



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

**FABÍOLA LIMA DE ARAÚJO**

**PRESENÇA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *Pseudomonas* sp. COM RESISTÊNCIA A  
ANTIBIÓTICOS EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MERCADO DOS PEIXES  
DO MUCURIBE, FORTALEZA/CE**

**FORTALEZA**

**2023**

FABÍOLA LIMA DE ARAÚJO

PRESENÇA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *Pseudomonas* sp. COM RESISTÊNCIA A  
ANTIBIÓTICOS EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MERCADO DOS PEIXES DO  
MUCURIBE, FORTALEZA/CE

Monografia apresentada ao curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título bacharela de Engenharia de Pesca.

Orientador: Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes

Coorientadora: Profa. Dra. Marina Teresa Torres Rodriguez

FORTALEA

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)

---

A689p Araújo, Fabíola Lima de.  
Presença de bactérias do gênero *Pseudomonas* sp. com resistência a antibióticos em peixes comercializados no mercado dos peixes do Mucuripe, Fortaleza/CE / Fabíola Lima de Araújo. – 2023.  
49 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. Marina Teresa Torres Rodriguez.

1. Recurso pesqueiro. 2. Análise Microbiológica. 3. Psicotrónica. I. Título.

CDD 639.2

---

FABÍOLA LIMA DE ARAÚJO

PRESENÇA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *Pseudomonas* sp. COM RESISTÊNCIA A  
ANTIBIÓTICOS EM PEIXES COMERCIALIZADOS NO MERCADO DOS PEIXES DO  
MUCURIBE, FORTALEZA/CE

Monografia apresentada ao curso de  
Engenharia de Pesca da Universidade Federal  
do Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
título de bacharela em Engenharia de pesca.

Aprovada em: 07/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes (Orientadora)  
Departamento de Engenharia de Pesca (UFC)

---

Profa. Dra. Jéssica Lucinda Saldanha da Silva  
Departamento de Engenharia de Pesca (UFC)

---

Profa. Dra. Marina Teresa Torres Rodriguez  
Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap)

A minha mãe, Antônia Sandra.

A minhas irmãs, Vanessa e Michely.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e por iluminar as minhas escolhas, dando-me força e sabedoria para enfrentar os desafios da vida.

A minha mãe, Antônia Sandra, que mesmo diante de tantas dificuldades, sempre me apoiou em todas as minhas escolhas, me ensinou a ser uma mulher forte, independente e determinada. Obrigada por todo amor, paciência e suporte. Amo você, mami.

As minhas irmãs e meu sobrinho, Vanessa, Michely e Nicolas Gabriel.

A minha querida orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, a quem tenho tanta admiração e carinho. Sou grata pela orientação, por ter me recebido de braços abertos no laboratório, por ter acreditado no meu potencial, encorajando-me nos momentos desafiadores.

A Dra. Marina Teresa Torres Rodríguez pela disponibilidade e paciência em me orientar nas mais diversas dúvidas. Obrigada pela dedicação e cuidado. Sua visão, experiência e sugestões valiosas foram determinantes para a estruturação e aprimoramento deste estudo, sem a senhora eu e as minhas “preciosas” não teríamos norte.

A Prof<sup>ª</sup>. Dra. Jéssica Lucinda Saldanha Silva por aceitar fazer parte da banca examinadora, e por todas as considerações valiosas.

A Prof<sup>ª</sup>. Dra. Oscarina Viana de Sousa pelas contribuições e ensinamentos dentro do laboratório.

A Dra. Fátima Cristiane Teles (Crisinha), pela paciência de me ensinar tudo no laboratório e por esta sempre tão disposta a ajudar. Sempre com uma mão amiga, uma palavra de carinho e um conselho me ajudando a “não pirar o cabeção”. Muito obrigada, Cris!

A toda a equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), em especial Yasmin Girão, Régia Leiliana e Maria Ariele, que confiaram seus trabalhos de bancada a mim, para que eu pudesse aprender.

Aos amigos de laboratório, Maria Ariele, Luana Lira, Tereza Martins, Matheus Samuel, Daniel Borges pelo companheirismo, pelas risadas, por fazerem a caminhada até aqui se tornar mais leve, por tanto carinho e cuidado.

As minhas queridas amigas, Mylenna Kélvia e Vitória Nogueira, pelos anos de amizade, por todos os incentivos e pela compreensão nos momentos que estive ausente “sacrificando” os finais de semana em casa estudando. Muito obrigada!

Ao Igor Dantas, meu companheiro de curso e de vida, pelo carinho, compreensão, companheirismo e apoio em todas as horas. Obrigada por tudo! Espero poder compartilhar

muitas vitórias ao teu lado.

A Ana Mira, Luciano Dantas e Creuza Diniz, por terem me acolhido de forma tão generosa.

A Marianny Kellen, pela amizade e incentivo, pelas caronas para casa, pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

A Profª. Dra. Francisca Silvania de Sousa Monte, pela confiança durante os anos em que fui bolsista.

Ao departamento de Engenharia de Pesca e todos os professores e funcionários, em especial os funcionários da Secretária Administrativa, Matheus Vitor e Marcus Vinicius, por serem sempre tão solícitos.

Ao Programa de Iniciação Acadêmica e a Pró-Reitoria de Graduação, pelas oportunidades de bolsas concedidas, o suporte financeiro foi fundamental durante minha jornada acadêmica.

A todos os que não foram citados, mas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Obrigada!

“Pra começar  
Cada coisa em seu lugar  
E nada como um dia após o outro  
Pra que apressar?  
Se não sabe aonde chegar  
Correr em vão se o caminho é longo  
Quem se soltar, da vida vai gostar  
E a vida gostar de volta em dobro  
E se tropeçar, do chão não vai passar  
Quem sete vezes cai, levanta oito”.

(Tiago Iorc)



## RESUMO

Estudos realizados no Nordeste brasileiro destacam a relevância socioeconômica da comercialização de pescados, encontrados em feiras e mercados. Abordando a presença de patógenos, especialmente do gênero *Pseudomonas* sp., na microbiota dos peixes, responsáveis por infecções secundárias, casos de deterioração de alimentos e intoxicações. A pesquisa concentrou-se em verificar a presença de bactérias de gênero *Pseudomonas* sp. com resistência a antimicrobianos em espécimes de peixes Pargos (*Lutjanus purpureus*) do Mercado dos Peixes do Mucuripe, Fortaleza/CE. Foram utilizados métodos de quantificação, isolamento, identificação e testes de susceptibilidade a antimicrobianos. Cinco espécimes foram coletados em cinco semanas contínuas de julho a agosto de 2023. Foram feitas análises microbiológicas da pele, brânquias e intestino. Para quantificação presuntiva foi realizado a técnica do Número Mais Provável (NMP) em Caldo Asparagina. Os valores de NMP variaram de 750 a >110.000 NMP/mL para o muco da pele e brânquias; e >11.000 a >110.000 NMP/g para o intestino. A presença do gênero *Pseudomonas* foi confirmada em meio seletivo Ágar Cetrimide. Foram isoladas 130 cepas ao todo, sendo 44 do muco da pele, 41 das brânquias e 45 do intestino. Houve confirmação da morfologia (bastonetes) e a ocorrência de Gram (Gram-negativo). Dessas, 112 cepas seguiram para os testes bioquímicos, sendo 39 oriundos do muco da pele, 34 das brânquias e 39 do intestino. Para o muco da pele 31 (27,7%) cepas performaram para o gênero *Pseudomonas* sp., 4 (3,6%) para a espécie *Pseudomonas aeruginosa* e 4 (3,6%) para Filo Pseudomonadota. Para as brânquias 34 (30,4%) cepas performaram para o gênero *Pseudomonas* não houve identificação para a espécie *P. aeruginosa* e para o Filo Pseudomonadota. Para o intestino 31 (27,7%) cepas performaram para o gênero *Pseudomonas* sp., 3 (2,7%) para a espécie *P. aeruginosa* e 5 (4,5%) para Filo Pseudomonadota. O teste de difusão em disco foi utilizado para a realização do antibiograma. Foram selecionados os seguintes discos comerciais com antimicrobianos de uso clínico e veterinário: Amoxicilina (AMO – 10 µg), Cefotaxima (CTX - 30 µg); Cloranfenicol (CLO - 30 µg) e Tetraciclina (TET - 30 µg). A avaliação da suscetibilidade das cepas a diferentes antimicrobianos mostrou que as cepas isoladas do muco da pele demonstraram 100% de resistência à amoxicilina, enquanto nenhuma cepa foi resistente ao cloranfenicol neste local específico. Os resultados ressaltam a importância de medidas preventivas para conter a propagação desses microrganismos.

**Palavras-chave:** Recurso pesqueiro; Análise Microbiológica; Psicotrónica.

## ABSTRACT

Studies carried out in the Northeast of Brazil highlight the socio-economic importance of the commercialization of fish found in fairs and markets. These studies address the presence of pathogens, especially of the genus *Pseudomonas* sp., in the microbiota of fish, which are responsible for secondary infections, cases of food spoilage and poisoning. The research focused on verifying the presence of bacteria of the genus *Pseudomonas* sp. with resistance to antimicrobials in specimens of Pargos fish (*Lutjanus purpureus*) from the Mucuripe Fish Market, Fortaleza/CE. Quantification, isolation, identification and antimicrobial susceptibility testing methods were used. Five specimens were collected over five continuous weeks from July to August 2023. Microbiological analyses were carried out on the skin, gills and intestines. For presumptive quantification, the Most Probable Number (MPN) technique was used in Asparagine Broth. The MPN values ranged from 750 to >110,000 MPN/mL for the mucus from the skin and gills; and >11,000 to >110,000 MPN/g for the intestine. The presence of the *Pseudomonas* genus was confirmed on selective Cetrimide Agar medium. A total of 130 strains were isolated, 44 from skin mucus, 41 from the gills and 45 from the intestine. The morphology was confirmed (rods) and the occurrence of Gram (Gram-negative). 112 strains went on to biochemical tests, 39 from skin mucus, 34 from gills and 39 from the intestine. For the skin mucus, 31 (27.7%) strains performed for the genus *Pseudomonas* sp., 4 (3.6%) for the species *Pseudomonas aeruginosa* and 4 (3.6%) for the Phylum Pseudomonadota. For the gills, 34 (30.4%) strains performed for the genus *Pseudomonas* and there was no identification for the species *P. aeruginosa* or for the Phylum Pseudomonadota. For the intestine, 31 (27.7%) strains performed for the genus *Pseudomonas* sp. 3 (2.7%) for the species *P. aeruginosa* and 5 (4.5%) for the Phylum Pseudomonadota. The disk diffusion test was used to perform the antibiogram. The following commercial disks with antimicrobials for clinical and veterinary use were selected: Amoxicillin (AMO - 10 µg), Cefotaxime (CTX - 30 µg); Chloramphenicol (CLO - 30 µg) and Tetracycline (TET - 30 µg). Evaluation of the susceptibility of the strains to different antimicrobials showed that the strains isolated from skin mucus demonstrated 100% resistance to amoxicillin, while no strain was resistant to chloramphenicol at this specific site. The results highlight the importance of preventive measures to contain the spread of these microorganisms.

**Keywords:** Fishery resource; Microbiological analysis; Psychotropic.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Localização do Mercado dos peixes de Fortaleza, ponto de coleta das amostras de peixe Pargo (*Lutjanus purpureus*)..... 22
- Figura 2 – Tubos de Caldo Asparagina expressando o pigmento azul/esverdeado após o período de incubação – tubos sem exposição à luz U.V (a); tubos expostos a luz U.V revelando sua fluorescência (b)..... 23
- Figura 3 – Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (muco da pele) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada..... 25
- Figura 4 – Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (brânquias) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada..... 26
- Figura 5 – Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (intestino) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada..... 27
- Figura 6 – Testes bioquímicos realizados nos isolados bacterianos - teste realizado no ágar citrato (a); teste realizado em Agar bile-esculina (b); teste realizado em Ágar SIM (c); testes realizados em placas, meio King-F e King-p (d)..... 31
- Figura 7 – Fluxograma da técnica do antibiograma realizado com os isolados das amostras Muco da pele, Brânquias e Intestino do Peixe Pargo..... 33
- Figura 8 – Discos de antibióticos na placa de Petri com crescimento de *Pseudomonas* sp. mostrando susceptibilidade e resistência aos antibióticos testados..... 34
- Figura 9 – Exemplos de reação dos *Pseudomonas* sp – cor branca no agar Cetrimide (a); pigmentação fluorescente esverdeada pela exposição de luz U.V. (b)..... 36
- Figura 10 – Análise morfotintorial das estipes isoladas das amostras de muco da pele, brânquias e intestine do Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundas da feria do Mucuripe suspeitas pertencerem ao gênero *Pseudomonas*..... 37

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Antibiograma das cepas isoladas do muco da pele, brânquias e intestino de Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo da Feira de Mucuripe em Fortaleza, Ce..... 39

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Número Mais Provável (NMP/mL e NMP/g) de *Pseudomonas* sp. nas amostras de muco da pele, brânquias e intestino dos peixes coletados durante as cinco semanas..... 35
- Tabela 2 – Porcentagem de isolados bacterianos pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp nas amostras analisadas (muco da pele, brânquia e intestino) do Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo do mercado dos peixes do Mucuripe em Fortaleza, Ce..... 38
- Tabela 3 – Porcentagens do Antibiograma das cepas isoladas do muco da pele, brânquias e intestino de Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo do mercado dos peixes do Mucuripe em Fortaleza, Ce..... 40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMO	Amoxicilina
BrCAST	Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
BHI	Brain Heart Infusion
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CLO	Cloranfenicol
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CTX	Cefotaxima
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
I	Intermediário
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
NaCl	Cloreto de Sódio
NMP	Número Mais Provável
ONU	Organização das Nações Unidas
pH	Potencial Hidrogeniônico
R	Resistente
RAM	Resistência Antimicrobiana
RMD	Resistência a Múltiplas Drogas
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
S	Susceptível
TET	Tetraciclina
UFC	Universidade Federal do Ceará

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\beta$	Beta
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
$\text{H}_2\text{S}_2$	Dissulfeto de hidrogênio
km	quilômetro
$\mu\text{g}$	Micrograma
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrogênio
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	16
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
3	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1	<b>Comercialização do pescado no Brasil e no Ceará</b> .....	17
3.2	<b>Higiene e qualidade do pescado</b> .....	18
3.3	<b>Gênero <i>Pseudomonas</i> sp.</b> .....	19
3.4	<b>Bactérias do gênero <i>Pseudomonas</i> sp. com resistência a antimicrobianos</b> ....	19
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
4.1	<b>Local das coletas e processamento das amostras</b> .....	22
4.2	<b>Análises microbiológicas</b> .....	22
4.2.1	<b><i>Quantificação presuntiva de bactérias pertencentes ao gênero <i>Pseudomonas</i> sp. pela técnica do Número Mais Provável (NMP)</i></b> .....	22
4.2.2	<b><i>Verificação da presença de bactérias do gênero <i>Pseudomonas</i> sp.</i></b> .....	24
4.2.3	<b><i>Isolamento e identificação bioquímica de cepas pertencentes ao gênero <i>Pseudomonas</i> sp.</i></b> .....	24
4.2.4	<b><i>Testes bioquímicos para identificação dos isolados bacterianos</i></b> .....	28
4.2.4.1	<i>Oxidase</i> .....	28
4.2.4.2	<i>Catalase</i> .....	28
4.2.4.3	<i>Ágar Citrato Simmons</i> .....	28
4.2.4.4	<i>Ágar Bile-esculina</i> .....	29
4.2.4.5	<i>Ágar SIM</i> .....	29
4.2.4.6	<i>Produção de pigmento</i> .....	30
4.3	<b>Perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos</b> .....	32
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
5.1	<b>Determinação do Número Mais Provável (NMP) de <i>Pseudomonas</i> sp.</b> .....	35
5.2	<b>Isolamento das cepas pertencentes ao gênero <i>Pseudomonas</i></b> .....	36
5.3	<b>Identificação bioquímica das cepas pertencentes ao gênero</b>	



	<i>Pseudomonas</i> .....	37
5.4	<b>Determinação da susceptibilidade das cepas em diferentes antimicrobianos</b> .....	39
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	41
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU) mais de 1 bilhão de pessoas tem o pescado como a principal fonte de proteína (ISHISAKI, 2021). No Brasil a atividade pesqueira é realizada ao longo de todo o litoral que contém mais de 8.500 km (BRASIL, 2019). Os consumidores brasileiros seguem as tendências mundiais, optando por alimentos mais saudáveis (TEIXEIRA; PEREIRA, 2021). Os pescados são considerados extremamente importantes na dieta humana, são alimentos de alto valor nutricional, fontes de proteínas, lipídeos e aminoácidos essenciais (FERREIRA *et al.*, 2014; TEIXEIRA; PEREIRA, 2021).

O pescado é definido de modo geral como sendo moluscos, crustáceos, anfíbios, peixes e mamíferos, de água doce ou salgada designados para a alimentação. Além disso, dispõem de fontes de nutrientes e são importantes componentes na dieta humana. A indústria de processamento desse produto contribui para o fornecimento de uma grande variedade de produtos e subprodutos para o consumo, em que o peixe é o componente principal (GONÇALVES, 2011).

Os pescados podem ser encontrados principalmente em feiras e mercados livres, esses lugares são preferidos devido ao custo-benefício apresentado e devido à diversidade de formas de apresentação (APOLINÁRIO; MEDEIROS, 2021). Entretanto, os produtos pesqueiros são altamente perecíveis e quando não abatidos, armazenados, processados ou distribuídos de forma adequada podem se tornar inseguros para o consumo (FERREIRA *et al.*, 2014).

A composição química do pescado tem importância, sobretudo, quando se pretende armazená-lo. O pH neutro, a presença de aminoácidos livres e a elevada taxa de água (70% a 85%) que constitui o pescado tem influência direta no desenvolvimento de microrganismo (REBELATTO *et al.*, 2022). Os agentes biológicos mais recorrentes envolvidos na contaminação de alimento são bactérias, vírus e parasitas, alguns desses patógenos fazem parte de forma natural do ambiente aquático (SANTIAGO *et al.*, 2013). De acordo com Neves (2022) o desenvolvimento microbiano é um dos fatores que contribui com a deterioração e qualidade do pescado, ocasionando perdas (25-30%) desses produtos pesqueiros.

Segundo Evangelista-Barreto (2017) as bactérias são conhecidas mundialmente como indicadoras de qualidade alimentícia, podendo ser usadas para averiguar a qualidade microbiológica em relação à segurança alimentar e vida útil de prateleira. Os pescados

possuem microbiota própria constituída de patógenos deteriorantes e oportunistas (TEIXEIRA; PEREIRA, 2021) que estão presentes na pele, escamas, brânquias, sistema digestivo e outros tecidos, e que continuam em atividade metabólica mesmo após a morte do animal (ARAGÃO; TRAJANO, 2022).

Dentre os patógenos, existem os que pertencem ao gênero *Pseudomonas sp.* da família Pseudomonadaceae. Estas são bactérias que apresentam a característica de serem bastonetes retilíneos ou ligeiramente curvados, Gram-negativos, estritamente aeróbicas e a maioria das cepas tem motilidade produzida por um ou mais flagelos polares (KONEMAN *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2010; TORTORA; CASE; FUNKE, 2017) são metabólica e nutricionalmente versáteis, além de produzirem pigmentos, são exemplos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas chlororaphis* e *Pseudomonas fluorescens* (GASPAROTTO *et al.*, 2020).

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são consideradas invasoras oportunistas que se adaptam a diversas condições ambientais e são responsáveis por infecções secundárias (FERREIRA *et al.*, 2019; GASPAROTTO *et al.*, 2020). Podem ser encontradas nos mais variados ambientes, como no solo, na poeira em suspensão, na água doce, salobra ou marinha (SILVA *et al.*, 2010). Além disso, são psicotróficas, este fator contribui para que muitas estejam associadas aos casos de deterioração de alimentos e intoxicações. Apresentam resistência a inúmeros anti-sépticos e antibióticos e possuem vários fatores de virulência (BENIE *et al.*, 2017; TORTORA; CASE; FUNKE, 2017).

*Pseudomonas aeruginosa* é reconhecida como parte da microbiota normal na superfície das plantas, da pele humana e de animais como os peixes, mas a sua importância reside no seu papel como agente patogênico oportunista que causa infecções quando as defesas do hospedeiro estão comprometidas (MAIA *et al.*, 2009).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral:**

Verificar a presença de bactérias de gênero *Pseudomonas* com resistência a antimicrobianos.

### **2.2 Objetivos específicos:**

- Quantificar bactérias do gênero *Pseudomonas* em peixes Pargos (*Lutjanus purpureus*) comercializados no Mercado dos Peixes do Mucuripe, Fortaleza-CE;
- Isolar bactérias do gênero *Pseudomonas*;
- Identificar fenotipicamente bactérias isoladas;
- Determinar os perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos de uso veterinário e clínico nas estirpes isoladas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Comercialização do pescado no Brasil e no Ceará

No Brasil a atividade pesqueira é realizada ao longo de todo o litoral que contém mais de 8.500 km (BRASIL, 2019). O território extenso proporciona uma maior área de pesca, que fazem do Maranhão, Ceará, Bahia e o Rio Grande do Norte sejam destaque como produtores nordestinos, explorando recursos importantes e de elevado valor comercial, como o pargo *Lutjanus purpureus*, os atuns do gênero *Thunnus* spp. e as lagostas do gênero *Panulirus* spp. (LUCENA-FRÉDOU *et al.*, 2021).

O estado do Ceará se destaca por dispor da terceira maior extensão de costa, cerca de 570 km (PAULA *et al.*, 2019) e possui parte da produção pesqueira proveniente das frotas industriais e pescas artesanais (MASIH NETO *et al.*, 2018). A atividade pesqueira favorece a diversificação da dieta de populações costeiras, principalmente quando a diversidade de espécies consumidas é levada em consideração, pois os pescados são fonte de proteína, vitaminas A e D, minerais, ferro, selênio, e no caso de pescados provenientes do mar, iodo (FREITAS, 2018).

Os peixes da família Lutjanidae são destaques nas capturas artesanais e estão distribuídos ao longo das regiões tropicais e subtropicais, são considerados notáveis recursos pesqueiros. Em especial os pargos, comumente chamados de “vermelhos”, pois estes possuem elevado valor comercial, carne de excelente qualidade e importância socioeconômica (MORAIS *et al.*, 2014).

Conforme Apolinário e Medeiros (2021) o pescado é encontrado principalmente em feiras e mercados livres, devido à preferência dos consumidores por pescado fresco em relação aos refrigerados e congelados. Além de desempenhar um aporte socioeconômico de relevância para os pescadores e pequenos empreendedores que ocupam esses espaços (SANTOS *et al.*, 2016).

O preço acessível e as várias formas de apresentação, por exemplo, em postas, inteiros ou eviscerado despertam interesse nos compradores (MANGAS *et al.*, 2016). Entretanto, é importante que esses locais apresentem as condições sanitárias adequadas, tanto para o processamento e manipulação, bem como os utensílios que são usados e o modo como é estocado (BARTOLOMEU *et al.*, 2011).

### 3.2 Higiene e qualidade do pescado

As Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) ocorrem por ingestão de água ou alimentos contaminados por parasitas, bactérias, vírus ou por substâncias químicas (BRASIL, 2022). Segundo Santiago *et al.* (2013) muitos alimentos têm sido associados às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) e do ponto de vista microbiológico os peixes e frutos do mar devem ser inclusos no grupo de alimentos que apresentam alto risco quando bactérias são associadas, pois apesar do pescado ser um alimento de alto valor nutricional e possuir inúmeros benefícios à saúde, trata-se de um produto de fácil deterioração (SANTOS *et al.*, 2016).

Vieira e Sampaio (2004) destacam que o trinômio: tempo, temperatura e higiene devem ser adotados como uma medida higiênico-sanitária indispensável para manter a qualidade microbiológica, sensorial bem como aumentar a vida de prateleira.

De acordo com o Artigo 210, do RIISPOA 2017 – Regulação de Inspeção Industrial dos Produtos de Origem Animal dispõe sobre as características sensoriais que um pescado fresco deve apresentar: o peixe deve possuir superfície da pele limpa, com brilho e reflexos multicores; os olhos devem estar claros, vivos, brilhantes, convexos e transparentes; brânquias ou guelras róseas ou vermelhas e úmidas; abdômen firme e impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes e aderentes na pele; carne firme; vísceras íntegras e anus fechado; e, por fim, odor característico (BRASIL, 2017).

Segundo Moura *et al.* (2018) a microbiota própria dos pescados pode ser acometida por alterações por contaminação direta, principalmente devido às más condições de armazenamento e manipulação inadequada. A elevada atividade de água e pH próximo da neutralidade, são fatores que contribuem para o crescimento de microrganismos oportunistas deteriorantes, como é o caso de bactérias *Pseudomonas* sp, além de não possuir necessidades nutricionais elevadas, este microrganismo é resistente a diversas condições físicas e também possui resistência a diversos antimicrobianos (MAIA *et al.*, 2009; SOARES; GONÇALVES, 2012).

### 3.3 Gênero *Pseudomonas* sp.

O gênero *Pseudomonas* pertencente à família Pseudomonadaceae compreende uma variedade de microrganismos em forma de bastonetes Gram-negativos, aeróbios, não fermentadores e psicrotróficos. A característica de serem organismos psicrotróficos se deve à sua notável adaptabilidade e habilidade de se reproduzir em temperaturas mais baixas, tal fator contribui para que as bactérias do gênero estejam associadas aos casos de deterioração de alimentos e intoxicação por alimentos contaminados. Algumas cepas do gênero *Pseudomonas* são capazes de produzir pigmentos como, pioverdina, piocianina, piorrubina, e a produção deste pigmento pode auxiliar a identificar as espécies deste gênero bacteriano (BENIE *et al.*, 2017; COSTA *et al.*, 2022; GONÇALVES; GOULART, 2021).

Este gênero representa o grupo mais importante e prevalente de bactérias em termos ecológicos, sendo comumente presente na maioria dos ambientes naturais, sejam eles terrestres ou aquáticos (SOARES, 2018). São conhecidos por suas demandas nutricionais e metabólicas simplificadas, além de serem considerados invasores oportunistas que se adaptam a diversas condições ambientais e são responsáveis por infecções secundárias (COSTA *et al.*, 2022; FERREIRA *et al.*, 2019; GASPAROTTO *et al.*, 2020).

Este microrganismo possui vários fatores de virulência, são exemplos: lipopolissacarídeos (LPS); flagelos; produção de alginato, exotoxina A, proteases e a produção de biofilme (LAZARETTI *et al.*, 2022). A sua capacidade de produzir biofilme em diferentes materiais permite que esse agregado bacteriano sobreviva no ambiente onde estão se proliferando, independente de possíveis perdas dos agregados, que futuramente irão formar novas comunidades de biofilme (SANTOS; COLOMBO, 2015; SOARES, 2018).

### 3.4 Bactérias do gênero *Pseudomonas* sp. com resistência a antimicrobianos

Os antimicrobianos são substâncias que foram desenvolvidos para tratar e combater microrganismos patogênicos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas. Entretanto o uso indiscriminado dessa categoria de fármacos resulta em um aumento acelerado do desenvolvimento natural de resistência das bactérias aos antibióticos (GARCIA; COMARELLA, 2021).

Segundo Caldas, Oliveira e Silva (2022), os fármacos antimicrobianos podem ser compostos de origem natural ou sintéticos, além de serem classificados como bactericidas quando destroem os microrganismos diretamente ou bacteriostáticos, quando impedem o

desenvolvimento.

A multifuncionalidade dos antimicrobianos tem aumentado a frequência do uso indiscriminado. A resistência antimicrobiana (RAM) é um problema global de saúde pública que ocorre quando microrganismos desenvolvem uma capacidade de resistência aos efeitos dos medicamentos antimicrobianos, tornando-os ineficazes (ALMEIDA *et al.*, 2023). A resistência pode ser classificada como natural (intrínseca) quando as bactérias já possuem, em sua estrutura genética, instruções para manifestar o mecanismo que torna o antimicrobiano ineficaz, ou a adquirida que ocorre quando o microrganismo adquire informações de outras células, seja da mesma espécie ou não, que resultam na resistência. Essa informação adquirida pode ser, por exemplo, fragmento de material genético (ABRANTES; NOGUEIRA, 2021).

Para Cristaldo, Irmão e Matuo (2022), quando ocorre o contato primário dos fármacos com as bactérias, aquelas que são mais fracas acabam sendo eliminadas deixando as mais fortes, que por sua vez, serão resistentes e que compartilharão essa característica de sobrevivência com as demais, por esta razão a resistência é um processo natural adaptativo de milhares de anos.

As bactérias que são resistentes a vários antibióticos são popularmente conhecidas como superbactéria e são vários os mecanismos que podem levar uma bactéria a se tornar resistente, entre esses mecanismos a produção de enzimas  $\beta$ -lactamases e metallo- $\beta$ -lactamases (TORTORA; CASE; FUNKE, 2017; LINCOPAN; TRABULSI, 2004). Além disso, atualmente a resistência é descrita para quase todos os gêneros de bactérias (ABRANTES; NOGUEIRA, 2021).

As bactérias do gênero *Pseudomonas* fazem parte da microbiota natural de peixes, sendo considerada oportunista e que desempenha a função deteriorante do pescado (ABD-EL-MAOGOUD *et al.*, 2021). Estas bactérias possuem resistência a diversos antimicrobianos, este fator pode ser devido à baixa permeabilidade de sua membrana e a capacidade de formar biofilme (MAIA *et al.*, 2009).

Além de sua capacidade de resistir a diversos antibióticos disponíveis no mercado, *P. aeruginosa* parece ser mais crítica do que demais bactérias que causam deterioração em alimentos. Isso se deve à sua habilidade de transferir plasmídeos de resistência a múltiplas drogas (MDR) para os seres humanos após a ingestão de peixes contaminados ou produtos derivados, o que a torna mais preocupante (Shahrokhi *et al.*, 2022).

Segundo Figueiredo (2007) um aspecto a se destacar e se preocupar, é o fato de espécies de *Pseudomonas* apresentarem resistência cruzada aos antimicrobianos, este fator resulta em co-resistência, em outras palavras, da presença de múltiplos mecanismos de



resistência em um único hospedeiro levando à resistência a inúmeros fármacos.

Os quatro principais mecanismos de resistência aos antibióticos nas bactérias são: modificação enzimática ou destruição do antibiótico (por exemplo, destruição de  $\beta$ -lactâmicos pelas enzimas  $\beta$ -lactamases); prevenção da acumulação intracelular do antibiótico através da redução da permeabilidade celular ao antibiótico (por exemplo, resistência de *Pseudomonas aeruginosa* ao imipenem) ou da presença de bombas de efluxo de antibióticos de células bacterianas (por exemplo, resistência da família Enterobacteriaceae às tetraciclinas); alterações nas moléculas alvo dos antibióticos (por exemplo, resistência intrínseca às cefalosporinas na bactéria *Enterococcus*) e produção de moléculas alvo que não são inibidas pelo antibiótico enquanto continuam a produzir as moléculas alvo originais, contornando assim a inibição induzida pelo antibiótico (por exemplo, resistência em *Staphylococcus aureus* para meticilina) (GRIGORYAN *et al.*, 2008, 2007).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local das coletas e processamento das amostras

Foram adquiridos cinco espécimes de peixe Pargo (*Lutjanus purpureus*) durante cinco semanas contínuas entre julho e agosto de 2023, no mercado dos peixes localizado no Mucuripe, Fortaleza – Ceará (Figura 1). Os pescados encontravam-se expostos no balcão de venda, foram coletados nos primeiros horários da manhã e acondicionadas em caixa isotérmica, transportadas para o laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), onde foram imediatamente processadas.

Figura 1 – Localização do Mercado dos peixes de Fortaleza, ponto de coleta das amostras de peixe Pargo (*Lutjanus purpureus*).



Fonte: Dados do mapa ©2023 Google

### 4.2 Análises microbiológicas

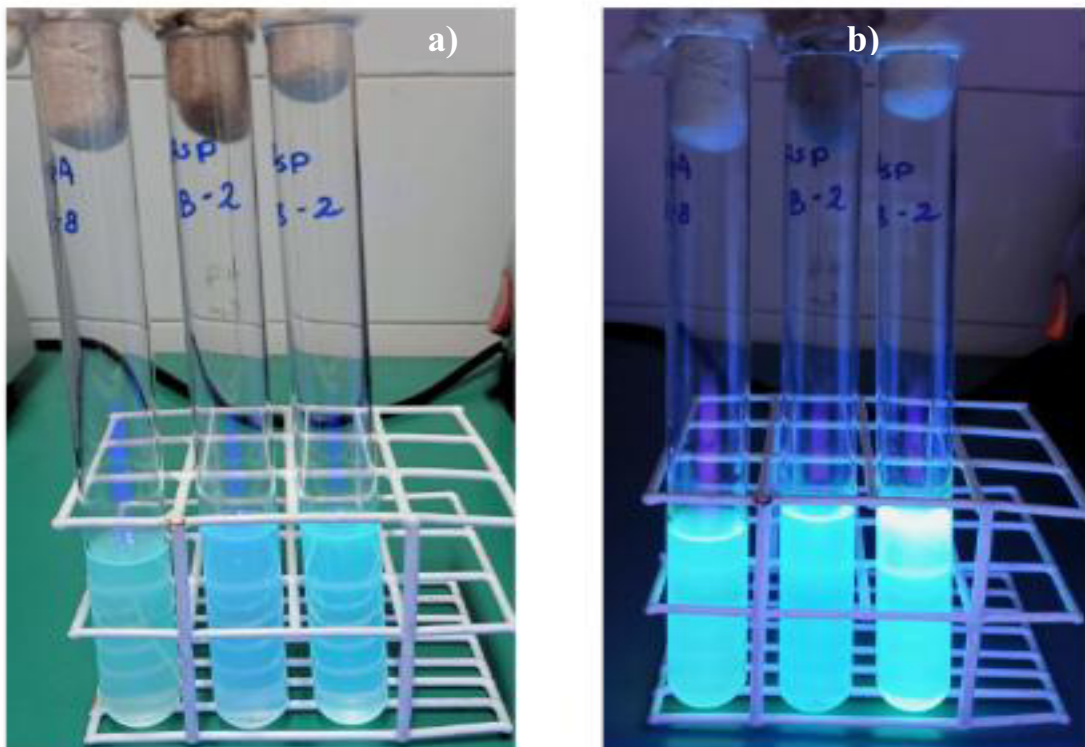
#### 4.2.1 Quantificação presuntiva de bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp. pela técnica do Número Mais Provável (NMP)

A quantificação do Número Mais Provável de bactérias do gênero *Pseudomonas* foi realizada por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP), de acordo a metodologia descrita na Norma Técnica L5.220 (SAO PAULO, 2001). Cada amostra foi inoculada em

tubos com 9 mL de Caldo Asparagina e incubados a 35 °C por 48 horas. As contagens de bactérias para muco da pele e brânquias foram em NMP/ mL de amostra. Para intestino as contagens foram realizadas em NMP/grama de amostra testada.

Para o muco, foi analisada uma área de 100 cm<sup>2</sup> (10x10 cm) da pele do pescado, e as brânquias foi utilizado um *swab* estéril para a coleta do material e imediatamente foi diluído em tubos de 9 mL de salina 0,85%, seguida de diluições seriadas (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>). Para o intestino foi pesado 5 gramas de amostra e inoculados em 45 mL de salina 0,85%, seguida de diluições seriadas (10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>). De cada diluição seriada foi retirada uma alíquota de 1 mL e inoculado em triplicatas em tubos com 9 mL de Caldo Asparagina. Os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas, após este período foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação no meio de cultura e a presença de fluorescência sob luz ultravioleta (365 nm), com de pigmento azul/esverdeado (Figura 2).

Figura 2 - Tubos de Caldo Asparagina expressando o pigmento azul/esverdeado após o período de incubação – tubos sem exposição à luz U.V (a); tubos expostos a luz U.V revelando sua fluorescência (b).



Fonte: Autora (2023).

#### **4.2.2 Verificação da presença de bactérias do gênero *Pseudomonas* sp.**

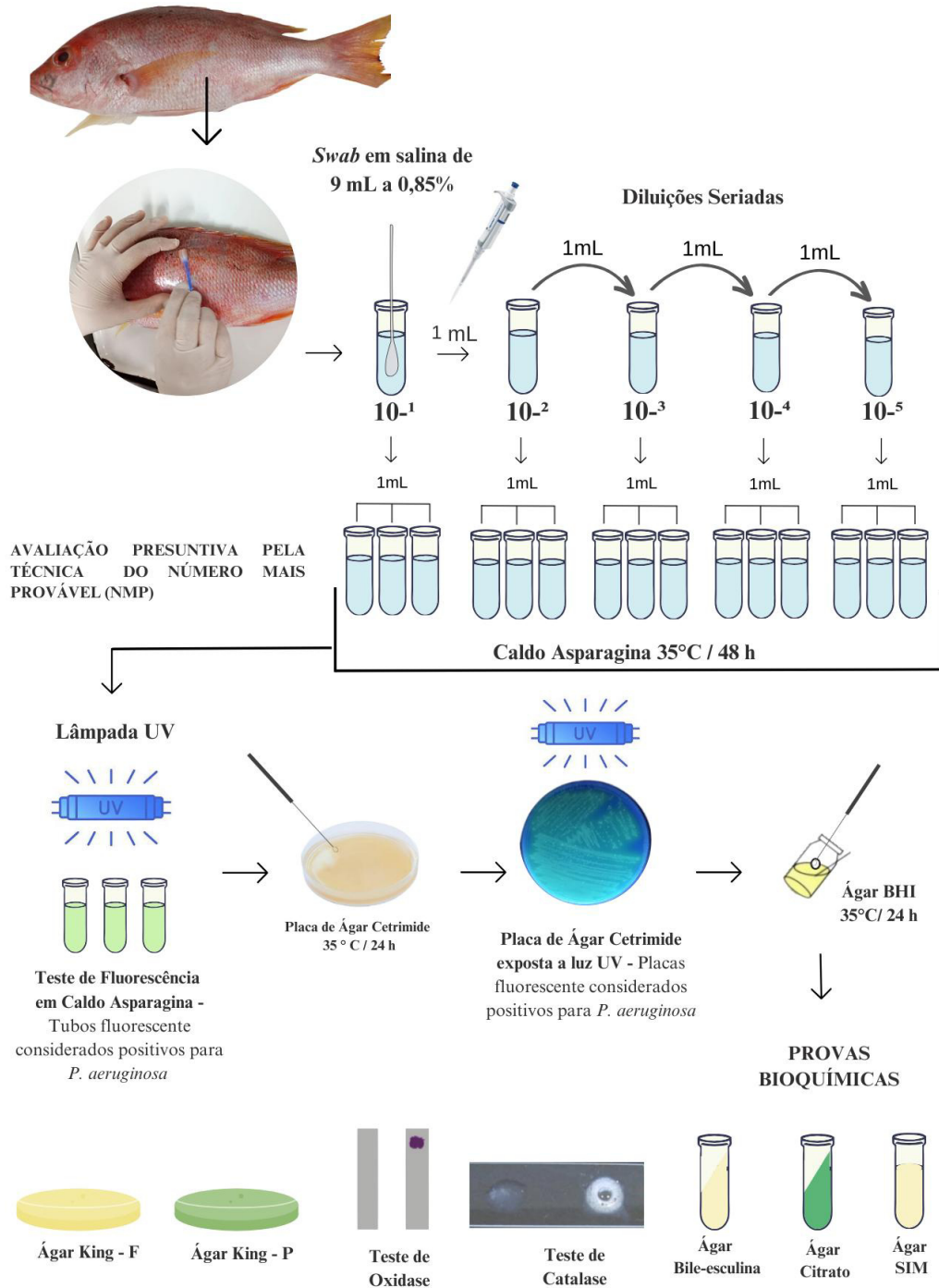
Os tubos que apresentaram turvamento, pigmento azul/esverdeado e fluorescência em Caldo Asparagina, foram inoculados em Placas de Ágar Cetrimide (meio seletivo), utilizando a técnica de estriamento por esgotamento, com incubação a 35°C por 24 horas. Após as 24 horas, as placas foram expostas a luz ultravioleta a fim de identificar a presença de fluorescência. Foram feitos o isolamento de colônias características pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp. (FIGURA 3, 4 e 5).

#### **4.2.3 Isolamento e identificação bioquímica de cepas pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp.**

De cada placa de Ágar Cetrimide foram isoladas de cinco a dez colônias com características morfológicas do gênero *Pseudomonas*: colônias de tamanho pequeno, circular, bordas lisas e regulares, convexas, brancas, ou aquelas que apresentaram pigmentação. As cepas isoladas foram mantidas em meio Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI), posteriormente, foi realizada a verificação da morfologia celular usando a técnica de coloração de Gram.

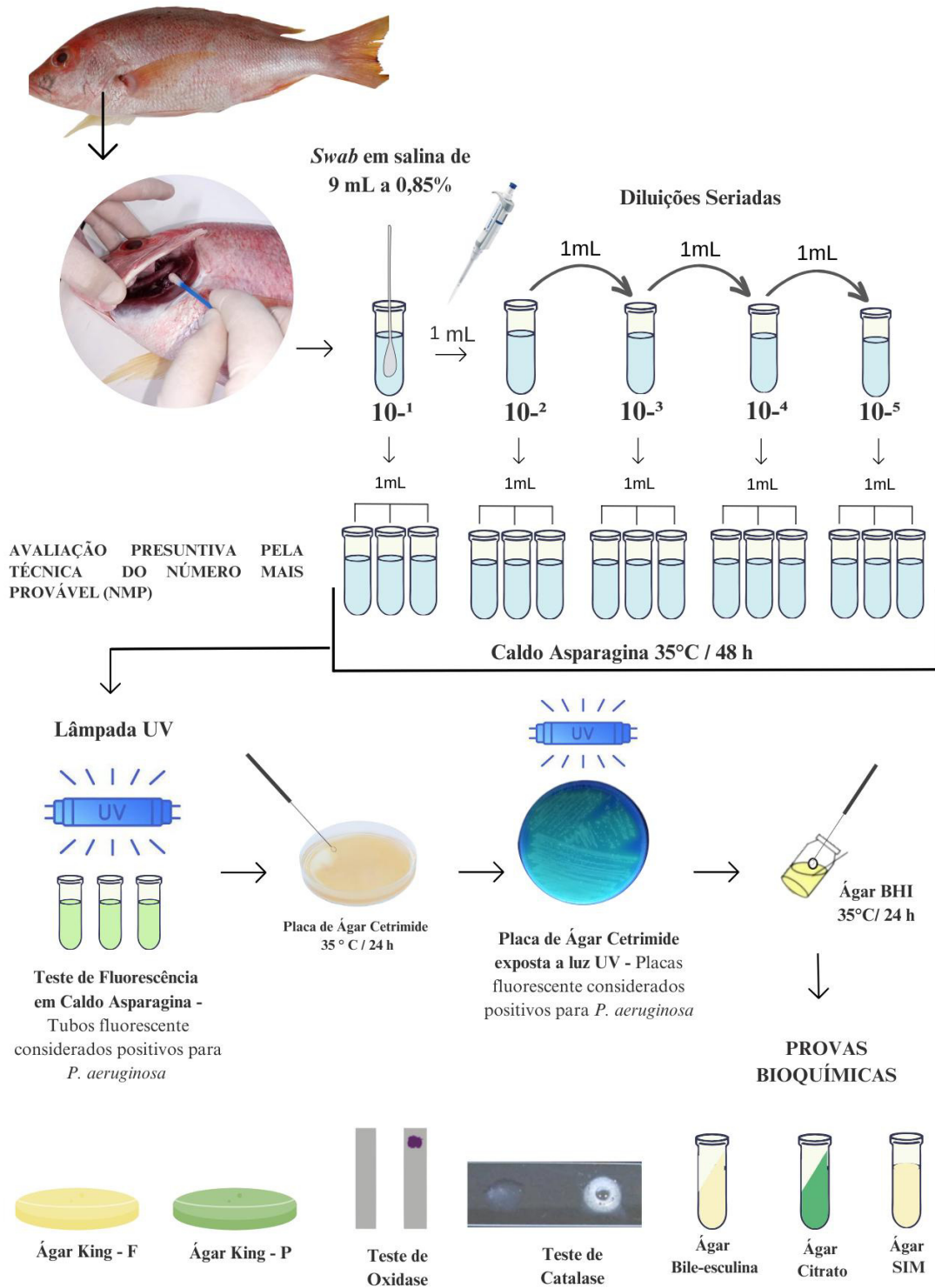
Seguiram para os testes de identificação bioquímica as cepas consideradas “puras” após apresentarem características morfotintoriais (bastonetes e Gram-negativas). Foram feitos os seguintes testes para a identificação bioquímica das características do gênero *Pseudomonas*: Catalase, Oxidase, Agar Citrato, Ágar Bile-esculina, Agar SIM, Ágar King-F (modificado) e Ágar King-P (modificado). Para a identificação bioquímica das cepas foi utilizada uma cepa controle: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (FIGURA 3, 4 e 5).

Figura 3- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (muco da pele) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada.



Fonte: Autora (2023).

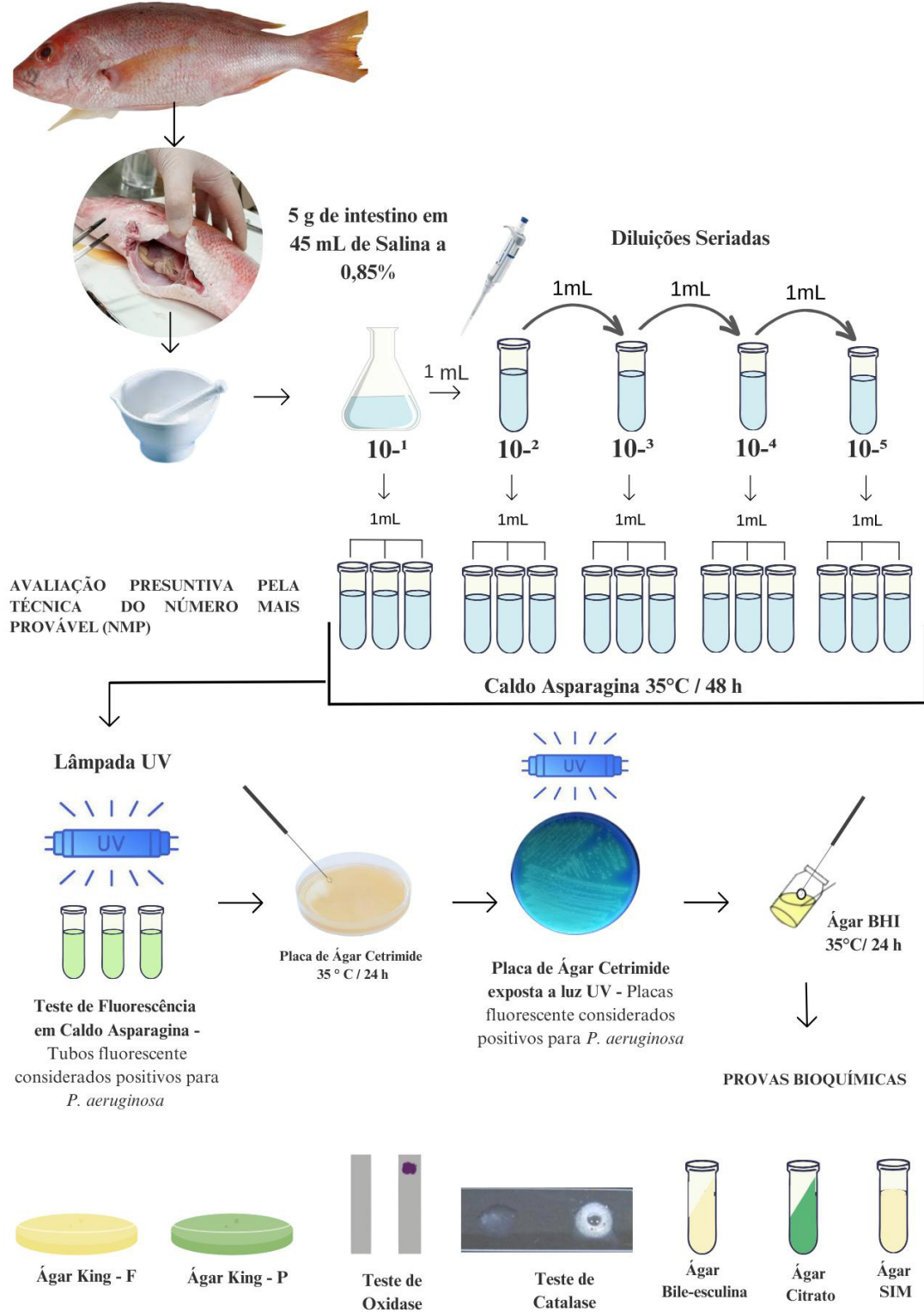
Figura 4- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (brânquias) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada



Fonte: Autora (2023).



Figura 5- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra (intestino) para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada.



Fonte: Autora (2023).

#### **4.2.4 Testes bioquímicos para identificação dos isolados bacterianos**

##### **4.2.4.1 Oxidase**

O teste de oxidase é realizado para verificar a produção da enzima oxidase pela bactéria. Ajuda a distinguir bactérias fermentadoras (oxidase negativa) das não fermentadoras (oxidase positiva) (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004). Para realizar o ensaio uma pequena porção da cultura foi retirada do meio BHI crescido e renovado em 24 horas, com auxílio de uma agulha de platina e posto sobre a fita de papel filtro estéril embebido no reagente de oxidase. Após alguns segundos, observou-se a mudança de cor. A cor neutra (cor da cultura bacteriana) indica que o resultado é negativo, cor roxa indica resultado positivo.

##### **4.2.4.2 Catalase**

O teste é realizado para confirmar a presença da enzima catalase, que degrada o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O resultado é positivo quando se observa a formação de bolhas de ar, resultado da conversão do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água e oxigênio (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Para realizar o teste de Catalase, as cepas bacterianas foram inoculadas em ágar BHI e incubadas a 35°C por 24 horas. Após este período, foi retirada uma pequena quantidade de material e feito um leve esfregaço sobre uma placa de vidro, imediatamente foram adicionadas em cima da cultura duas gotas de água oxigenada 3% (10 volumes). As cepas que apresentaram formação de bolhas de ar resultaram em catalase positiva.

##### **4.2.4.3 Ágar Citrato Simmons**

A prova de Ágar Citrato Simmons é utilizada para observar se a bactéria utiliza o Citrato de sódio como única fonte de carbono. A cor original do meio Citrato Simmons é verde em pH 6,8 a 7,0  $\pm$  0,2 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Para realizar esta prova foi utilizado o meio de cultura ágar Citrato Simmons, contendo azul de bromotimol como indicador. As cepas bacterianas foram estriadas no meio de cultura sólido inclinado, incubados a 35°C por 24 horas. Após o período de encubação,



observa-se a mudança de cor do meio, que indica a viragem de pH. O teste é considerado positivo quando o meio passa de verde para azul (Figura 6).

#### 4.2.4.4 *Ágar Bile-esculina*

A prova de Bile-esculina serve para identificar a capacidade de algumas bactérias em hidrolisar esculina na presença de bílis. Os sais biliares inibem bactérias Gram-positivas. As bactérias Bile-esculina positivas, hidrolisam a esculina e neste processo é formada a glicose e esculetina. A esculetina, por sua vez, reage com os íons férricos (composto inorgânico do meio) que formam um complexo enegrecido. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Para esta prova as cepas bacterianas foram inoculadas a 35°C por 24 horas no meio de cultura Agar Bile-esculina sólido inclinado. Após o tempo de incubação foram feitas as leituras dos resultados. O teste indica positividade se mais da metade do meio escurecer, e é considerado negativo na há ausência de enegrecimento (Figura 6).

#### 4.2.4.5 *Ágar SIM*

O Ágar Indol Sulfeto Motilidade (SIM) é um meio de cultura semi-sólido utilizado para verificar a motilidade da bactéria, produção de gás sulfídrico ( $H_2S_2$ ) e para determinar a capacidade de digestão enzimática triptofanase que agindo sobre o aminoácido triptofano, leva à formação de indol. O indol é detectado após a adição do Reagente de Kovacs (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

Com o auxílio de uma agulha estéril, as cepas bacterianas foram inoculadas, em tubos de ensaio contendo o meio de cultura semi-sólido em posição vertical, encubados a 35°C por 24 horas. Após este período foi feita a leitura dos resultados. O teste foi considerado positivo quando foi detectada uma zona difusa de crescimento projetada a partir da linha de inoculação. O enegrecimento do meio de cultura inoculado indicou a produção de gás sulfídrico ( $H_2S_2$ ) por parte da bactéria.

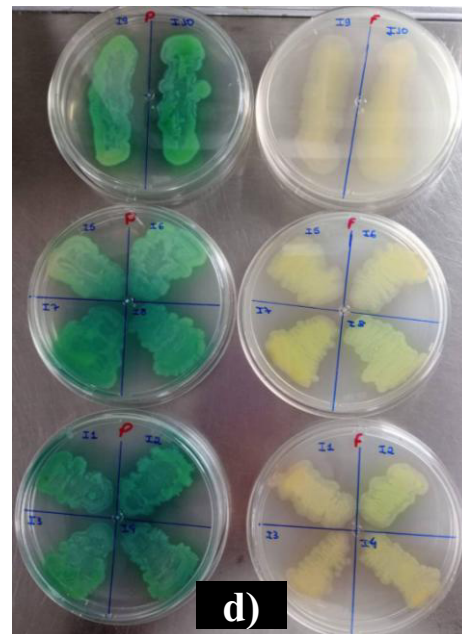
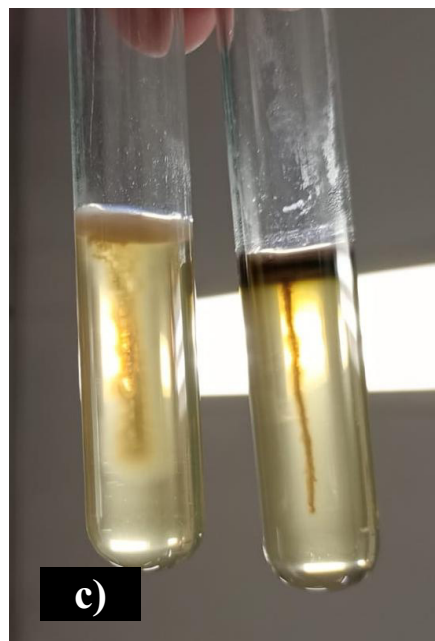
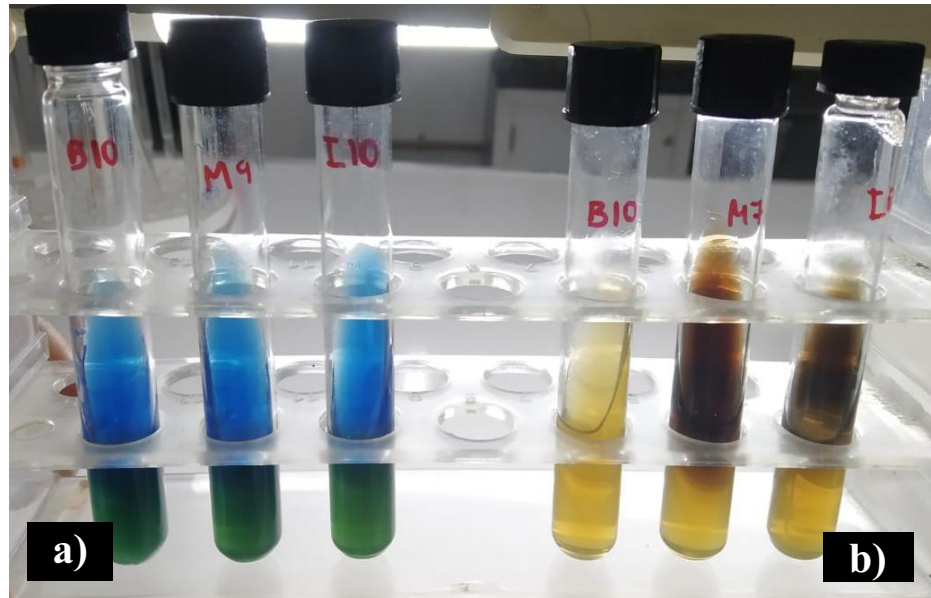
Ao término das leituras, foi adicionada aos tubos de ensaio cinco gotas do reagente de Kovacs. Depois de alguns minutos, foi considerado resultado Indol positivo àqueles que apresentaram um anel de coloração rosada, indicando a presença de Indol. Os tubos que apresentaram Indol negativo não tiveram alteração da coloração após o reagente (Figura 6).

#### 4.2.4.6 *Produção de pigmento*

Para observar a produção de pigmentação característica do gênero *Pseudomonas*, foi utilizado o meio King-P (modificado) para verificação dos pigmentos piocianina e King-F (modificado) para fluoresceína.

As cepas foram estriadas nas placas de Petri contendo os meios King-F e King-P e posteriormente foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após o tempo de incubação foi realizada a leitura dos resultados observando a coloração. Para King-F a coloração esperada é um amarelo/esverdeado e quando exposta sob luz ultravioleta (365 nm) é possível observar fluorescência. Para o meio King-P esperasse encontrar o pigmento verde.

Figura 6 – Testes bioquímicos realizados nos isolados bacterianos - teste realizado no ágar citrato (a); teste realizado em Agar bile-esculina (b); teste realizado em Ágar SIM (c); testes realizados em placas, meio King-F e King-p (d).



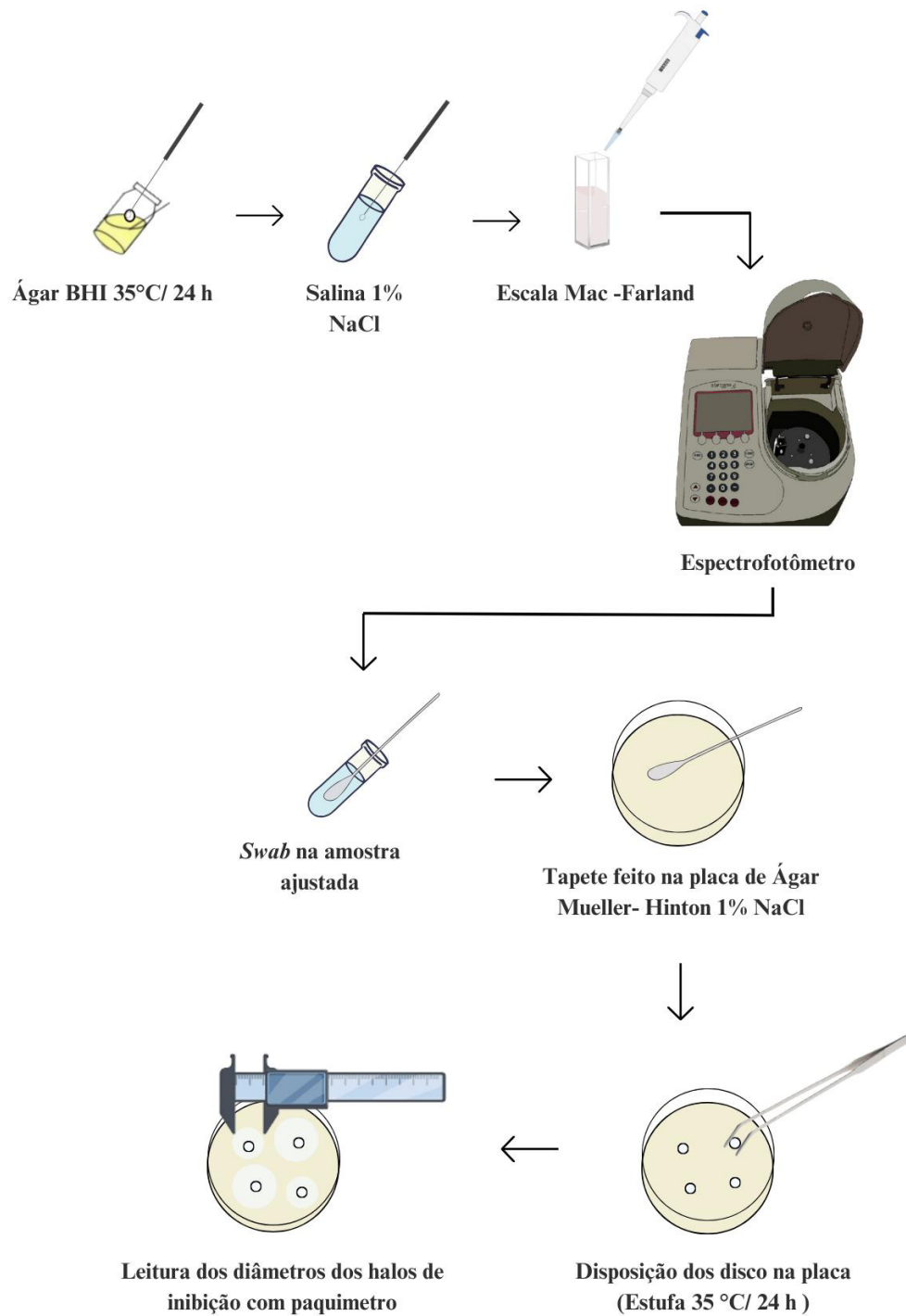
Fonte: Autor (2023).

### 4.3 Perfis de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos

O antibiograma das cepas identificadas bioquimicamente pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp. foi realizado pelo método de difusão em placa (BAUER; KIRBY; SHERRIN, 1966), seguindo a técnica ditada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023).

As cepas foram renovadas em Ágar BHI 1% a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação foi feito um repique das cepas e estas foram diluídas em solução salina NaCl a 1%. A salina foi agitada com a utilização do vortex, para que o material fosse completamente dissolvida e ajustado conforme a Escala Mac-Farland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC) em espectrofotômetro. Depois de ajustar a salina um *swab* estéril foi introduzido no tubo para coletar o material para fazer um tapete na placa de Ágar Mueller-Hinton 1%. Uma vez realizado o tapete, foram adicionados os discos de antibióticos. As placas ficaram em estufa a 35°C por 24 horas. A leitura do diâmetro dos halos de inibição foi feita com um paquímetro, em milímetros e a interpretação dos resultados foi realizada de acordo com as Tabelas de ponto de corte do EUCAST/BrCAST (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma da técnica do antibiograma realizado com os isolados das amostras Muco da pele, Brânquias e Intestino do Peixe Pargo.



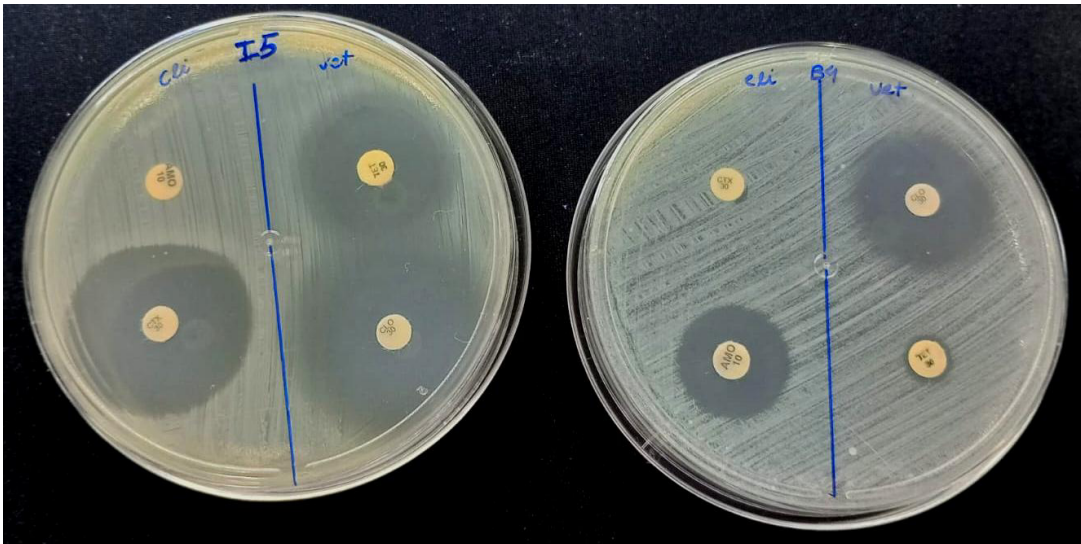
Fonte: Autor (2023).

No antibiograma foram utilizados os seguintes discos comerciais com antimicrobianos de uso clínico e veterinário: Amoxicilina (AMO – 10 µg), Cefotaxima (CTX - 30 µg); Cloranfenicol (CLO - 30 µg) e Tetraciclina (TET - 30 µg) (Figura 8).

De acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2020), na padronização ofertada pela EUCAST/BrCAST não existem Tabelas específicas para todos os microorganismos, neste ponto incluem-se os bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose, por exemplo, *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp., e também não existem pontos de cortes definidos para todos os antimicrobianos. Deste modo, para a interpretação do diâmetro dos halos de inibição e dos pontos de corte foi utilizado à Tabela da família Enterobacteriaceae.

Os resultados foram expressos da seguinte forma: Susceptível (S) para os isolados que apresentaram susceptibilidade aos antibióticos testados; Intermediário (I) para os isolados que apresentaram resistência intermediária; e Resistente (R) para os isolados que apresentaram resistência aos antibióticos testados.

Figura 8 – Discos de antibióticos na placa de Petri com crescimento de *Pseudomonas* sp. mostrando susceptibilidade e resistência aos antibióticos testados.



Fonte: Autor (2023).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Pseudomonas* sp.

Os valores de NMP no Caldo Asparagina variaram de 750 a >110.000 NMP/mL para o muco da pele e brânquias; e >11.000 a >110.000 NMP/g para o intestino (Tabela 1).

Tabela 1- Número Mais Provável (NMP/cm<sup>2</sup> e NMP/g) de *Pseudomonas* sp. nas amostras de muco da pele, brânquias e intestino dos peixes coletados durante as cinco semanas.

Semanas	Muco da Pele (cm <sup>2</sup> )	Brânquias	Intestino (g)
1	750	>110.000	11.000
2	100.000	100.000	100.000
3	>110.000	100.000	100.000
4	>110.000	>110.000	100.000
5	>110.000	>110.000	>110.000

Fonte: Autora (2023).

É importante ressaltar que as amostras, Muco da Pele, Brânquias e Intestino apresentaram valores de *Pseudomonas* em todas as coletas. Somente na primeira coleta, os números dessas bactérias no Muco da Pele foram inferiores aos detectados nas demais amostras. As concentrações ( $> 1,1 \times 10^7$ ) foram registradas em todas as amostras da quinta coleta.

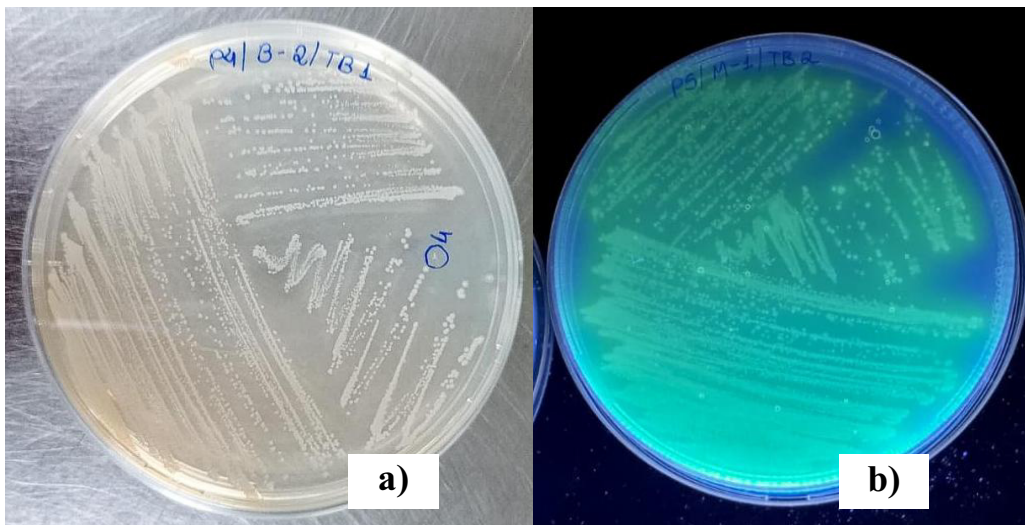
Em um trabalho realizado por Rondón-Espinoza *et al.* (2022), durante a avaliação microbiológica da superfície de água da lagoa Yarinacocha, região de Ucayali, na Amazônia peruana encontraram altos níveis de coliformes totais ( $>23$  NMP/ 100 mL), *Escherichia coli* (16 NMP/100 mL de 0-1 metros e 23 NMP/100 mL a 50 metros) e altos níveis de *Pseudomonas* sp., especialmente nos pontos mais distantes da margem da lagoa (1,1 NMP/100 mL a 50 metros e 2,2 a 150 metros). As bactérias patogênicas são geralmente espalhadas através de água contaminada com fezes humanas ou de gado e podem resultar de atividades humanas, industriais e agrícolas na área. Juntamente com *E. coli*, a presença de outros microrganismos que ameaçam a saúde pública também pode ser detectada na água, por exemplo, grandes quantidades de *Pseudomonas* sp. (ROCHA *et al.*, 2015).

Anteriormente, Marreira, Luvizotto-Santos e Nascimento (2017) e Mignani e colaboradores (2013) mostraram que peixes capturados perto de assentamentos humanos tendem a ter maior conteúdo de bactérias e maior diversidade de microbiana do que peixes de áreas remotas. Além disso, a maioria das bactérias que contaminam os peixes tem origem entérica e está presente em ambientes poluídos.

## 5.2 Isolamento das cepas pertencentes ao gênero *Pseudomonas*

Em ágar cetrímide foram confirmadas cepas de *Pseudomonas* sp., sendo as colônias de tamanho pequeno, circular, bordas lisas e regulares, convexas e de coloração branca. Quando expostas a luz ultravioleta foi possível observar a pigmentação fluorescente esverdeada, reafirmando a presença do gênero *Pseudomonas* (Figura 9).

Figura 9 - Exemplos de reação *Pseudomonas* sp. – cor branca no ágar Cetrímide (a); pigmentação fluorescente esverdeada pela exposição de luz U.V. (b).



Fonte: Autor (2023).

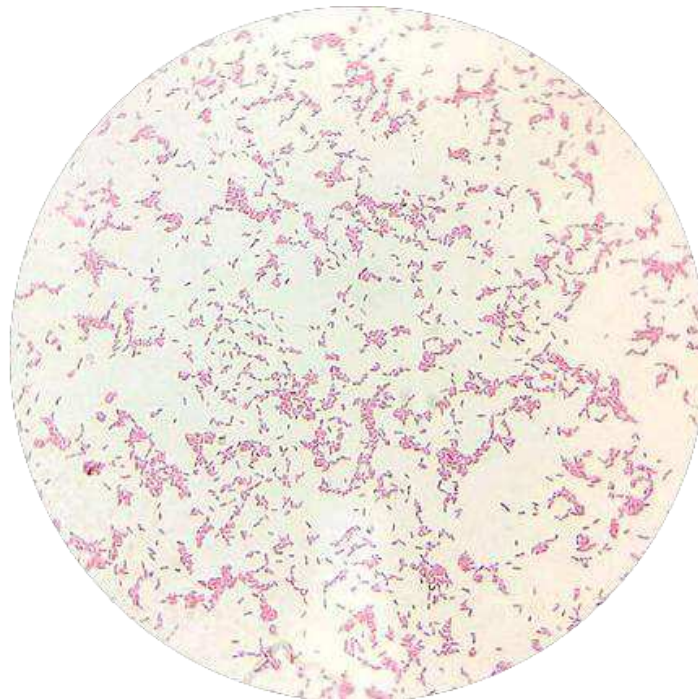
Algammal e colaboradores (2020) em seu trabalho isolaram cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e Bagre Africano (*Clarias gariepinus*) em duas fazendas particulares de água doce localizadas na província de Ismailia, no Egito, que exibiram colônias grandes e irregulares com odor frutado (característico de *P. aeruginosa*) e produziram um pigmento fluorescente verde-amarelado em ágar Cetrímide.



### 5.3 Identificação bioquímica das cepas pertencentes ao gênero *Pseudomonas*

Das cinco coletas, ao todo foram isoladas 130 cepas (44 do muco da pele, 41 das brânquias e 45 do intestino). A técnica de coloração de Gram foi realizada para confirmar a morfologia (bastonetes) e a reação de Gram (Gram-negativo) (FIGURA 10).

Figura 10 – Análise morfotintorial das estirpes isoladas das amostras de muco da pele, brânquias e intestino do Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundas da feria do Mucuripe suspeitas de pertencerem ao gênero *Pseudomonas*.



Fonte: Autor (2023).

Após isolamento, 112 cepas seguiram para os testes bioquímicos, sendo 39 oriundos do muco da pele, 34 das brânquias e 39 do intestino.

O maior número de isolados pertencentes ao gênero *Pseudomonas* foi encontrado nas brânquias, mas não foi identificada a espécie *P. aeruginosa*. Para o muco da pele e intestino houve identificação para o gênero *Pseudomonas*, espécie *P. aeruginosa* e o Filo Pseudomonadota (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de isolados bacterianos pertencentes ao gênero *Pseudomonas* sp nas amostras analisadas (muco da pele, brânquia e intestino) do Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo do mercado dos peixes do Mucuripe em Fortaleza, Ce.

Isolados	Muco da pele		Brânquias		Intestino		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Pseudomonas</i> sp.	31	27,7	34	30,4	31	27,7	96	85,71
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	3,6	0	0	3	2,7	7	6,25
Filo Pseudomonadota	4	3,6	0	0	5	4,5	9	8,04

Fonte: Autora (2023).

Bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* tem sido estudadas por diferentes autores em diferentes indivíduos de águas doce e marinhos.

Em trabalho realizado com tilápia do Nilo por Abd El Tawab, Maarouf e Ahmed (2016), realizaram coletas em diferentes mercados de peixes na província de Kaliobia, Egito, onde foram isoladas 32 espécies de *Pseudomonas*, sendo 14 cepas *Pseudomonas anguilliseptica* (43,7%); 12 *P. aeruginosa* (37,5%) e 6 *P. fluorescens* (18,8%). Estas espécies foram isoladas de amostras de fígado 11 (34,4%); rim 10 (31,2%); brânquias 6 (18,8%) e pele 5 (15,6%). Além disso, foram isolados 14 *P. anguilliseptica* com prevalências de 35,7%, 28,6%, 21,4% e 14,3%; seguido por 12 *P. aeruginosa*, 33,3%, 25%, 16,7% e 25%; 6 *P. fluorescens*, 33,3%; 50,0%, 16,7% e 0,0% das amostras de fígado, rim, brânquias e pele, respectivamente.

Ali *et al.* (2023) realizaram um estudo com amostras de peixes vivos (55 tilápias do Nilo; 65 bagres africanos e 25 tainhas) em vários mercados da província de Qalubiya, Egito, entre setembro de 2021 e maio de 2022. Houve prevalência de *P. aeruginosa* entre os peixes de água doce examinados. Um total de 43 isolados de *P. aeruginosa* (29,7%) foi identificado em 145 amostras de peixes doentes examinadas, sendo que a taxa de prevalência entre a tilápia do Nilo, o bagre africano e a tainha cinza foram de 25,4%, 29,2% e 40,0%, respectivamente.

Além disso, Duman *et al.* (2021) isolaram um total de 90 cepas de *Pseudomonas*, incluindo 81 de trutas arco-íris (*Onchorhynchus mykiss*), três de água de lago, três de trutas de riacho (*Salvelinus fontinalis*), duas de trutas marrons (*Salmo trutta macrostigma*) e uma de

truta do mar Negro (*Salmo trutta labrax*). As origens variaram de amostras de ovos e de peixe de criação (3000 g) ou saco vitelino e água de lago.

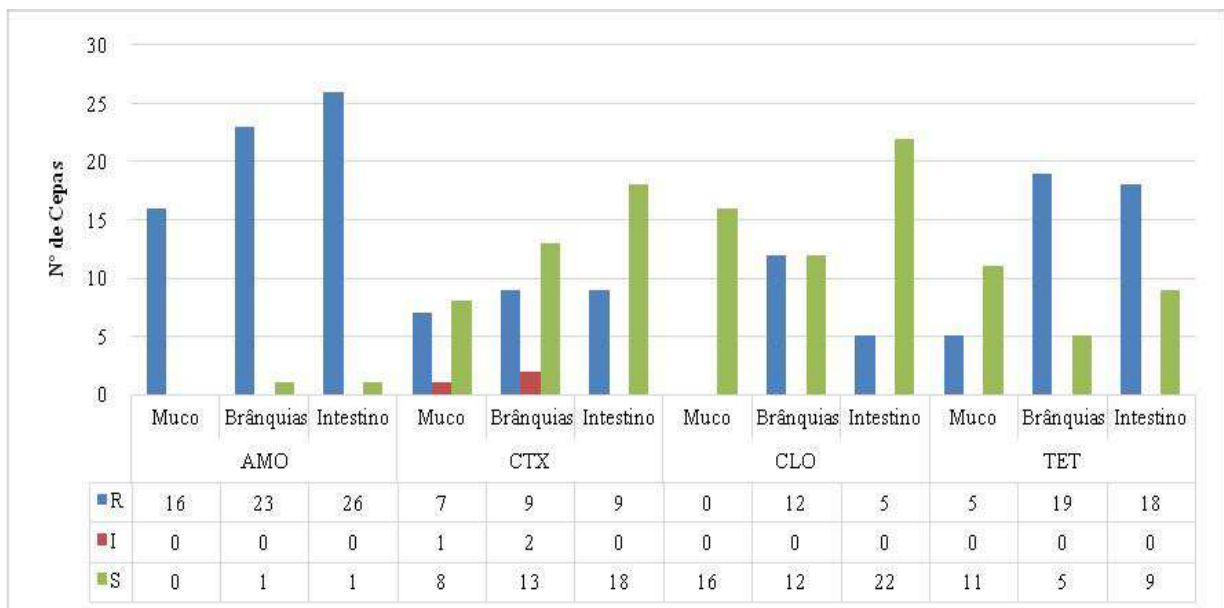
Nos trabalhos citados foi possível observar a presença do gênero *Pseudomonas* em diferentes espécies de pescado, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

#### 5.4 Determinação da susceptibilidade das cepas em diferentes antimicrobianos

Das 112 cepas identificadas nos testes bioquímicos, devido a contaminação, apenas 67 seguiram para o teste de antibiograma.

O antibiótico com maior índice de resistência para todas as amostras foi a amoxicilina com 66 (98,5%) estirpes resistentes (16 do muco da pele, 23 das brânquias e 26 do intestino). Seguida por 42 (62,7%) estirpes à tetraciclina (5 do muco da pele, 19 das brânquias e 18 do intestino), 33 (49,3%) ao cloranfenicol (12 das brânquias e 5 do intestino) e 25 (37,3%) resistente à cefotaxima (7 do muco da pele, 9 das brânquias e 9 do intestino). Somente nas cepas do muco da pele 100% foram resistentes à amoxicilina e nenhum foi resistente ao cloranfenicol (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Antibiograma das cepas isoladas do muco da pele, brânquias e intestino de Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo da Feira de Mucuripe em Fortaleza, Ce.



Legenda: AMO - amoxicilina; CTX - cefotaxima; CLO - cloranfenicol; TET - tetraciclina;  
Fonte: Autora (2023).

Houve presença de multiresistência dos isolados, sendo 8 cepas do muco da pele, 22 das brânquias e 18 do intestino (Tabela 3).

Tabela 3 - Porcentagens do Antibiograma das cepas isoladas do muco da pele, brânquias e intestino de Pargo (*Lutjanus purpureus*) oriundo do mercado dos peixes do Mucuripe em Fortaleza, Ce.

Antibiótico/Amostras	Amoxicilina			Cefotaxima			Cloranfenicol			Tetraciclina		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Muco	100%	0%	0%	44%	6%	50%	0%	0%	100%	31%	0%	69%
Brânquias	96%	0%	4%	38%	8%	54%	50%	0%	50%	79%	0%	21%
Intestino	96%	0%	4%	33%	0%	67%	19%	0%	81%	67%	0%	33%
Total	99%	0%	1%	37%	4%	58%	49%	0%	51%	63%	0%	37%

Legenda: R – Resistente; I – Intermediário; S - susceptível;  
Fonte: Autora (2023).

De acordo com Ali *et al.* (2023), ao trabalhar com Tilápia do Nilo, bagre africano e tainha cinza, na província de Qalubiya, Egito. Foi realizado antibiograma onde os resultados obtidos dos testes de sensibilidade *in vitro* nas 43 cepas de *P. aeruginosa* isoladas revelaram que 97,7% dos isolados examinados eram resistentes à ampicilina e à penicilina-G; 95,3% para oxacilina; 83,7% para amoxicilina; 81,4% para cefotaxima e 55,8% para tetraciclina.

Algammal *et al.* (2020) fizeram um trabalho com cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no Egito e demonstraram resistência a múltiplas drogas: amoxicilina, cefotaxima, tetraciclina e gentamicina. Além disso, Carol *et al.* (2013) descobriram que *Pseudomonas aeruginosa* apresentava alta resistência à amoxicilina, resistência moderada à ampicilina, ceftazidima, nitrofurantoína e gentamicina e sensibilidade à tobramicina, cefotaxima, etileno, ciprofloxacina e amicacina.

*Pseudomonas* spp., especialmente *P. aeruginosa*, tem sido registrada como uma das mais fortes causas de infecções por úlceras em populações de peixes, além de causar elevada mortalidade, elevadas perdas econômicas, redução da eficiência da pesca (SHAHROKHI; RAHIMI; SHAKERIAN, 2022) e dos efeitos zoonóticos no trato digestivo e extraintestinal (BENIE *et al.*, 2017 e ABDULHAQ *et al.*, 2020).

Diante dos resultados obtidos neste estudo foi possível observar resultados similares com relação ao teste de antibiograma em trabalhos anteriores descritos por Ali *et al.* (2023) e Algammal *et al.* (2020).

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo confirmaram a presença de *Pseudomonas* sp., além de *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras de peixe Pargo (*Lutjanus purpureus*), vendido no mercado dos peixes do Mucuripe, Fortaleza, Ceará, o que constitui um perigo para a saúde humana, por ser um alimento vendido para a população.

O perfil de suscetibilidade das cepas de *Pseudomonas* sp., apresentou respostas de resistência, multirresistência e susceptibilidade aos antimicrobianos testados.

É sabido que a falta de higiene, a má manipulação e a falta de refrigeração elevam a possibilidade de contaminação dos alimentos marinhos vendidos em mercados populares por patógenos de interesse público. Não existe Norma higiênica para a presença de *Pseudomonas* sp. em pescado pelo que o presente trabalho constitui uma ferramenta valiosa e de grande importância para a vigilância e o controle da contaminação deste valioso recurso alimentar.

Princípios de higiene devem ser seguidos para reduzir a contaminação por *Pseudomonas* sp., especialmente *Pseudomonas aeruginosa*. Uma vez que esta é abundante em produtos cárneos, especialmente peixes, atenção especial deve ser dada à saúde e qualidade desses produtos.

Recomenda-se que legislação brasileira inclua limites aceitáveis para a presença de *P. aeruginosa* em produtos cárneos, especialmente o que diz respeito aos pescados e seus derivados.

## REFERÊNCIAS

- ABD EL TAWAB, A. A.; MAAROUF, A. A. A; AHMED, N. M. G. Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* species isolated from fresh water fish by PCR. **Benha veterinary medical Journal**, v. 30, n. 1, p. 199-207, 2016.
- ABD-EL-MAOGOUD, H. A. *et al.* Occurrence and characterization of *Pseudomonas* species isolated from Fish Marketed in Sohag Governorate, Egypt. **SVU- International Journal of Veterinary Sciences**, v.4, n. 2, p. 76-84, 2021.
- ABDULHAQ, N. *et al.* Association of biofilm formation with multi drug resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **EXCLI journal**, v. 19, p. 201, 2020.
- ABRANTES, J. A; NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana aos antimicrobianos: uma revisão das principais espécies envolvidas em processos infecciosos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 3, p. 219-223, 2021.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 1. ed. Brasília, 2004. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_microbiologia\\_completo.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf). Acesso em: 12 nov. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Microbiologia Clínica Para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. 1. ed. Brasília, 2020. Disponível em: [https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10\\_manual-de-microbiologia.pdf](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf). Acesso em: 12 nov. 2023.
- ALGAMMAL, A. M. *et al.* Emerging MDR-*Pseudomonas aeruginosa* in fish commonly harbor opr L and tox A virulence genes and bla TEM, bla CTX-M, and tet A antibiotic-resistance genes. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 15961, 2020.
- ALI, Hend *et al.* Molecular Detection of some Virulence Factors of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Freshwater Fishes at Qalubiya Governorate, Egypt. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 43, n. 2, p. 80-84, 2023.
- ALMEIDA, W. N. M. *et al.* Impactos da utilização de antimicrobianos na resistência antimicrobiana: uma revisão de literatura com abordagem da saúde única. **Revista Universitária Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 121-133, 2023.
- APOLINÁRIO, M. O.; MEDEIROS, E. S. C. Caracterização do comércio de pescado em feiras livres de cinco localidades paraibanas. In: CONAPESC – Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências, 6., 2021, Campina Grande. **Anais CONAPESC Digital**, Campina Grande, Editora Realize, 2021. p. 866-886. *E-book*. Disponível em: <https://www.editorarealize.com.br/editora/ebooks/conapesc/2021/21022022101442-E-BOOK-VI-CONAPESC.pdf>. Acesso em: 23 out. 2023.
- ARAGÃO, B. B; TRAJANO, S. C. Principais bactérias patogênicas veiculadas por pescado e derivados. In: **Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas**,

Guarujá, Editora Científica Digital, 2022. v. 3. p. 208-225. *E-book*. Disponível em: <http://downloads.editoracientifica.org/books/978-65-5360-105-5.pdf>. Acesso em: 23 out. 2023.

BARRETO, N. S. E. *et al.* Condições higiênicas sanitárias e grau de frescor do pescado comercializado no mercado de peixe em Cachoeira, Bahia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 11, n. 1, p. 60-74, 2017.

BARTOLOMEU, D. A. F. S. *et al.* Contaminação microbiológica durante etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science**, [S. l.], v.16, n.1, p.21-30, 2011.

BAUER, A. W.; KIRBY, M. M.; SHERRIN, J. D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal of Pathology**. Amsterdam, v.45, p.493-496, 1966.

BENIE, C. K. D. *et al.* Characterization of virulence potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine meat, fresh fish, and smoked fish. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 7, n. 1, p. 55-64, 2017.

BENTES, B. S. *et al.* Documento técnico sobre a situação atual das pescarias do pargo na região norte do Brasil. **North Brazilian Caribbean Red Snapper FIP**, 2016.

BRASIL. Ministério da agricultura e pecuária. Inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. 2017. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/mpa/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03-2017.pdf/view>. Acesso em: 23 out. 2023.

BRASIL. Ministério da agricultura e pecuária. **Pesca no Brasil**. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/pesca/pesca-no-brasil>. Acesso em: 23 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. **Manual de coleta e transporte de espécimes clínicos e ambientais para diagnóstico de patógenos bacterianos responsáveis por DTA e DDA**. Brasília, DF: Editora MS/CGDI, 2022. 35 p. *E-book*. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_coleta\\_especimes\\_clinicos\\_ambientais.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_coleta_especimes_clinicos_ambientais.pdf). Acesso em: 20 nov. 2023.

CALDAS, A. F.; OLIVEIRA, C. S.; SILVA, D. P. Resistência bacteriana decorrente do uso indiscriminado de antibióticos. **Scire Salutis**, v. 12, n. 1, p. 1-7, 2022.

CAROL, G. R. *et al.* Prevalence of *Pseudomonas* sp in fin fishes and their antibiotic susceptibility. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 677-681, 2013.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility**. Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard<sup>®</sup> 2014 Tenth Edition. CLSI document M07<sup>®</sup> A10 (ISBN 2162-2914). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2015.

COSTA, N. A. S. *et al.* Formação de biofilme e produção de pigmento azul por *Pseudomonas*: o impacto na indústria de lácteos. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, [S. l.], v. 8, n. 8, p. 14898-01, 2022.

CRISTALDO, Y. C; IRMÃO, M. O. S; MATUO, R. O uso indiscriminado de antibióticos e sua relação com a resistência bacteriana. *In*: SOARES, A. M. (org.). **Tópicos Especiais em Ciências da Saúde: teoria, métodos e práticas 5**. Paraná: AYA Editora, 2022. v. 5, cap. 10, p. 118-128. 2022. *E-book*: Disponível em: <https://ayaeditora.com.br/wp-content/uploads/Livros/L156C10.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2023.

DUMAN, Muhammed *et al.* The diversity of *Pseudomonas* species isolated from fish farms in Turkey. **Aquaculture**, v. 535, p. 736369, 2021.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *et al.* Condições higiênicas sanitárias e grau de frescor do pescado comercializado no mercado de peixe em Cachoeira, Bahia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal: RBHSA**, v. 11, n. 1, p. 60-74, 2017.

FERREIRA, E. M. *et al.* Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n. 1, p. 49-54, 2014.

FERREIRA, M. W. *et al.* Mortalidade em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) ocasionada por *Pantoea agglomerans* e *Pseudomonas aeruginosa* em tanque escavado. **Acta Scientiae Veterinariae**, Campo Grande, v. 47, n. 1, p. 379, 2019.

FIGUEIREDO, E. A. P. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 421-427, 2007.

FREITAS, Y. V. **Consumo de pescado em uma comunidade de pescadores artesanais do litoral do Estado do Ceará**. 2018. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2018.

GARCIA, J. V. A. S; COMARELLA, L. O uso indiscriminado de antibióticos e as resistências bacterianas. **Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v. 10, n. 18, p. 78-87, 2021.

GASPAROTTO, P. H. G. *et al.* Detection of *Pseudomonas* sp. in pirarucu (*Arapaima gigas*): a case report in the Western Amazon. **Acta Veterinaria Brasilica**, Rio Grande do Norte, v. 14, n. 4, p. 209-214, 2020.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Atheneu, 2011.

GONÇALVES, B. S.; GOULART, N. S. S. **Principais aspectos da *Pseudomonas aeruginosa*: revisão bibliográfica**. 2021. 19 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Católica de Goiás, Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas, Curso de Ciências Biológicas, Goiânia, 2021.



GRIGORYAN, *et al.* Determinants of self-medication with antibiotics in Europe: the impact of beliefs, country wealth and the healthcare system. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 5, p. 1172-1179, 2008.

GRIGORYAN, *et al.* Is self-medication with antibiotics in Europe driven by prescribed use?. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 59, n. 1, p. 152-156, 2007.

ISHISAKI, F. T. **Pesca por inteiro: histórico, panorama e análise das políticas públicas federais**. 1. ed. Rio de Janeiro: Instituto Talanoa, 2021. 140 p.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico: Texto e atlas colorido**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

LAZARETTI, A. *et al.* Resistência da Bactéria *Pseudomonas aeruginosa* aos Antibióticos Carbapenêmicos. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 10-19, 2022.

LINCOPAN, N.; TRABULSI, L. R. *Pseudomonas aeruginosa*, in Trabulsi, L. R. & Alterthum, F. (eds.), **Microbiologia**, p. 359-368, 4. ed., Editora Atheneu, 2004. 718 p.

LUCENA-FRÉDOU, F. *et al.* Atividade pesqueira Artesanal no Nordeste do Brasil. In: VIANA, D. de L. *et al.* (org.). **Ciências do mar: dos oceanos do mundo ao nordeste do Brasil: bioecologia, pesca e aquicultura**: 1. ed. Olinda: Via Design Publicações. v.2, 2021.

MAIA, A. A. *et al.* Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frango. **Food Science and Technology**, v. 29, p. 114-119, 2009.

MANGAS, F. P. *et al.* Caracterização do perfil dos consumidores de peixe no município de Belém, estado do Pará, Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 9, n.4, p. 839-857, out./dez. 2016.

MARREIRA, R. G; LUVIZOTTO-SANTOS. R; NASCIMENTO, A. R. Microbiological condition of the catfish *Sciades herzbergii* from Bacanga Lagoon, Northeastern Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.42, n. 4, p. 502-512, 2017.

MASIH NETO, T. *et al.* Biodiversidade da ictiofauna nos currais de pesca no litoral de Acaraú, Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 50, n. 2, p. 18-29, 20 jan. 2018.

MIGNANI, L. *et al.* Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, p. 833-840, 2013.

MORAIS, A. L. S. *et al.* Características morfológicas do trato digestório de três espécies de peixes (*Osteichthyes: Lutjanidae*) das águas costeiras do Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 51-54, 2014.

MOURA, C. M. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo e a interação dos fatores após armazenagem. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v. 12, n. 1, p. 10-16, jan./mar, 2018.

NEVES, V. R. **Macroalgas como fonte de compostos bioativos: extração e aplicações no pescado.** 2022. 46 f. Dissertação (Microbiologia Aplicada) – Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2022.

PAULA, D. P. *et al.* A gestão costeira no Ceará (Nordeste, Brasil): Políticas, estratégias e experiências. **Tomo VIII da Rede BRASPOR**, p.83–93, 2019.

REBELATTO, I. S. *et al.* Composição química e valor nutricional do pescado. *In: Engenharia de Pesca: Aspectos Teóricos e Práticos.* São Paulo: Editora Científica Digital, [S. l.], v 4. n. 1, p. 50-66, 2022. *E-book.* Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/220408711.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2023. Referencias estão no documento que o Igor mandou 28/11/23

ROCHA, M. P. *et al.* The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Água Boa stream (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil). **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, p. 1-12, 2015.

RONDÓN-ESPINOZA, J. *et al.* Water Quality and Microbiological Contamination across the Fish Marketing Chain: A Case Study in the Peruvian Amazon (Lagoon Yarinacocha). **Water**, v. 14, n. 9, p. 1465, 2022.

SANTIAGO, J. D. A. S. *et al.* Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados-revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 46, n. 2, p. 92-103, 2013.

SANTOS, E. H. B. *et al.* Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias no Comércio de Pescados em um Mercado do Peixe. **Journal of Health Sciences**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 151-158, 2016.

SANTOS, G; COLOMBO, T. E. Prevalência de *Pseudomonas aeruginosa* em águas e superfície. **Journal of Health Sciences Institute**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 314-318, 2015.

SAO PAULO – Companhia Ambiental de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Norma técnica (L5.220). ***Pseudomonas aeruginosa* - determinação do número mais provável pela técnica de tubos múltiplos: método de ensaio.** São Paulo, 2001. 33 p.

SHAHROKHI, G. R; RAHIMI, E. ; SHAKERIAN, A. The prevalence rate, pattern of antibiotic resistance, and frequency of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from fish in Iran. **Journal of Food Quality**, v. 2022, p. 1-8, 2022.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise Microbiológica de Alimentos e água.** 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 632 p.

SOARES, K.M.P; GONÇALVES, A.A. Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n.1, p. 1-10, 2012

SOARES, C. I. P. **Identificação e diferenciação de *Pseudomonas aeruginosa* na água, superfícies e equipamentos de piscinas.** 42 f. 2018. Dissertação (Microbiologia Aplicada) - Faculdade De Ciências, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2018.

- SOUZA, R. F. C. *et al.* Dinâmica populacional do pargo, *Lutjanus purpureus* Poey, 1875 (Pisces: Lutjanidae) na plataforma Norte do Brasil. 2002.
- STALEY, J. T. *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria. 2th Ed. **New York: Springer.** v. 2, part B, 2005. 1388 p.
- TEIXEIRA, T. F.; PEREIRA, C. J. **Avaliação da qualidade microbiológica do peixe congelado em unidades de beneficiamento de pescado e produtos de pescado sob inspeção estadual do Sul de Santa Catarina no período de 2019 a 2020.** Santa Catarina, 2021.
- TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.
- TRINDADE, D. G. *et al.* Cadeia de valor da pesca do pargo no município de bragança, estado do Pará, Amazônia, Brasil. **Cadernos do Desenvolvimento Fluminense**, n. 24, p. 34-51, 2023.
- VIEIRA, R.H.S.F.; SAMPAIO, S.S. Emprego de gelo nos barcos de pesca, p.37-44, in Vieira, R.H.S.F. (org.), **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** Varela Editora e Livraria Ltda., 380 p., São Paulo, 2004.