



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA

MARIA TEREZA MARTINS SOUSA

ESTUDO DE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE
LAGOSTAS ESPINHOSAS *Panulirus argus* (LAGOSTA VERMELHA) E
***Panulirus laevicauda* (LAGOSTA VERDE) COM POSSÍVEL EFEITO PROBIÓTICO**

FORTALEZA – CE

2023

MARIA TEREZA MARTINS SOUSA

ESTUDO DE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE
LAGOSTAS ESPINHOSAS *Panulirus argus* (LAGOSTA VERMELHA) E
Panulirus laevicauda (LAGOSTA VERDE) COM POSSÍVEL EFEITO PROBIÓTICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Orientadora: Prof.^a Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes

Coorientadora: Dra. Ana Vládila da Silva Oliveira

FORTALEZA – CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S697e Sousa, Maria Tereza Martins.
Estudo de cepas bacterianas isoladas do sistema digestório de lagostas espinhosas *panulirus argus* (lagosta vermelha) e *panulirus laevicauda* (lagosta verde) com possível efeito probiótico / Maria Tereza Martins Sousa. – 2023.
63 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.
Coorientação: Profa. Dra. Ana Vládila da Silva Oliveira .
1. Pescarias Marinhas. 2. Intestino. 3. Enzimas. 4. Microrganismos. 5. Ação Probiótica. I. Título.
CDD 639.2
-

MARIA TEREZA MARTINS SOUSA

ESTUDO DE CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO DE
LAGOSTAS ESPINHOSAS *Panulirus argus* (LAGOSTA VERMELHA) E
Panulirus laevicauda (LAGOSTA VERDE) COM POSSÍVEL EFEITO PROBIÓTICO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes (Orientadora)
Departamento de Engenharia de Pesca/CCA/UFC.

Dra. Ana Vládila da Silva Oliveira (Coorientadora)
Departamento de Engenharia de Pesca/UFC.

Prof. Dr. Reynaldo Amorim Marinho
Departamento de Engenharia de Pesca/CCA/UFC.

Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho
Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR)/UFC.

AGRADECIMENTOS

Não sou muito boa em falar palavras bonitas, então quem vier a ler essa parte saiba que eu dei o meu melhor para escrevê-la, depois de vários surtos ao escrever esse documento.

Inicialmente, quero agradecer a Deus pela oportunidade de estar aqui e conhecer tantas pessoas maravilhosas. Agradeço por ter me concedido a graça de nascer na minha família e ter vivo alguns anos em uma montanha russa de dias bons e ruins.

Quero agradecer a minha mãe, por sempre me colocar em suas orações e ser a coluna de fé da nossa família, ao meu padrasto que por mais que não sejamos muito de conversar um com o outro, ele sempre teve carinho e cuidado por mim. Ao meu querido irmão, Isaac (que espero que não leia esse documento), que sempre foi a razão do meu levantar de todas as manhãs para enfrentar um ônibus lotado e ir para algumas aulas maçantes do curso, tudo porque eu quero que ele sinta orgulho de ter uma irmã inteligente. Aos meus avós que não estão mais entre nós, mas que me ensinaram sobre humildade, lealdade e de sempre ajudar o próximo da forma que puder. E a Ester, minha amiga e irmã adotiva, saiba que a minha mãe me ama mais do que ama você.

A minha orientadora, Prof.^a Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes que me deu a oportunidade de fazer esse trabalho. Foi na sua aula que pude finalmente me encontrar no curso e com a sua ajuda, eu cheguei aqui, mesmo reclamando todo o tempo.

A minha coorientadora Dra. Ana Vládila da Silva Oliveira que sempre me ajudou, desde o momento da escolha do tema até os últimos segundos da entrega do trabalho pronto. Sempre me senti orgulhosa e envergonhada quando ela dizia que confiava em mim ao deixar as cepas dela comigo.

Ao Prof. Dr. Reynaldo Amorim Marinho que aceitou fazer parte da minha banca.

A Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho que foi uma das pessoas que mais me acolheu desde o momento em que eu pisei pela primeira vez no laboratório, todos os testes que eu realizei nesse trabalho foram graças a sua dedicação e amor em ensinar esse mundo que é a microbiologia.

A Prof. Dra. Oscarina Viana de Sousa que me ensinou muito sobre microbiologia e sobre a vida também, vou levar para sempre a dica de como fazer um sanduíche com bife (ele salva vidas).

Ao LAMAP, que sem dúvida alguma, é o meu segundo lar. O LAMAP foi um dos poucos lugares em que eu encontrei muito mais do que apenas conhecimento. Fui capaz de encontrar muitos amigos, muitas risadas e muito, muito trabalho. Nós somos tantos, que eu teria que escrever outra monografia só para caber todo mundo aqui, vou ressaltar só alguns - Alexandra, Larissa, Daniel, Jhones, Robério, Ivis, Raquel, Vládila, Rebeca, Mariana (vulgo Havena), Igor, Ariele, Iorana, Deborah, Anna e Sara (e antes que algumas pessoas reclamem, os nomes não estão em ordem de favoritismo). Aos que não estão com o nome escrito aqui, eu sinto muito, não coube e agora eu vou ter que mudar a numeração do sumário novamente.

“Qualquer árvore que queira tocar os céus precisa ter raízes tão profundas a ponto de tocarem no inferno.”

- Carl Jung.

RESUMO

A pescaria de lagostas é uma das principais pescas desenvolvidas no Brasil, apresentando o Estado do Ceará com a maior representação econômica. As espécies da família Palinuridae são as que mais agregam valor econômico, em especial *Panulirus laevicauda* e *Panulirus argus*. Devido o decréscimo da pesca mundial o setor vem tentando receber apoio da aquicultura, porém, com a intensificação e deterioração do ambiente de cultivo diversas doenças estão surgindo e o uso excessivo de produtos como antibióticos pode levar ao aumento da resistência patogênica. Uma das estratégias que se mostra como a mais promissora é a utilização de microrganismos vivos (probióticos), sendo eles administrados na ração, injetados ou adicionados na água com o intuito de combater ou controlar doenças infecciosas. O presente estudo teve como objetivo identificar bactérias com potencial probiótico em lagostas espinhosas das espécies *Panulirus laevicauda* e *Panulirus argus*. Analisando a capacidade dessas cepas suportarem variações de salinidade, temperatura e pH, avaliar o perfil enzimático, a capacidade de formar agregados, antagonizar frente a patógenos e a susceptibilidade a antibióticos utilizados na carcinicultura, veterinária e clínica humana. Como resultados foram observados: na salinidade o crescimento em 3 e 10‰ das estirpes oriundas do intestino residente da *P. laevicauda* e do intestino transitório da *P. argus*, para a temperatura o melhor crescimento foi observado pelas estirpes do hepatopâncreas em todas as faixas testadas, para o pH o crescimento satisfatório foi nas concentrações de 5, 7 e 9, nas amostras do intestino residente e hepatopâncreas da *P. laevicauda*, no perfil enzimático as do intestino residente e intestino transitório da *P. laevicauda*, e no intestino transitório da *P. argus* foram as que se destacaram, para agregação foram as do intestino transitório de *P. argus*. E para o perfil de resistência foi observada: nas amostras de *P. laevicauda* isoladas do intestino residente resistência a: Amoxicilina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol e Tetraciclina, no intestino transitório a resistência foi a Amoxicilina, Ciprofloxacina e Norfloxacina. Nas estirpes de *P. argus* foi observada resistência nos dois intestinos com o mesmo padrão: Amoxicilina, Ciprofloxacina e Tetraciclina. As análises mostraram que existe possibilidade de ação probiótica das cepas, porém, ainda se faz necessário a realização de mais testes para a comprovação dos seus efeitos.

Palavras – Chave: Pescarias Marinhas; Intestino, Enzimas, Microrganismos; Ação Probiótica.

ABSTRACT

Lobster fishing is one of the main fisheries in Brazil, with the state of Ceará having the largest economic share. The species of the Palinuridae family are the most economically valuable, especially *Panulirus laevicauda* and *Panulirus argus*. Due to the decrease in global fishing, the sector has been trying to receive support from aquaculture, but with the intensification and deterioration of the farming environment, various diseases are appearing and the excessive use of products such as antibiotics can lead to an increase in pathogenic resistance. One of the most promising strategies is the use of live microorganisms (probiotics), which are administered in the feed, injected or added to the water in order to combat or control infectious diseases. The aim of this study was to identify bacteria with probiotic potential in spiny lobsters of the *Panulirus laevicauda* and *Panulirus argus* species. Analyzing the ability of these strains to withstand variations in salinity, temperature and pH, evaluating the enzymatic profile, the ability to form aggregates, antagonize pathogens and susceptibility to antibiotics used in shrimp farming, veterinary and human medicine. The results were as follows: in salinity, growth was observed at 3 and 10‰ for the strains from the resident intestine of *P. laevicauda* and the transient intestine of *P. argus*; for temperature, the best growth was observed by the strains from the hepatopancreas in all the ranges tested; for pH, satisfactory growth was observed at concentrations of 5, 7 and 9 in the samples from the resident intestine and hepatopancreas of *P. laevicauda*. *P. laevicauda*, in the enzymatic profile those from the resident intestine and transitional intestine of *P. laevicauda*, and in the transitional intestine of *P. argus* were the ones that stood out, for aggregation were those from the transitional intestine of *P. argus*. As for the resistance profile, resistance was observed in the *P. laevicauda* samples isolated from the resident intestine to: Amoxicillin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol and Tetracycline, and in the transient intestine to Amoxicillin, Ciprofloxacin and Norfloxacin. In the *P. argus* strains, resistance was observed in both intestines with the same pattern: Amoxicillin, Ciprofloxacin and Tetracycline. The analysis showed that there is a possibility of probiotic action of the strains, however, it is still necessary to carry out more tests to prove their effects.

Keywords: Marine Fisheries; Intestine; Enzymes; Microorganisms; Probiotic Action.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ocorrência e Classificação da <i>Panulirus argus</i> no Brasil	21
Figura 2 -	Ocorrência e Classificação da <i>Panulirus laevicauda</i> no Brasil	22
Figura 3 -	Mapa da localização da Praia de Redonda, Icapuí – CE	26
Figura 4 -	Fluxograma do Método de Incorporação em placa (<i>pour plate</i>) realizada para o isolamento das cepas	27
Figura 5 -	Fluxograma do teste de tolerância a variação de temperatura	28
Figura 6 -	Observação da turvação do meio de cultura indicando resultados positivos e negativos	29
Figura 7 -	Fluxograma do teste pH	29
Figura 8 -	Observação de resultados positivos e negativos	30
Figura 9 -	Fluxograma do teste de tolerância a diferentes concentrações de NaCl	30
Figura 10 -	Observação do crescimento bacteriano das cepas na concentração de 0% de NaCl	31
Figura 11 -	Resultados do teste de Elastase dos microrganismos analisados	32
Figura 12 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Gelatinase	32
Figura 13 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Caseínase	33
Figura 14 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Fosfolipase	33
Figura 15 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Lipase	34
Figura 16 -	Placas de Petri contendo Ágar Sangue	35
Figura 17 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Amilase após adição do Lugol 1%	35
Figura 18 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Celulase	36
Figura 19 -	Placas de Petri contendo meio para o teste de Quitinase	37
Figura 20 -	Placa da ação antagônica das cepas frente ao <i>V. parahaemolyticus</i>	37
Figura 21 -	Tubos de ensaio contendo biofilme produzido pelas cepas analisadas	38
Figura 22 -	Placa de poliestireno de 96 poços com biofilme produzido pelas cepas analisadas	39
Figura 23 -	Placas de Muller Hinton com discos de antibiótico com cepas isoladas das amostras de lagostas	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Resultados do antibiograma das cepas do Hepatopâncreas da <i>P. laevicauda</i>	53
Gráfico 2 -	Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Residente <i>P. laevicauda</i>	54
Gráfico 3 -	Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Transitório <i>P. laevicauda</i>	54
Gráfico 4 -	Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Residente <i>P. argus</i>	55
Gráfico 5 -	Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Transitório <i>P. argus</i>	55
Gráfico 6 -	Resultado do antibiograma do total das amostras	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Lista de antibióticos utilizados para o teste de susceptibilidade a antimicrobianos.....	39
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Lista com zonas de inibição dos antibióticos testados, de acordo com as especificações do CLSI 2022.....	40
Tabela 2 -	Caracterização morfológica (Coloração de Gram) das cepas pertencentes ao sistema digestório de lagostas <i>P. argus</i> e <i>P. laevicauda</i>	42
Tabela 3 -	Resultados obtidos nos testes de Temperatura, pH e Salinidade	44
Tabela 4 -	Resultados obtidos nos testes de Perfil Enzimático	48
Tabela 5 -	Resultados obtidos nos testes de Antagonismo e Agregação em tubos de ensaio e placa de poliestireno	50
Tabela 6 -	Resultados obtidos nos testes de Susceptibilidade a antimicrobianos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMO	Amoxicilina
BHI	Brain Heart Infusion
CIP	Ciprofloxacina
CLO	Cloranfenicol
EST	Estreptomicina
MPM	Meropenem
NOR	Norfloxacino
SUT	Sulfazotrim
TSA	Agar Triptona de Soja
TSB	Tryptone Soya Broth
TET	Tetraciclina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEORICO.....	19
2.1	AtividadePesqueira.....	19
2.2	Espécies de Lagostas Espinhasas no Brasil	21
2.3	Probióticos.....	23
3	OBJETIVOS.....	25
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Área de Estudo.....	26
4.2	Seleção e Isolamento dos Microrganismos.....	26
4.3	Seleção dos Microrganismos com Potencial Probiótico.....	28
4.4	Determinação da tolerância a Temperaturas.....	28
4.5	Determinação da viabilidade sob diferentes concentrações de pH.....	29
4.6	Determinação da tolerância a NaCl.....	30
4.7	Determinação do Perfil Enzimático.....	30
4.7.1	<i>Elastase</i>	30
4.7.2	<i>Gelatinase</i>	32
4.7.3	<i>Caseínase</i>	33
4.7.4	<i>Fosfolipase</i>	33
4.7.5	<i>Lipase</i>	34
4.7.6	<i>β-Hemólise</i>	35
4.7.7	<i>Amilase</i>	35
4.7.8	<i>Celulase</i>	36
4.7.9	<i>Quitinase</i>	36
4.8	Teste de Antagonismo através da Tecnica de Estrias Cruzadas(<i>crossstreak</i>).....	37
4.9	Teste de Agregação em Tubos.....	38
4.9.1	<i>Agregação em Tubos em Vidro</i>	38
4.9.2	<i>Agregação em microplacas de poliestireno</i>	38
4.10	Estudos de Susceptibilidade a Antimicrobianos.....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1	Determinação da tolerância a temperaturas, pH e salinidade	43
5.1.1	<i>Temperatura</i>	43
5.1.2	<i>pH</i>	43
5.1.3	<i>Salinidade</i>	43
5.2	Determinação do Perfil Enzimático.....	46
5.3	Teste de Antagonismo e Agregação.....	49
5.4	Estudo de Susceptibilidade a Antimicrobianos.....	52
6	CONCLUSÃO.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58

1. INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas buscam descobrir a origem da pesca. Relatos mais antigos sobre essa atividade, no continente sul-americano, levam a crer que a exploração de recursos aquáticos ocorreu a partir o período Colonial, no entanto, há indícios de povos especializados nessa área há cerca de 12 mil anos na costa marítima, onde se localiza o Peru e Chile, atualmente (WAGNER;SILVA 2020).

No Brasil, a pesca é regulamentada pela Lei N° 11.959, de junho de 2009, que promove o desenvolvimento sustentável dessa atividade como fonte de renda, alimentação, emprego e lazer. Essa lei busca garantias para o uso sustentável dos recursos, preservação, conservação do meio ambiente e sua biodiversidade (BRASIL, 2009).

Desse modo, a pescaria de lagostas se destaca como sendo uma das principais pescas desenvolvidas no Brasil. A exploração desse recurso se deu a partir dos anos 50 em Pernambuco e 5 anos depois chegou ao Estado do Ceará onde se tornou o principal polo de captura de lagostas no país (VIANA *et al.*, 2021). Esse Estado possui a sétima maior extensão costeira do Brasil e a terceira maior do Nordeste, detendo mais de 570 km de faixa litorânea (PAULA *et al.*, 2019). As principais áreas de pesca no Estado do Ceará estão localizadas nos municípios de Camocim, Acaraú, Itarema, Barroquinha (Bitupitá), Beberibe (Parajuru), Cascavel (Caponga), Fortaleza (Porto do Mucuripe) e Icapuí (Redonda), destacando Icapuí e Itarema como notáveis pontos de captura de lagostas (OLIVEIRA, 2015).

Ademais, a pescaria desse crustáceo possui a maior representação econômica do Ceará. As espécies da família Palinuridae são as que mais agregam valor econômico, em especial as lagostas *Panulirus argus* e *Panulirus laevicauda* (lagosta vermelha e verde respectivamente) e como fauna acompanhante as lagostas sapateiras *Scyllarides brasiliensis*, *S. delfonsi*, *Parribacus antarcticus* e *Panulirus echinathus* (lagosta pintada) (CRUZ *et al.*, 2011; FONTELES-FILHO, 2011).

Vale ressaltar que as pescarias marinhas não estão progredindo e o mercado nesse setor vem sendo sustentado prioritariamente pela aquicultura (XIMENES;VIDAL 2021). Mundialmente, a criação de lagostas e lagostins apresenta uma perspectiva promissora para o desenvolvimento econômico e para segurança alimentar, aliado a redução da pressão sobre as populações naturais desses crustáceos (ALVANOU *et al.*, 2023). Porém, com a intensificação e deterioração do ambiente de cultivo diversas doenças podem surgir (STENTIFORD *et al.*,2012). Inúmeras substâncias, como fenóis sintéticos, inseticidas e antibióticos, são utilizados para eliminação de patógenos (RAJEEV *et al.*, 2021). Contudo, o uso excessivo

desses produtos pode levar ao aumento da resistência patogênica (THORNBRE*et al.*, 2020). Bactérias resistentes a antibióticos na aquicultura evidenciam uma problemática crescente e desse modo, novos métodos são necessários para o combate da multirresistência bacteriana (CDC, 2019). Sendo assim, uma das estratégias mais promissoras é o uso de microrganismos vivos (probióticos), podendo ser administrados na ração, injetados ou adicionados na água a fim de combater ou controlar doenças infecciosas (GARCÍA-MÁRQUEZ *et al.*, 2022; EISSA *et al.*, 2023).

A microbiota intestinal pode ser um possível alvo para eliminar essas ameaças (NEWMAN; ARSHAD, 2020). Aplicações de probióticos podem desempenhar funções fundamentais, modulando diversos aspectos da saúde desses animais (ALVANOU *et al.*, 2023). Como por exemplo, ajudando no sistema imunológico e aumentando a resistência a diferentes contaminações microbianas (MADANI *et al.*, 2018; VAN DOAN *et al.*, 2018; DAWOOD *et al.*, 2019). Tais práticas melhoram o microbioma intestinal do hospedeiro (SELIM; REDA, 2015; RAMOS *et al.*, 2017) e conseqüentemente sua funcionalidade (BURR *et al.*, 2008). Diante do exposto, o presente estudo buscou identificar bactérias com potencial probiótico em lagostas espinhosas das espécies *Panulirus argus* e *Panulirus laevicauda*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Atividade Pesqueira

A pesca é uma atividade milenar que desde a sua origem possui um importante papel histórico, no âmbito global. Caracterizada pela captura ou retirada de organismos vivos oriundos de um ambiente aquático, possui relevância recreativa, social e econômica. Essa prática iniciou-se pelas civilizações primitivas, desempenhando um papel primordial na subsistência desses povos. Essas áreas obtiveram expansão, com o decorrer dos anos e então os grandes impérios notaram que essa atividade era altamente lucrativa e adotaram as pescarias como função econômica (DIEGUES, 2000).

Comparando todas as categorias de produção de pescados (pesca marinha, pesca continental, aquicultura marinha e aquicultura continental) a pesca marinha continua sendo a maior produtora de pescado com 84,4 milhões de toneladas, seguida da aquicultura continental e marinha, que produziram 82,1 milhões de toneladas e por fim a pesca continental com 12 milhões de toneladas (FAO, 2020).

Depois de anos de estacionamento, a FAO verificou um aumento de 5,4% na captura de espécies marinhas, totalizando 96,4 milhões de toneladas em 2018, esse acréscimo foi atribuído ao aumento da captura de Anchoveta (*Engraulisringens*) no Chile e no Peru. Estima-se que a produção mundial de pescado, advindo das atividades pesqueiras, tenha movimentado cerca 96,4 milhões de toneladas de pescados mundialmente. É importante ressaltar que o Brasil não divulga seus dados relacionados a produção pesqueiras desde 2011 (FAO, 2020).

Nesse país, depois de mais de vinte anos de debates entre representantes do setor pesqueiro, do poder executivo brasileiro e dos parlamentares, o Congresso Nacional aprovou e o Presidente da República sancionou a Lei no 11.959, de 29 de junho de 2009, que estabelece a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca. Essa norma define a pesca como sendo todo procedimento, ato ou execução com objetivo de extrair, colher, apanhar, apreender ou capturar recursos pesqueiros e atividade pesqueira como todos os métodos de pesca, exploração e exploração, criação, conservação, processamento, transporte, comércio e estudos desses organismos (BRASIL, 2009), sendo realizada ao longo da região costeira brasileira (CRUZ *et al.*, 2011).

O Brasil possui uma extensa zona costeira, o que contribui para diversificar características climáticas tropicais, subtropicais e temperadas, criando particularidades ecológicas, oceanográficas e geológicas diferentes para algumas regiões do país, contribuindo para abundância de diferentes espécies de pescados (MARRONI; ASMUS, 2013).

A atividade pesqueira movimentou no Brasil cerca de R\$ 5 bilhões de reais (SEDREZ *et al.*, 2013; LINS *et al.*, 2020). Contribuindo para a economia, abastecendo o mercado interno e externo (PINHEIRO *et al.*, 2014; LUTZ *et al.*, 2016). Considerando o apelo do mercado externo pelo consumo da lagosta, houve a expansão da pescaria desse crustáceo na Região Nordeste do país, no final da década de 90. O que caracterizou o início de uma corrida da indústria pela captura e exportação desse pescado, tornando-o um dos produtos brasileiros mais exportados (PORTO, 2005). Portanto, as lagostas espinhosas se tornaram um importante recurso comercial no Brasil (ALMEIDA, 2021). Aproximadamente toda a produção desses animais é enviada para o mercado externo, tendo Estados Unidos, Japão e França como principais países consumidores desse produto (CAVALCANTE, 2018).

Em soma, a exploração extrativista praticada de forma insustentável por diversos anos, fez com que os estoques sofressem uma propensão a queda na produção devido a sobrepesca. Ademais, ocorreu a depreciação do valor da lagosta no mercado externo ocasionados pela instabilidade quanto ao tamanho dos indivíduos (SANTOS, 2019; ALMEIDA, 2021). Apesar da exploração desse recurso possuir grande importância econômica e ecológica para o Brasil, a falta de dados de produção e as raras e antigas informações sobre as populações existentes dificultam a avaliação do impacto da atividade pesqueira e a sustentabilidade dessa prática para o futuro (ANDREW *et al.*, 2007; JEFFERS *et al.*, 2019).

2.2 Espécies de Lagostas Espinhas no Brasil

No Brasil, é possível constatar a existências de cinco diferentes espécies de lagostas, sendo *Panulirus argus* (lagosta vermelha) a mais capturada e por consequência comercialmente de maior rentabilidade e em segundo lugar se encontra *Panulirus laevicauda* (lagosta verde). É observada a presença, apesar de insignificante, de *Panulirus echinatus* (lagosta-pintada) encontrada principalmente no Arquipélago de Fernando de Noronha, em Pernambuco (FONTELES-FILHO, 2011). As demais espécies são consideradas apenas como fauna acompanhante: *Scyllarides brasiliensis*, *Scyllarides delfonsi* (lagostas sapateiras) (CRUZ *et al.*, 2011).

A espécie *Panulirus argus* (Latreille, 1804) comumente chamada de Lagosta-Vermelha e Lagosta-Espinhosa-do-Caribe é a mais abundante na costa brasileira. Sua incidência vai do Mar do Caribe até o litoral do Sudeste brasileiro. Possui como principal característica o exoesqueleto coberto por espinhos (de onde adquiriu o nome popular de lagosta-espinhosa), costuma viver em grupos e habitar fundos rochosos, sua coloração pode variar de amarronzada a avermelhada (SILVA *et al.*, 2008) (Figura 1).

Figura 1 – Ocorrência e classificação da *Panulirus argus* no Brasil.



Fonte: Sistema de Informação da Biodiversidade Brasileira– SiBBr (2023).

A espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille, 1817) é conhecida como Lagosta do Cabo Verde, possui cor esverdeada e seus anéis abdominais são inteiramente lisos. Se assemelham a *P. argus* por ambas possuírem carapaça coberta por espinhos (FONTELES-FILHO, 2011) (Figura 2).

Figura 2 – Ocorrência e classificação da *Panulirus laevicauda* no Brasil.



Fonte: Sistema de Informação da Biodiversidade Brasileira – SiBBR (2023).

As espécies *P. laevicauda* e *P. argus* podem coabitar no mesmo *habitat*, porém as lagostas verdes são mais comumente encontradas em regiões mais rasas, de aproximadamente 50 metros de profundidade (SILVA *et al.*, 2008).

2.3 Probióticos

A intensificação no cultivo de organismos aquáticos ocasionou uma maior frequência de enfermidades, fazendo com que fosse necessária a utilização de antibióticos para lidar com esse transtorno (SUMON *et al.*, 2022). O uso desordenado desse produto fez com que fosse necessário o desenvolvimento de estratégias para o controle de patógenos, visto que a resistência a antibióticos se tornou uma preocupação mundial (VERSCHURE *et al.*, 2000). Além disso, foi possível perceber efeitos na microbiota intestinal dos organismos aquáticos alterando seu sistema nutricional e sua resposta imunológica frente a patógenos (REKECKI *et al.*, 2009; MAYNARD *et al.*, 2012).

Sendo assim, na aquicultura, o bom funcionamento do sistema gastrointestinal dos indivíduos é fundamental para a produção animal sustentável (RINGØ *et al.*, 2018). Desse modo, os probióticos exercem função essencial, sendo considerados promissores desde a sua primeira utilização no cultivo (KOZASA, 2015).

Segundo Salminen *et al.* (2021) probióticos são microrganismos que administrados de modo e em quantidades ajustados proporcionam benefícios ao hospedeiro. De acordo com Chauhan e Singh (2018), para as bactérias serem reconhecidas como um probiótico precisam atender aos principais critérios, tais como: ter efeito benéfico ao hospedeiro, seja no crescimento, na imunoestimulação, na diminuição de efeitos estressores ou na proteção contra agentes patogênicos; não devem proporcionar nenhum efeito deletério ou danoso ao animal; possuir bons atributos sensoriais, possuir atividade fermentativa, é desejável ter tolerância a liofilização; além de tolerância ácida e biliar; resistência às enzimas gástricas; e capacidade de adesão ao trato gastrointestinal.

Devido a correlação da produtividade dos crustáceos com o seu *habitat* as alterações ambientais podem provocar doenças e a conservação dos estoques pode ser afetada (BUTT *et al.*, 2021). Os probióticos, a princípio, eram aplicados de forma preventiva a fim de combater algum surto que pudesse acometer o cultivo (AZAD *et al.*, 2005; GOMES *et al.*, 2009; VAN HAI; FOTEDAR, 2010). Com o passar do tempo, essa metodologia se desenvolveu e o uso crescente dessa prática se tornou uma ferramenta importante para o desempenho zootécnico, auxílio na manutenção da qualidade da água e resistência a patógenos nos cultivos de crustáceos (ANJOS, 2021).

De acordo com Alvanou *et al.* (2023), diversos estudos indicam que o uso de probióticos em cultivos de crustáceos podem demonstrar resultados positivos no desenvolvimento desses indivíduos, mesmo que ainda haja incertezas em relação a dosagem

administrada. Nessa situação, sugere-se que estudos devam ser realizados a fim de uma melhor compreensão sobre o potencial probiótico da microbiota de lagostas e seu funcionamento diante do hospedeiro.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar o potencial probiótico de cepas bacterianas isoladas do sistema digestório de lagostas espinhosas *Panulirus argus* (lagosta vermelha) e *Panulirus laevicauda* (lagosta verde) possuem potencial probiótico.

3.2 Objetivos Específicos

- Averiguar a capacidade de tolerância a variações de temperatura, salinidade e pH das cepas estudadas;
- Identificar perfil enzimático da microbiota das lagostas analisadas;
- Verificar ação antagônica das cepas estudadas frente *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 53;
- Análise da produção de exopolissacarídeos;
- Investigar resistência a antimicrobianos das bactérias encontradas no sistema digestivo de lagostas espinhosas.

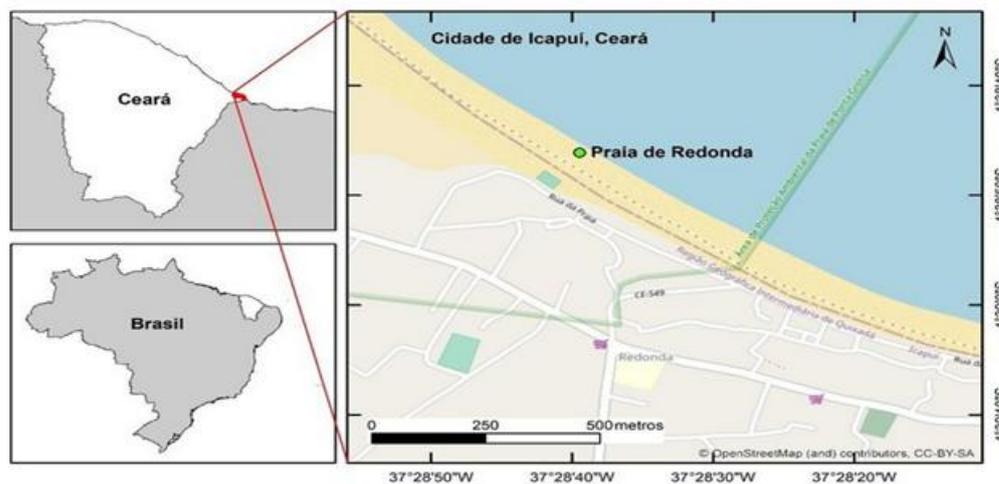
4. METODOLOGIA

4.1 Área de Estudo

As lagostas foram coletadas no período dos dias 15 e 16 de janeiro de 2019, na comunidade pesqueira da Praia de Redonda, localizada no município de Icapuí – CE, a cerca de 15 km da sede do município.

Ao todo, foram processados um total de 20 indivíduos dos quais, 10 pertenciam a espécie de *P. argus* e 10 a espécie de *P. laevicauda* (Figura 3).

Figura 3 –Mapa da localização da Praia de Redonda, Icapuí - CE.



Fonte: OLIVEIRA (2023).

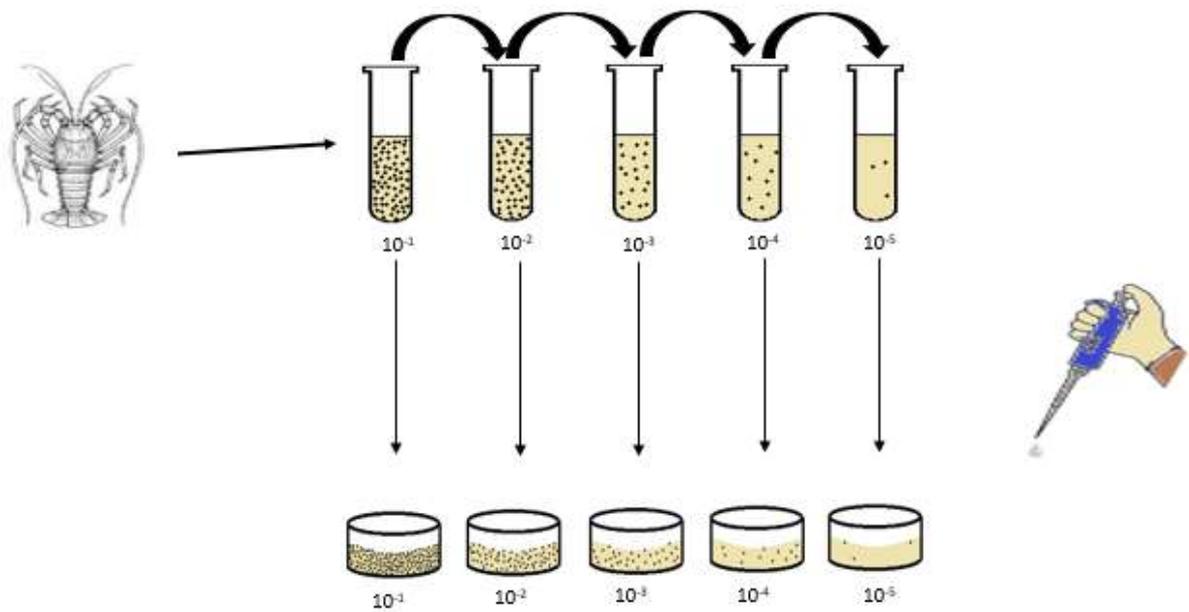
4.2 Seleção e Isolamento dos Microrganismos

Os animais foram devidamente sensibilizados por meio da técnica de termonarcorese, (FREIRE; GONÇALVES, 2013) com o intuito de minimizar o estresse causado pelo abate, após a insensibilização, o intestino foi extraído de forma higiênica.

Após esse procedimento, as amostragens foram separadas em duas categorias: cepas residentes e cepas transitórias do intestino. Para que fosse realizado esse procedimento, o intestino foi retirado de forma asséptica e lavado com água destilada estéril e álcool 70%. Essas amostras foram diluídas em água do mar estéril, com a salinidade ajustada para 10g/L^{-1} ou 10‰ (partes por mil) e após entrar em contato com o material processado, foram diluídas em séries de 10^{-1} a 10^{-5} , ou seja, da forma mais concentrada para a menos concentrada.

Para a cultura dos microrganismos, foi utilizado o meio de crescimento não seletivo TSA (Agar Triptona de Soja) solubilizado em água do mar, aplicando o Método de contagem de Placas (CPP) e o Método de Incorporação em placa (*Pour Plate*), um método de inoculação em profundidade (VIEIRA; TÔRRES, 2004), caracterizado pela transferência de 1 ml da amostra para placas de Petri e adição do meio de cultura. Posteriormente, as amostras foram mantidas em uma estufa bacteriológica a 35°C por um período de 48 horas. Após esse período foram realizados contagens e isolamento das colônias. A identificação e caracterização morfológica das bactérias foi realizada seguindo a técnica de coloração de Gram (VIEIRA; TÔRRES, 2004; PELCZAR, 1997). Depois de identificadas, as amostras foram preservadas em ágar TSA para que fossem utilizadas nos estudos posteriores (Figura 4).

Figura 4 – Fluxograma do Método de Incorporação em placa (*Pour Plate*) realizada para o isolamento das cepas.



Fonte: Autora (2023).

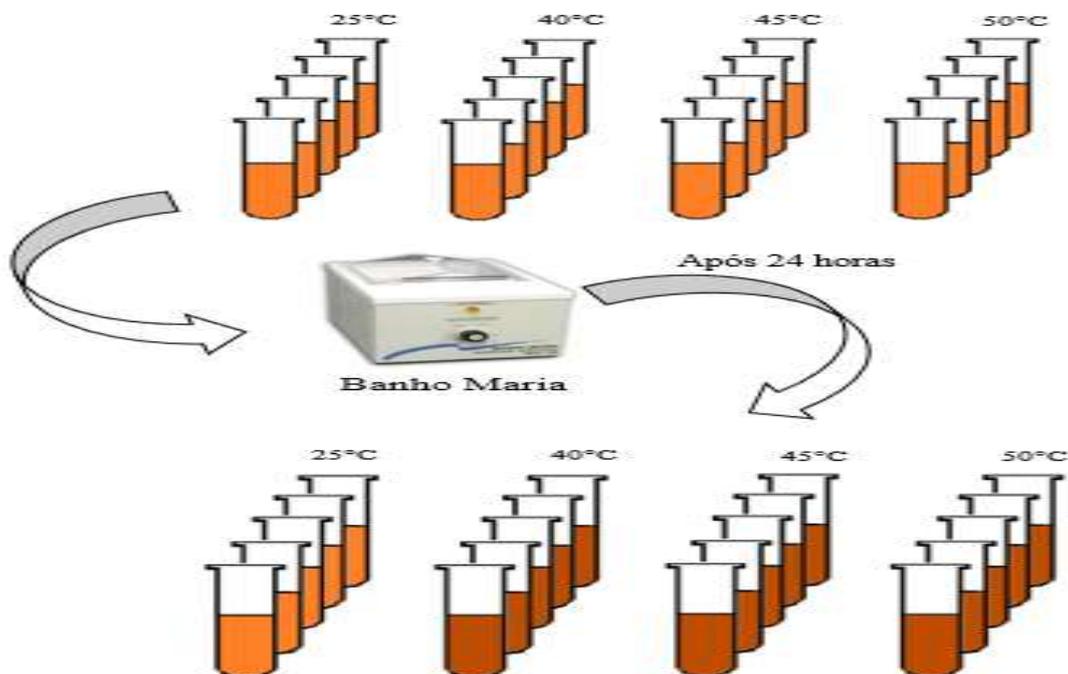
4.3 Seleção dos Microrganismos com Potencial Probiótico

Para seleção dos microrganismos, 30 cepas pertencentes ao intestino das lagostas *P. argus* e *P. laevicauda* foram cultivadas. Essa seleção foi feita a partir de diferentes tamanhos, formatos e cores das colônias, a fim de ter uma maior diversidade de bactérias para análise. As cepas foram submetidas a teste de coloração de Gram com a finalidade de determinar a morfologia das suas paredes e verificar a pureza das células.

4.4 Determinação de Tolerância a Temperaturas

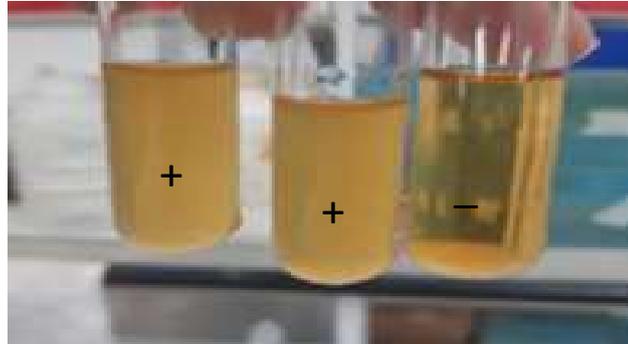
As cepas foram inoculadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), meio líquido ideal para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, acrescido de água do mar 10%, estéril. As culturas bacterianas foram incubadas em 4 temperaturas diferentes (25°C, 40°C, 45°C e 50°C), em um banho-maria por um período de 24 horas. O indicativo de crescimento bacteriano foi a turvação do meio de cultura (Figuras 5 e 6).

Figura 5 – Fluxograma do Teste de tolerância a variação de Temperatura.



Fonte: Autora (2023).

Figura 6 – Observação da turvação do meio de cultura indicando resultados positivos e negativos.



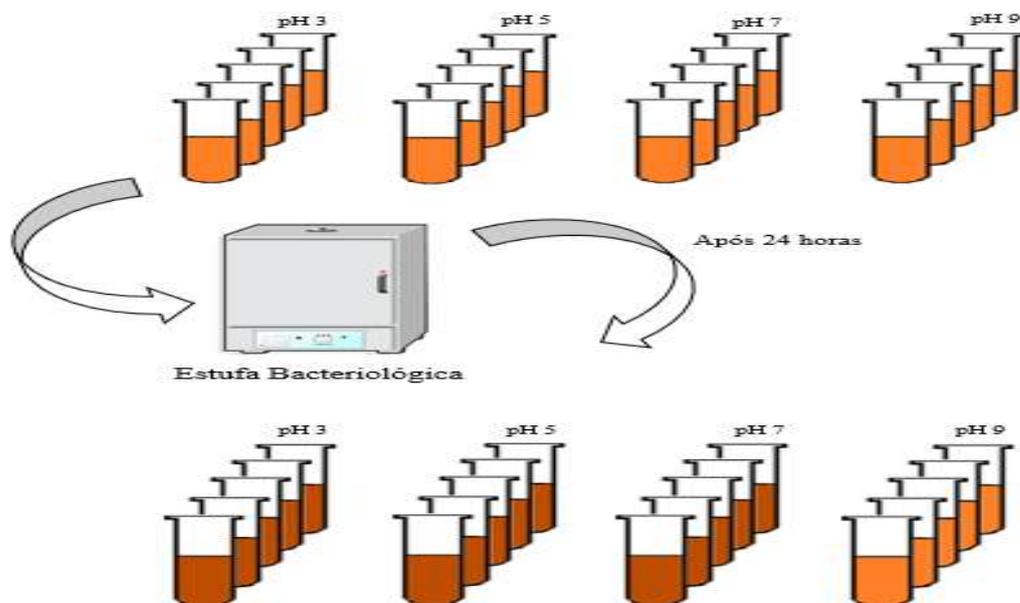
Legenda: (+) houve crescimento; (-) não houve crescimento.

Fonte: Autora (2023).

4.5 Determinação da viabilidade sob diferentes concentrações de pH

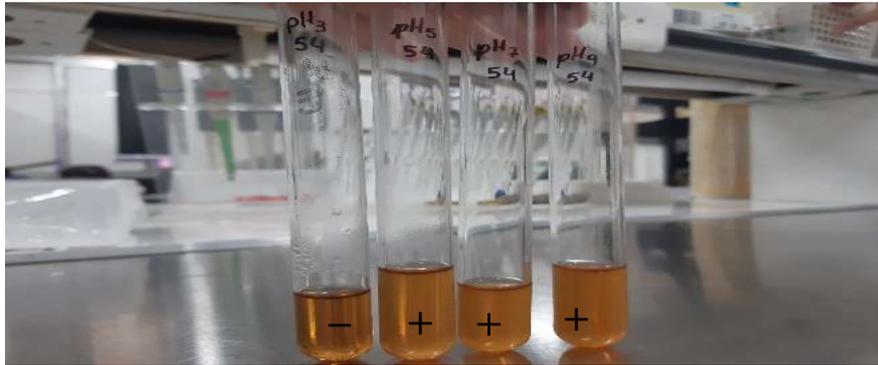
Os microrganismos foram inoculados em caldo BHI acrescido de água do mar 10% em 4 níveis diferentes de pH (3, 5, 7 e 9) e incubados em uma estufa bacteriológica a 35°C por um período de 24 horas, seguindo as recomendações de (CAI *et al.*, 1999) o indicativo de crescimento foi a turvação do meio de cultura (Figuras 7 e 8).

Figura 7 – Fluxograma do Teste de tolerância a variações de pH.



Fonte: Autora (2023).

Figura 8 – Observação de resultados positivos e negativos.



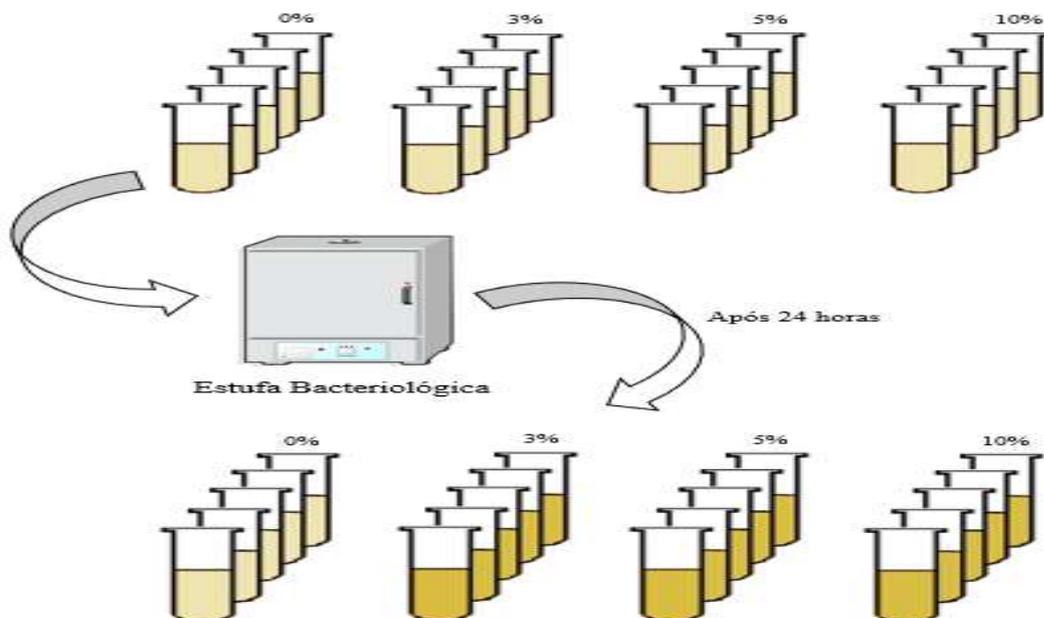
Legenda: (+) houve crescimento; (-) não houve crescimento

Fonte: Autora (2023).

4.6 Determinação da Tolerância a NaCl

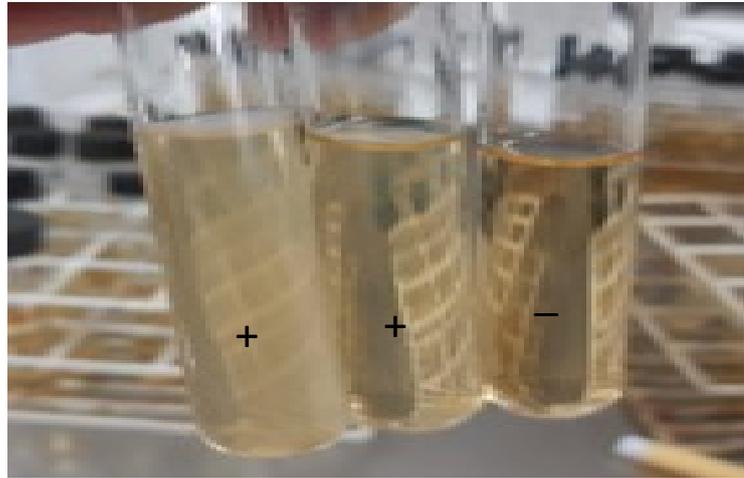
As cepas foram inoculadas em caldo TSB (*Tryptone Soya Broth*) sem a adição de sais na composição, foram realizadas diferentes concentrações de NaCl (0%, 3%, 5% e 10%). As amostras permaneceram na estufa bacteriológica à 35°C por um período de 24 horas. O resultado positivo de crescimento foi por meio da turvação do meio de cultura (Figuras 9 e 10).

Figura 9 – Fluxograma do Teste de tolerância a diferentes concentrações de NaCl.



Fonte: Autora (2023).

Figura 10 – Resultado do crescimento bacteriano nas concentrações de NaCl 0%.



Legenda: (+) houve crescimento; (-) não houve crescimento.

Fonte: Autora (2023).

4.7 Determinação do Perfil Enzimático

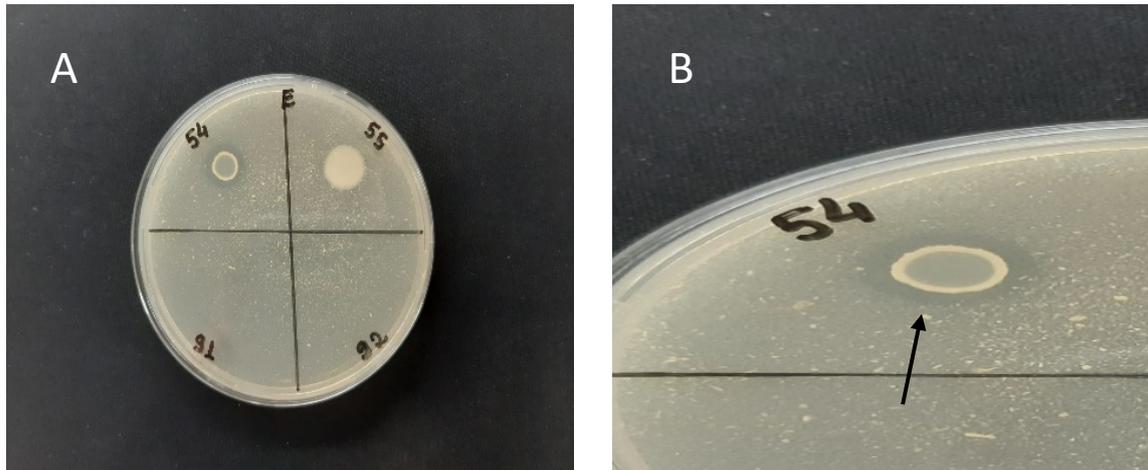
As cepas foram testadas em relação a ausência ou presença de determinadas enzimas, essas foram: Elastase, Gelatinase, Caseínase, Fosfolipase, Lipase, Amilase, Celulase, Quitinase e β -Hemólise. (RUST, MESSING, IGLEWSKI, 1994; RODRIGUES *et al.*, 1993, FURNISS, LEE, DONOVAN, 1979).

4.7.1 Elastase

A metodologia utilizada foi proposta por Rust, Messing e Iglewski (1994). O meio foi preparado em duas partes: a base que ocupa 2/3 do total da placa e a cobertura que ocupa 1/3 do total da placa de petri.

Foi utilizado na base o ágar Noble da marca Difco e caldo nutriente, o pH do meio deve ser de 7,5 e necessário esperar a solidificação da base para que a cobertura seja adicionada. A cobertura foi composta de ágar Nutriente, caldo nutriente e 0,3% de elastina. Os microrganismos foram previamente inoculados em caldo BHI 10%. Uma alíquota 4 μ l do inóculo foi transferida para placas de elastase e deixado crescer na placa por um período de 7 dias a 35 °C. A positividade do teste é observada por meio da hidrolisação da elastina, vista em um halo ao redor do inóculo (Figura 11).

Figura 11 – Resultados do teste de Elastase dos microrganismos analisados.



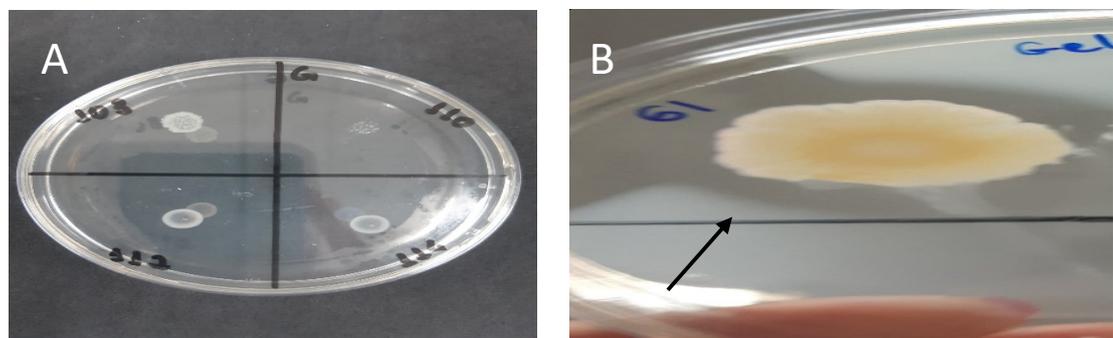
Legenda: (A) Placa de Elastase com os inoculos; (B) halo transparente indicando a hidrólise da elastina.

Fonte: Autora (2023).

4.7.2 Gelatinase

Para a identificação de bactérias que tenham a capacidade de hidrolisar gelatina, foi preparado um meio de cultura com ágar TSA com 1% de NaCl e adicionado de 0,5% de gelatina, esse meio possui pH que pode variar de 7,5 a 8. O inóculo adicionado a placa, permaneceu na estufa por um período de 7 dias a 35° C. Para a visualização da positividade da atividade gelatinolítica, é necessário fazer uma solução supersaturada de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de Amônio), como revelador (Figura 12).

Figura 12 – Placas de Petri contendo meio para o teste de Gelatinase.



Legenda: (A) Placa de Gelatinase contendo os inóculos; (B) Observação do halo translucido com o auxílio da solução reveladora.

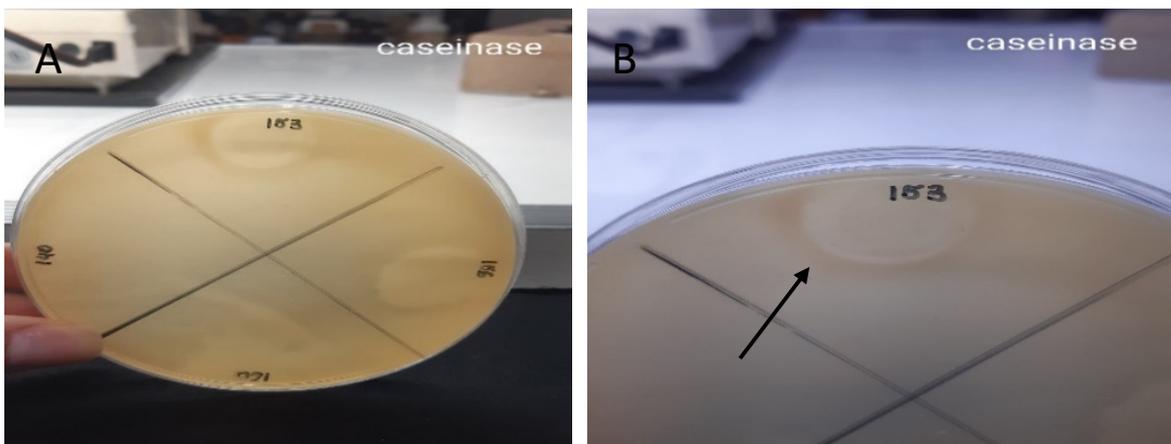
Fonte: Autora (2023).

4.7.3 Caseínase

Seguindo as recomendações de Rodrigues *et al.* (1993) com modificações, o meio foi dividido em duas partes: um Erlenmeyer continha metade da solução total do meio para que fosse solubilizado 5% de leite em pó desnatado, o outro Erlenmeyer continha ágar Nutriente, somente após a retirada dos meios da autoclave as duas soluções são misturadas e adicionadas as placas de petri. Não houve verificação de pH.

As cepas crescidas em caldo BHI 10‰ por 24 horas a 35°C foram adicionadas as placas, 4 µl do inóculo foi transferido para placas contendo esse meio específico, por 5 dias a 35° C. A visualização da positividade da atividade das bactérias no meio foi por meio da visualização da formação de um halo translúcido ao redor do crescimento bacteriano (Figura 13).

Figura 13 – Placa de petri contendo o meio para o Teste de Caseínase.



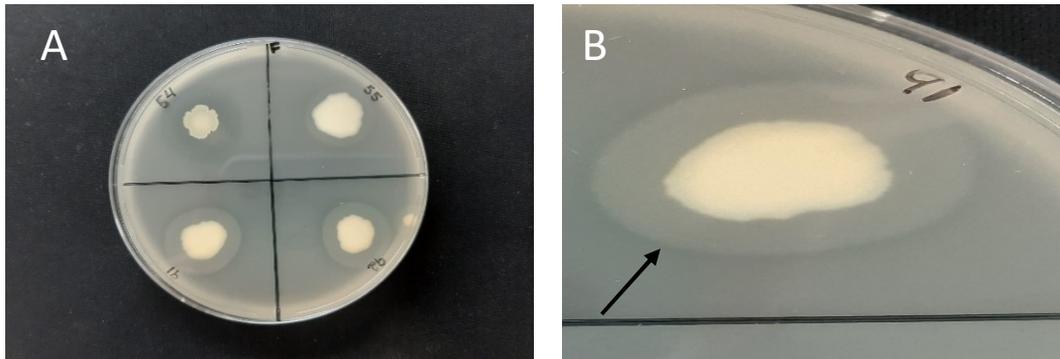
Legenda: (A) Placa com as cepas inoculadas; (B) Formação do halo indicando a quebra da caseína.

Fonte: Autora (2023).

4.7.4 Fosfolipase

Para a realização do teste, foi necessário adicionar 1% de uma solução contendo gema de ovo e salina 0,85% ao ágar TSA. O pH do meio deve estar entre 7,5 a 8. Após o preparo, foi transferido 4 µl do inóculo bacteriano crescido em caldo BHI pra placas contendo esse meio, posteriormente, essas placas de Petri foram incubadas por um período de 7 dias a 35°C, segundo as recomendações de Liu, Lee e Chen (1996). A apresentação de positividade foi o aparecimento de um halo claro e translúcido ao redor do inóculo (Figura 14).

Figura 14 – Placas de Petri contendo o meio para o teste de Fosfolipase.



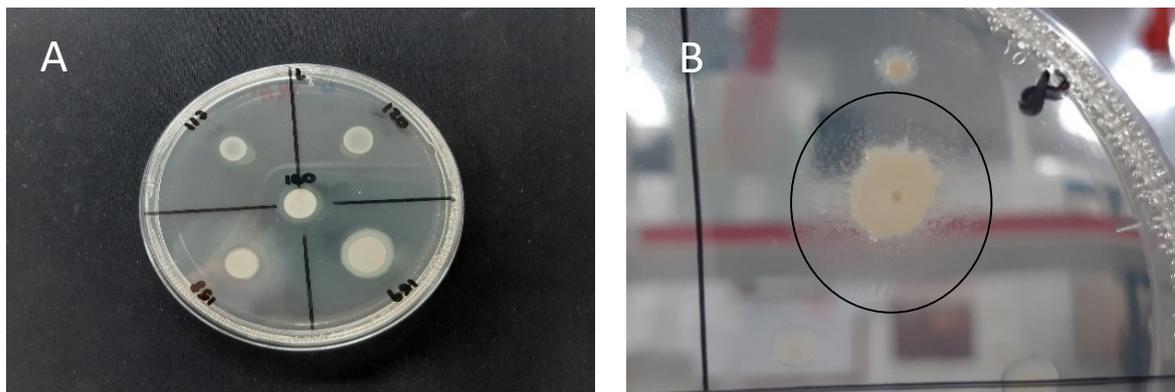
Legenda: (A) Placa de Fosfolipase contendo os inoculos; (B) Indicação de hidrólise de fosfolipase com a apresentação do halo.

Fonte: Autora (2023).

4.7.5 Lipase

Para verificação da produção de lipases pelas cepas analisadas foi utilizado meio TSA, com o pH ajustado para 7,5 a 8, acrescido de uma alíquota de 1% de TWEN 80 após o resfriamento do meio. A positividade foi observada pela visualização de um halo opalescente assim como foi descrito por Liu, Lee e Chen (1996) (Figura 15).

Figura 15 – Placas contendo o meio para o teste de Lipase.



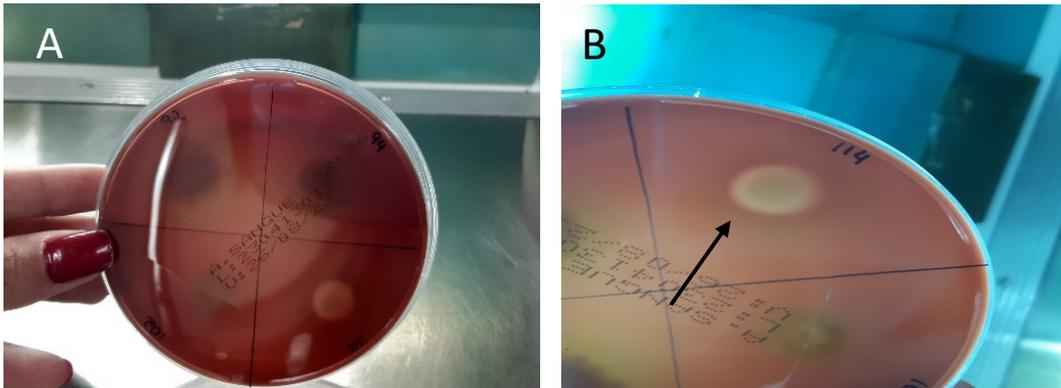
Legenda: (A) Placa de Lipase contendo os inoculos; (B) Indicação de hidrólise de lipase observado pela formação de halo.

Fonte: Autora (2023).

4.7.6 β -Hemólise

A técnica da atividade hemolítica foi observada pela utilização do meio de cultura TSA com adição de 5% de sangue de carneiro (LB –LABORCLIN). As cepas bacterianas foram inoculadas e incubadas em estufa bacteriológica por até 4 dias a 35°C. A positividade da atividade hemolítica foi observada pela presença de um halo transparente ao redor do inoculo (FURNISS; LEE; DONOVAN, 1979) (Figura 16).

Figura 16 – Placa contendo ágar Sangue.



Legenda: (A) Placa de ágar sangue contendo os inoculos; (B) Presença de halo indicando atividade β -hemolítica.

Fonte: Autora (2023).

4.7.7 Amilase

A metodologia foi realizada de acordo com Rodrigues *et al.* (1993). Sendo assim, os microrganismos foram inoculados em ágar Nutriente acrescido de 0,1% de amido solúvel, as cepas foram incubadas a 35°C por um período de 24 horas. A positividade é observada pela presença de um halo transparente, é necessário utilizar uma solução de Lugol 1%, como revelador (Figura 17).

Figura 17 – Placa contendo o meio para o teste de amilase após a adição do Lugol 1%.

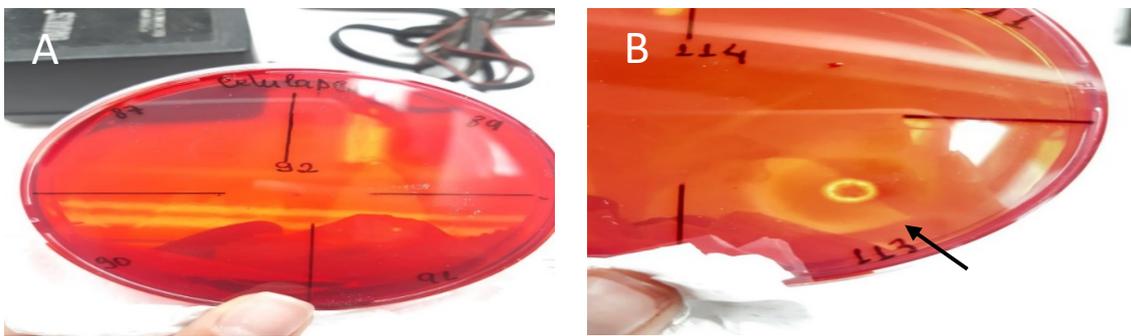


Fonte: Autora (2023).

4.7.8 Celulase

O protocolo seguido foi descrito por Teather e Wood (1982), no qual as cepas foram inoculadas em um meio Agar Carboximetilcelulose 1% – CMC adicionado a 3,27g de meio mineral e 15g de ágar-ágar para cada 1000 ml de meio, por um período de 48 horas a 35°C. Após adição de um revelador (solução de Vermelho Congo 1%) foi possível visualizar a presença de halos alaranjados nas culturas bacterianas positivas para celulase (Figura 18).

Figura 18 - Placas contendo o meio para o teste de Celulase.



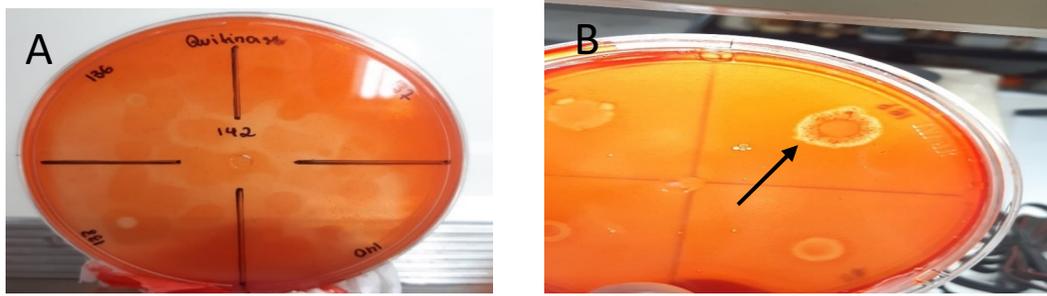
Legenda: (A) Placa de Celulase contendo cepas inoculadas; (B) Presença de halo alaranjado.

Fonte: Autora (2023).

4.7.9 Quitinase

A avaliação da presença de atividade quitinolítica foi realizada em um meio composto contendo 1% de quitina coloidal, caldo mineral e ágar-ágar, as cepas foram inoculadas em estufa bacteriológica em 35°C por um período de 72 horas. Para visualização de halo, é necessário a preparação de uma solução de Vermelho Congo 0,1% como revelador, a cepa padrão utilizada para a melhor observação da presença de halo foi *Vibrio fishery* IOC 18524 (Figura 19).

Figura 19 –Placa contendo o meio com quitina.



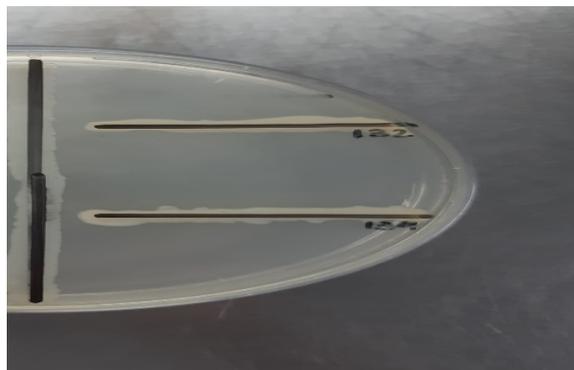
Legenda: (A) Placa de quitina com os inoculos; (B) Observação da presença de halo indicando quebra da quitina

Fonte: Autora (2023).

4.8 Teste de antagonismo - técnica de estrias cruzadas (*crossstreak*)

O teste de antagonismo por estrias cruzadas (*crossstreak*) foi realizado por meio da inoculação central (estria) do *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 53 sobre a superfície do meio TSA 10%, mantendo 0,5 cm de distância entre os inóculos, previamente, acrescidos em caldo BHI 10% por 24 horas em estufa a 35°C. A aplicação na placa contendo o meio de cultura foi feita a partir de linhas alternadas para a observação do crescimento da cepa. O antagonismo das culturas bacterianas foi verificado pelo não crescimento mútuo das cepas testadas com *V. parahaemolyticus* ATCC 53 (Figura 20).

Figura 20 – Placa da ação antagonica das cepas frente a *V. parahaemolyticus* ATCC 53.



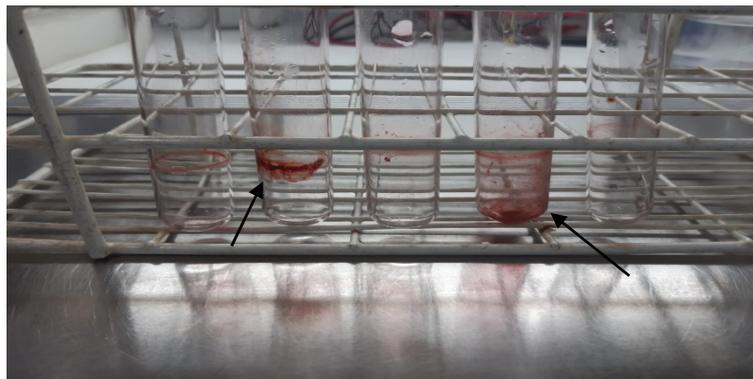
Fonte: Autora (2023).

4.9 Teste de Agregação em Tubo

4.9.1 Agregação em Tubos em Vidro

As cepas foram inoculadas em caldo BHI 10% e incubadas em estufa por 24 horas a 35°C. Após esse tempo, os inóculo foram descartados. Posteriormente, os tubos que continham o crescimento bacteriano foram lavados três vezes com água destilada estéril. Logo após, essas vidrarias foram expostas a uma solução de safranina 1% (corante de coloração vermelha) e deixados por 1 minuto. A safranina é descartada e os tubos foram invertidos para secagem. A visualização de agregados foi vista na parede dos tubos de ensaio. A positividade do teste foi classificada de acordo com a intensidade do biofilme que permaneceu no tubo (agregação fraca, forte, muito forte ou ausente) (CHRISTENSEN *et al.*, 1985) (Figura 21).

Figura 21 –Tubos de ensaio contendo biofilme produzido pelas bactérias analisadas.



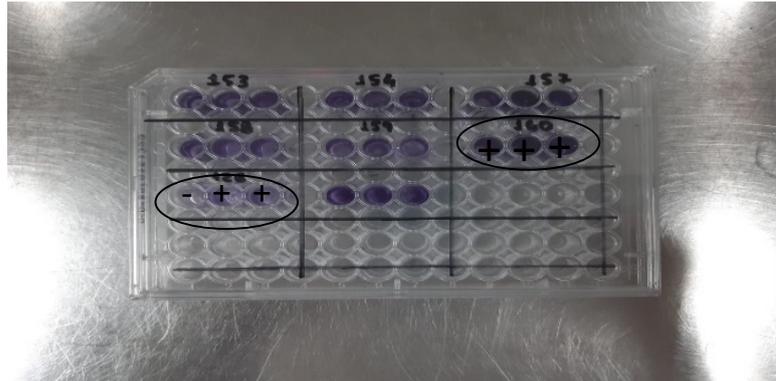
Fonte: Autora (2023).

4.9.2 Agregação em microplacas de poliestireno

As cepas foram previamente inoculadas em caldo BHI 10% por um período de 24 horas, em uma estufa bacteriológica a 35° C. Após esse período, 200 µL da suspensão bacteriana foi inoculada em microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços (processo realizado em triplicata) e colocadas na estufa, onde permaneceram por 24 horas. Passado esse período, os inóculos foram removidos e os poços passaram por três lavagens com água destilada estéril. As placas foram colocadas para secar em uma estufa a 60°C por 1 hora. Posteriormente à secagem, foi adicionado aos poços 200 µL de uma solução de Cristal Violeta 1% por 1 minuto e novamente realizada uma lavagem tripla com água destilada estéril

e deixados secando a temperatura ambiente. O resultado positivo foi observado pela agregação da coloração roxa nos poços (CHRISTENSEN *et al.*, 1985 – com modificações) (Figura 22).

Figura 22 –Placa de poliestireno de 96 poços com o biofilme produzido pelas cepas analisadas.



Legenda: (+) resultado positivo; (-) resultado negativo.

Fonte: Autora (2023).

4.10 Estudo de Susceptibilidade a Antimicrobianos

O teste de susceptibilidade a antimicrobianos foi realizado de acordo com as recomendações do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010). Os antibióticos selecionados foram escolhidos levando em consideração suas famílias e as principais áreas de aplicação de acordo com a tabela a seguir (Quadro1):

Quadro 1 – Lista de Antibióticos utilizados para o teste de susceptibilidade a antimicrobianos.

Antibiótico/Concentração	Área de Aplicação	Sigla
Amoxicilina/ 10 µg	Carcinicultura/Clínica	AMO
Ciprofloxacina / 05 µg	Carcinicultura	CIP
Cloranfenicol / 30 µg	Carcinicultura/Clínica	CLO
Estreptomicina / 10 µg	Clínica	EST
Meropenem / 10 µg	Clínica	MPM
Norfloxacina / 10 µg	Clínica	NOR
Sulfazotrim (Sulfametaxazol/Trimetropim) / 25 µg	Carcinicultura/Veterinária	SUT
Tetraciclina / 30 µg	Carcinicultura/Veterinária	TET

Fonte: Autora (2023).

As culturas foram inoculadas em TSA 10% por 24 horas em uma estufa bacteriológica a 35°C. Do crescimento foi retirado uma quantidade e adicionada a um tubo contendo salina 10% para que fosse realizado a escala de McFarland, que consiste numa

suspensão bacteriana para padronizar a quantidade de células a serem estudadas, nessa escala de turvação a absorbância buscada é a de 625 nm.

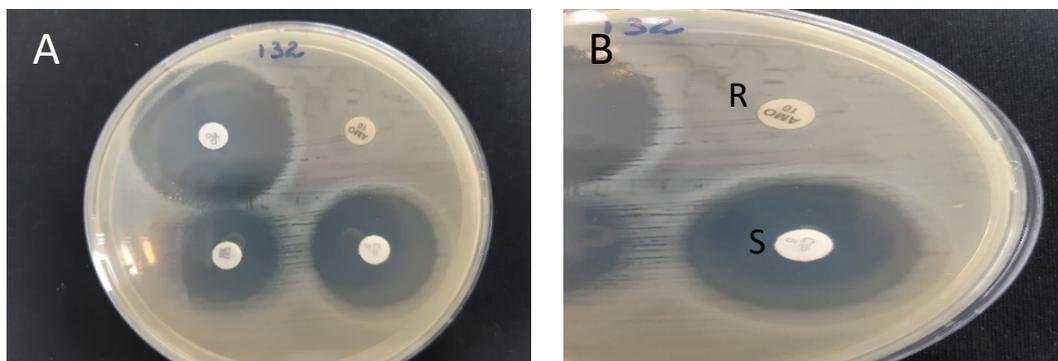
Após a aferição em espectrofotômetro, a solução salina foi inoculada, utilizando um *swab* estéril, em uma placa contendo ágar *Muller-Hinton* solubilizado em água do mar e feita aplicação de discos de antibióticos. Após esse procedimento, as placas foram colocadas em estufa a 35° C por 24 horas. Por fim, foi possível averiguar a inibição do crescimento bacteriano, observado pelo aparecimento de um halo ao redor do disco. Para mensurar o tamanho dos halos formados foi utilizado um paquímetro. Os valores observados foram comparados aos tamanhos catalogados no CLSI (Tabela 1), caso não apresente halo, é considerado resistente ao antimicrobiano (Figura 23).

Tabela 1 – Lista com as zonas de inibição dos antibióticos testados, de acordo com as especificações do CLSI 2022.

Antibiótico	Resistente	Intermediário	Sensível
Amoxicilina	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Ciprofloxacina	≤ 21	22 – 25	≥ 26
Cloranfenicol	≤ 12	13 – 17	≥ 18
Estreptomicina	≤ 11	12 – 14	≥ 15
Meropenem	≤ 19	20 – 22	≥ 23
Norfloxacina	≤ 12	13 – 16	≥ 17
Sulfazotrim	≤ 10	11 – 15	≥ 16
Tetraciclina	≤ 11	12 – 14	≥ 15

Fonte: Autora (2023).

Figura 23 – Placas de *Muller Hinton* 10 ppm com discos de antibiótico com cepas isoladas das amostras de lagostas.



Legenda: (A) Placa contendo os antibióticos (AMO 10) Amoxicilina, (CIP 05) Ciprofloxacina, (CLO 30) Cloranfenicol, (EST 10) Estreptomicina; (B) (R) Resistente, (S) Sensível.

Fonte: Autora (2023).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionadas 30 inóculos bacterianos. Sendo 14 cepas pertencentes ao intestino da espécie *Panulirus argus* (sete da microbiota transitória e sete da microbiota residente), 14 cepas originadas do trato intestinal da espécie de *Panulirus laevicauda* (sete da microbiota transitória e sete da microbiota residente) e 2 cepas do hepatopâncreas da *P. laevicauda*. Desses isolados, 28 cepas foram caracterizadas como bastonetes variando entre curtos e médios, Gram negativos e 2 cepas classificadas como bastonetes Gram positivas com capacidade de esporular (Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização morfológica (Coloração de Gram) das cepas pertencentes ao sistema digestivo de lagostas *P. argus* e *P. laevicauda*.

IRPL Intestino Residente <i>P. laevicauda</i>		ITPL Intestino Transitório <i>P. argus</i>		IRPA Intestino Residente <i>P. laevicauda</i>		ITPA Intestino Transitório <i>P. argus</i>		HPPL Hepatopâncreas <i>P. laevicauda</i>	
Codigo da Cepa	GRAM	Codigo da Cepa	GRAM	Codigo da Cepa	GRAM	Codigo da Cepa	GRAM	Codigo da Cepa	GRAM
91	-	126	-	111	-	150	-	54	+
92	-	132	-	112	-	151	-	55	+
93	-	134	-	113	-	153	-	∅	∅
94	-	135	-	114	-	156	-	∅	∅
96	-	136	-	115	-	158	-	∅	∅
97	-	137	-	117	-	159	-	∅	∅
100	-	140	-	120	-	160	-	∅	∅

Fonte: Autora (2023).

Segundo a literatura, pode existir no ambiente uma interferência na abundância de microrganismos existentes nos intestinos de crustáceos, sendo observados a presença de bactérias aeróbias e Gram negativas (MOSS *et al.*, 2000).

Fato reforçado por Hernandez-Perez *et al.* (2022) e Zhang *et al.* (2022) que constataram em suas pesquisas a presença de gêneros de microrganismos Gram negativos em intestinos de lagostas como *Vibrio*, *Shewanella* e *Aeromonas*.

5.1 Determinação da tolerância a temperatura, pH e salinidade

5.1.1 Temperatura

Todas as cepas apresentaram crescimento em 25°C (temperatura ambiente). Apenas duas cepas, originárias da microbiota residente do intestino da lagosta vermelha não toleraram a temperatura de 40°. Foi observado uma queda na sobrevivência das bactérias a partir da temperatura de 45°C. Apenas as cepas 54 e 55, as únicas bactérias Gram positivas e pertencentes ao hepatopâncreas da lagosta verde e identificadas fenotipicamente como *Bacillus* sp conseguiram suportar a temperatura de 50°C (Tabela3).

5.1.2 pH

Todas as cepas testadas apresentaram crescimento em pH 7 (neutro), quando houve a redução do pH, o meio se tornando mais ácido (pH 5) as cepas de número 92, 93(IRPL), 114 (IRPA), 126 (ITPL), 150 e 151(ITPA) não cresceram. Já quando o meio se tornou alcalino (Ph 9) apenas três cepas não foram capazes de resistir ao pH 9 (Tabela3).

5.1.3 Salinidade

Todas as cepas apresentaram crescimento nas salinidades 3% e 5%. Em salinidade de 0%, foi demonstrado menor capacidade de desenvolvimento, pois apenas um total de treze cepas cresceram. Já em salinidade de 10%, a maior testada, 20 cepas foram capazes de se desenvolver (54, 55 (HPPL), 91, 92, 94, 96, 97, 100 (IRPL),102 (IRPA), 126, 132, 134, 137, 140 (ITPL), 150, 151, 156, 158, 159 e160(ITPA). Tal resultado já era esperado, tendo em vista a origem das cepas utilizadas nesse teste (Tabela3).

Tabela3 – Resultados obtidos nos testes de temperatura, pH e salinidade das amostras analisadas das lagostas *P. argus* e *P. laevicauda*.

Cepas		Temperatura				pH				Salinidade			
		25°C	40°C	45°C	50°C	3	5	7	9	0%	3%	5%	10%
HPPL	54	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
	55	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
IRPL	91	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	92	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	93	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	94	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
	96	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	97	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	100	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	102	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
IRPA	111	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	113	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	114	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
	115	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	117	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	120	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	126	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+
ITPL	132	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	134	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	135	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	136	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	137	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	140	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+
	150	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
	151	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ITPA	153	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	156	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	158	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	159	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
	160	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: (+) houve crescimento; (-) não houve crescimento; HPPL (Hepatopâncreas da *P. laevicauda*); IRPL (Intestino Residente *P. laevicauda*); IRPA (Intestino Residente *P. argus*); ITPL (Intestino Transitório *P. laevicauda*); ITPA (Intestino Transitório *P. argus*).

Fonte: Autora (2023).

Os probióticos são microrganismos vivos que propiciam benefícios ao hospedeiro, quando administrados de forma adequada. Para que essas ações benéficas ocorram esses probióticos necessitam reunir certos atributos, como: capacidade de resistir a pH menor que 4,0 e, portanto, sobreviver no trato gastrointestinal do indivíduo; exercer controle sobre

agentes patogênicos; apresentar capacidade de adesão ao muco intestinal, devido a capacidade de coagregação e/ou autoagregação (PACHECO-MARTÍNEZ *et al.*, 2023). Além disso, devem ser resistentes a variações de temperatura e salinidade, pois os ambientes de cultivo, onde podem ser administrados, sofrem variações ao longo do período nictimeral e ao longo do ano (AMARANTE, 2016). A salinidade de ambientes de cultivo comerciais de camarão, por exemplo, depende da região, do regime de chuvas, do índice de evaporação, dentre outros aspectos (FERREIRA, 2009). As cepas do presente estudo 54 e 55 (HPPL) apresentaram melhores características probióticas diante desses aspectos analisados.

Os inóculos bacterianos, tanto Gram (+) como Gram (-) isolados e caracterizados, de crustáceos já são amplamente conhecidos na formulação de probiótico por contribuírem para a manutenção da saúde dos indivíduos e o controlar patógenos que podem atingir os cultivos (FAR *et al.*, 2013; MIRBAKHSH *et al.*, 2013; LUIS-VILLASEÑOR, CAMPA-CÓRDONOVA;ASCENCIO-VALLE, 2012). Porém, pouco se sabe dessas contribuições em cepas oriundas de lagostas espinhosas.

Os achados do presente estudo são corroborados com os resultados de temperatura analisados por Rodriguez *et al.* (2020), que ao verificar cepas originárias do trato intestinal do camarão *Litopenaeus vannamei*, encontrou que a maioria das cepas foi capaz de crescer em temperaturas a 40°C. Além disso, os resultados referentes a variação de pH desses mesmos autores ratificam os desfechos encontrados no presente estudo ao observar o desenvolvimento das cepas nas diversas variações de pH (5,7 e 9).

De acordo com Amarante (2016) as cepas isoladas de siri, caranguejo e camarão apresentaram crescimento em salinidade 0%, 3% e 5% e em 10% tiveram menor desenvolvimento (16,67%). Tais resultados diferem da atual pesquisa apenas na concentração de 0%, pois as bactérias isoladas das lagostas não obtiveram bom crescimento nessa porcentagem de NaCl.

5.2 Determinação do Perfil Enzimático

Para determinar a eficiência enzimática das cepas bacterianas foi necessário obter o conhecimento da interação das enzimas produzidas por esses microrganismos. Desse modo, verificou-se que do total de cepas analisadas apenas 13,33%, sendo elas: 54 (Hepatopâncreas *Panulirus laevicauda* - HPPL), 97 (Intestino Residente *Panulirus laevicauda* – IRPL), 102 e 115 (IRPA) foram capazes de produzir elastase. Essa enzima se mostrou rara na microbiota das lagostas (Tabela 4).

A atividade enzimática de gelatinase foi abundante no microbioma analisado, pois verificou-se que 66,67% das bactérias eram capazes de hidrolisar gelatina, sendo estas as cepas com essa capacidade: 54 e 55 (HPPL), 91, 92, 93, 94, 96 e 100 (IRPL), 102, 117 e 120 (IRPA), 126, 134, 136 e 140 (ITPL), 151, 153, 156, 158 e 160 (ITPA) (Tabela 4).

Os isolados demonstraram capacidade de auxiliar na digestão da caseína. Dezenove cepas possuíram essa aptidão: 55 (HPPL), 91, 92, 94 e 96 (IRPL), 102, 113 e 120 (IRPA), 126, 132, 136, 137 e 140 (ITPL), 150, 151, 153, 156, 158 e 160 (ITPA)) (Tabela 4).

A capacidade da microbiota de ajudar na digestão de lipídeos, por meio dos testes de fosfolipase e lipase, foi comprovada em 70% e 76,6% das bactérias, respectivamente. Logo, as cepas: 55 (HPPL), 91, 92, 93, 94, 97 e 100 (IRPL), 102, 113, 114, 115 e 117 (IRPA), 126, 132, 134 e 140 (ITPL), 150, 151, 158, 159 e 160 (ITPA) apresentaram hidrolisação de fosfolipídios e 55 (HPPL), 91, 92, 96, 97 e 100 (IRPL), 102, 113, 115, 117 e 120 (IRPA), 126, 132, 136, 137 e 140 (ITPL), 150, 151, 153, 158, 159 e 160 (ITPA) foram positivas para lipases (Tabela 4).

A bacterioteca estudada apresentou baixa capacidade de lise total das hemácias, apresentando apenas duas cepas β -hemólise que foram a 114 e 115 (IRPA), impossibilitando a sua utilização em uma possível formulação de probióticos. No entanto, 46,6% desse microbioma eram capazes de quebrar parcialmente as hemácias e, portanto, sendo classificadas como α -hemólise: 54, 55 (HPPL), 92, 93, 94 e 100 (IRPL), 102, 111, 113, 117 e 120 (ITPA), 126 (IRPA), 137 (ITPL), 150 (ITPA) e por fim, as cepas de número 91, 96 e 97 (IRPL), 132, 134, 135, 136 e 140 (ITPL), 151, 153, 156, 158, 159 e 160 (ITPA) não possuíam capacidade de romper essa célula (Tabela 4).

A capacidade de auxiliar na digestão de carboidrato (amido) foi altamente evidenciada na microbiota bacteriana das lagostas, pois 80% das cepas possuíam enzimas amilase em seu metabolismo. As cepas que hidrolisaram amido foram: 54 e 55 (HPPL), 91,

92, 93, 97 e 100 (IRPL), 102, 111 e 113 (IRPA), 126, 132, 134, 135, 136, 137 e 140 (ITPL), 150, 151, 153, 158, 159 e 160 (ITPA) (Tabela 4).

Poucas cepas obtiveram capacidade de digerir celulose, desse modo, a enzima celulase foi uma das menos encontrada nas cepas oriundas das lagostas vermelhas e verdes, pois apenas 23,3% delas conseguiram hidrolisar esse carboidrato, sendo: 55 (HPPL), 91 (IRPL), 113 (IRPA), 132, 151, 153 e 160 (Tabela 4).

A capacidade de quebrar quitina foi observada em 60% das cepas: 54 e 55 (HPPL), 91, 92, 94, 97 e 100 (IRPL), 102, 111, 115, 117 e 120 (IRPA), 126, 134, 136 e 140 (ITPL), 158 e 160 (ITPA) (Tabela 4).

É necessário evidenciar que as cepas 91(IRPL) e 160 (ITPA), possuíam aptidão para digestão de proteínas, lipídeos e carboidratos. Apenas não tendo capacidade para quebra de elastinas e incompetência para lise de hemácias. Assim sendo, essas bactérias demonstraram atividades enzimáticas características de potenciais probiótico. A cepa 55, originada do hepatopâncreas da lagosta verde, possuía as mesmas atividades das bactérias supracitadas, porém, tinha capacidade de lisar parcialmente células hemolíticas. As cepas do intestino transitório e residente da lagosta verde apresentaram a menor taxa de hemólise com apenas seis cepas com atividade hemolítica (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados obtidos dos testes de Perfil Enzimático.

Cepas		Perfil Enzimático
HPPL	54	Elas, Gel, Ami, Quit
	55	Cas, Fosf, Gel, Lip, Ami, Cel, Quit
IRPL	91	Cas, Fosf, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Cel, Quit
	92	Cas, Fosf, Lip, Ami, Quit
	93	Fosf, Gel, Lip, Ami
	94	Cas, Fosf, Gel, Ami, Quit
	96	Cas, Gel, Lip, Hem (-),
	97	Elas, Fosf, Lip, Hem (-), Ami, Quit
	100	Fosf, Gel, Lip, Ami, Quit
	IRPA	102
111		Ami, Quit
113		Cas, Fosf, Lip, Ami, Cel
114		Fosf, Lip
115		Fosf. Lip, Quit
117		Fosf. Gel, Lip, Quit
120		Cas, Gel, Lip, Quit
ITPL		126
	132	Cas, Fosf, Lip, Hem (-), Ami, Cel
	134	Fosf, Lip, Hem (-), Ami, Quit
	135	Hem (-), Ami
	136	Cas, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Quit
	137	Cas, Lip, Ami
	140	Cas, Fosf, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Quit
ITPA	150	Cas, Fosf, Lip, Ami
	151	Cas, Fosf, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Cel
	153	Cas, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Cel
	156	Cas, Gel, Hem (-)
	158	Cas, Fosf, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Quit
	159	Fosf, Lip, Hem (-), Ami
	160	Cas, Fosf, Gel, Lip, Hem (-), Ami, Cel, Quit

Legenda: (Cas) Caseínase; (Elas) Elastase; (Gel) Gelatinase; (Fosf) Fosfolipase; (Lip) Lipase; (Hem -) Sem produção de Hemólise; (Ami) Amilase; (Cel) Celulase; (Quit) Quitinase; HPPL (Hepatopâncreas da *P. laevicauda*); IRPL (Intestino Residente *P. laevicauda*); IRPA (Intestino Residente *P. argus*); ITPL (Intestino Transitório *P. laevicauda*); ITPA (Intestino Transitório *P. argus*).

Fonte: Autora (2023).

Em concordância com Rahman, Ismiati e Nurhasanah (2019), a microbiota do trato digestivo de lagostas da espécie *Panulirus ornatos* é composta por bactérias capazes de produzir enzimas proteases (27,45%), lipases (21,77%) e amilases (23,53%). Kumar *et al.* (2017), em seus resultados descobriram que o microbioma de *Panulirus versicolor* pode ser predominado por bactérias com capacidade proteolítica ou celulolítica a depender do

comportamento alimentar, pois o tipo de alimentação pode alterar a microbiota com a competência de digerir as enzimas do sistema digestivo desses crustáceos. Os resultados da presente pesquisa demonstraram que as lagostas *P. argus* e *P. laevicauda* possuem capacidade proteolítica, lipolítica, amilolítica, celulolítica e quiliolítica.

5.3 Teste de antagonismo e agregação

Um dos testes realizados para a escolha de cepas com potencial probiótico são o teste de antagonismo e o teste de agregação, a finalidade desses testes é eliminar cepas que não apresentem as características desejadas como inibição de patógenos e a capacidade de formar agregados (LUIS-VILLASEÑOR, CAMPA-CÓRDONOVA; ASCENCIO-VALLE, 2012).

Foi observado a ação das cepas analisadas neste estudo quanto a sua capacidade de ação antagonica frente ao patógeno *V. parahaemolyticus* ATCC 53 e as competências das mesmas em formar biofilme (Tabela 5).

Tabela 5–Resultados dos testes de Antagonismo e Agregação em tubos de ensaio (vidro) e placa de poliestireno.

Cepas		Antagonismo	Agregação	
			Tubos de Ensaio (vidro)	Placa de Poliestireno
HPPL	54	+	+	+
	55	+	+	-
IRPL	91	+	++	+
	92	-	+	+
	93	-	++	+
	94	-	+	+
	96	-	++	++
	97	-	+++	+
	100	+	++	++
IRPA	102	+	+	-
	111	-	-	-
	113	+	+	-
	114	+	-	-
	115	+	-	-
	117	-	+	-
	120	+	++	+
ITPL	126	+	+	+
	132	+	++	+
	134	-	+++	+
	135	+	++	++
	136	+	+++	+
	137	+	+	+
	140	-	++	+
ITPA	150	+	-	-
	151	+	+	+
	153	+	++	++
	156	+	+++	+++
	158	+	+++	+
	159	-	++	++
	160	-	+++	+++

Legenda: (-) resultado negativo; (+) resultado positivo; (++) resultado positivo (forte); (+++) resultado positivo (muito forte); HPPL (Hepatopâncreas da *P. laevicauda*); IRPL (Intestino Residente *P. laevicauda*); IRPA (Intestino Residente *P. argus*); ITPL (Intestino Transitório *P. laevicauda*); ITPA (Intestino Transitório *P. argus*).

Fonte: Autora (2023).

Das cepas analisadas, 63,3% das bactérias apresentaram ação antagônicas frente ao patógeno *V. parahaemolyticus* ATCC 53, sendo: 54 e 55 (HPPL), 91 e 100 (IRPL), 102, 113, 114, 115 e 120 (IRPA), 126, 132, 135, 136 e 137 (ITPL), 150, 151, 153, 156 e 158

(ITPA). A positividade do teste foi observada devido presença de repulsa por parte das cepas em relação ao patógeno, demonstrando qualidades favoráveis para o uso probiótico.

O teste de agregação foi realizado em duas etapas: a primeira, realizado em tubos de ensaio de vidro demonstrando que 86,67% das cepas apresentaram resultado positivo, dentre elas, as cepas de número 97 (IRPL), 134 e 136 (ITPL), 156, 158 e 160 (ITPA) apresentaram uma demasiada aderência ao vidro.

Foi observado uma queda na adesão de 16,67% em relação a placa de poliestireno. Bactérias que apresentaram uma forte tendência a agregação passou a apresentar uma adesão mais fraca ou até mesmo ausente. As cepas que se mantiveram com forte agregação nas duas superfícies foram: 100 (IRPL), 135 (ITPL), 153, 156, 159 e 160 (ITPA).

Uma propriedade importante para a escolha das bactérias para o uso probiótico é a produção de agentes que sejam eficientes na inibição de possíveis patógenos (TINH *et al.*, 2008; DAS, WARD, BURKE, 2008; GARCÍA-BERNAL *et al.*, 2015; TAN *et al.*, 2015). *Vibrio parahaemolyticus* é reconhecido por ser um patógeno oportunista constantemente encontrado em ambientes costeiros e em animais marinhos (LIU *et al.*, 2015), também podendo causar infecção alimentar em humanos (SUN *et al.*, 2019; YU *et al.*, 2016).

Muitas bactérias de origem marinha possuem características antagônicas que impossibilitam a presença de cepas patogênicas (BURKS *et al.*, 2017). De acordo com Liu *et al.* (2015), bactérias do gênero *Bacillus* possuem competência em antagonizar frente a bactéria *V. parahaemolyticus* o que foi confirmado no presente estudo onde as cepas 54 e 55 oriundas do hepatopâncreas da *P. laevicauda* identificadas como pertencentes a este gênero foram capazes de se opor a presença do patógeno.

Segundo Shi, Li e Duan (2017) a predominância do microbioma do trato intestinal são bactérias que desempenham benefícios para o hospedeiro, auxiliando na digestão de alimentos e proteção contra agentes patogênicos. Como dito anteriormente, a maioria das cepas analisadas possuem capacidade de adesão a diferentes superfícies e algumas se mostraram muito eficientes nesse processo.

5.4 Estudo de susceptibilidade a antimicrobianos

Antibióticos atuam inibindo de formas diferentes a síntese da parede células, síntese protéica, síntese de ácidos nucleicos, alterações das membranas celulares e atividade antimetabólica (KÜMMERER, 2009). Testes de susceptibilidade permitem a identificação de cepas resistentes a fim de impedir uma possível transmissão de genes de resistência (AMARANTE, 2016) (Tabela 6).

Tabela 6- Resultados dos testes de Susceptibilidade a Antimicrobianos.

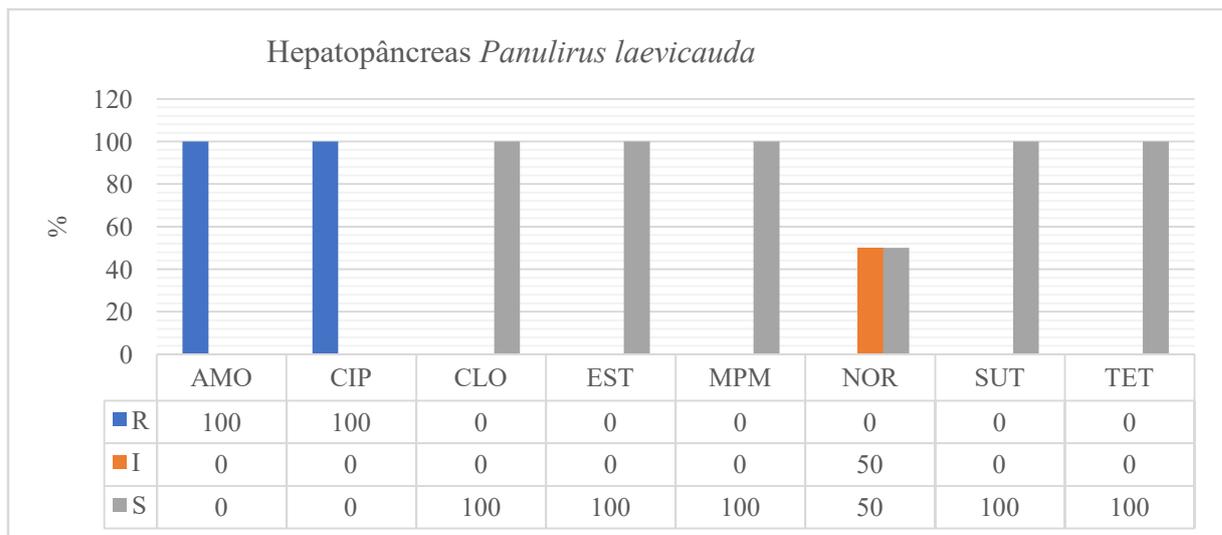
Cepas	AMO	CIP	CLO	EST	MPM	NOR	SUT	TET	
HPPL	54	R	R	S	S	S	I	S	R
	55	R	R	S	S	S	S	S	R
IRPL	91	R	R	R	S	S	I	S	R
	92	R	R	S	S	S	I	S	I
	93	R	I	S	S	S	S	S	R
	94	R	R	S	S	S	R	S	I
	96	R	S	I	S	S	S	S	R
	97	R	R	S	S	S	R	S	I
	100	R	R	S	S	S	I	S	I
IRPA	102	R	R	S	S	S	S	S	R
	111	R	R	S	S	I	S	I	S
	113	R	R	S	S	I	S	S	S
	114	R	S	S	S	S	S	S	I
	115	R	S	S	S	R	S	S	S
	117	S	I	S	S	S	S	S	S
	120	R	S	S	S	S	S	S	S
ITPL	126	I	R	S	S	S	S	S	R
	132	R	S	S	S	S	S	S	S
	134	R	I	I	S	S	S	S	R
	135	R	I	S	S	S	S	S	R
	136	S	S	S	S	S	S	S	R
	137	R	R	S	S	S	I	R	R
	140	R	R	S	S	S	I	S	I
ITPA	150	R	R	S	S	S	S	S	S
	151	R	R	S	S	S	I	S	I
	153	S	S	S	S	S	S	S	R
	156	R	R	S	S	S	R	S	R
	158	R	R	S	S	S	I	S	R
	159	R	R	S	S	S	S	S	R
	160	R	R	S	S	S	I	S	R

Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacina, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina; (R) Resistente, (I) Intermediário, (S) Sensível; HPPL (Hepatopâncreas da *P. laevicauda*); IRPL (Intestino Residente *P. laevicauda*); IRPA (Intestino Residente *P. argus*); ITPL (Intestino Transitório *P. laevicauda*); ITPA (Intestino Transitório *P. argus*).

Fonte: Autora (2023).

As cepas 54 e 55, ambas Gram-positivas e identificadas como *Bacillus* sp. Apresentaram resistência a Amoxicilina, Tetraciclina e Ciprofloxacina, classificando-as como multirresistentes. O antibiótico Norfloxacina apresentou capacidade intermediária de suportar o antibiótico, indicando que existe uma possibilidade das cepas se tornarem resistentes. Cloranfenicol, Estreptomicina, Meropenem, Sulfazotrim e Tetraciclina foram efetivos frente as cepas testadas (Gráfico 1).

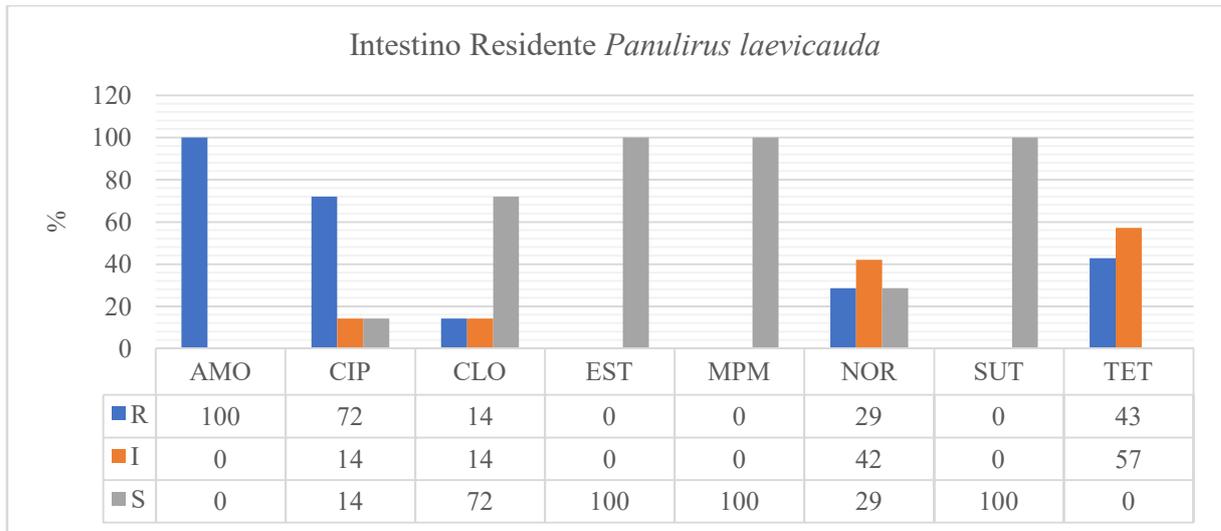
Gráfico 1 –Resultados do antibiograma das cepas do Hepatopâncreas *P. laevicauda*.



Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacina, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora (2023).

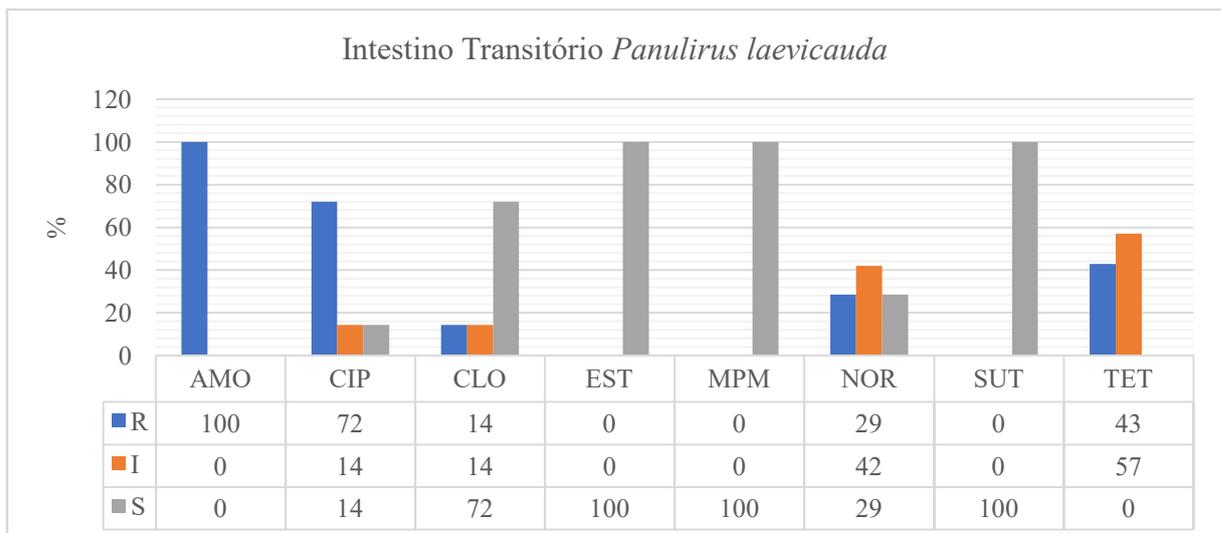
Foi observado a presença de resistência das cepas do intestino residente da *P. laevicauda* em Amoxicilina e Ciprofloxacina. Todas as cepas apresentaram sensibilidade a Estreptomicina, Meropenem e Sulfazotrim. Quanto aos antibióticos Norfloxacina e Cloranfenicol, foi observado cepas com características de sensibilidade, resistência e o interposto de ambas, somente as cepas testadas a Tetraciclina apresentam sensibilidade e ação intermediária contra o antibiótico (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Residente de *P. laevicauda*

Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacina, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora (2023).

Os resultados obtidos na análise das bactérias do intestino transitório da *P. laevicauda* foram que todas as cepas apresentaram resistência a Amoxicilina. Ciprofloxacina, Cloranfenicol e Norfloxacina apresentaram resistência, ação intermediária e sensibilidade. As cepas apresentaram sensibilidade a Estreptomicina, Meropenem e Sulfazotrim. No antibiótico Tetraciclina foi verificada ação intermediária e resistência (Gráfico 3).

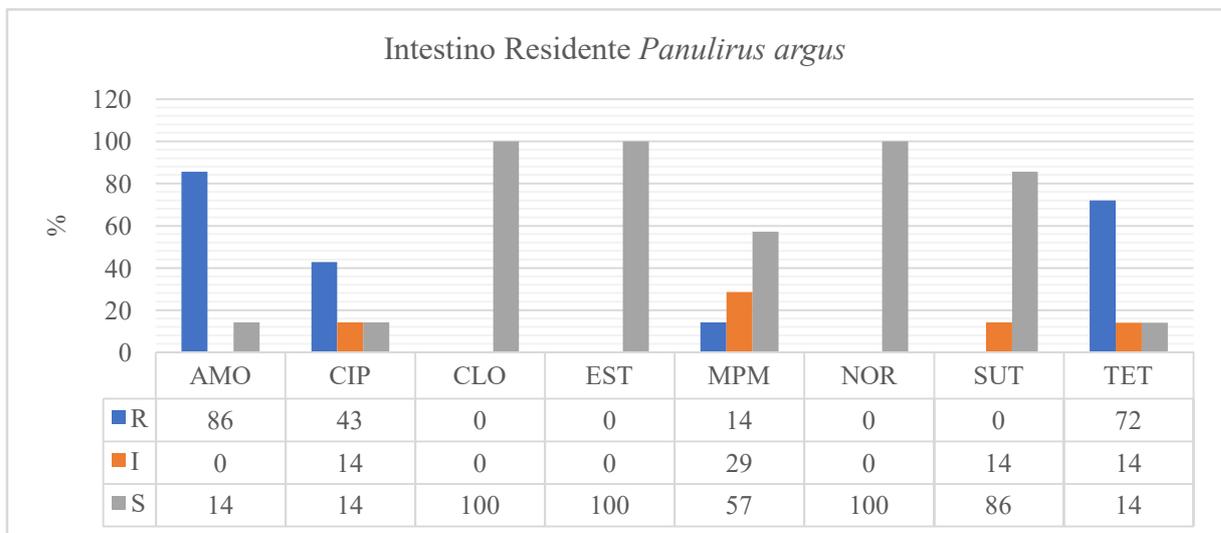
Gráfico 3 – Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Transitório da *P. laevicauda*.

Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacina, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora, 2023.

As cepas oriundas do intestino residente e transitório da *P. argus* apresentaram resistência frente aos antibióticos Amoxicilina, Ciprofloxacina e Tetraciclina. Foi observada a sensibilidade das cepas de ambos os tratos frente aos antibióticos Cloranfenicol e Estreptomicina. No intestino residente foi analisado que as cepas mostraram sensibilidade a Norfloxacin e no intestino transitório foi observado sensibilidade a Meropenem e Sulfazotrim (Gráfico 4 e 5).

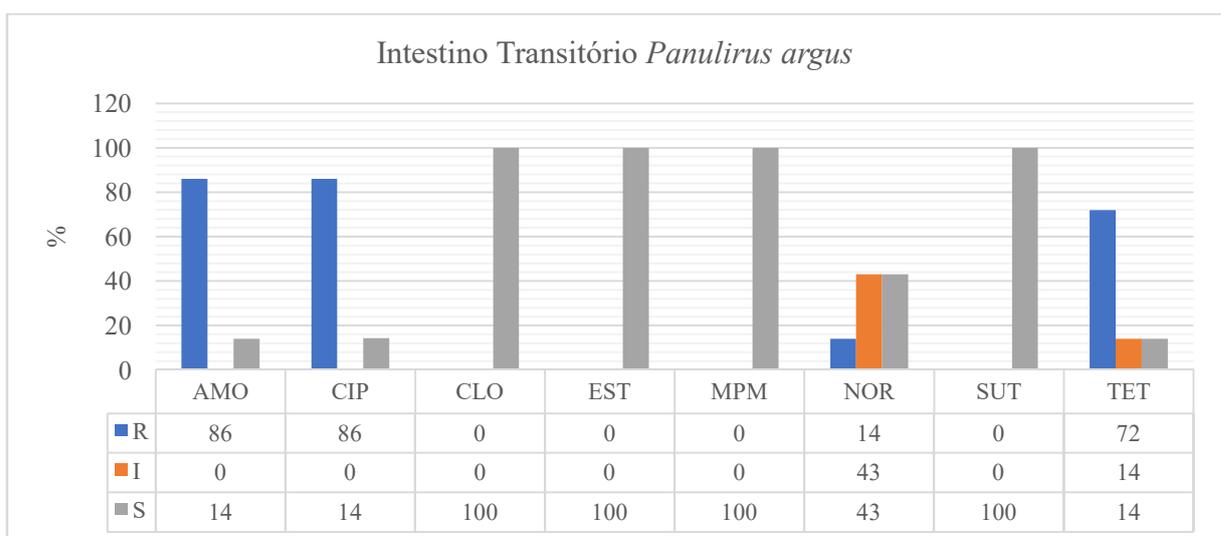
Gráfico 4 – Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Residente da *P. argus*.



Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacin, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora (2023).

Gráfico 5 – Resultados do antibiograma das cepas do Intestino Transitório da *P. argus*.

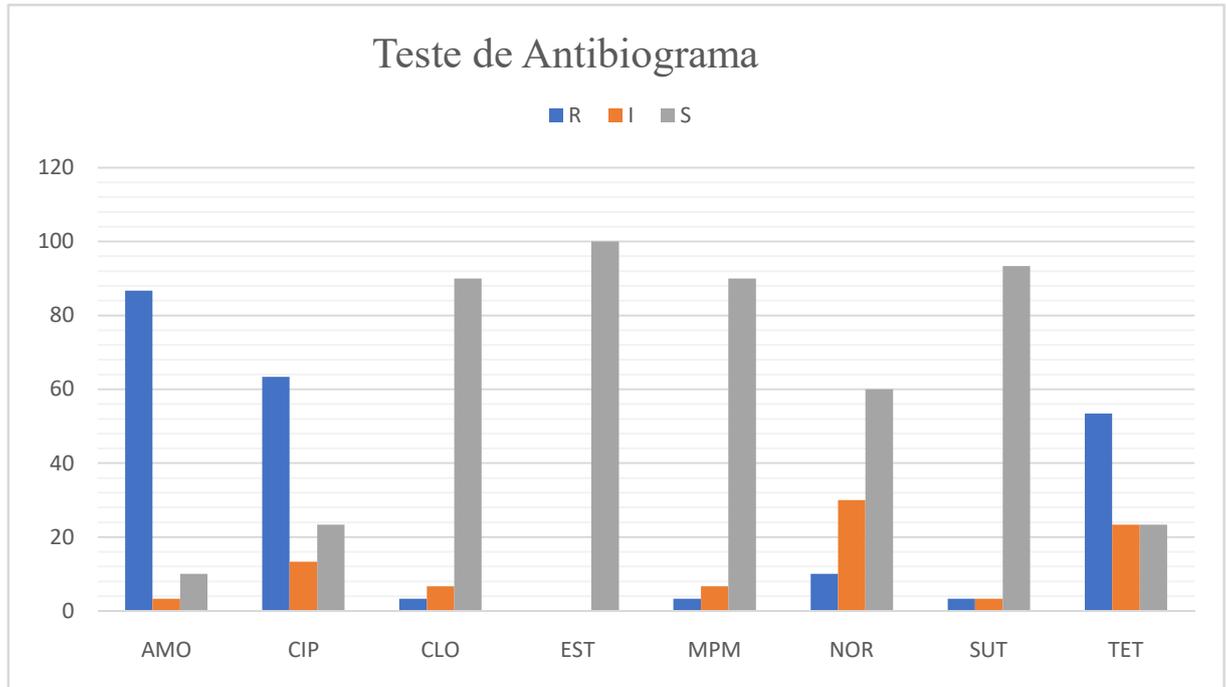


Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacin, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora (2023).

Neste estudo, foram utilizados antibióticos de amplo espectro para incluir as cepas 54 e 55 (HPPL) nos antimicrobianos citados acima (Quadro 1). Os maiores índices de resistência foram verificados nos antibióticos: Amoxicilina (AMO), Ciprofloxacina (CIP) e Tetraciclina (TET) (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Resultado do antibiograma do total das amostras.



Legenda: (AMO) Amoxicilina, (CIP) Ciprofloxacina, (CLO) Cloranfenicol, (EST) Estreptomicina (MPM) Meropenem, (NOR) Norfloxacin, (SUT) Sulfazotrim, (TET) Tetraciclina.

Fonte: Autora (2023).

Estudos de Kerry *et al.* (1996) ocorridos na região sul dos Estados Unidos revelaram que cepas bacterianas Gram-negativas isoladas da tanques de aquicultura apresentaram maiores taxas de resistência a Tetraciclina, Oxitetraciclina, Cloranfenicol, Nitrofurantoína e Ampicilina se comparados a rios sem tratamento devido de despejos.

A variedade nas características do microbioma possui impacto relevante para a saúde do hospedeiro (BASS *et al.*, 2019), quanto maior for a pluralidade na microbiota intestinal, menor é a possibilidade da ação de patógenos (LAWLEY *et al.*, 2013). Os antibióticos atuam de forma não específica o que pode resultar uma disbiose na microbiota do hospedeiro, principalmente se esses antimicrobianos sejam de amplo espectro (DAVIES; DAVIES, 2010).

Infelizmente tem-se observado a detecção de cepas resistentes a antibióticos no ecossistema aquático (HUGHES;KAY; BROWN, 2013). A poluição nesses ambientes

impacta de uma forma ainda não compreendida na fisiologia dos animais (HERNANDEZ-PEREZ, 2022).

Foi estabelecido pela Comissão Europeia uma lista nas quais substâncias como os antibióticos devem ser recolhidas e analisadas com a finalidade de monitoração dos níveis de concentração desses químicos na natureza. Antibióticos como a Amoxicilina, Ciprofloxacina e membros da família das Fluorquinolonas estão nessa lista (EMA, 2023). Na aquicultura, os antibióticos são adicionados a ração (FANG *et al.*, 2019) e o acréscimo dessa substância aumenta sua concentração na coluna d'água, nos sedimentos e na porção da ração acrescida de antibióticos não digerida pelos animais (SARMAH *et al.*, 2006; SØRUM, 2006; SAPKOTA *et al.*, 2008; CABELLO *et al.*, 2013). Os antibióticos possuem uma meia-vida que depende da sua estrutura química, assim como outras variáveis como intensidade das correntes de água, intensidade da luz e da temperatura, valores de pH e a atividade microbiológica nativa (HEKTOEN *et al.*, 1995; CAPONE *et al.*, 1996; BOXALL *et al.*, 2004; KÜMMERER, 2009; SERWECIŃSKA, 2020).

Estudos mostram que antibióticos das famílias das Sulfamidas, Tetraciclina e Quinolonas são capazes de acumular no ambiente (KÜMMERER, 2004), em ressalvas a tetraciclina que pode apresentar atividade antibacteriana mesmo após a adsorção em sedimentos devido a presença de cátions inibitórios (SMITH, 2008; MIRANDA, 2012).

6. CONCLUSÃO

Foi observado que algumas cepas analisadas do sistema digestório da *Panulirus argus* (lagosta vermelha) e *Panulirus laevicauda* (lagosta verde) apresentaram potencial probiótico, podendo vir a trazer benefícios junto a aquicultura, porém, também foi verificado perfis de resistência e multiresistência a alguns fármacos analisados, sendo necessários mais estudos para verificar de onde se origina essa resistência e se é capaz de ser transmitida para outros microrganismos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.P. de. **Consequências de uma nova espécie e diferentes estoques de Lagosta Vermelha no Brasil**, 2021.
- ALVANOU, M.V., FEIDANTISIS, K., STAIKOU, A., APOSTOLIDIS, A. P., MICHAELIDIS, B., GIANTSIS, I.A., Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics Utilization in Crayfish Aquaculture and Factors Affecting Gut Microbiota. **Journals Microorganisms**, v.11,n. 5, p. 1232, 2023.
- AMARANTE, D.O. **Viabilidade de Agentes Bacterianos como Probiótico no Cultivo do Camarão Marinho *Litopenaeus vannamei***, 2016.
- ANDREW, N.L., BÉNÉ, C. HALL, S.J. ALLISON, E.H., HECK, S. E RATNER, B.D. Diagnosis and management of small-scale fisheries in developing countries. **Fish and Fisheries**, v. 8, p. 227–240. 2007.
- ANJOS, R.Q dos. Probiótico Comercial no Desempenho, Ingestão Alimentar e Composição Centesimal do Camarão-da Amazonia. In book: **Engenharia de Pesca: aspectos teóricos e práticos**, DOI:10.37885/210404262, jan 2021.
- AZAD, I.S., PANIGRAHI, A., GOPAL, C., PAULPANDI, S., MAHIMA, C., RAVICHANDRAN, P., Routes of immunostimulant vis-à-vis survival and growth of *Penaeus monodon* postlarvae. **Aquaculture**, v. 248, p. 227–234. 2005.
- BASS, D., STENTIFORD, G. D., WANG, H.-C., KOSKELLA, B.; TYLER, C. R. The pathobiome in animal and plant diseases. **Trends Ecol. Evol.** v. 34, p. 996–1008 2019.
- BRASIL (2009). “Lei nº 11.959, de 29 de junho de 2009. Dispõe sobre a Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e da Pesca, regula as atividades pesqueiras, revoga a Lei nº 7.679, de 23 de novembro de 1988, e dispositivos do Decreto-Lei nº 221, de 28 de fevereiro de 1967, e dá outras providências”, publicada no **Diário Oficial da União de 30 de junho de 2009**, Seção 1, pp. 1-3.
- BOXALL, A.B.; FOGG, L.A.; BLACKWELL, P.A.; KAY, P.; PEMBERTON, E.J.; CROXFORD, A. Veterinary medicines in the environment. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.** v. 180, p. 1–91, 2004.
- BURKS DJ, NORRIS S, KAUFFMAN KM, JOY A, AREVALO P, AZAD RK, WILDSCHUTTE H. Os vibrios ambientais representam uma fonte de compostos antagônicos que inibem cepas patogênicas de *Vibrio cholerae* e *V. parahaemolyticus*. **Microbiologia open**, v. 6, n. 5, p. 00504, 2017.
- BURR, G.; HUME, M.; NEILL, W.H.; GATLIN III, D.M. Effects of prebiotics on nutrient digestibility of a soybean-meal-based diet by red drum *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus). **Aquac. Res.** v. 39, p. 1680–1686, 2008.

BUTT, U.D.; LIN, N.; AKHTER, N.; SIDDIQUI, T.; LI, S.; WU, B. Overview of the latest developments in the role of probiotics, prebiotics and synbiotics in shrimp aquaculture. **Fish Shellfish Immunol**, v.114, p. 263–281,2021.

CHAUHAN, A., SINGH, R. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. **Symbiosis**. v.77, n. 23, p. 1-15.doi: 10.1007/s13199-018-0580-1 Feb 2018.

CABELLO, F.C.; GODFREY, H.P.; TOMOVA, A.; IVANOVA, L.; DÖLZ, H.; MILLANAO, A.; BUSCHMANN, A.H. Antimicrobial use in aquaculture-examined: Its relevance o antimicrobial resistance and to animal and human health. **Environ. Microbiol**, v. 15, p. 1917–1942, 2013.

CAI, Y.; SUYANANDANA, P.; SAMAND, P.; BENNO, Y. Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of common carp and freshwater prawns. **J. Gen. Appl. Microbiol.**, Tokyo, v. 45, p. 177-184, Sep 1999.

CAPONE, D.G.; WESTON, D.P.; MILLER, V.; SHOEMAKER, C. Antibacterial residues in marine sediment sand invertebrates following chemotherapy in aquaculture. **Aquaculture**, v. 145, p. 55–75, 1996.

CAVALCANTE, M. F. **Fontes de variação no valor das exportações brasileiras de lagosta: uma aplicação do método shift-share**, 2018.

CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019 AR Threats Report. CDC: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. Available online: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>

CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. J.; BADDOUR, L. M.; BARRETT, F. F.; MELTON, D. M. AND BEACHEY, E. H. **Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices.** **Journal of Clinical Microbiology**. (s.l), v.22, p. 996-1006, 1985.

CLSI. **Clinical and laboratory standards institute**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement. M100-S19. CLSI: Wayne,2022.

CRUZ IZQUIERDO, R. C. **Metodologias de amostragem para avaliação das populações de lagosta: plataforma continental do Brasil**. Fortaleza: UFC/LABOMAR/NAVE: UH/CIM, 2011.

DAWOOD, M.A.O.; KOSHIO, S.; ABDEL-DAIM, M.M.; VAN DOAN, H. Probiotic application for sustainable aquaculture. **Rev. Aquac**, v. 11, p. 907–924, 2019.

DAVIES, J. ; DAVIES, D. Origins and Evolution of antibiotic resistance. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v. 74, p. 417–433, 2010.

DAS, S., WARD, L.R., BURKE, C. Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 81, p. 419–429, 2008.

DIEGUES, A. C. (Org.). **Etno conservação: novos rumos para a proteção da natureza nos trópicos**. São Paulo: Hucitec, 2000. 2. Ibama. Estatística da pesca 2005. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília, 115p. 2006.

EISSA, E.S.H.; AHMED, R.A.; ABD ELGHANY, N.A.; ELFEKY, A.; SAADONY, S.; AHMED, N.H.; SAKR, S.E.S.; DAYRIT, G.B.; TOLENADA, C.P.S.; ATIENZA, A.A.C.; Potential Symbiotic Effects of β -1, 3 Glucan, and Fructooligosaccharides on the Growth Performance, Immune Response, Redox Status, and Resistance of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* to *Fusarium solani* Infection. **Fishes**, v. 8, p. 105, 2023.

EMA/AMEG. **Preliminary Risk Profiling for New Antimicrobial Veterinary Medicinal Products**. Available online: https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/answer-request-european-commission-updating-scientific-advice-impact-public-health-animal-health-use_en-0.pdf2019_, accessed on 16 nov 2023.

FREIRE; GONÇALVES, FREIRE, C; GONÇALVES, E.; ALEX AUGUSTO. Diferentes Métodos de Abate do Pescado Produzido em Aquicultura, Qualidade da Carne e Bem-Estar do Animal Holos- **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte**, Natal, Brasil, vol. 6, pp. 33-41, 2013.

FAO. O estado da pesca e da aquicultura mundial: sustentabilidade em ação. Roma (Itália): FAO. pág. 1–206, 2020.

FANG, H.; HUANG, K.; YU, J.; DING, C.; WANG, Z.; ZHAO, C.; YUAN, H.; WANG, Z.; WANG, S.; HU, J.; Meta-genomic analysis of bacterial communities and antibiotic resistance genes in the *Eriocheirsinensis* freshwater aquaculture environment. **Chemosphere**, v.224, p. 202–211, 2019.

FAR, H.Z.; SAAD, CH, R.B.; DAUD, H.M.; KAMARUDIN, M.S. RAMEZANI-FARD, E. Isolation and Identification of bacterial micro flora of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, with antagonistic properties against *Vibrio* species. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.8, n.2, p. 293-300, 2013.

FERREIRA, N. C. **Aplicação de índices de qualidade de água (IQA) como apoio a carcinicultura marinha**. Dissertação (Mestre em Aquicultura)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 61, 2009.

FONTELES-FILHO, A. A. **Oceanografia, biologia e dinâmica populacional de recursos pesqueiros**. Fortaleza: Expressão Gráfica e editora. 2011.

FURNISS, A. L.; LEE, J. V.; DONOVAN, T. J. The *Vibrio* Monograph Series. London: **Public Health Laboratory Service**, p. 58, 1979.

GARCÍA-BERNAL M, CAMPA-CÓRDOVA ÁI, SAUCEDO PE, GONZÁLEZ MC, MARRERO RM, MAZÓN-SUÁSTEGUI JM. Isolation and in vitro selection of

actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. **Vet World**, v. 8, p. 170–176, 2015.

GARCÍA-MÁRQUEZ, J.; TAPIA-PANIAGUA, S.; MORIÑIGO, M.Á.; ARIJO, S. Probiotics for Controlling Infectious Diseases. In *Probiotics in Aquaculture*; Austin, B., Sharifuzzaman, S., Eds.; **Springer**: Cham, Switzerland, pp. 103–129, 2022.

GOMES, L.C., BRINN, R.P., MARCON, J.L., DANTAS, L.A., BRANDAO, F.R., DE ABREU, J.S., LEMOS, P.E.M., MCCOMB, D.M., BALDISSEROTTO, B., Benefits of using the probiotic Efinol® L during transportation of cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz), in the Amazon. **Aquac.** v. 40, p.157–165, 2009.

HEKTOEN, H.; BERGE, J.A.; HORMAZABAL, V.; YNDESTAD, M. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. **Aquaculture**, v.133, p.175–184, 1995.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, A.; ZAMORA- BRISEÑO, J. A.; SÖDERHÄLL K.; SÖDERHÄLL, I. Gut microbiome alterations in the crustacean *Pacifastacus leniusculus* exposed to environmental concentrations of antibiotics and effects on susceptibility to bacteria challenges. **Developmental**; Comparative Immunology, 2022.

HUGHES, S.R.; KAY P.; BROWN, L.E. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river system. **Environ. Sci. Technol.**, v. 10.1021/es3030148, 2013.

JEFFERS, V. F. Trialling the use of smartphones as tools to address gaps in small-scale fisheries catch data in Southwest Madagascar. **Marine Policy**, v. 99, p. 267 – 274, jan 2019.

KERRY, J., COYNE, R., GILROY, D., HINEY, M., SMITH, P. Spatial distribution of oxytetracycline and elevated frequencies of oxytetracycline resistance in sediments beneath a marine salmon farm following oxytetracycline therapy. **Aquaculture**, v. 145, p. 31–39, 1996.

KOZASA, M. Toyocerin Bacillus toyoensis growth promoter for animal feeding. **JAppl Microbiol**, v.118, n. 3, p. 727-38, 2015.

KUMAR, T. S.; VIDYA, R.; KUMAR, S.; ALAVANDI, S. V.; VIJAYAN, K. K. Zoea-2 syndrome of *Penaeus vannamei* in shrimp hatcheries. **Aquaculture**. v. 479, p. 759–767, 2017.

KÜMMERER, K. Resistance in the environment. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 54, p. 311–320, 2004.

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment: A review: Part I. **Chemosphere**, v. 75, p. 417–434, 2009.

LAWLEY, T. D.; WALKER, A. W. Intestinal colonization resistance. **Immunology**, v.138, p. 1–11, 2013.

LINS, L. R. R. T., CONCEIÇÃO, M. D., ESPÍRITO-SANTO, R. V. Characterization of Serra Fishing, (*Scomberomorus brasiliensis*, Collette, Russo ;Zavalla-Camin, 1978), In The

Amazon Coastline. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 7, n. p. 364-368, 2020.

LUTZ, Í. A. D. F., LIMA, W. M. G. D., FILHO, I. A. G., CINTRA, I. H. A. e SILVA, B. B. D. Produção pesqueira desembarcada em um estuário do norte do Brasil (Bragança, Pará). **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 126-136, 2016.

LIU, X. F.; LI, Y.; LI, J. R.; CAI, L. Y.; LI, X. X.; CHEN, J. R.; LYU, S. X. Isolation and characterization of *Bacillus* spp. Antagonistic to *Vibrio parahaemolyticus* for use as probiotics in aquaculture. **World J Microbiol Biotechnol**, v. 31, p. 795–803, Mar 2015.

LIU, P. C.; LEE, K. K.; CHEN, S. N. Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger prawn, *Penaeus monodon*. **Letter in Applied Microbiology**. v. 22, p. 413-416, 1996.

LUIS-VILLASEÑOR, E.I.; CAMA-CÓRDOVA, A.I.; ASCENCIO-VALLE, F.J. Probiotics in Larvae and Juvenile White leg Shrimp *Litopenaeus vannamei*. Chapter 27, **Intech. Open Access Publisher**, p. 601-622. 2012.

MADANI, N.S.H.; ADORIAN, T.J.; FARSANI, H.G.; HOSEINIFAR, S.H. The effects of dietary probiotic Bacilli (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) on growth performance, feed efficiency, body composition and immune parameters of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) post larvae. **Aquac. Res**, v. 49, p. 1926–1933, 2018.

MOSS, S. M.; LEAMASTER, B.R.; SWEENWT, J. N. Relative abundance and species composition of Gram-negative, aerobic bacteria associated with the gut of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in oligotrophic well water and eutrophic pond water. **Journal of World Aquaculture Society**. v. 31, n.2, p.255-263, 2000.

MARRONI, E.V.; ASMUS, M. L., Antecedentes históricos e governança local no processo de construção de políticas públicas para a zona costeira do Brasil. **Gerenciamento da Costa Oceânica**. v. 76, 2013.

MAYNARD, C.L.; ELSON, C.O.; HATTON, R.D.; WEAVER, C.T. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. **Nature**, v. 489, p. 231–241, 2012.

MIRBAKSHI, M.; AKHAVANSEPAHY, A.; AFSHARNASAB, M.; KHANAFARI, A.; RAZAVI, M.R. Screening and evaluation of indigenous bacteria from the Persian Gulf as a probiotic and biocontrol agent against *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* post larvae. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 24, n.4, p.873-886, 2013.

MIRANDA, C. Antimicrobial resistance associated with almonid farming. **In Antimicrobial Resistance in the Environment**; Keen, P.L., Montforts, M.H.H.M., Eds.; Wiley-Blackwell: Hoboken, NJ, USA, pp. 423–451, 2012.

NEWMAN, A.M.; ARSHAD, M. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in combating multidrug-resistant organisms. **Clin. Ther.**, v.42, p. 1637–1648, 2020.

OLIVEIRA, A. V. S. **Caracterização da frota artesanal do município de Itarema**, (Ceará, Brasil). 39 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências

Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015. Disponível em: <https://grpesca.weebly.com/20151.html>. Acesso em: 24 out. 2023.

PACHECO –MATÍNEZ, C. K.; SAUCEDO-CASTAÑEDA, G.; RODRÍGUEZ-DURÁN, L. V.; PÉREZ – CHABELA, M. DE L. Características de microorganismos utilizados como probióticos tradicionales y nuevos probióticos. **Actual. Biol.**, v. 45, n. 119, p. 1-12, 2023.

PAULA, D. P.; BARROS, E. L.; GUERRA, R. G. P.; DIAS, J. A. **A gestão costeira no Ceará (Nordeste, Brasil): Políticas, estratégias e experiências**. Tomo VIII da Rede BRASPOR, p. 83–93, 2019. Disponível em: <http://www.redebraspor.org/livros/2019/Braspor\%202019\%20-\ %20Artigo\%205.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2023.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N. R.; EDWARDS, D.D.; PELCZAR, M.F. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. São Paulo, 1997. v.1 ,524p.

PINHEIRO, M. L. S., DE LOUREIRO, J. P. B., BORGES, F. Q. e DO NASCIMENTO, R. F. Cadeia produtiva do pescado no estado do Pará: estudo do segmento de distribuição em um empreendimento de captura. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 315336, 2014.

PORTO, V. M. S. **Sobre a Pesca da Lagosta-Vermelha, *Panulirus argus* (LATREILLE, 1804), na Costa Norte do Brasil– 2005**.

RAHMAN, F.; ISMIATI, I.; NURHASANAH, A. Distribusi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler Pada Saluran Pencernaan Lobster Mutiara (*Panulirus ornatus*). **Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan**. v. 5, p. 71-82, 2019.

RAJEEV, R.; ADITHYA, K.; KIRAN, G.S.; SELVIN, J. Healthy microbiome: A key to success fuland sustainable shrimp aquaculture. **Rev. Aquac**, v. 13, p. 238–258, 2021.

RAMOS, M.A.; BATISTA, S.; PIRES, M.A.; SILVA, A.P.; PEREIRA, L.F.; SAAVEDRA, M.J.; OZÓRIO, R.O.A.; REMA, P. Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia. **Animal**, v.11, p. 1259–1269, 2017.

REKECKI, A.; DIERCKENS, K.; LAUREAU, S.; BOON, N.; BOSSIER, P.; VAN DEN BROECK, W. Effect of germ-free rearing environment on gut development of larval sea bass (*Dicentrarchus labrax*L.). **Aquaculture**,v. 293, p. 8–15, 2009.

RINGØ, E., HOSEINIFAR, S. H., GHOSH, K., VANDOAN, H., BECK, B.R., SONG, SK. Lactic acid bacteria in finfish -an update. **Front Microbiol**, v. 9, n. 1818, p. 1-37, 2018.

RODRIGUEZ-VIERA, L.; ALPIZAR-PEDRAZA, D.; MANCERA, J. M. PEREIRA, E. Toward a More Comprehensive View of α -Amylase across Decapods Crustaceans. **Biology**.v. 22, n.10, p. 10-947, 2021.

RODRIGUES, D. P.,RIBEIRO, R. V.; ALVES, R. M.; HOFER. E. Evaluation of virulence factors in environmental isolates of *Vibrio* species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 88, n. 4, p. 589-592, 1993.

RUST, L.; MESSING, C. R.; IGLEWSKI, B. H. Elastase assays. **Methods Enzymol**, Washington, v. 235, n. 1, p. 554-562, Feb 1994.

SALMINEN, S. *et al.* The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Review, Gastroenterol Hepatology*, v. 18, p. 649–667, 2021.

SANTOS, F. J. D. S. **The lobster fishing on the Amazonian Continental Shelf**, 2019.

SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A.R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environ. Int**, v. 34, p. 1215–1226, 2008.

SARMAH, A.K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A.B. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v. 65, p. 725–759, 2006.

SEDREZ, M. C., DOS SANTOS, C. F., MARENZI, R. C., SEDREZ, S. T., BARBIERI, E. e BRANCO, J. O. Caracterização socioeconômica da pesca artesanal do camarão sete-barbas em Porto Belo, SC. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 3, p. 311-322, 2013.

SILVA, K. C. A.; BOTELHO, K. B.; CINTRA, I. H. A.; ARAGÃO, J. A. N. Parâmetros reprodutivos da lagosta-vermelha *Panulirus argus* (Latreille, 1804), na costa norte do Brasil. **Bol. Téc. Cient. CEPNOR**, Belém, PA, v. 8, n. 1, p. 27 – 39, 2008.

STENTIFORD, G.D.; NEIL, D.M.; PEELER, E.J.; SHIELDS, J.D.; SMALL, H.J.; FLEGEL, T.W.; VLAK, J.M.; JONES, B.; MORADO, F.; MOSS, S.; *et al.* Disease will limit future food supply from the global crustacean fishery and aquaculture sectors. **J. Invertebr. Pathol.** v.110, p. 141–157, 2012.

SELIM, K.M.; REDA, R.M. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Fish Shellfish Immunol.** v. 44, p. 496–503, 2015.

SERWECIŃSKA, L. Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health. **Water**, v. 12, p. 3313, 2020.

SHI N, LI N, DUAN X, Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. **Mil Med Res**, v. 4, n. 1, p. 1–7, 2017.

SMITH, P. Antimicrobial resistance in aquaculture. **Rev. Sci. Tech. OIE**, v. 27, p. 243–264, 2008.

SØRUM, H. Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In **Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin**; Aarestrup, F.M., Ed.; ASM Press: Washington, DC, USA, pp. 213–238, 2006.

- SUMON, T.A.; HUSSAIN, M.A.; SUMON, M.A.A.; JANG, W.J.; ABELLAN, F.G.; SHARIFUZZAMAN, S.M.; BROWN, C.L.; LEE, E.-W.; HASAN, M.T. Functionality and prophylactic role of probiotics in shellfish aquaculture. **Aquac. Rep.**, v. 25, p.101220, 2022.
- SUN, Y., GUO, D., HUA, Z., SUN, H., ZHENG, Z., XIA, X., SHI, C. Atenuação de múltiplos fatores de virulência de *V. parahaemolyticus* por citral. **Front Microbiol.** v. 10, p. 894, 2019.
- TAN, L.T.H., SER, H.L., YIN, W.F., CHAN, V., LEE, L.H., GOH, B.H. Investigation of antioxidative and anticancer potentials of *Streptomyces* sp. MUM256 isolated from Malaysia mangrove soil. **Front Microbiol.**, v. 6, p. 1316, 2015.
- TEATHER, R. M.; WOOD, P. J. Use of Congo Red-Polysaccharide Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rument. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 777-780, 1982.
- TINH, N.T.N., DIERCKENS, K., SORGELOOS, P., BOSSIER, P. A review of the functionality of probiotics in the larviculture food chain. **Mar Biotechnol.** 10, p. 1–12, 2008.
- THORNBER, K.; VERNER-JEFFREYS, D.; HINCHLIFFE, S.; RAHMAN, M.M.; BASS, D.; TYLER, C.R. Evaluating antimicrobial resistance in the global shrimp industry. **Rev. Aquac.** v. 12, p. 966–986, 2020.
- VAN DOAN, H.; HOSEINIFAR, S.H.; KHANONGNUCH, C.; KANPIENGJAI, A.; UNBAN, K.; VAN VANDOAN, H.; HOSEINIFAR, S.H.; KHANONGNUCH, C.; KANPIENGJAI, A.; UNBAN, K.; *et al.* Host-associated probiotics boosted mucosal and serum immunity, disease resistance and growth performance of *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 491, p. 94–100, 2018.
- VAN HAI, N., FOTEDAR, R. A review of probiotics in shrimp aquaculture. **J. Appl. Aquac.** v. 22, p. 251–266, 2010.
- VERSCHUERE, L., ROMBAUT, G., SORGELOOS, P., VERSTRAETE, W. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and molecular biology reviews**, 2000. DOI: 10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000.
- VIANA, D. L. *et al.*, Ciências do mar: dos oceanos do mundo ao nordeste do Brasil: bioecologia, pesca e aquicultura: volume 2 / [editores]... -- 1. ed. -- Olinda, PE: **Via Design Publicações**, 2021.
- VIEIRA, R. H. S. F; TÔRRES, R. C. O. Contagem Padrão em Placas (CPP) de microrganismos aeróbios viáveis, p.211-217, in: Vieira, R.H.S.F (ed.), **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado – teoria e prática**. Varela. p. 380, São Paulo, 2004.
- WAGNER, G. P., SILVA, L. A. **A pesca e o pescador: por uma haliêutica historicizada**. **Oficina Do Historiador**, v. 13, n. 1, p. e36763, 2020.
- XIMENES, L. J. F.; VIDAL, M. F. Produção de Pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro. **Caderno Setorial ETENE**. Fortaleza: Banco do Nordeste, ano 5, n. 150, 2021.

YU, Q. Q., NIU, M.E.U., YU, M.Q., LIU, Y.H., WANG, D.P., SHI, X.M. Prevalência e suscetibilidade antimicrobiana de *V. parahaemolyticus* isolado de marisco no varejo em Xangai. **Controle Alimentar**.v. 60, p. 263–268, 2016.

ZHANG, L.; ZHOU, Y.; SONG, Z.; LIANG, H.; ZHONG, S.; YU, Y.; LIU, T.; SHA, H.; HE, L.; GAN, J. Mercury Induced Tissue Damage, Redox Metabolism, Ion Transport, Apoptosis, and Intestinal Microbiota Change in Red Swamp Crayfish (*Procambarusclarkii*): Application of Multi-Omics Analysis in Risk Assessment of Hg, **Antioxidants**, v. 11, p. 1944, 2022.