

- Água peptonada;
- Reagente de Kovac's;
- Reagente de Nessler

### **3.2. Amostragem**

A farma onde foram colectadas as amostras foi seleccionada de acordo com número de tanques existentes, tipo de sistema de cultivo, tipo de organismo cultivado. O número total de amostra foi baseado no número de amostras pretendidos em cada tanque seleccionado. Desta forma, foram colectadas amostras em 3 pontos diferentes de cada tanque prefazendo um total de 12 amostras colectadas em 4 tanques. As amostras dos tanques 1 e 2 coletadas no mês de Julho de 2017 e as amostras dos tanques 3 e 4 foram coletadas no mês de Agosto do mesmo ano.

As amostras foram colectadas em frascos de vidro com capacidade de 1 litro, previamente esterilizadas, transportadas em caixa térmica de isopor até ao laboratório de microbiologia do Instituto de Inspensão de Pescado – INIP e o tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início das análises nunca foi superior a 3 horas de acordo com as recomendações do INIP.

### **3.3. Procedimentos de análise**

#### **3.3.1. Preparação das diluições e meios de cultura**

Foram organizados tubos de ensaio em série de 3, para 4 diluições, contendo tubos de durhan em uma posição invertida. Esta organização era correspondente a cada amostra, e foram distribuidos 9 ml de água peptonada (diluyente) em cada tubo, posteriormente os tubos foram esterilizados em autoclave  $(121\pm 3)^{\circ}\text{C}$  durante 15 min.

Os meios de cultura foram preparados em erlmeyers limpos, com água destilada, em superfície esterilizada, seguido as instruções do fabricante.

#### **a) Quantificação de bactérias aeróbicas a 22°C**

Foi pipetado 1 ml de amostra em duas placas de petri com 20 ml do meio Extracto de Levedura Agar, e incubadas a  $(22\pm 1)^{\circ}\text{C}$  por 68 horas.

Após 68 horas de incubação, foi feita a contagem de colónias em placa de conta-colónias e o resultado do crescimento expressos em UFC (unidades formadoras de colónias).

#### **b) Detenção e quantificação de coliformes totais**

Cada amostra foi analisada separadamente, usando os mesmos métodos.

Foi pipetado 1 ml de amostra em tubos contendo Caldo Lauril Triptone organizados em série de 3 tubos, 4 diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001, 0,0001, ml) e incubadas em estufa bacteriológica de  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

Os tubos positivos que apresentaram formação de gás no teste presuntivo, foram inoculadas simultaneamente em tubos contendo Caldo Lactosado Verde Brilhante Bile, e os tubos foram incubados em estufa bacteriológica ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) por 48 horas. Após o tempo total de incubação foi feita a leitura dos resultados e quantificação em NMP/ 100 ml.

#### **c) Detenção e quantificação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli***

Foi pipetado 1 ml de amostra em tubos contendo Caldo Lauril Triptone organizados em série de 3 tubos, 4 diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001, 0,0001, ml) e incubadas em estufa bacteriológica de  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

Os tubos positivos que apresentaram formação de gás no teste presuntivo, foram inoculadas em tubos contendo Caldo *Escherichia coli* com alça de platina flambada e resfriada, de acordo com a combinação formada pelo número de tubos positivos que apresentaram as diluições 1:1; 1:10; 1:100, e 1: 1000 após as 48 horas. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica ( $44,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas, e posteriormente foi feita a leitura dos resultados e quantificação de coliformes termotolerantes em NMP/ml.

As amostras positivas de coliformes termotolerantes foram passadas para tubos com 10 ml do caldo triptone e incubadas ( $44,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas. De seguida foram adicionadas 3 gotas do reagente Kovac's. Os seus resultados foram expressos em MPN/ml.

#### **d) Detenção e quantificação de *Pseudomonas aeruginosa***

Foram semeadas aliquotas (1 ml) em placas contendo o meio Pseudomona Agar base e incubadas na estufa a 37°C por 24 horas para enriquecimento de células injuriadas e após 24 horas foram feitas passagem para placas contendo o meio Acetamide broth.

A confirmação foi feita com base nos teste de fluorescência na luz ultravioleta e teste de produção de amónia. As placas que apresentaram crescimento microbiano foram submetidas a iluminação com a luz UV e as colónias que apresentaram fluoresceram azul-esverdeada foram consideradas *P. Aeruginosa*, as colónias que não fluoresceram foram inoculadas em Acetamide broth e incubadas a (37±1)°C por 24 horas. Após este período de incubação adicionou-se reagente e Nessler para teste de amónia e as culturas que apresentaram a coloração amarela a vermelho tijol foram consideradas positivas. O resultado foi expresso em UFC/ml (unidades formadoras de colónias por mililitro).

#### **e) Detenção de *Salmonella* spp.**

Para detenção da *Salmonella* spp., foram pipetados 25 ml de amostra para uma bolsa esteril e adicionados 225 ml de Água Peptonada Tamponada e incubadas a (37±1)°C por 18±2 horas para o pre-enriquecimento.

De seguida foram pipetado 0.1 ml do inóculo para tubos contendo 10 ml de Caldo Rappaport Vassiliadis Peptona de Soja e incubadas a (41.±0.5)°C durante 24 horas para o enriquecimento das células de *Salmonella*.

Após a incubação foi feita a sementeira usando ansa bacteriológica em placas contendo o meio XLD para obtenção de colónias típicas de *Salmonella* spp. que são vermelhas com centro preto. As placas foram incubadas á (37±1)°C por 24 horas. De seguida a leitura do resultado expresso em ausente e presente.

#### **f) Detenção de *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus***

Para o enriquecimento do *Vibrio cholera* foi pipetado 20 ml amostra para uma bolsa esteril contendo 200 ml BPW, e incubadas a (37±1)°C por 24 horas.

Para o enriquecimento do *Vibrio parahaemolyticus* foi pipetado 20 ml amostra para uma bolsa esteril contendo 200 ml do meio CSP e incubado a (37±1)°C por 24 horas.

Após esse tempo de incubação, foi feita a sementeira em forma de estrias para placas contendo TCBS (Thiousulphate Citrate Salte Sucrose), e foram incubadas de forma invertida em estufa bacteriológica a  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  por  $(24\pm 3)$  horas para a obtenção de colónias verdes a verdes-azuadas para identificação de *Vibrio parahaemolyticus* e colónias circundadas por zonas amarelas para identificação de *Vibrio cholera*. O resultado foi expresso em ausente e presente.

#### **g) Detenção e quantificação de *Enterococcus***

Para a detenção de *Enterococcus* foi usada a técnica de membrana filtrante, onde foram feitas duas diluições (1 e 10 ml) de amostra. De seguida a membrana filtrante foi fixa em uma placa contendo o meio Bile Aesculin e incubado por 24 horas.

Para a quantificação das células de *Enterococcus* foi feita a passagem da membrana filtrante do meio Bile Aesculin para uma placa contendo o meio Slantz-Batlery Agar incubado por 2 horas a  $44^{\circ}\text{C}$ . As colónias que apresentaram-se circundadas por zonas avermelhadas foram consideradas positivas. Os resultados foram expressos em UFC/ml.

## CAPÍTULO IV

### 4. Resultados

#### *Condições de cultivo*

Não era feita a renovação da água em todos os tanques de cultivo da *Oreochromis mossambicus*, nem o controle de todos os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. Foi observado o afloramento excessivo de microalgas nos tanques 3 e 4 e algumas tilápias mortas, flutuando nos mesmos tanques.

A salinidade da água nos tanques foi de  $34.17 \pm 0.56$  ppt e a precipitação na semana da primeira amostragem foi de 0,00 mm e na segunda amostragem foi de 0,92 mm.

#### *Contagem de aeróbicos totais a 22°C*

As bactérias aeróbicas totais foram observadas em todos os tanques de cultivo. Os tanques 1, 2, 3 e 4 apresentaram o valor de  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml,  $1,4 \times 10^3$  ufc/ml,  $4,1 \times 10^3$  ufc/ml e  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml respectivamente (tabela 1).

**Tabela 1:** Bactérias aeróbicas totais a 22°C na água de cultivo

TANQUE	UFC/ML
1	$2,2 \times 10^3$
2	$1,4 \times 10^3$
3	$4,1 \times 10^3$
4	$2,2 \times 10^3$

#### *Identificação e quantificação dos coliformes totais, termotolerantes e Escherichia coli;*

Verificou-se a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* apenas nos tanques 3 e 4. Os valores de coliformes totais e termotolerantes no tanque 3 foi de  $4,6 \times 10^3$  NMP/ml e de *Escherichia coli* de  $3,0 \times 10^0$  NMP/ml. No tanque 4 o valor foi de  $1,1 \times 10^3$  NMP/ml para coliformes totais e termotolerantes e  $7,0 \times 10^0$  NMP/ml para *Escherichia coli* (tabela 2).

### *Identificação de bactérias patogénicas*

Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus* em todos tanques. A presença de Enterococcus foi detectada apenas nos tanques 3 e 4, cujo maior valor foi observado no tanque 4 com 270 UFC/ml e o menor no tanque 3 com 18 UFC/ml. A *Pseudomona aeruginosa* foi observada apenas no tanque 3 com o valor de 56 UFC/ml (tabela 2).

**Tabela 2:** Coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli* e bactérias patogénicas

Parâmetros	TANQUE			
	1	2	3	4
<b>COLIFORMES TOTAIS (NMP/ML)</b>	<3	<3	4,6x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>
<b>COLIFORMES TERMOTOLERANTES (NMP/ML)</b>	<3	<3	4,6x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>
<b>ESCHERICHIA COLI (NMP/ML)</b>	<3	<3	3,0x10 <sup>0</sup>	7,0x10 <sup>0</sup>
<b>ENTEROCOCCUS (UFC/ML)</b>	0	0	18	270
<b>PSEUDOMONA AERUGINOSA (UFC/ML)</b>	0	0	56	0
<b>SALMONELLA SPP \</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Vibrio Cholera</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

## 5. Discussão

### ✓ *Bactérias aeróbicas totais*

As bactérias aeróbicas totais foram detectadas em todos os tanques, e a maior contagem foi no tanque 3 com  $4,1 \times 10^3$  UFC/ml. A presença de aeróbicos totais em todos os tanques piscicultura refletiu as inadequadas condições de manejo da água usada no cultivo. Segundo silva (2000) a contagem de bactérias aeróbicas totais objectiva estimar o número de bactérias heterotróficas na água.

### ✓ *Coliformes totais, termotolerantes e Escherichia coli*

Observou-se a existência de coliformes e *Escherichia coli* somente nos tanques 3 e 4, e os valores encontrados foram  $4,6 \times 10^3$  NMP/ml para coliformes totais e termotolerantes no tanque 3, e  $1,1 \times 10^3$  NMP/ml para ambos parâmetros no tanque 4. Enquanto que a *Escherichia coli* teve valores de  $3,0 \times 10^0$  NMP/ml e  $7,0 \times 10^0$  NMP/ml nos tanques 3 e 4 respectivamente.

A ausência dos coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* nos tanques 1 e 2 possivelmente tenha sido devido a ausência precipitação na semana anterior a amostragem. A presença de coliformes totais nos tanques 3 e 4 não indicou necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de patógenos, uma vez que o coliformes totais não são exclusivamente fecais, também pode estar presente em sedimentos e vegetação (Cunha, 2006).

Não havendo legislação nacional sobre limite microbiológico na água de piscicultura, e recorrendo deste modo a legislação internacional N° 357/05 do CONAMA de 1000 NMP/100ml (Brasil, 2005) os valores de coliformes totais contados na presente pesquisa, estiveram acima do padrão estabelecido, indicado deste modo a contaminação sanitária a que estão expostas as tilápias na água de cultivo.

Considerando a mesma resolução, o valor de coliformes termotolerantes  $1,1 \times 10^3$  NMP/ml na água de cultivo excedeu o limite estabelecido, evidenciando a contaminação por matéria fecal devido a principalmente a presença de *Escherichia coli*, por esta ser exclusivamente fecal (Franco, 2003).

A presença de coliformes termotolerantes, em diferentes concentrações indicam que de alguma forma a água está a ser contaminada, e a presença de *Escherichia coli* pode estar relacionada a

precipitação pluviométrica na semana anterior a amostragem que ressuspendeu os sedimentos contaminados na coluna de água, e também a presença de aves que podem introduzir matéria fecal enquanto alimentam-se da tilápia (Scholten, 2009).

Freitas *et al.* (2017) com precipitação média de 31,36 mm no mês da amostragem tiveram valores de coliformes termotolerantes de  $2,3 \times 10^2$  NMP/ml a  $1,6 \times 10^3$  NMP/ml, e *Escherichia coli*  $3,6 \times 10^0$  NMP/ml a  $3,5 \times 10^2$  NMP/ml justificando que a precipitação pluviométrica estaria associada a níveis máximos de microorganismos indicadores de contaminação fecal devido à ressuspensão dos sedimentos contaminados na coluna de água, predominando a distribuição desses organismos nos tanques.

Paiva (2016) no seu estudo sobre avaliação microbiológica da água de piscicultura teve valores de coliformes totais e termotolerantes que variaram de 93 MP/ml a 2400 NMP/ml para coliformes termotolerantes, tendo deste modo concluído que a água de cultivo era imprópria para cultivo por exceder o valor máximo estabelecido pela resolução brasileira N° 357/05 do CONAMA de 1000 NMP/100ml.

✓ *Salmonella* spp. e *Vibrio cholera* e *Vibrio parahaemolyticus*

Não foi observada a presença da *Salmonella* spp. em nenhum dos tanques. Este facto pode ser explicado pelo curto tempo de sobrevivência das *Salmonella* spp. em águas com salinidade >30ppt (Floresta, 2006). A salinidade nos tanques foi de  $34.17 \pm 0.56$  ppt, não favorecendo a sobrevivência da *Salmonella* spp.

Nwabueze (2011) concluiu que a *Salmonella* pode ser bem isolada em esgotos, estuários e água doce provavelmente contaminada com esgoto urbano ou fezes. Nobregas (1982) concluiu que a *Salmonella* spp. pode ser isolada com sucesso em águas profundas que quando comparadas a águas de superfície a proporção pode ser de 100 a 1000 vezes maior.

Não foram detectados os *Vibrios cholera* e *parahaemolyticus*, em todos os tanques. Segundo Costa *et al.* (2009), a alta densidade de estocagem, o alto nível de arraçoamento e matéria orgânica nos tanques, são alguns factores que favorecem a proliferação de *Vibrios*. Na presente pesquisa observou-se a ausência dessas condições favoráveis para a proliferação de *Vibrios*. Os *Vibrios* podem ser encontrados com maior frequência em ambientes com faixa de salinidade ampla (estuários, mar), sedimentos, moluscos e crustáceos (Kelly *et al.*, 1978), e o índice de evaporação e precipitação são factores que controlam a circulação da água e distribuição de salinidade, influenciando a quantidade desse microorganismos tanques de cultivo (Garcia, 1998). A salinidade



da água nos tanques foi de  $34.17 \pm 0.56$  ppt, que constituiu uma condição favorável para a proliferação de *Vibrios*, porém a sua ausência desses pode ser explicada pela não existência *Vibrios* em água dos tanques.

O CONAMA (2005) na Resolução 375, não contempla limites para *Vibrios* em água destinadas a piscicultura, deste modo, no que concerne a quantificação de *Vibrios* não pode ser comparado a um padrão legal.

#### ✓ *Enterococcus e Pseudomona aeruginosa*

Foram detectados *Enterococcus* apenas nos tanques 3 e 4, com 18 UFC/ml e 270 UFC/ml respectivamente. Doyle (1997) conclui que a presença de *Enterococcus* indica práticas sanitárias inadequadas. De acordo com Santos *et al.* (1996) a presença de *Enterococcus* pode estar relacionada ao aumento da pluviosidade e ao arrasto de sedimentos para os tanques contendo fezes de animais. Henkes (2010) pesquisou *Enterococcus* em águas estuarinas e teve valores de 1 a 30 UFC/ml tendo concluído que as bactérias desse género são bastante tolerantes a presença de sais.

Não havendo legislação específica limitante para concentrações de *Enterococcus* em água destinada a piscicultura, não se pode precisar o índice de comprometimento do cultivo pela quantificação de *Enterococcus* nos tanques. Entretanto, a existência desse microorganismo na água de cultivo indica poucas condições de higiene, devido a contaminação fecal.

A *Pseudomona aeruginosa* esteve presente unicamente no tanque 3 com 56 UFC/ml. A sua presença pode ser explicada pelo facto dessa fazer parte das bactérias indígenas na água (Tripathy *et al.*, 2006).

## 6. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, em função da avaliação da qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis mossambicus*, foram observadas as seguintes conclusões:

- Foi detectada a presença de bactérias aeróbicas totais em todos os tanques de cultivo ( $2,2 \times 10^3$  ufc/ml;  $1,4 \times 10^3$  ufc/ml;  $4,1 \times 10^3$  ufc/ml e  $2,2 \times 10^3$  ufc/ml);
- Os coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* foram observados nos tanques 3 e 4. No tanque 3 os coliformes totais e termotolerantes tiveram valor de  $4,6 \times 10^3$  NMP/ml no tanque e *Escherichia coli*  $3,0 \times 10^0$  NMP/ml. No tanque 4 o valor foi de  $1,1 \times 10^3$  NMP/ml para coliformes totais e termotolerantes e  $7,0 \times 10^0$  NMP/ml para *Escherichia coli*.
- Não foram detectados os *Vibrios cholera*, *Vibrios parahaemolyticus* e *Salmonella* spp.
- Observou-se *Enterococcus* nos tanques 3 e 4 com 18 UFC/ml e 270 UFC/ml respectivamente, e a *Pseudomona aeruginosa* no tanque 3 com 56 UFC/ml.
- A detenção desses microorganismos em particular a *Escherichia coli* serviu como evidência de contaminação fecal da água de cultivo.
- Com a ausência da *Salmonella* spp e os *Vibrios cholera* e *parahaemolyticus* pode se dizer que a *Oreochromis mossambicus*, em cultivo esta livre de infecção por *Vibrios* apesar destes fazerem parte da sua flora autóctone, não constituindo assim atentado a saúde pública por gastroenterites e cólera.
- A qualidade microbiológica da água foi insatisfatória nos tanques 3 e 4, em função dos valores de coliformes termotolerantes que não estiveram em conformidade com os padrões oficiais da legislação internacional e principalmente pela presença de *Escherichia coli*.

## 7. Recomendações

Embora não tenha se observado a presença de *Salmonella* spp e os *Vibrios cholera e parahaemolyticus* e importante fazer-se o monitoramento a cada estação de modo a obter-se uma conclusão ampla da situação microbiológica desse ambiente.

Sugiro mais estudos acerca da qualidade microbiológica em água e à adoção ou criação de leis sobre limites microbiológicos em actividades de aquacultura, que serão de grande importância para auxiliar no gerenciamento do cultivo, garantindo a sustentabilidade da actividade que é importante sob ponto de vista socio-economico.

Para trabalhos futuros recomendo uma pesquisa acerca da microbiologia da água de cultivo e da tilápia em simultâneo, em sistema intensivo com recirculação da água.

## 8. Referências bibliográficas

- Almeida, E. S. (2004). *Vibrio vulnificus* em pescado, uma revisão. *Higiene Alimentar*, v. São paulo.
- Barbosa, D. (2009). Qualidade microbiológica da água dos bebedouros. *revista digital de nutrição*. Minas gerais.
- Barbosa, M. M. (2013). Qualidade higiênico-sanitária e ocorrência de aeromonas sp. E escherichia coli em tilápias comercializadas no varejo.
- Barros, M. V. (2014). Infecções nosocomiais por enterococcus faecalis. Porto.
- Boane P. S. (2008). Parasitas de carpa *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 de Moçambique. Tese de Doutoramebto. Universidade Porto Lisboa. 153pp.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). (2005). Resolução n° 357, de 17 de março de. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama>.
- Cetesb-Companhia de tecnologia de saneamento ambiental., (2008). Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo. São Paulo. <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/rios/publicacoes.asp>
- Chan, E.S.C., Pelczar, M.J. jr., krieg N.R. (1996). Microbiologia, conceitos e aplicações. *Microbiologia da água potável e esgotos*. São paulo. Pp 337-339.
- Costa, R. A. (2006). Pesquisa de vibrio no cultivo do camarão marinho *litopenaeus vannamei* no estado do Ceará. Fortaleza, Ceará.
- Costa, R. A. *et al.* (2009). *Vibrio* em viveiros de *Litopenaeus vannamei*. Rio Grande.
- Cunha. M. A. (2006). Métodos de detenção de mcroorganismos indicadores. *Saúde & ambiente em revista*. Duque de Caxias. v.1. n.1.
- Dalsgaard, A. (1998). The occurrence of human pathogenic *Vibrio* spp. and *Salmonella* in aquaculture. *International Journal of Food Science and Technology*, 33: 127-138.
- Doyle, M. P. (1997). Food microbiology. *Fundamentals and Frontiers*. Washington

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). Garantia da qualidade dos produtos da pesca. Acesso em 15 de Setembro de 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/003/t1768p/T1768P03.htm.pdf>.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). The state of world fisheries and aquaculture. Roma.

Floresta, F. A., (2006). Condições para indução do estado viável não cultivável em Salmonella. Tese. Universidade Federal de Viçosa.

Franco B. D. G. M. (2003). Microbiologia de alimentos. São Paulo.

Freitas, F., *et al.* (2017). Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas. *Eng Sanit Ambient.* v.22 n.4. Brasil.

Foulquié M. M. *et al.* (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology.*, 106, pp.1-24.

Garcia, C. A. E. (1998). Características hidrográficas: Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande. p.18-21.

Gómez, R. *et al.* (2009). Nosocomial outbreak of linezolid-resistance *Enterococcus faecalis* in a tertiary care hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* pp-175-179.

Henkes, W. E. (2010). Identificação de *Enterococcus* spp. e resistência a antimicrobianos em amostras de regiões costeiras da lagoa dos patos. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil.

INAQUA. (2010). Curso modular de capacitação em aquacultura.

Josupeit, H. (2004). Future demand of fish and impact on trade. *Fao*. Acesso em junho 17, 2017, Disponível em: <http://www.globefish.org/files/consumptionprojections2184.pdf>

Kelly, M. T. *et al.* (1978). Temporal relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in patients and the environment. *Journal clinical microbiological.* Washington.

Kubitza, F. (2009). Uma coleção de artigos sobre tilápia. Brasil.

Kubitza, F., Kubitza, L. M. (2004). Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. 4ª. ed. Jundiaí.

Lazaro, N., Reis, e. F., Pereira, C. S., & Rodrigues, D. D. (2008). Genero Salmonella: características epidemiológicas e laboratoriais.

Luison, E. (2003). Pesquisa de coliformes totais, fecais e Salmonella spp. Em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São paulo. São paulo.

Martins, L.T. (1999). Streptococcus e Enterococcus. *Microbiologia*. 3 ed. São Paulo. p.168-169.

Martin, B. Corominas, L. Garriga, M. e Aymerich, T. (2008). Identification and tracing of Enterococcus spp. By RAPD-PCR in traditional fermented sausages and meat environment. *Journal Appl Microbiology*, 106, pp.66-77.

Mercante. (2004). Water quality in fee-fishing ponds located in the são paulo metropolitan region, Brazil.

Ministério da saúde. (2011). Manual técnico de diagnóstico laboratorial da Salmonella spp. Brasília.

Ministério do Mar, Águas Interiores e Pesca (2016). Balanço anual do plano economico e social 2015. Maputo.

Moriarty, D. (1997). The role of microorganisms in aquaculture ponds. Australia.

Moura M. A., Silva, M. S., Losekann, M. E., Hisano, H. (2013). Aquacultura: manejo e aproveitamento de efluentes. *embrapa meio ambiente*. Jaguariúna, sp.

Moutinho, C. I. (2013). Pesquisa e quantificação de pseudomonas aeruginosa: metodologia para acreditação do método normalizado. Bragança.

Nakajo, K. *et al.* (2006). Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen Enterococcus faecalis. *Oral Microbiol Immunol*, 21(5), pp.283-288.

Nóbrega N.D. (1982) Indicadores de poluição no estuário do rio Potengi e em água de esgoto em Natal. Tese de mestrado. Instituto de Ciências Biologias. São paulo

Nwabueze, A. A., (2011). Water quality and micro-organisms of leachate-contaminated pond. *American Journal Of Scientific And Industrial Research*. Nigeria. Science Huß, <http://www.scihub.org/AJSIR>

Oliveira, A. P., & Moreira, N. M. (2013). Salmonella enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. Goiânia-brasil.

- Qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) em tanques escavados no distrito de Quelimane -  
Província da Zambézia
- Oliver, J. D., Kaper, J. B. (1997). *Vibrio Species. Food Microbiology*. Washington. pp228-264.
- Paiva, T. V., (2016). Avaliação das condições microbiológicas das água de peixes do rio Mearim, no município de Bacabal-MA. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Maranhão. São Luís.
- Pereira, F. S. (2002). Metodologias de avaliação da virulência em *Vibrio* spp. Lisboa-portugal.
- Pinto P. S. A. (2001). Aspectos sanitários da Salmonelose como uma Zoonose. *Revista Higiene Alimentar*. 14(73):39-43.
- Pui C. F., Wong W. C., Chai L. C., Tunung R., Noor H. M. S. (2011). *Salmonella. a foodborne pathogen.. pp465-73*.
- Rabsch, W. Kingsley, R.A. Prager, R. Adams, L.G. (2002). *Salmonella enterica* serotype typhimurium and its host-adapted variants. *Infection and Immunity*. pp.2249-255. Acesso em: 27 Agosto. 2017 Disponível em: <http://iai.asm.org/content/70/5/2249.full.pdf+html.pdf>.
- Rebocas, R. (2010). Monitoramento da microbiota bacteriana da água em um sistema fechado de cultivo em uma estação de piscicultura marinha. Fortaleza.
- República de Moçambique. (2017). Balanço do plano económico e social de 2016. Maputo.
- Rice, W. E., Baird, B. R., Eaton, D. A., Cllesceri, S. L. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater. *American public health association. American water works association; Water environment federation*. 22and edittion. Washington.
- Rodrigues, E. (2007). Pesquisa de *Aeromona* spp. em tilápia cultivada o estado do Rio de Janeiro – Brasil. Tese de doutoramento. Universidade federal fluminense. Brasil
- Santos, E. D., Abreu, P. C., Almeida, M. T. A. (1996). Poluição orgânica e condições sanitárias das águas próximas a cidade do Rio Grande-RS, Brasil. Atlântica.
- Scholten, C. (2009). Dinâmica temporal da poluição fecal nas águas do córregulo rico. Dissertação. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". São Paulo.
- Silva, V. K., Ferreira, m. W., Logato, p. V. (2007). Qualidade da água na piscicultura.
- Silva, E. M. (2000). Avaliação da qualidade microbiológica da água de poços de propriedades rurais no município de Descanso. Tese de licenciatura. Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC), São Miguel.

- Qualidade microbiológica da água de cultivo de *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) em tanques escavados no distrito de Quelimane -  
Província da Zambézia
- Sipauba-Tavares. (2006). Limnological parameters and plankton community responses in Nile tilapia ponds under chicken dung and npk (4-14-8) fertilizers.
- Smith. (1996). The effects of domestic sewage effluent on marine communities at Coffs Harbour. *New South Wales, Australia*.
- Sousa, G. M. (2011). Análise da qualidade microbiológica da água, ao longo da cadeia produtiva de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na região norte do estado do Paraná. Brasil.
- Souza, M. L. R. (2002). Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos de processamento da tilápia do Nilo. *R. Bras. Zootecn.* V.31.
- Souto, M. (2014). Governança e crescimento partilhado das pescas no sudoeste do oceano Índico em Moçambique. Maputo.
- Sperling, M. (2005). Princípios de tratamento biológico de águas residuais. Belo Horizonte.
- Tripathy, S., Kumar, N., Mohanty, S., Samanta, M., Mandal, R. N., Mait, N. K. (2006). Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from freshwater culture systems. *Microbiological research*. Bhubaneswar.
- Tortora, G. J. (2000). Microbiologia. 6. Ed. Porto Alegre. Pp 163
- Vieira R., Rodrigues D.P., Barreto N.S.E., Souza O. V., Torres R. C. O., Ribeiro R.V. (2004). Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. São Paulo.
- Yamaguchi U. M. *et al.* (2013). Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR. *O mundo da saúde*. São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312-320. Acesso em: 23 Junho. 2017. Disponível em: <[http://saocamilo-sp.br/pdf/mundo\\_saude/106/1827.pdf](http://saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/106/1827.pdf)>

## 9. Anexos

---





**Imag.1.** Coleta de amostra.



**Imag.2.** Placa de petri contendo *Enterococcus*;



**Imag.3.** Tubos de ensaio com tubos de durhan invertidos, contendo meio *Escherichia coli*

Anexo II: tabela com dados de precipitação

**Departamento de Observação e Rede (DOR)**

Tabela- Dados diários de Precipitação referente aos meses de Junho a Agosto de 2017

Parâmetro	Dias	Meses		
		Junho	Julho	Agosto
Precipitação (mm)	01	0,0	0,4	0,9
	02	0,0	0,0	0,0
	03	2,7	0,0	0,0
	04	2,3	0,0	0,0
	05	0,0	0,0	0,0
	06	0,5	10,1	0,0
	07	0,0	0,0	0,0
	08	0,0	2,0	3,2
	09	0,0	0,0	3,3
	10	0,5	0,0	0,0
	11	0,0	0,0	0,0
	12	0,1	0,0	0,0
	13	0,0	0,0	0,0
	14	0,0	0,0	0,0
	15	0,0	0,0	0,0
	16	0,0	0,0	0,0
	17	0,7	0,0	0,0
	18	0,0	0,0	0,0
	19	0,0	5,0	13,0
	20	2,1	0,0	1,6
	21	1,9	0,1	0,6
	22	0,0	0,0	0,0
	23	0,0	0,0	0,0
	24	1,1	0,0	0,0
	25	7,2	0,0	0,0
	26	0,0	0,0	0,0
	27	8,5	2,5	0,0
	28	0,0	0,0	1,3
	29	0,0	0,0	1,1
	30	0,7	0,0	0,0
	31			1,5

O Chefe do DOR  
  
 Sérgio Alferes Mugo  
 (Téc. Sup. N1)

