

Avaliação da microbiota intestinal de peixes alimentados com duas dietas diferentes

Hélio LANGONI¹, Giusepe Fernando NAPOLITANO², Luiz Edvaldo PEZATTO³, Margarida Maria BARROS³ & Osmar Angelo CANTELMO⁴

RESUMO

Estudou-se a microbiota intestinal de 237 peixes alimentados com 2 sistemas alimentares, sendo 77 provenientes de sistema extensivo (alimentados com fezes de suínos e de frango) e 160 criados em sistema intensivo, submetidos à alimentação com dieta completa. Foram isolados diferentes microrganismos do grupo das enterobactérias, como *Salmonella thyphimurium*, em peixes criados em sistema intensivo (4,5%) e no extensivo (3,9%). Isolou-se *Shiguella sonnei* somente no sistema intensivo, em 2,7% das 37 carpas examinadas, perfazendo 1,2% do total dos peixes estudados nesse sistema. Discute-se a relevância destes como agentes de infecções alimentares. Os resultados desta pesquisa devem trazer reflexão quanto à patogenicidade desses microrganismos para o homem, bem como dos riscos de ocorrência de infecções alimentares e da importância das ações de vigilância sanitária no controle da qualidade higiênico-sanitária dos pescados.

Palavras-chave: Microbiota Intestinal; Enterobactérias.

ABSTRACT

Intestinal microbiota from fishes fed with two different diets

An evaluation of the intestinal microbiota from 237 fish, fed with two systems: 77 in an extensive system (feces of growing pigs and chicken), and 160 with an intensive system (complete diet) was performed. Different

1. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ/UNESP, C. P. 560, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil.
2. Bolsista de Iniciação Científica/FAPESP (94/3574-5).
3. Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal – FMVZ/UNESP, Botucatu, SP.
4. CEPTA/IBAMA, Pirassununga, SP.

microorganisms of the Enterobacteria group, were isolated, and among them *Salmonella thyphimurium* from fish raised in the intensive system (4.5%) and extensive (3.9%). *Shiguella sonnei* was isolated only in the intensive system in 2.7% from the 37 carps examined, resulting in 1.2% of the total of fish studied in these system. The relevance of these microorganisms as agents of food poisoning was discussed. Data of this study suggest a reflection about the patogenicity of these microorganisms to the human being as well as the possible occurrence of food poisoning, and also the importance of the sanitary watch, about the control of sanitary-hygienic quality of fish.

Key words: Intestinal Microbiota; Enterobacteriaceae.

INTRODUÇÃO

Os peixes são extremamente importantes na alimentação, pois constituem fonte de proteínas de alto valor biológico, sendo considerados tão importantes quanto as carnes de outras espécies animais para a nutrição humana. Em alguns países dos continentes europeu e asiático, é a proteína de origem animal mais consumida, cujo teor protéico nas diferentes espécies oscila entre 15% e 20% (Germano et al., 1998).

A facilidade na digestão, devido à pequena quantidade de tecido conjuntivo, fato verificado nos peixes mais magros, faz com que hoje se torne o alimento mais requisitado mundialmente. No Brasil, levando-se em consideração os aspectos sócio-econômicos, o consumo de pescado ainda é pequeno, sendo que apenas 10% da população o incorpora à alimentação, variando regionalmente, sendo de 21% nas regiões Norte e Nordeste e 2% na região Sul (INAN/FIBGE/IPEA, 1990).

Outras características significativas quanto aos aspectos nutricionais referem-se às concentrações de 250 g/100 g de tecido, em fósforo e iodo, nos peixes marítimos e, ainda, de cálcio e ferro, bem como dos níveis elevados de vitaminas A e D, na musculatura dos peixes, com teores de gordura superiores a 15%, sendo que nos demais a concentração é sempre elevada no fígado. Os peixes frescos contêm ainda alta concentração de vitamina B1 (Lederle, 1991).

O pescado pode veicular grande número de microrganismos patogênicos para o homem, devido principalmente à contaminação ambiental, pelo lançamento de esgotos nos reservatórios, lagos e rios (Constatinido, 1994). Também a associação de microrganismos causadores de toxinfecções alimentares a partir da ingestão de pescados tem sido documentada (Abeyta et al., 1989; Germano et al., 1993).

Entre as enterobactérias, destacam-se em importância as bactérias do gênero *Salmonella*, tanto de origem humana como a *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi*, como outras de origem animal (Nunes, 1994). Da mesma forma, *Shigella* spp. se reveste de importância, pois estas são encontradas em águas poluídas por esgotos ou por fezes animais (Germano et al., 1998).

Edwardsielloses estão registradas em diversas espécies de peixes, incluindo o salmão (Amandi et al., 1982), as carpas (Sae-Qui et al., 1984) e a tilápia (Kubota et al., 1981). Os resultados de pesquisa conduzida por Floyd et al. (1993), que estudaram 1.500 peixes adultos (*Micropterus salmoides*), mostram o isolamento de *Edwardsiella tarda*, *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas* spp, de intestinos e úlceras cutâneas profundas. Da mesma forma, Trust & Sparrow (1974) assinalaram o isolamento de diferentes microrganismos a partir do conteúdo intestinal de peixes, como *Acinetobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. e *Serratia* spp.

Fattal et al. (1993), estudando o trato digestivo de tilápias criadas em viveiros e alimentadas com fezes animal ou matéria orgânica de esgoto municipal, constataram que geralmente os peixes eram contaminados com *Escherichia coli* e *Enterobacter* spp. em níveis superiores aos daqueles criados com água limpa. Os resultados de pesquisa conduzida por Acuff et al. (1984) apontam a importância de *Moraxella* spp., *Acinetobacter* spp. e *Micrococcus* spp. como microrganismos prevalentes na microbiota entérica de *Tilapia aurea*. Estudando a presença de patógenos entéricos em águas de tanques de criação de peixes, Sanyal et al. (1987) isolaram diferentes tipos de salmonelas, *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides*, considerando-as como risco de infecção para o ser humano.

Tendo em vista o incremento no número de piscigranjas e a falta de estudos quanto à microbiota intestinal nas principais espécies criadas em nosso país, propôs-se estudar a microbiota do intestino em peixes mantidos com duas dietas diferentes, com ênfase às espécies nativas. Este projeto foi desenvolvido conjuntamente com o CEPTA/IBAMA de Pirassununga/SP e a FMVZ/UNESP de Botucatu/SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudou-se a microbiota do conteúdo intestinal de 237 peixes provenientes de piscigranjas com diferentes técnicas de criação. O grupo foi caracterizado em dois subgrupos, de acordo com o sistema de alimentação adotado, sendo um deles criado extensivamente alimentado com fezes de aves e suínos e o outro alimentado com ração balanceada e mantido sob manejo intensivo e cuidados higiênico-sanitários.

Dos 237 peixes, 77 eram do sistema extensivo e não foram identificados. Os 160 do sistema intensivo eram: 28 tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), 38 pacus (*Piaractus mesopotamicus*), 22 curimatás (*Prochilodus lineatus*), 33 carpas-comuns (*Cyprinus carpio*), 21 traíras (*Hoplias malabaricus*), 10 matrinxãs (*Brycon cephalus*), 3 bagres-africanos (*Clarias gariepinus*), 2 piauçus (*Leporinus macrocephalus*) e 3 tambacus (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*).

Logo após o abate ou atordoamento, retirou-se o intestino com tesoura e pinça esterilizadas e acondicionou-se em embalagens plásticas novas e individuais, notificando-se, quando o caso, a espécie, bem como a origem e o sistema de produção adotado. O transporte dos intestinos deu-se sob temperatura de refrigeração, utilizando-se elemento gelado reciclável em caixas de material isotérmico.

As amostras foram obtidas após abertura da porção final do intestino, e com o auxílio de swab estéril procedeu-se à retirada das fezes, incluindo-se raspado de mucosa com leve fricção do swab à parede intestinal, cultivando-se imediata e diretamente em meios de ágar-sangue e MacConkey e incubando-se a 37°C, em condições aeróbicas por até 7 dias, com observação diária do crescimento bacteriano. Parte do material e o próprio swab foram colocados em meio caldo-selenito-cisteína, incubando-se a 37°C durante 18 horas.

A partir dos caldos enriquecidos procedeu-se à semeadura com alça de platina, em placas contendo meios de ágar-MacConkey e ágar Salmonella-Shiguelia (SS), incubando-se as mesmas a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação nos diferentes meios de cultivo, verificou-se o crescimento bacteriano, observando-se as características das colônias e a morfologia bacteriana pela coloração de Gram. A seguir foram repicadas, para a identificação por provas bioquímicas, segundo Carter & Cole Junior (1990).

RESULTADOS

As porcentagens de microrganismos isolados nas diferentes espécies de peixes examinados, criados no sistema extensivo, encontram-se na Tabela I. O isolamento de cada microrganismo nas diferentes espécies de peixes examinadas, nos sistemas de produção intensivo, pode ser averiguado na Tabela II, sendo que mais de um deles pode ter sido isolado em um mesmo peixe. A frequência de isolamento para as espécies matrinxã, bagre-africano, piauçú e tambacu, mantidos também no sistema intensivo e estudados em menor número, pode ser observada na Tabela III.

TABELA I Porcentagem de microrganismos isolados em 77 peixes criados no sistema extensivo.

Microrganismo	Número	Porcentagem
<i>Escherichia coli</i>	75	97,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	48	62,3
<i>Citrobacter freundii</i>	44	57,1
<i>Edwardsiella tarda</i>	17	22,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	16,9
<i>Enterobacter agglomerans</i>	7	9,1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6	7,8
<i>Hafnia alvei</i>	4	5,2
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,3
<i>Salmonella thyphimurium</i>	3	3,9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	2,6
<i>Morganella morganii</i>	2	2,6
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1,3
<i>Citrobacter amaloniticus</i>	1	1,3
<i>Shigella sonnei</i>	1	1,3

DISCUSSÃO

A análise dos resultados revela uma microbiota variada nas espécies estudadas, nos dois tipos de criação, bem como diferenças quanto à frequência de isolamentos dos diferentes microrganismos, independente do tipo de dieta.

Ressalta-se ainda que alguns deles apresentam riscos à saúde pública por poderem desenvolver infecções e toxinfecções alimentares por contaminação na dependência da quantidade ingerida ou de produção de toxinas, quando presentes na musculatura, quando de sua preparação.

Embora não tenhamos classificado sorologicamente as amostras de *Escherichia coli*, este microrganismo foi prevalente nos dois sistemas de criação, exceto no caso dos pacus criados intensivamente. De maneira geral, as enterobactérias isoladas do trato gastrointestinal dos peixes podem ser consideradas como patogênicas para o ser humano por ocasionarem colibaciloses e salmoneloses, provocadas, respectivamente, por alguns sorotipos de *E. coli* e por *Salmonella* spp.

TABELA II Porcentagem de microrganismos isolados em diferentes espécies de peixes criados no sistema intensivo.

Microorganismo	Espécie (nº peixes)											
	Tilápia (28)		Pacu (38)		Curimbatá (22)		Carpa (33)		Traíra (21)			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	24	85,7	20	71,4	18	81,2	28	84,8	15	71,4		
<i>Citrobacter freundii</i>	15	53,6	29	76,3	3	13,6	16	48,5	3	14,3		
<i>Edwardsiella tarda</i>	12	42,8	9	23,7	NI	NI	5	15,1	8	38,1		
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	28,6	30	78,9	12	54,5	11	33,3	NI	NI		
<i>Hafnia alvei</i>	7	25,0	2	5,3	NI	NI	2	6,1	2	9,5		
<i>Enterobacter agglomerans</i>	5	17,8	4	10,5	2	9,1	NI	NI	NI	NI		
<i>Citrobacter amaloniticus</i>	2	7,1	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	NI	NI	NI	NI	2	9,1	3	9,1	NI	NI		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NI	NI	NI	NI	3	13,6	7	21,7	2	9,5		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	NI	NI	2	5,3	NI	NI	2	6,1	NI	NI		
<i>Proteus vulgaris</i>	NI	NI	2	5,3	NI	NI	NI	NI	NI	NI		
<i>Morganella morganii</i>	NI	NI	NI	NI	2	9,1	NI	NI	NI	NI		
<i>Salmonella thymimurium</i>	2	7,1	NI	NI	2	9,1	4	12,1	NI	NI		
<i>Proteus mirabilis</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	2	6,1	NI	NI		
<i>Shigella sonnei</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	2	6,1	NI	NI		

NI = não isolado.

TABELA III Porcentagem de microrganismos isolados em 18 espécies de peixes examinados, mantidos no sistema intensivo.

Espécie	Nº de peixes	Microrganismos	Porcentagem
Matrinxã	10	<i>Escherichia coli</i>	100,00
		<i>Enterobacter cloacae</i>	50,00
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	10,00
Bagre-africano	3	<i>Citrobacter freundii</i>	66,66
		<i>Escherichia coli</i>	66,66
		<i>Edwardsiella tarda</i>	33,33
		<i>Enterobacter cloacae</i>	33,33
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33,33
Piauçu	2	<i>Escherichia coli</i>	100,00
		<i>Citrobacter freundii</i>	50,00
		<i>Morganella morganii</i>	50,00
Tambacu	3	<i>Citrobacter freundii</i>	66,66
		<i>Edwardsiella tarda</i>	66,66
		<i>Escherichia coli</i>	66,66

Não somente estas são consideradas patogênicas, como também *Edwardsiella tarda*, que foi isolada na grande maioria das espécies de peixes examinadas, concordando com Bejerano et al. (1979) e Hawke et al. (1981). Destaca-se ainda o isolamento de *Citrobacter freundii*, que também é referido por Sato et al. (1982).

Enterobacter spp. foi encontrado em peixes frescos e congelados (Germano et al., 1993). Pertencente ao mesmo gênero, obteve-se no presente estudo, como segundo agente, o *Enterobacter cloacae*, isolado em 62,3% dos animais mantidos no sistema extensivo e em 78,9% dos pacus, no sistema intensivo. Embora com menor frequência, isolou-se ainda *Enterobacter agglomerans* nos dois sistemas de criação.

Corroborando os resultados obtidos quanto ao isolamento de *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus vulgaris* no presente estudo, salientam-se os conseguidos por Trust & Sparrow (1974).

O isolamento de *Salmonella thyphimurium* em 3,9% dos peixes do sistema extensivo e em 7,1%, 9,1% e 12,1% das tilápias, curimbatá e carpas, respectivamente, mantidos intensivamente, assume maior importância quanto à saúde pública, considerando-se as possibilidades de contaminação dos peixes e conseqüente quadros de salmonelose em decorrência dos hábitos alimentares do consumidor, como, por exemplo, a ingestão de peixe cru ou malcozido. O mesmo pode-se atribuir à *Shigella sonnei*, embora tenha sido isolada menos frequentemente.

CONCLUSÕES

Conclui-se pela obtenção de uma microbiota variada, com o isolamento de agentes significativos em saúde pública, como *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella thyphimurium* e *Shiguella sonnei*, entre outros, como a própria *Escherichia coli*, na dependência do sorotipo envolvido.

REFERÊNCIAS

- ABEYTA, C.J.R.; WEAGANT, S.D.; KAYSNER, C.A.; WEKELL, M.M.; STOTT, R.F.; KRANE, M.H.; PEELER, J.T. *Aeromonas hydrophila* in shellfish growing waters: incidence and media evaluation. *J. Food Protect.*, v. 53, p. 7-12, 1989.
- ACUFF, G.; IZAT, A.L.; FINNE, G. Microbial flora of pond-reared Tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice. *J. Food Protect.*, v. 47, p. 778-780, 1984.
- AMANDI, A.; HIU, S.F.; ROHOVEC, J.S.; FRYER, J.L. Isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *App. Environ. Microbiol.*, v. 43, p. 1380-1384, 1982.
- BEJERANO, Y.; SARIG, S.; HORNE, M.T.; ROBERTS, R.J. Mass mortalities in silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes) associated with bacterial infection following handling. *J. Fish Dis.*, v. 2, p. 495, 1979.
- CARTER, G.R.; COLE JUNIOR, J.R. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and microbiology*. New York: Academic Press, 1990. 620 p.
- CONSTANTINIDO, G. A saúde de pescado depende diretamente da saúde do ambiente. *Hig. Alim.*, v. 8, p. 506, 1994.
- FATTAL, B.; DOTAN, A.; CABELLI, V.J. *et al.* Microbiological purification of fish in grown in fecally contaminated commercial fish pond. *Environ. Qual. Ecosystem Stab.*, v. 27, p. 303-311, 1993.
- FLOYD, R.F.; REED, P.; BOLON, B.; ESTES, J.; MCKINNEY, S. An epizootic of *Edwardsiella tarda* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Wildl. Dis.*, v. 29, p. 334-336, 1993.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.; OLIVEIRA, C.A.F. Aspectos da qualidade do pescado de relevância para saúde pública. *Hig. Alim.*, v. 12, p. 30-37, 1998.
- GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M.I.S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. *Hig. Alim.*, v. 7, p. 40-45, 1993.
- HAWKE, J.P.; MCWHORTER, A.C.; STEIGERWALT, A.G.; BRENNER, D.J. *Edwardsiella tarda*, the causative agent of enteric septicaemia of catfish. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 31, p. 396-400, 1981.
- INAN/FIBGE/IPEA. *Pesquisa nacional sobre saúde e nutrição (PNSN)*. Brasília, 1990.
- KUBOTA, S.S.; KAIGE, N.; MIYAZAKI, T.; MIYASITA, T. Histopathological studies on edwardsielosis of tilapia – 1. Natural infection. *Bull. Fac. Fish.*, v. 9, p. 155-165, 1981.

LEDERLE, J. *Enciclopédia moderna de higiene alimentar*. São Paulo: Manole, 1991.

NUNES, A.M.N. Qualidade do pescado é fator primordial para o prestígio do setor. *Hig. Alim.*, v. 8, p. 6-8, 1994.

SAE-QUI, D.; MUROGA, K.; NAKAI, T. A case of *Edwardsiella tarda* infection in cultured colored carp *Cyprinus carpio*. *Fish Pathol.*, v. 19, p. 197-199, 1984.

SANYAL, D.; BURGE, S.H.; HUTCHIENES, P.G. Enteric pathogens in tropical aquario. *Epidem. Inf.*, v. 99, p. 635-640, 1987.

SATO, N.; YAMANE, N.; KAWAMURA, T. Systemic *Citrobacter freundii* infections among sunfish *Mola mola* in Matsushima aquarium. *Bul. Jap. Soc. Scient. Fish.*, v. 48, p. 1551-1557, 1982.

TRUST, J.J.; SAPARROW, R.A.H. The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fish. *Can. J. Microbiol.*, v. 20, p. 1219-1228, 1974.