

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE CAMARÕES
COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES NA REGIÃO DA GRANDE
VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO**

DANIELLA TOSTA LINK

VILA VELHA-ES
OUTUBRO/2023

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE CAMARÕES
COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES NA REGIÃO DA GRANDE
VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para obtenção do grau de Mestra em Ciência Animal.

DANIELLA TOSTA LINK

VILA VELHA-ES
OUTUBRO/2023

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

L735q Link, Daniella Tosta
Qualidade microbiológica e perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* de camarões comercializados em feiras livres na Região da Grande Vitória, Espírito Santo / Daniella Tosta Link – 2023.
56 f. : il.

Orientador: Gabriel Augusto Marques Rossi.
Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2023.
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Bactérias. 3. Camarão.
I. Rossi, Gabriel Augusto Marques. II. Universidade Vila Velha.
III. Título.

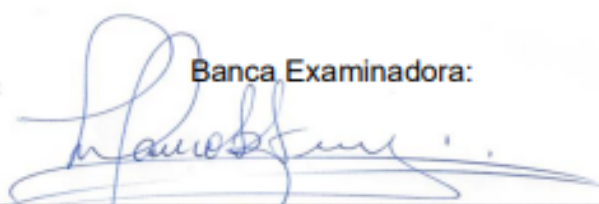
DANIELLA TOSTA LINK

**“QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E PERFIL DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE
CAMARÕES COMERCIALIZADOS EM FEIRAS LIVRES NA REGIÃO
DA GRANDE VITÓRIA, ESPÍRITO SANTO”**

Dissertação apresentada à Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em Ciência
Animal para a obtenção do grau de Mestre
em Ciência Animal.

Aprovada em 05 de outubro de 2023.

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo (Universidade Brasil)



Prof(a). Dr(a). Carmelita Zacchi Scolforo (UVV)



**Prof. Dr. Gabriel Augusto Marques Rossi (UVV)
Orientador**

Dedico este trabalho ao meu marido, que
por muitas vezes não me deixou desistir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha profunda gratidão a Deus, que me proporcionou a chance de prosseguir com meus estudos e me desenvolver tanto pessoal quanto profissionalmente.

À minha querida família, com destaque ao meu marido, cujo apoio foi essencial nos momentos mais desafiadores, incentivando-me a persistir e superar obstáculos. Minha mãe merece um reconhecimento especial por seu incansável suporte e pelos sacrifícios que fez para me proporcionar oportunidades além do que eu poderia imaginar.

Aos meus fiéis companheiros caninos, Frihda (*in memoriam*), Bela e Leopoldo, que estiveram ao meu lado durante minha trajetória acadêmica, desde a graduação até o mestrado. Eles foram pilares de suporte emocional, trazendo-me alegria nos momentos de desânimo.

Um agradecimento especial ao meu orientador professor Dr. Gabriel Augusto Marques Rossi que, com dedicação, guiou-me durante o desenvolvimento do projeto de mestrado. Sua confiança em mim foi fundamental para mais esse passo. À coorientadora Marita Vedovelli Cardoso cuja disponibilidade e simpatia foram essenciais em aspectos cruciais do projeto.

À Emy Hiura, que me acompanha desde sempre, que desempenhou diversos papéis em minha vida: colega de faculdade, professora e orientadora de graduação, e o mais importante, o de amiga. Seus conselhos e direcionamentos foram inestimáveis.

Por fim, expresso minha gratidão à Universidade Vila Velha, que disponibilizou o laboratório de Microbiologia e os recursos necessários para o preparo das amostras. Carolina Ferraz merece destaque pela sua assistência ao longo do projeto. Agradeço também à Livia Pasolini e ao Gustavo Viana pelo auxílio quando necessário quando não pude estar presente.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS
RESUMO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. Importância do Pescado na Alimentação	6
2.2. Doenças Transmitidas pelo Pescado	7
2.3. Processo de Deterioração do Pescado	8
2.3.1. Bactérias Mesófilas	9
2.3.2. Bactérias Psicotróficas	10
2.4. Enterobactérias	10
2.4.1. <i>E. coli</i>	12
2.4.2. Resistência aos Antimicrobianos	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Delineamento e Coleta de Amostras	17
3.2. Análises Microbiológicas	18
3.3. Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos.....	19
3.4. Análise de Dados	20
4. RESULTADO E DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÃO	30
6. REFERÊNCIAS	31
ANEXO I	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg: Micrograma

AIEC: *E. coli* invasiva aderente

AMC: Amoxicilina + Ácido Clavulânico

AMP: Ampicilina

BHI: Brain Heart Infusion

CIP: Ciprofloxacina

CSF: Centre for food safety

DAEC: *E. coli* difusamente aderente

DTA: Doença transmitida por alimento

DTAs: Doenças transmitidas por alimentos

E. coli: *Escherichia coli*

EAEC: *E. coli* enteroagregativa

EHEC: *E. coli* enterohemorrágica

EIEC: *E. coli* enteroinvasiva

EMB: Eosina Azul de Metileno

EPEC: *E. coli* enteropatogênica

ESBL: Extend Spectrum Beta Lactamase

ETEC: *E. coli* enterotoxigênica

ExPEC: *E. coli* extraintestinal

FOS: Fosfomicina

HDL: Lipoproteína de alta densidade

ICMSF: International Commission of Microbiological Specification for Foods

InPEC: *E. coli* intestinal

LOG: Logaritmo decimal

MDR: Isolados multirresistentes

mL: mililitro

PCA: Ágar Padrão Contagem

RIISPOA: Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

STEC: *E. coli* produtora de toxina Shiga

TET: Tetraciclina

UFC/g: Unidade formadora de colônia por grama

UV: Ultravioleta

VLDL: Lipoproteína de baixa densidade

VRBG: Ágar Vermelho Bile Violeta com Glicose

VTEC: *E. coli* produtora de verotoxinas

RESUMO

LINK, DANIELLA TOSTA, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, outubro de 2023. **Qualidade microbiológica e perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* de camarões comercializados em feiras livres na Região da Grande Vitória, Espírito Santo.** Orientador: Gabriel Augusto Marques Rossi, Co-orientadora: Marita Vedovelli Cardoso.

A segurança do alimento é uma preocupação global, e a análise microbiológica de alimentos vendidos em feiras livres é de extrema importância para garantir a saúde dos consumidores. O camarão é um alimento altamente valorizado devido ao seu sabor, seu valor nutricional e sua relevância cultural, especialmente em países com regiões costeiras, porém é um alimento de alta taxa de perecibilidade que requer armazenamento e manuseio cuidadosos para garantir sua qualidade e segurança. Este estudo objetivou verificar a qualidade microbiológica de camarões comercializados em feiras livres da Grande Vitória no Espírito Santo, que inclui os municípios de Vitória, Vila Velha e Serra, e verificar o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *Escherichia coli* obtidos. Foram coletadas 30 amostras de camarões frescos, sendo 10 de cada município, e analisadas quanto às contagens de bactérias mesófilas, psicotróficas e enterobactérias. Conforme o *International Commission of Microbiological Specification of Foods* (ICMSF), os valores máximos de contagem sugeridos tanto para mesófilos quanto para psicotróficos é de 10^5 UFC/g. Todas as médias das amostras analisadas tiveram um resultado superior ao estipulado pelo ICMSF, enquanto para enterobactérias, os limites também excederam o valor de 10^4 UFC/g estipulado pelo *Centre of Food Safety* (CSF). Além disso, das 30 amostras, 9 apresentaram colônias sugestivas de *E. coli*. Dos isolados sugestivos de *E. coli*, 6 (66,66%) isolados se mostraram resistentes à Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMC), 5 (55,55%) isolados eram resistentes à Ampicilina (AMP) e Ciprofloxacina (CIP), 3 (33,33%) isolados resistentes à Fosfomicina (FOS) e 2 (22,22%) isolados resistentes à Tetraciclina (TET). Esses resultados indicam um problema significativo na segurança do alimento e resistência a antibióticos nos camarões vendidos nas feiras livres da Grande Vitória, o que pode representar um risco para a saúde dos consumidores. Para assegurar a qualidade dos camarões vendidos em feiras e reduzir os riscos associados ao seu consumo, é essencial adotar

medidas de controle rigorosas, incluindo inspeções regulares nos estabelecimentos, capacitação dos vendedores e rastreabilidade completa do produto.

Palavras chaves: Segurança do alimento; saúde do consumidor; bactérias patogênicas.

ABSTRACT

LINK, DANIELLA TOSTA, M.Sc, University of Vila Velha – ES, Outubro de 2023. **Microbiological quality and antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* isolates from shrimp sold at open-air markets in the Greater Vitória region, Espírito Santo.** Advisor: Gabriel Augusto Marques Rossi, Co-advisor: Marita Vedovelli Cardoso.

Food safety is a global concern, and the microbiological analysis of foods sold in open markets is crucial to ensure consumer health. Shrimp is a highly valued food due to its taste, nutritional value, and cultural significance, especially in countries with coastal regions. However, it is a highly perishable food that requires careful storage and handling to ensure its quality and safety. This study aimed to assess the microbiological quality of shrimp sold in open markets of Greater Vitória in Espírito Santo, which includes the municipalities of Vitória, Vila Velha, and Serra, and to check the antimicrobial resistance profile of isolated *Escherichia coli* strains. 30 fresh shrimp samples were collected, 10 from each municipality, and analyzed for mesophilic, psychrotrophic, and enterobacteria counts. According to the International Commission of Microbiological Specification of Foods (ICMSF), the maximum count values suggested for both mesophiles and psychrotrophs are 10^5 CFU/g. All average samples analyzed exceeded the ICMSF stipulated values, while for enterobacteria, the limits also exceeded the 10^4 CFU/g value set by the Centre of Food Safety (CSF). Moreover, out of the 30 samples, 9 showed colonies suggestive of *E. coli*. Of the suggestive *E. coli* isolates, 6 (66.66%) were resistant to Amoxicillin + Clavulanic Acid (AMC), 5 (55.55%) were resistant to Ampicillin (AMP) and Ciprofloxacin (CIP), 3 (33.33%) were resistant to Fosfomicin (FOS), and 2 (22.22%) were resistant to Tetracycline (TET). These results indicate a significant issue in food safety and antibiotic resistance in shrimp sold in the open markets of Greater Vitória, posing a risk to consumer health. To ensure the quality of shrimp sold in markets and reduce associated consumption risks, it's essential to adopt strict control measures, including regular inspections, vendor training, and full product traceability.

Keywords: Food Safety; Consumer health; Pathogenic Bacteria

1. INTRODUÇÃO

A dieta humana é profundamente influenciada pelo consumo de pescado e seus derivados, que são conhecidos por seu alto teor de proteínas e outros nutrientes essenciais. A relevância econômica global desses produtos é ressaltada pelo aumento de sua disponibilidade no mercado alimentício (Barbosa *et al.*, 2016; Sanjee *et al.*, 2016; Garlock *et al.*, 2020).

No Brasil, em 2019, a aquacultura destinada ao consumo humano produziu notáveis 760.000 toneladas, representando um crescimento de 25% nos últimos cinco anos (Valenti *et al.*, 2021), enfatizando ainda mais seu papel fundamental.

Dentre os diversos tipos de pescado, os camarões se destacam, sendo amplamente comercializados e consumidos, principalmente em regiões litorâneas (Cornejo-Granados *et al.*, 2018, FAO, 2022). Em 2021, o mercado global de camarões foi estimado em USD 53,91 bilhões, e projeções indicam um crescimento de aproximadamente 5,2% entre 2022 e 2030 (FAO, 2022).

No contexto brasileiro, a pesca de camarões vai além de sua mera dimensão econômica; ela também abraça valores sociais, culturais e históricos (Branco, 2005). No entanto, é importante reconhecer que o consumo de pescado *in natura* ou preparado de forma inadequada tem sido associado a surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (Barret *et al.*, 2017). A contaminação do pescado pode ocorrer em várias etapas, desde a captura até a comercialização (Sanjee *et al.*, 2016).

As DTAs representam uma preocupação relevante para autoridades de saúde pública, indústrias alimentícias e a população consumidora (Hughes *et al.*, 2007). Nos Estados Unidos, entre 1975 e 1995, o pescado figurou como o alimento mais frequentemente implicado em surtos alimentares, sublinhando a ameaça à saúde pública (Jain *et al.*, 2008). É notável que surtos de DTAs possam ser desencadeados pelo consumo de alimentos que, apesar de aparentemente normais em termos de aparência, odor e sabor, podem conter níveis de carga bacteriana insuficientes para causar alterações sensoriais perceptíveis (Oliveira *et al.*, 2010). Os sintomas das DTAs variam, mas frequentemente incluem diarreia, vômitos, febre, dor abdominal e perda de apetite (Brasil, 2022).

Em comunidades com infraestrutura sanitária precária, surtos de diarreia são comuns e frequentemente associados ao consumo de alimentos com alta carga microbiológica, como o pescado (Gonçalves *et al.*, 2008). A doença pode resultar da manipulação inadequada, falhas na conservação e armazenamento do produto, bem como das condições microbiológicas da água de cultivo ou pesca. Nos Estados Unidos da América, cerca de 3% das DTAs são atribuídas aos pescados (Barret *et al.*, 2017).

No entanto, o perfil epidemiológico das DTAs ainda não é completamente compreendido devido à falta de dados publicados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos frequentemente associados e grupos de maior risco, entre outros fatores que contribuem para a ocorrência de surtos (Oliveira *et al.*, 2010). Mesmo quando disponíveis, esses dados muitas vezes não refletem a realidade devido à subnotificação.

Um fator que potencialmente agrava a qualidade de alimentos de origem animal é a venda em feiras livres ou estabelecimentos de rua, onde geralmente são comercializados sem refrigeração, manipulação e conservação corretas. Alimentos *in natura* vendidos em mercados públicos e feiras livres podem veicular patógenos, colocando em risco a saúde do consumidor (Jain *et al.*, 2008). A qualidade da água e do gelo usados na conservação é crucial para a qualidade do pescado, uma vez que a água contaminada pode comprometer todo o processo produtivo (Sanjee *et al.*, 2016).

Além disso, alimentos contaminados por bactérias patogênicas, além de representarem um risco à saúde pública, podem também veicular genes relacionados à resistência aos antimicrobianos, constituindo um problema adicional para a saúde humana (Cordeiro *et al.*, 2020). *Escherichia coli*, um comensal da microbiota gastrointestinal humana e animal, é um microrganismo comumente associado à resistência aos antimicrobianos em alimentos (Van *et al.*, 2008). A colonização humana por *E. coli* resistentes aos antimicrobianos pode ocorrer através do contato direto com animais que estão em uso de antibióticos, pelo consumo de alimentos contaminados e até mesmo pelo ambiente circundante (Hammerum e Heuer, 2009).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e o perfil de resistência dos isolados de *E. coli* em amostras de camarões comercializados em feiras livres da Grande Vitória, no Espírito Santo. Essa

pesquisa busca contribuir para uma compreensão mais profunda dos riscos associados ao consumo de camarões, fornecendo *insights* importantes para a segurança dos alimentos e para a saúde pública.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Importância do Pescado na Alimentação

A aquacultura tem adquirido extrema importância e tem experimentado um rápido crescimento no fornecimento de proteína para o consumo humano (Ahmda *et al.*, 2021; FAO, 2022). O Brasil, que detém vasto potencial para a expansão da pesca e aquacultura, ocupa atualmente a 13ª posição mundial na produção de peixes em cativeiro e a 8ª posição em relação aos peixes de água doce (Embrapa, 2020). É relevante notar que o Brasil já foi o segundo maior produtor de aquacultura na América Latina (De Oliveira *et al.*, 2017; Saint-Paul, 2017).

O pescado e seus derivados, incluindo os produtos processados, representam uma excelente fonte de proteínas de alta qualidade. Diversas evidências respaldam os benefícios do seu consumo para a saúde humana (Telle-Hansen *et al.*, 2012; Aadland *et al.*, 2015; FAO, 2022). O consumo de pescado é recomendado em dietas saudáveis e está inversamente relacionado à ocorrência de doenças coronárias fatais (He *et al.*, 2004).

No estudo de Aadland *et al.* (2015), que envolveu 20 indivíduos considerados saudáveis, as dietas incluíram 60% de proteína de pescado com baixo teor de gordura durante 4 semanas. Esse regime resultou na redução das taxas de triglicérides, na proporção elevada de colesterol total para a lipoproteína de alta densidade (HDL) e na prevenção do aumento da lipoproteína de baixa densidade (VLDL), em comparação com os resultados obtidos após 4 semanas de dieta com proteína de outras fontes animais, como exemplo a carne bovina.

Apesar dos inúmeros benefícios associados ao consumo de pescado, uma preocupação primordial para a população é assegurar a qualidade e a segurança desse alimento (Prabhakar *et al.*, 2020). Devido à alta quantidade de água e ao pH próximo da neutralidade encontrados no pescado, em comparação com outros produtos de origem animal (Masniyom, 2010), o pescado tem adquirido grande relevância na transmissão de DTAs, especialmente quando consumido *in natura*,

devido à presença de microrganismos patogênicos de origem entérica provenientes de águas contaminadas por dejetos (Swanson *et al.*, 2011).

2.2. Doenças Transmitidas pelo Pescado

Doenças e mortes causadas por alimentos contaminados ocorrem frequentemente em escala global. A maioria desses casos resulta, muitas vezes, da manipulação e preparação inadequada dos alimentos por consumidores, afetando um número desconhecido de pessoas, visto que raramente é reportado às autoridades. Isso faz com que a real dimensão do problema não seja conhecida (WHO, 2017; Madigan *et al.*, 2016).

A propagação global das DTAs ocorre principalmente devido à contaminação microbiana de alimentos, seja de origem animal ou vegetal, e da água (Soragni *et al.*, 2019). Surtos de DTAs são identificados quando pessoas que consumiram o mesmo alimento contaminado por microrganismos patogênicos, suas toxinas ou substâncias químicas apresentam sintomas em comum (BRASIL, 2020).

Os patógenos de origem alimentar incluem uma grande variedade de bactérias, vírus, parasitas e príons (Machado, 2013). Os sintomas mais comuns podem incluir náusea, vômitos, diarreia e dor no estômago (Welker *et al.*, 2009). Entre os microrganismos mais frequentemente associados a doenças alimentares bacterianas estão *Salmonella spp.*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Vibrio spp.*, *Yersinia spp.*, *C. botulinum*, *S. aureus* e *Aeromonas spp.* (Fernandes *et al.*, 2018; Forsythe, 2013; Novoslavskij *et al.*, 2016; Vaiyapuri *et al.*, 2019).

Em uma pesquisa recente da Secretaria de Vigilância e Saúde (BRASIL, 2022), ocorreram 6.347 surtos de DTAs no período entre 2012 e 2021. Das 610.684 pessoas expostas, 104.839 ficaram doentes (17,16%). Somente 2.126 surtos foram conclusivos, e 1,9% deles foram atribuídos a produtos derivados do pescado. Dos agentes etiológicos identificados (N=1.559), 2,8% foram causados pela *E. coli* enteropatogênica (EPEC).

Welker *et al.* (2009) observaram que os alimentos contaminados mais frequentes em surtos (36%) eram produtos cárneos, com 14% atribuídos ao pescado e à carne suína juntos.

O pescado desempenha um papel relevante na transmissão de DTAs, como estimado pela *European Food Safety Authority* e pelo *Centre for Disease Prevention*

and Control (ESFA e CDC, 2021). Em seu relatório de zoonoses de 2020, mencionam que um dos alimentos mais frequentemente associados aos surtos de DTAs, envolvendo estados membros da União Europeia, são os pescados e seus derivados.

2.3. Processo de Deterioração do Pescado

Os músculos de animais classificados como pescados são ricos em proteínas, lipídios, água, carboidratos, minerais, extratos orgânicos e ácidos nucleicos. No entanto, essa composição varia de acordo com as espécies, tornando-os mais suscetíveis à deterioração em comparação com os músculos de mamíferos. Devido à alta quantidade de água e aminoácidos livres, além da menor quantidade de tecido conectivo em comparação com outras carnes, o pescado possui uma taxa de deterioração mais elevada (Laorenza *et al.*, 2022; Masniyom, 2010).

Para determinar o frescor do pescado, o decreto de número 10.468/20, também conhecido como Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em seu artigo 210, estabelece que, respeitadas as particularidades de cada espécie, devem ser verificadas características sensoriais. Por exemplo, em crustáceos, essas características incluem: a) aspecto geral brilhante e úmido; b) corpo em curvatura natural, rígida, artículos firmes e resistentes; c) carapaça bem aderente ao corpo; d) coloração própria da espécie, sem qualquer pigmentação estranha; e) olhos vivos e proeminentes; f) odor próprio e suave; e g) no caso de lagostas, siris e caranguejos, devem estar vivos e vigorosos (BRASIL, 2020).

A microbiota do pescado é composta por diversas espécies bacterianas, incluindo gêneros como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Serratia* e *Micrococcus*, entre outros. A multiplicação microbiológica no pescado gera diferentes compostos, como álcoois, aminos biogênicos, ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas (Guerrero-Legarreta, 2009). Em pescado não conservado, a deterioração geralmente é causada por bactérias Gram-negativas fermentativas, como as da família *Vibrionaceae*, que começa entre o 1º e o 2º dia. Em pescado refrigerado, as bactérias responsáveis pela deterioração são as Gram-negativas psicotróficas, como as *Pseudomonas spp.* e *Shewanella spp.* (Amuna, 2014; Nielsen *et al.*, 2016; Swanson *et al.*, 2011).

Devido à característica de serem animais ectotérmicos e a capacidade de adaptação de sua microbiota a temperaturas mais baixas, os peixes não acumulam glicogênio, acelerando assim o processo *post mortem* em relação aos animais

endotérmicos. Por outro lado, os crustáceos liberam enzimas proteolíticas quando são pescados, iniciando o processo de autólise, o que resulta na perda da qualidade sensorial (Swanson *et al.*, 2011). Essa rápida deterioração torna o pescado mais suscetível a veicular DTAs. O conhecimento da virulência das bactérias presentes é crucial para a saúde humana, uma vez que podem causar desde enfermidades leves até a morte dos indivíduos (Letchumanan *et al.*, 2015).

2.3.1. Bactérias Mesófilas

As bactérias mesófilas compreendem um grupo constituído por *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Streptococcus*, entre outras. Dentre essas, as enterobactérias *Salmonella spp.* e *E. coli* são de grande relevância para a saúde humana, pois podem causar infecções ou intoxicações intestinais e urinárias, podendo até mesmo levar à morte (Furlan *et al.*, 2017).

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos tem sido amplamente utilizada para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos (Barcellos *et al.*, 2016; Bordignon *et al.*, 2010; Da Silva Pens *et al.*, 2020) e serve como indicador da higiene dos produtos. Quando detectados em números acima do limite de recomendação, esses microrganismos indicam falhas nas práticas de higiene durante a produção (Cardoso *et al.*, 2000).

Os microrganismos mesófilos são ativos em temperaturas próximas à ambiente, com crescimento entre 20°C e 40°C, sendo sua temperatura ideal de crescimento de 37°C (ICMSF, 1986; Saeki e Masumoto, 2010; DA Silva Pens *et al.*, 2020).

Conforme Da Silva *et al.* (2017) descreveram, a técnica de contagem padrão de bactérias mesófilas não diferencia as bactérias presentes, mas avalia a qualidade do produto e as práticas de manipulação e fabricação.

O limite aceitável de microrganismos mesófilos em pescados, como o camarão in natura, é de 5×10^5 UFC/g, conforme estipulado pela *International Commission of Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF). A deterioração do pescado é geralmente detectada quando a contagem de bactérias causadoras de deterioração atinge valores acima de 10^7 UFC/g (ICMSF, 1986; Swanson *et al.*, 2011).

2.3.2. Bactérias Psicotróficas

Microrganismos psicotróficos são aqueles que se multiplicam em temperaturas mais baixas, geralmente entre 0°C e 7°C, mas também podem crescer em temperaturas acima de 20°C. Eles são considerados um subgrupo dos mesófilos quando classificados com base na temperatura (Da Silva *et al.*, 2017).

Dentro do grupo dos psicotróficos, existem microrganismos que representam riscos para a saúde pública (Dos Reis *et al.*, 2020) e podem causar infecções alimentares, incluindo *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e cepas não proteolíticas do *Clostridium botulinum* (Krämer, 2010).

Conforme observado por Da Silva *et al.* (2017), as principais bactérias psicotróficas abrangem vários gêneros, incluindo cocos e bastonetes, esporogênicos e não esporogênicos, aeróbios e anaeróbios. Algumas das espécies mais comuns estão listadas nos gêneros: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Serratia*, *Shewanella*, *Streptococcus* e *Weissella*. No entanto, as espécies de maior importância na deterioração de pescados incluem *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Photobacterium* e *Vibrio*.

A avaliação da quantidade de microrganismos psicotróficos é fundamental para controlar o nível de deterioração de alimentos armazenados sob refrigeração, garantindo a segurança dos produtos, conforme destacado por Telles e Aquino (2018).

O ICMSF ressalta que o limite recomendado de microrganismos psicotróficos em pescados é de 10^6 UFC/g. Quando essa contagem se aproxima ou ultrapassa os valores de 10^7 UFC/g e 10^8 UFC/g, indica que o pescado pode estar em processo de deterioração (ICMSF, 1986; Broekaert *et al.*, 2011).

2.4. Enterobactérias

As enterobactérias são um grupo de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, caracterizadas por serem Gram-negativas, bastonetes, não esporogênicas, anaeróbias facultativas e oxidase negativas (Da Silva *et al.*, 2017). Dentre os 26 gêneros dessa família, alguns se destacam como causadores de

infecções gastrointestinais em humanos, incluindo *Cedecea*, *Citrobacter*, *Cronobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Rhanella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, entre outros (Hirai, 2020).

Essas bactérias têm uma ampla distribuição na natureza, sendo encontradas no solo, água, plantas, vegetais, frutas, carnes, ovos, animais, insetos e no trato gastrointestinal humano e animal, e podem representar uma ameaça para a indústria de alimentos devido a perdas econômicas (Da Silva *et al.*, 2017).

Embora muitas enterobactérias habitem o trato gastrointestinal de vertebrados como comensais, algumas delas são patogênicas, causando infecções em humanos e animais. Por exemplo, *Yersinia ruckeri* e várias espécies de *Edwardsiella* afetam peixes tropicais, enquanto *Salmonella spp.* é a de maior relevância para a saúde humana (Da Silva *et al.*, 2017).

Dentro da família *Enterobacteriaceae*, existe o subgrupo dos coliformes totais, caracterizados por sua capacidade de fermentar a lactose com produção de gás a 35°C. Isso difere dos coliformes termotolerantes, anteriormente chamados de coliformes fecais, que fermentam a lactose em temperaturas mais elevadas, geralmente entre 44,5-45,5°C, com produção de gás (Da Silva *et al.*, 2017).

Embora a maioria das infecções gastrointestinais causadas por enterobactérias seja benigna e não represente um grande risco para o sistema imunológico, em situações específicas, como em grupos de maior vulnerabilidade, incluindo crianças, idosos e pessoas com imunossupressão, essas infecções podem evoluir para complicações graves, inclusive com risco de óbito (Jackson e Meah, 2018).

A manipulação inadequada de alimentos crus, bem como a contaminação cruzada em áreas de processamento, pode contribuir para a disseminação de enterobactérias, representando um risco significativo para os consumidores. A contaminação do pescado por essas bactérias pode ser influenciada pelas condições de captura, especialmente quando as águas de origem estão comprometidas. Embora as enterobactérias façam parte da microbiota de animais ectotérmicos e estejam presentes em ambientes aquáticos, sua presença em quantidades elevadas pode indicar problemas sanitários (Youssef *et al.*, 1992).

De acordo com as diretrizes do *Centre for Food Safety* (CFS), o limite máximo recomendado de UFC/g para enterobactérias é de 10^4 UFC/g. Essa regulamentação

visa minimizar o risco de contaminação alimentar e assegurar a segurança dos alimentos para consumo (Centre for food safety, 2014).

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento da resistência bacteriana relacionada às enterobactérias (Dalben *et al.*, 2008). A presença dessas bactérias em ambientes marinhos representa um potencial risco para a saúde humana, especialmente em áreas onde o pescado é consumido ou em locais marinhos usados para recreação (Murugaiyan *et al.*, 2015).

Dentro da família *Enterobacteriaceae*, o gênero predominante é *Escherichia*, e a espécie mais notória é *E. coli*, que pode causar uma variedade de infecções e intoxicações, incluindo enterites, meningites, infecções urinárias e infecções generalizadas (Strockbine *et al.*, 2015; Grevskott *et al.*, 2017).

2.4.1. *E. coli*

E. coli é uma bactéria indicativa de contaminação fecal, frequentemente encontrada no trato gastrointestinal de humanos e animais. Ela pertence ao grupo dos coliformes termotolerantes e pode causar várias doenças, como pneumonias, infecções intestinais e meningites (Alessio *et al.*, 2009). Algumas cepas têm a capacidade de provocar doenças urinárias e do sistema nervoso central, além das gastrointestinais (Pormohammad *et al.*, 2019).

Conforme destacado por Pohkarel *et al.* (2023), *E. coli* é conhecida por sua versatilidade genética, permitindo-a colonizar tanto hospedeiros primários, como seres humanos e animais, assim como ambientes secundários onde não dependem diretamente de hospedeiros. No entanto, apenas algumas cepas de *E. coli* são patogênicas, sendo estas intrínsecas à microbiota entérica humana (Madigan *et al.*, 2016). A detecção de altas contagens de *E. coli* geralmente sugere falhas em práticas de higiene, tratamentos térmicos ineficazes ou inadequada conservação de alimentos (Cardoso *et al.*, 2005).

E. coli patogênica é subdividida em dois grupos principais: extraintestinais (ExPEC) e intestinais (InPEC), sendo as InPEC uma das principais causadoras de diarreia (Pohkarel, 2023).

Dentro do grupo InPEC, é possível categorizá-la em diferentes patógenos, dependendo dos mecanismos de infecção, sintomas clínicos e tropismo por células. Estes incluem a *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC),

frequentemente associada à diarreia aguda e crônica, *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC), que geralmente causa diarreia aquosa em crianças pequenas, e *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), responsável por disenteria e diarreia aquosa. Além disso, *E. coli* invasiva aderente (AIEC) está associada a doenças inflamatórias intestinais (Pohkarel, 2023; Hammerum e Heuer, 2009).

Dentre as variantes de *E. coli* InPEC, as EPEC frequentemente causam infecções gastrointestinais e febre, com potencial para causar diarreia aguda em bebês, variando de quadros subclínicos à morte (Pohkarel, 2023; Denamur *et al.*, 2021).

EHEC é uma bactéria patogênica que pode causar colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica. Essas condições podem levar a surtos esporádicos de doenças alimentares graves, resultando, em alguns casos, em complicações graves e morte devido à produção de enterotoxinas (Pohkarel, 2023; Madigan *et al.*, 2016). Uma subcategoria dessa linhagem é a *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), também conhecida como *E. coli* produtora de verotoxinas (VTEC). Essa cepa coloniza o intestino delgado e libera verotoxinas, que podem causar diarreia sanguinolenta e sintomas de insuficiência renal. No entanto, é importante ressaltar que nem todas as cepas de STEC são patogênicas (Madigan *et al.*, 2016; Rivas *et al.*, 2016; Denamur *et al.*, 2021).

Devido ao uso excessivo de antibióticos em seu tratamento, a EHEC é uma preocupação significativa para a saúde pública. Esta bactéria tem sido associada a diversos casos de doenças transmitidas por alimentos e já foi identificada em carnes, água contaminada, alimentos mal-cozidos e vegetais e frutas que não foram adequadamente higienizados (Bavaro, 2012; Smith *et al.*, 2012). O primeiro surto documentado de colite hemorrágica causada pela EHEC ocorreu nos anos 80 nos Estados Unidos, associado ao consumo de carne bovina mal-cozida, em particular pelo sorotipo O157:H7, que ainda é considerado o mais virulento dentro do grupo EHEC (Denamur *et al.*, 2021). Bovinos, juntamente com outros ruminantes, como cabras e ovelhas, são frequentemente as principais fontes de cepas de EHEC. A contaminação em humanos pode ocorrer diretamente ou por meio do consumo de carne, leite ou água contaminados com os dejetos desses animais (Menge, 2020).

ETEC é considerada uma das principais causas de diarreia em viajantes em países subdesenvolvidos, onde não há acesso adequado a saneamento básico e tratamento de água. Ela causa diarreia aquosa, com sintomas de febre baixa, cólicas abdominais, náuseas e fadiga, que podem durar de 3 a 19 dias (Pohkarel, 2023; Cangemi, 2011). Globalmente, é responsável por muitos casos de morte em crianças com menos de 5 anos de idade em países em desenvolvimento (Khalil *et al.*, 2021).

EIEC possui semelhanças bioquímicas e patogênicas com a *Shigella*. Ao contrário de outros patógenos, como EPEC, EHEC e ETEC, que se replicam e infectam extracelularmente, a EIEC invade as células epiteliais (Pasqua *et al.*, 2017; Pohkarel, 2023).

EAEC e DAEC também estão associadas à ocorrência de surtos de diarreia em todo o mundo, sendo comuns em crianças subnutridas com menos de 2 anos de idade (Pohkarel, 2023). Além das infecções diarreicas, as DAEC também estão relacionadas a infecções do trato urinário, complicações durante a gravidez e infecções intestinais assintomáticas em crianças e adultos (Servin, 2014; Pohkarel, 2023).

Devido à capacidade de invadir e colonizar as células epiteliais intestinais, a AIEC está associada à doença inflamatória intestinal, doença de Crohn e colite ulcerativa. Suas infecções são geralmente caracterizadas por diarreia, dores abdominais, sangramento retal, fadiga e complicações que podem levar à morte (Palmela, 2018; Chervy, 2020).

De acordo com a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), o Centro Europeu de Controle e Prevenção de Doenças (ECDC) e o Relatório *One Health* de 2019 sobre zoonoses, a infecção por STEC ocupa o quarto lugar entre as zoonoses mais frequentes, seguindo-se à *Campilobacteriose*, *Salmonelose* e *Yersiniose* (Authority, 2019).

Um estudo realizado por Ryu *et al.* (2012) na Coreia, envolvendo amostras de peixes e frutos do mar, revelou que, das 2663 amostras analisadas, 179 continham *E. coli*, representando 6,7% do total. A distribuição da contaminação foi a seguinte: 74 (7,6%) de 971 (36,4%) amostras de peixe, 57 (6,8%) de 834 (31,3%) de mariscos, 41 (6,3%) de 652 (24,5%) moluscos e 7 (3,4%) de 206 (7,7%) crustáceos apresentavam a bactéria. Por outro lado, um estudo conduzido por Nunes (2022) envolvendo a água utilizada para a lavagem de camarões em feiras livres no nordeste do Pará mostrou que, das 36 amostras coletadas, 30 (83,3%) eram positivas para coliformes totais e,

destas 28 estavam contaminadas com *E. coli*, representando uma taxa de contaminação de 77,7%.

2.4.2. Resistência aos Antimicrobianos

A globalização exerceu um impacto significativo na disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos (Abushaheen *et al.*, 2020; Morrison e Zembower, 2020). Embora os antibióticos sejam cruciais para o tratamento de várias doenças, sua eficácia tem diminuído devido ao seu uso excessivo e rotineiro (Nathan, 2020). Tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos, os antibióticos têm sido amplamente empregados na criação de animais para promover o crescimento (Bartlett *et al.*, 2013). Essa prática resulta na ingestão de antibióticos por seres humanos quando consomem produtos de origem animal, criando uma transferência de bactérias resistentes a antimicrobianos dos animais para os humanos (Golkar *et al.*, 2014).

Em um relatório divulgado pelo Primeiro-Ministro do Reino Unido, estima que até 2050, aproximadamente 10 milhões de pessoas perderão suas vidas devido à resistência bacteriana aos antimicrobianos (O'Neal, 2014). A resistência bacteriana aos antimicrobianos envolve a habilidade dos microrganismos de sobreviver e proliferar sob a influência de agentes antimicrobianos (Abushaheen *et al.*, 2020). Essa resistência é responsável por cerca de 700.000 mortes em todo o mundo a cada ano e implica em gastos de cerca de 55 milhões de dólares apenas nos Estados Unidos da América, relacionados à saúde pública e à perda de produtividade (Ventola, 2015).

Bactérias resistentes aos antimicrobianos representam um desafio significativo no tratamento de diversas doenças, frequentemente exigindo o uso de medicamentos mais tóxicos e dispendiosos, que às vezes não estão acessíveis ou disponíveis. O aumento dessas bactérias resistentes tem suscitado maior interesse na comunidade médica e acadêmica em compreender sua prevalência no ambiente natural (Pruden *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2011).

E. coli, em particular, tem a capacidade de compartilhar material genético com outras bactérias, transmitindo genes de resistência aos antimicrobianos para bactérias patogênicas para os seres humanos (Alexander *et al.*, 2010). Entre os antimicrobianos de grande importância para o tratamento de *E. coli* em seres humanos, destacam-se

as cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, quinolonas e aminoglicosídeos, sendo as cefalosporinas e as sulfonamidas de suma importância (Hammerum e Heuer, 2009).

No entanto, o uso indiscriminado desses antimicrobianos tem contribuído para a criação de um reservatório de bactérias resistentes em seres humanos, tornando o tratamento de doenças relacionadas à *E. coli* mais desafiador. Os β -lactâmicos, que incluem penicilinas e cefalosporinas, também estão sujeitos à resistência por parte da *E. coli* e de outras bactérias Gram-negativas devido à produção de β -lactamase (Hammerum e Heuer, 2009).

Frequentemente encontrada em *E. coli*, a enzima ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) é amplamente reconhecida por causar resistência bacteriana e fazer com que a transferência de elementos genéticos em ambientes intestinais e extra-intestinais ocorra (Ceccarelli *et al.*, 2019; Lazarus *et al.*, 2014). Essa enzima é frequentemente identificada em enterobactérias, com destaque para *E. coli* (Li *et al.*, 2015), fazendo com que a bactéria se torne resistente a diferentes tipos de antibióticos beta lactâmicos, incluindo as penicilinas e as cefalosporinas, comumente utilizados para tratamento de infecções bacterianas (Pitout e Laupland, 2008).

O aumento de isolados multirresistentes (MDR), especialmente de bactérias produtoras de ESBL, aumenta a preocupação com o potencial aumento de infecções resistentes a antimicrobianos, afetando tanto animais quanto seres humanos (De Pinho Rodrigues, 2022).

Um estudo conduzido por Singh (2020) nas feiras de Mumbai, na Índia, analisou 50 amostras de pescado, das quais foram identificados 475 isolados de *E. coli*. Alarmantemente, 71,58% desses isolados apresentaram positividade para a enzima ESBL, o que levanta preocupações significativas, sugerindo que o pescado pode atuar como uma fonte de disseminação de bactérias resistentes a antibióticos para a população.

A exposição a determinados antimicrobianos está diretamente relacionada à resistência correspondente em *E. coli* comensal em suínos, aves e bovinos (Chantziaras *et al.*, 2014), o que pode contribuir para o desenvolvimento de resistência em bactérias comensais em seres humanos (Forslund *et al.*, 2013). Os alimentos podem ser contaminados por bactérias resistentes de várias maneiras, incluindo a presença de bactérias resistentes nos produtos devido ao uso de antimicrobianos na

agricultura ou na criação de animais, o uso proposital durante a produção e a contaminação cruzada durante a fabricação de alimentos (Verraes *et al.*, 2013).

Além disso, antimicrobianos são amplamente utilizados na aquicultura, representando aproximadamente 5,7% de todos os antimicrobianos utilizados em medicina veterinária, medicina humana e criação animal (Cabello *et al.*, 2023). Estudos também têm destacado falhas no tratamento de água proveniente de esgotos, que podem contaminar lagos, rios e mares (Xu *et al.*, 2006; Zou *et al.*, 2011), levantando preocupações emergentes na aquicultura devido à dispersão de resíduos de fármacos no meio aquático (Golet *et al.*, 2002).

Mackinnon *et al.* (2020) enfatizaram em seu estudo a importância da avaliação da resistência a antimicrobianos para a saúde pública, estimando que de 58 a 130 pessoas a cada 1000 vieram a óbito devido a infecções causadas por *E. coli* resistente. Esses dados mostram a necessidade urgente de abordar a resistência antimicrobiana de maneira abrangente e interdisciplinar.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento e Coleta de Amostras

As amostras foram adquiridas de 15 barracas de feiras livres situadas na região da Grande Vitória, no estado do Espírito Santo. Destas, 5 barracas localizam-se em Vitória, 5 em Serra e 5 em Vila Velha. Foram adquiridas de cada barraca 2 amostras de 50 gramas de camarão Sete Barbas (*Xiphonaeus kroyeri*), sendo o intervalo de coleta das amostras de 15 dias aproximadamente, totalizando 30 amostras. Após a coleta, as amostras foram mantidas em sua embalagem original e transportadas em caixa isotérmica com gelo reutilizável até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Vila Velha.

As embalagens passaram por processo de desinfecção externa com álcool etílico 70% antes da abertura. Posteriormente, foram abertas assepticamente, e homogeneizadas. Foram retiradas 25g de cada amostra e submetidas à diluição seriada decimal até a diluição 10^{-7} . Para homogeneização foram acrescentados 225 mililitros (ml) de água peptonada 0,1% (1g por litro) estéril, para a preparação da diluição 10^{-1} e das demais diluições em tubos de ensaio contendo 9ml da água peptonada 0,1%. Para cada amostra foi utilizado nesse processo um liquidificador de uso laboratorial de alumínio, lavado primeiramente com água e sabão neutro,

enxaguado em água corrente e borrifado com álcool etílico 70%. Após a lavagem, o liquidificador foi acondicionado sob luz UV por 20 minutos com sistema de ventilação para que pudesse secar. Após a utilização do liquidificador, o mesmo processo de esterilização foi repetido para as amostras seguintes.

Cada amostra foi homogeneizada no liquidificador por 20 segundos. A seguir, 1ml dessa solução foi transferida para um tubo de ensaio já contendo água peptonada 0,1%, sendo essa a diluição 10^{-2} . Posteriormente, as demais diluições foram feitas nos 6 tubos de ensaio remanescentes.

3.2. Análises Microbiológicas

Nesse estudo, foi realizada a avaliação das contagens das populações de microrganismos mesófilos aeróbios, psicrótróficos, enterobactérias, assim como o isolamento de colônias sugestivas de *E. coli*.

Para identificar e cultivar microrganismos, foram utilizadas diferentes diluições que foram semeadas em meios apropriados. Para crescimento de bactérias mesófilas, foi adicionado no Ágar Padrão para Contagem (PCA) 1 ml de todas as diluições. O cultivo das bactérias mesófilas foi realizado utilizando a técnica de *Pour Plate*. Nesse método, 1ml da diluição foi adicionado a uma placa de Petri estéril e, em seguida, entre 15 a 20ml de ágar líquido foram vertidos. Posteriormente, essas placas foram incubadas a uma temperatura $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

No caso das bactérias psicrótróficas, 100 μL de cada diluição foram adicionados ao PCA e com auxílio da alça de Drigalski foi feita a cobertura da superfície do ágar com a diluição e as placas incubadas a $7 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 7 dias, conforme indicado por APHA (2015).

Para detectar enterobactérias, 1ml de cada diluição foi adicionado ao Ágar Bile Vermelho Violeta com Glicose (VRBG). Foi empregada a técnica de *Pour Plate*, mas com a adição de uma segunda camada de ágar na superfície do ágar estabilizado. Estas placas foram incubadas a uma temperatura $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Na contagem, foram selecionadas colônias de cor vermelho-púrpura, com pelo menos 0,5mm de diâmetro, que estavam cercadas por um halo avermelhado, indicativo da

precipitação de sais biliares. Seguindo as orientações de Da Silva *et al.* (2017), essas placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

E para identificar colônias sugestivas de *E. coli*, 200 µL da diluição foram inoculados também com auxílio da alça de Drigalski para cobrir a superfície do ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubados a uma temperatura $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Para o isolamento de colônias sugestivas de *E. coli*, foram escolhidas as colônias que apresentavam uma coloração verde metálica brilhosa no meio de cultura ágar EMB conforme preconizado por Leiniger *et al.* (2001)

3.3. Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos

As colônias sugestivas presentes nas placas com ágar EMB foram isoladas e transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e foram encubadas a 37°C por 24 horas.

Foi transferido 2 mL de caldo BHI de cada tubo contendo 10 mL para tubos *ependorf*, no qual foi adicionado glicerol e armazenado a -20°C . Posteriormente, o material do tubo foi utilizado para reativação dos microrganismos para teste de susceptibilidade a antimicrobianos, que foi realizado pelo método de disco de difusão estabelecido por Bauer *et al.* (1966). Os isolados foram semeados em Ágar Nutriente para crescimento e incubados em estufa por 37°C por 24 horas para preparação dos inóculos.

Os inóculos foram preparados em tubos contendo 3 mL de solução salina 0,85%, turvando-se a solução com a cultura, até atingir $\text{OD}_{625\text{nm}}$ de 0,1 a 0,2 nm. Posteriormente, esse inóculo foi semeado com auxílio de um swab estéril em placas de Mueller-Hinton (MH, Himedia – Índia) e, logo após foram adicionados nessa placa os discos contendo os princípios ativos de antimicrobianos selecionados, sendo eles: amoxicilina + ácido clavulânico (30µg), ampicilina (10µg), ciprofloxacina (5µg), fosfomicina (50µg) e tetraciclina (30µg).

As placas foram incubadas por 24 horas em estufa a 37°C, os halos de inibição formados foram medidos e classificados como sensíveis, resistentes ou de sensibilidade intermediária para o respectivo princípio ativo, utilizando os parâmetros adotados pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI,2023).

3.4. Análise de Dados

Inicialmente analisou-se a normalidade de cada conjunto de dados por meio do teste de Shapiro-Wilk, utilizando o programa estatístico “R”. Os dados que não tinham distribuição normal ($P < 0,05$ no teste de Shapiro-Wilk) foram transformados em log de base 10 e novamente submetidos ao teste de normalidade.

Havendo distribuição normal, sem transformação ou com transformação logarítmica, as contagens das amostras dos municípios de Vitória, Vila Velha e Serra, foram comparadas entre si por meio de análise de variância. Em seguida, procedeu-se à análise dos resíduos do modelo linear, e teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Aplicou-se também, utilizando o pacote “car” do “R”, o teste de Breusch-Pagan para heterocedasticidade da variância, com o propósito de verificar se a variância era contante ($P > 0,05$).

Quando o modelo linear obtido atendeu aos pressupostos acima, realizou-se a comparação múltipla entre os dados dos três municípios por meio do teste de Tukey, utilizando o pacote “agricolae” do “R” e adotando o nível de confiança de 95%.

Quando os dados não tiveram distribuição normal ou quando o modelo linear não atendeu aos pressupostos de análise de variância, empregou-se análise não paramétrica, por meio do teste de soma dos ranques de Kruskal-Wallis. Essa análise também foi feita utilizando o programa “R”.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

A média das amostras coletadas (Anexo I) nos municípios de Vitória, Vila Velha e Serra variaram de $2,4 \times 10^7$ UFC/g para mesófilos em Vitória, $8,1 \times 10^6$ UFC/g para Vila Velha e $1,3 \times 10^7$ UFC/g para Serra. Enquanto para psicotróficos as médias foram para Vitória $3,9 \times 10^8$ UFC/g, $1,5 \times 10^9$ UFC/g para Vila Velha e $1,4 \times 10^9$ UFC/g para Serra. Para enterobactérias se apresentaram valores que variavam entre $2,2 \times 10^5$ UFC/g a $4,9 \times 10^6$ UFC/g entre as amostras coletadas entre os municípios (Tabela 1).

Média das amostras de camarão frescos coletadas em Vitória, Vila Velha e Serra				
		Mesófilos UFC/g	Psicrotróficos UFC/g	Enterobactérias UFC/g
Variável	N = 30			
Vitória	10	2,4x10 ⁷	3,9x10 ⁸	4,9x10 ⁶
Vila Velha	10	8,1x10 ⁶	1,5x10 ⁹	2,2x10 ⁵
Serra	10	1,3x10 ⁷	1,4x10 ⁹	1,2x10 ⁶

Tabela 1 - Média (M) das amostras coletadas dos municípios de Vitória, Vila Velha e Serra. UFC/g - Unidade formadoras de colônia por grama.

Conforme a ICMSF (1986), o limite aceitável de microrganismos mesófilos em amostras de peixes frescos e/ou refrigerados é de 5×10^5 UFC/g, enquanto para a categoria de crustáceos congelados o valor aceitável é de 10^6 UFC/g. Havendo diferenças aceitáveis entre diferentes tipos de pescado.

Neste estudo, embora as amostras analisadas fossem frescas e não se tenha estabelecido um valor específico para essa categoria, é prudente considerar a referência para pescado, levando em consideração a proximidade das características entre peixes frescos e as amostras frescas de camarão. As amostras apresentavam características sensoriais sem alteração, odor típico e agradável e coloração adequada.

Todas as amostras analisadas dos três municípios apresentaram contagens de bactérias mesófilas superiores ao limite recomendado de 5×10^5 UFC/g. É importante observar que, ao considerar a média das amostras dos municípios, Vila Velha se encontra dentro do limite superior aceitável de 10^6 UFC/g. A maior média foi registrada em Vitória, atingindo $2,4 \times 10^7$ UFC/g. Porém, não foram identificadas alterações macroscópicas quanto à textura do camarão e diferenças de manipulação com relação aos demais municípios, tendo eles padrão similar de exposição para venda. Embora não se tenha informações aprofundadas sobre a forma de conservação e do tempo que o camarão estava em exposição até o momento da compra da amostra, supõe-se que o camarão ficou em exposição em ambiente de temperatura não controlada, não havendo refrigeração satisfatória a ponto de inibir o crescimento exacerbado de bactérias mesófilas nas amostras analisadas deste município.

Apesar dos valores elevados encontrados, é importante acentuar que níveis mais altos de microrganismos mesófilos não indicam necessariamente um risco de

DTA. Tanto a ICMSF (1986) quanto Broekaert *et al.*, (2011) enfatizam que a presença desses microrganismos não está diretamente ligada à DTA. Portanto, enquanto os resultados são motivos de atenção, eles não devem ser interpretados como uma ligação direta de risco à saúde.

Do ponto de vista estatístico, os dados das três cidades apresentaram uma distribuição normal ($P > 0,05$), conforme verificado pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Isso permitiu que fossem inicialmente submetidos a uma análise de variância. No entanto, embora os resíduos do modelo tivessem distribuição normal ($P = 0,05394$ no teste de Shapiro-Wilk), havia um valor discrepante e o teste de Breusch-Pagan apontou heterocedasticidade de variância ($P = 0,002739$). Por este motivo, foi utilizado o método não paramétrico para comparação das contagens. O teste da soma dos ranques de Kruskal-Wallis revelou que, apesar das diferenças encontradas nas contagens das médias entre os municípios, não há diferença estatística significativa entre elas. Pode-se sugerir que esse fato se dá pela forma com que os camarões são vendidos nos municípios analisados. O padrão de refrigeração é similar em todos os municípios, porém não se sabe ao certo o tempo de permanência desse alimento na exposição antes de serem comprados para consumo.

A qualidade microbiológica do pescado é um indicador essencial para determinar sua segurança para o consumo humano e seu estado de conservação. Conforme apontado Broekaert *et al.*, (2011), o valor máximo recomendado de 10^6 UFC/g também se aplica às bactérias psicrótróficas. A partir desse ponto, entre 10^7 UFC/g e 10^8 UFC/g, inicia-se o processo de deterioração do pescado (ICMSF, 1986). Ao analisar a Tabela 1, é evidente que todas as regiões examinadas apresentam valores que excedem o limite máximo sugerido, indicando que as amostras podem estar em processo de deterioração, muito embora estejam visualmente dentro dos padrões estipulados pelo RIISPOA com relação as características macroscópicas (BRASIL, 2020).

Os níveis elevados de contaminação observados podem ser atribuídos a diversos fatores, incluindo a inadequada conservação dos alimentos, a contaminação ambiental, e as práticas insatisfatórias de higiene por parte dos manipuladores de alimentos e utensílios utilizados, bem como a qualidade da água utilizada no transporte e na produção de gelo para resfriamento (Salem *et al.*, 2018). Além disso, embora as amostras tenham sido mantidas em condições frescas, não se pode afirmar

com certeza se esses produtos foram recentemente pescados ou se foram submetidos a ciclos repetidos de refrigeração ou congelamento e descongelamento. Tais práticas podem levar a um aumento no número de bactérias psicrotróficas, pois cada ciclo de descongelamento pode potencializar o crescimento bacteriano.

Do ponto de vista estatístico, os dados não seguiram uma distribuição normal, por isso foram convertidos em Log, porém não foi o suficiente para normalizar a distribuição. Dessa forma, optou-se pelo teste da soma dos ranques de Kruskal-Wallis para comparar as contagens de psicrotróficos entre os três municípios. O resultado ($P=0,4295$) indica que, apesar das contagens elevadas, não há diferença estatística significativa entre os municípios na contagem de psicrotróficos. Da mesma forma como ocorrido com as bactérias mesófilas, não se pode afirmar ao certo se essas amostras anteriormente à venda foram submetidas à diferentes formas de condicionamento, podendo influenciar no resultado das contagens. Supõe-se que, pela quantidade exposta nas bancadas, o camarão não é vendido em sua totalidade no dia em que está sendo exposto, sendo assim, possivelmente ele pode ter sido refrigerado ou até mesmo congelado para que pudesse ser vendido em diferentes oportunidades.

Os resultados apontam para uma necessidade de uma revisão das práticas de manuseio, armazenamento e conservação do pescado nas regiões analisadas, tendo em vista os valores aumentados de bactérias mesófilas e psicrotróficas, especialmente na forma em que o alimento é posto em exposição para venda, a fim de garantir a qualidade e segurança do produto oferecido ao consumidor.

É importante notar que a presença elevada de enterobactérias também pode ser um indicativo de falhas nas práticas de higiene durante a manipulação dos alimentos (Salem *et al.*, 2018). De acordo com as diretrizes estabelecidas pelo *Centre for Food Safety*, o limite máximo recomendado de enterobactérias em pescado é de 10^4 UFC/g (Centre for food safety, 2014). No Brasil atualmente está em vigor a Instrução normativa IN 161 de 1º de julho de 2022 (Brasil, 2022b), onde também dispõe sobre a qualidade microbiológica de alimentos para consumo humano. Apesar da IN 161 não fazer menção direta às enterobactérias em pescado, ela faz referência aos valores máximos permitidos de *E. coli* em pescado consumido cru de 10^2 UFC/g, enquanto para pescado não consumido cru o valor é de 5×10^2 UFC/g. Os dados desse trabalho revelam que as amostras coletadas e analisadas dos municípios pesquisados

excederam esses limites, sendo as amostras do município de Vitória apresentando maior contagem média de enterobactérias. Este fato sugere deficiências nas práticas de higiene durante a manipulação do camarão destinado à venda.

Estudos anteriores, como o realizado por Pinheiro *et al.* (2006), também identificaram problemas semelhantes. Em sua pesquisa, avaliou estabelecimentos que comercializavam peixe cru, foi constatado que 30% das amostras analisadas excediam o limite de enterobactérias. É possível considerar esses achados preocupantes, tendo em vista que, conforme Goes *et al.* (2001), a maioria dos casos de DTAs está associado a falta de higiene na manipulação dos alimentos, representando um risco para a segurança alimentar dos consumidores.

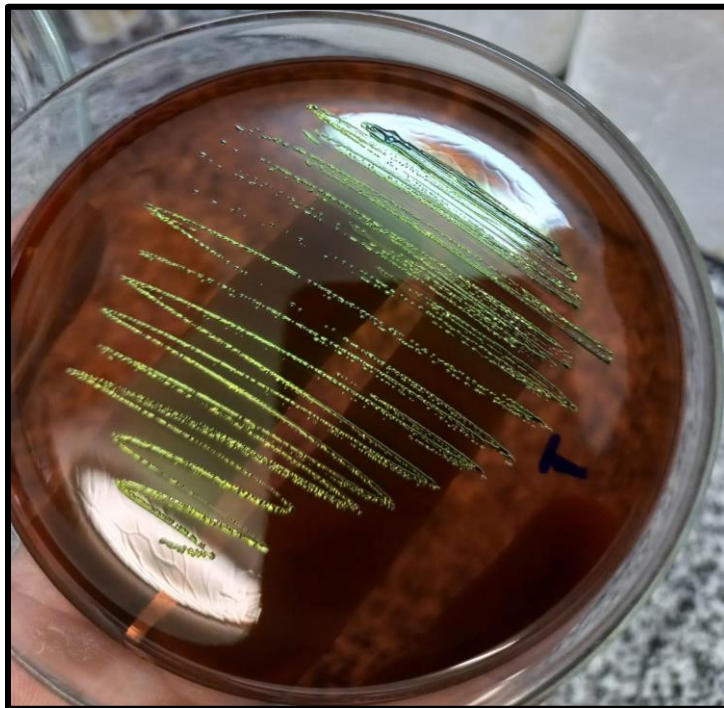
Do ponto de vista estatístico, os dados brutos das contagens de enterobactérias não seguiram uma distribuição normal, portanto, foram convertidas em Log. Após a conversão os dados se ajustaram à normalidade. A análise de variância realizada com os dados transformados revelou diferenças significativas entre os municípios ($P=0,02484$). O teste de comparação múltipla de Tukey forneceu informações adicionais, mostrando que, enquanto Serra e Vitória, bem como Vitória e Vila Velha não apresentaram diferenças significativas em suas contagens, porém houve uma diferença significativa entre Serra e Vila Velha. As barracas em que as amostras foram adquiridas em Serra, apesar da manipulação ser similar à de Vitória e de Vila Velha, estavam em um local mais aberto, próximo a um terminal rodoviário, com maior rotatividade de pessoas e menor possibilidade de higienização das mãos dos manipuladores. Levando-se em consideração que os utensílios utilizados ficam em cima dos camarões expostos e todos os manipuladores presentes na barraca fazem o uso do mesmo utensílio sem higienização prévia, a chance de contaminação é maior do que em locais mais reservados, com menor rotatividade de pessoas e com condições sanitárias melhores.

Os resultados deste estudo reforçam a necessidade de práticas de higiene rigorosas durante a manipulação de pescados, sendo a presença elevada de enterobactérias um sinal que não deve ser ignorado, pois constitui um risco potencial para a saúde pública.

Das 30 amostras (100%), observou-se que apenas 9 (30%) delas exibiram crescimento de colônias sugestivas de *E. coli*. Notavelmente, a presença de uma camada verde metálica na superfície das colônias é um indicativo de possível

presença da bactéria *E. coli*. Este fenômeno é particularmente observado em placas de meio EMB, que contêm eosina e azul de metileno. Esses componentes atuam como indicadores de pH e inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas em ambientes ácidos (MacFaddin,1985) (figura 1).

Figura 1 - Colônias sugestivas de *E. coli* em EMB



Fonte: Arquivo pessoal.

Das 9 (100%) amostras que apresentaram colônias sugestivas de *E. coli*, todas se mostraram resistentes a algum antimicrobiano (Tabela 2), sendo a maioria resistente a múltiplos antimicrobianos.

Resultado Antibiogramas de isolados de *E. coli* de amostras de camarões frescos da Grande Vitória

Amostra	Município	Estado da amostra	Resistente	Intermediário	Sensível
C1	Vitória	FR	AMC, AMP, CIP		FOS, TET
C2	Vitória	FR	CIP, FOS	AMC	AMP, TET
C3	Vitória	FR	AMC, AMP, CIP, FOS		TET
C4	Vitória	FR	AMC, CIP	AMP	FOS, TET
C5	Vitória	FR	AMC, AMP, CIP, TET		FOS
C6	Vitória	FR	FOS, TET	AMC	AMP, CIP
C7	Vitória	FR	AMC	AMP	CIP, FOS, TET
C9	Vila Velha	FR	AMP	AMC	CIP, FOS, TET
C30	Vila Velha	FR	AMC, AMP		CIP, FOS, TET

Tabela 2 - AMC - Amoxicilina + Ácido Clavulânico; AMP - Ampicilina; CIP - Ciprofloxacina; FOS - Fosfomicina; TET - Tetraciclina.

Nota-se que 6 amostras (66,66%) se mostraram resistentes à Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMC), 5 amostras (55,55%) resistentes à Ampicilina (AMP) e Ciprofloxacina (CIP), 3 amostras (33,33%) resistentes à Fosfomicina (FOS) e 22,22% resistentes à Tetraciclina (TET). Enquanto 7 amostras (77,77%) se mostraram sensíveis à Tetraciclina (TET), 6 amostras (66,66%) sensíveis à Fosfomicina, 4 amostras (44,44%) sensíveis à Ciprofloxacina, 2 amostras (22,22%) sensíveis à Ampicilina e nenhuma amostra se mostrou sensível à Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Tabela 2; Figura 2).

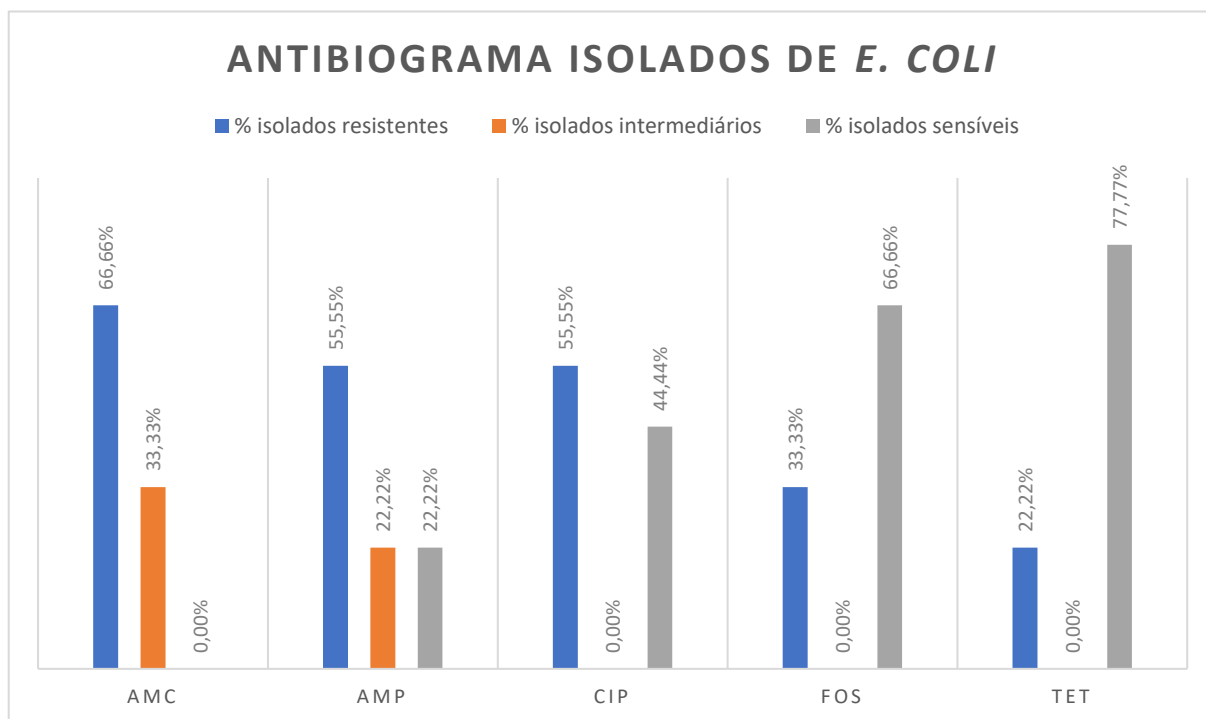


Figura 2 - Antibiograma de isolado de *E. coli*; AMC - Amoxicilina + Ácido Clavulânico; AMP - Ampicilina; CIP - Ciprofloxacina; FOS - Fosfomicina; TET - Tetraciclina.

Antibióticos Beta lactâmicos, como a Ampicilina e a Amoxicilina, contêm um anel beta-lactâmico em sua estrutura molecular. Isso os torna susceptíveis à resistência bacteriana, uma vez que os microrganismos produtores de betalactamase, hidrolisam esse anel, neutralizando a eficácia do antibiótico (Ling *et al.*, 2020; Bush, 2018).

Além disso, tem-se observado um aumento na resistência de bactérias como *E. coli* a antibióticos específicos, incluindo a combinação de amoxicilina + ácido clavulânico e ampicilina, especialmente em animais de produção. Esse fenômeno representa um risco para a saúde pública, pois essas bactérias resistentes podem contaminar produtos de origem animal, como leite e carne, até mesmo alimentos processados. Isso, por sua vez, pode contribuir para o desenvolvimento de resistência bacteriana em humanos (Ariyanti *et al.*, 2022; Tadesse, 2012).

Os resultados apresentados por Singh (2020) indicam uma resistência significativa de isolados de *E. coli* à AMC, com uma taxa de 37,35% nas amostras de pescado em feiras de Mumbai, Índia. Esta taxa, embora elevada, é inferior a observada em estudos realizados em outras regiões. Por exemplo, Indrawati *et al.* (2021), relataram uma resistência alarmante de 89% na Indonésia. De forma similar,

Patel *et al.* (2022), encontraram uma taxa ainda mais elevada de resistência, com 93,57% das amostras de *E. coli* resistentes à Amoxicilina. Em contrapartida, uma pesquisa elaborada por Santos (2019), com filés de Tambaqui provenientes de feiras livres e principais supermercados na cidade de São Luís – Maranhão, nenhum dos 13 isolados de *E. coli* foram resistentes a AMC.

Embora o presente estudo tenha apresentado um resultado de 66,66% das amostras de isolados sugestivos de *E. coli*, é importante notar que estas comparações sugerem uma tendência global de aumento de resistência de *E. coli* à AMC. A consistência dos resultados entre diferentes estudos reforça a necessidade de abordar a resistência antimicrobiana, especialmente em relação à AMC, um antibiótico amplamente utilizado.

Com relação às fluoroquinolonas como a Ciprofloxacina, estudos indicam uma preocupação crescente em relação a esse antibiótico. Onu *et al.*, (2023), encontraram uma resistência de 73,13% em isolados de *E. coli* nas águas do Rio Nworie, na Nigéria. Esta taxa é superior à observada no presente estudo, onde 55,55% das amostras mostraram resistência a este antibiótico. No entanto, é importante notar que o estudo de Anyadoh-Nwadike *et al.*, (2020) apresentou uma resistência alarmante de 100% em isolados de *E. coli* retirados de feridas de pacientes diabéticos.

A ciprofloxacina é amplamente reconhecida por sua eficácia contra enterobactérias, incluindo *E. coli*. No entanto, a crescente resistência a este antibiótico, como evidenciado por Reuben *et al.* (2013) é motivo de grande preocupação. O presente estudo visa reforçar essa tendência, com mais da metade das amostras mostrando-se resistentes à CIP.

A variação nas taxas de resistência entre os estudos pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo a origem das amostras (água do rio, feridas de pacientes diabético, amostras de camarões) e as práticas de uso de antibióticos em diferentes regiões. No entanto, a resistência observada em todos os estudos citados indica a necessidade de monitoramento contínuo, pesquisa e implementação de estratégias para combater a resistência antimicrobiana.

No presente estudo, observou-se uma resistência relativamente moderada à tetraciclina, com uma taxa de 22,22%. Esta taxa é superior à encontrada por Marijani *et al.* (2022), que relataram uma resistência de 13%, mas está alinhada com os 20,4% observados por Sifuna *et al.* (2008). No entanto, esses números contrastam

fortemente com o estudo de Kibret e Abera (2011), que encontraram uma resistência alarmante de 72,6% à tetraciclina em isolados de *E. coli*.

Várias razões podem explicar essas discrepâncias. Primeiramente, a origem e o ambiente das amostras podem influenciar os níveis de resistência, como exemplo as práticas de prescrição e uso de antibióticos variam entre regiões e ao longo do tempo, o que pode levar a diferentes taxas de resistência.

De acordo com o estudo de Sifuna *et al.* (2008), o padrão de resistência antibiótica observado em diversas pesquisas pode ser parcialmente atribuído ao uso desses medicamentos na medicina veterinária, o que, por sua vez, pode contribuir para o aumento da resistência em populações humanas.

Embora o presente estudo tenha mostrado níveis moderados de resistência à tetraciclina, é importante reconhecer que a resistência antimicrobiana é dinâmica e pode variar consideravelmente dependendo de vários fatores.

A resistência aos antimicrobianos em isolados de *E. coli* é uma preocupação emergente na aquicultura, sendo várias causas e fatores responsáveis para o desenvolvimento dessa resistência. O uso indiscriminado de antibióticos na aquicultura, o despejo de dejetos humanos em mares e rios, a contaminação ambiental com resíduos provenientes da agricultura e da criação de animais, podem ser responsáveis pelo aparecimento de bactérias resistentes a antibióticos.

Práticas inadequadas como a falta de higiene na manipulação dos camarões em feiras livres podem promover o crescimento de bactérias resistentes nos camarões.

Algumas estratégias para amenizar o problema são indicadas, como a monitorização contínua quanto aos padrões de higiene, foco nas boas práticas de manipulação, educação e treinamento dos manipuladores que fazem o manuseio desse alimento, a rastreabilidade e a comparação com outros estudos são essenciais para compreender as tendências e implementar estratégias eficazes de combate à resistência aos antimicrobianos.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que é de suma importância uma revisão abrangente e aprimoramento das práticas de manuseio e preservação do pescado, principalmente camarões, na região da Grande Vitória, dada a elevada contagem de microrganismos detectada e o notável índice de resistência aos antimicrobianos identificado nos isolados de *E. coli*. É importante que se tenha uma atenção, em especial do poder público, principalmente voltada para a regulamentação e fiscalização dessas barracas em feiras livres, visando adequar o produto vendido às normas vigentes. Assim como a produção de conteúdo didático para os pescadores e vendedores de pescado em como se deve ser feita a manipulação correta, o armazenamento e a refrigeração desse produto de rápida deterioração. Desta forma, recomenda-se um enfoque mais rigoroso na sensibilização dos manipuladores de alimentos, na implementação de medidas de higiene e na supervisão ampliada do uso de antibióticos, especialmente na Medicina Veterinária, visando assegurar a segurança e a qualidade dos produtos pesqueiros disponibilizados aos consumidores. Adicionalmente, sugere-se a realização de estudos complementares em diferentes regiões para uma avaliação mais abrangente desse problema.

6. REFERÊNCIAS

AADLAND, Eli Kristin *et al.* Lean-Seafood Intake Reduces Cardiovascular Lipid Risk Factors in Healthy Subjects: Results from a Randomized Controlled Trial with a Crossover Design. **The American Journal of Clinical Nutrition**, V. 102, N. 3, P. 582–592, 1 Set 2015.

ABUSHAHEEN, Manar Ali *et al.* Antimicrobial Resistance, Mechanisms, and its Clinical Significance. **Disease-A-Month**, V. 66, N. 6, p. 100971, 1 Jun 2020.

ALESSIO, Carlos Eduardo *et al.* Avaliação Microbiológica das Águas das Principais Fontes de Praças e Parques de Cascavel–PR. **Journal of Health Sciences**, v. 11, n. 2, 2009.

ALEXANDER, T. W. *et al.* Farm-to-fork characterization of Escherichia coli associated with feedlot cattle with a known history of antimicrobial use. **International journal of food microbiology**, v. 137, n. 1, p. 40-48, 2010

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA) *et al.* Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **Washington, DC: American Public Health Association**. 2015

AMUNA, Norbert Ndaah. Food safety management practices in the traditional fish processing sector in Ghana and the microbiological safety of selected processed fish products from Ghana. 2014. Tese de Doutorado. **University of Greenwich**.

ANYADOH-NWADIKE S *et al.* Antibigram of bacteria isolated from wounds of diabetic patients on admission at federal medical centre, Owerri, Imo State, Nigeria. **World Jour of Microbiology**. 2020;5(2):160–166

ARIYANTI, T. *et al.* Antimicrobial Resistance Pattern of Escherichia coli O157: H7 Isolated from Cattle in West Java, Indonesia. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2022. p. 012048.

AUTHORITY, European Food Safety *et al.* The European Union one health 2018 zoonoses report. **EFSA Journal**, v. 17, n. 12, 2019.

BARBOSA, L. J. *et al.* Detection of pathogenic *Escherichia coli* and microbiological quality of chilled shrimp sold in street markets. **Letters in applied microbiology**, v. 62, n. 5, p. 372-378, 2016.

BARCELLOS, Carolina Cristina Colão *et al.* Influência da aplicação de irradiação por feixe de elétrons na qualidade microbiológica de filés de corvina (*Micropogonias furnieri*) refrigerados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, p. 535-542, 2016.

BARRET, Kelly A. *et al.* Fish-associated foodborne disease outbreaks: United States, 1998–2015. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 9, p. 537-543, 2017.

BARTLETT, John G. *et al.* Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 10, p. 1445-1450, 2013.

BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4_ts, p. 493-496, 1966.

BAVARO, Mary F. E. coli O157: H7 and other toxigenic strains: the curse of global food distribution. **Current gastroenterology reports**, v. 14, p. 317-323, 2012.

BORDIGNON, Adriana Cristina *et al.* Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em 'V' do filé e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 109-116, 2010.

BRANCO, Joaquim O. Biologia e pesca do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Penaeidae), na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, p. 1050-1062, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 60 de 23 de dezembro de 2019. 2019. Disponível em: <file:///C:/Users/danie/Desktop/MESTRADO%20UVV/Material%20projeto%20tcc/instrucao-normativa-ndeg-60-de-23-de-dezembro-de.pdf>

BRASIL. **RIISPOA**. Decreto 10.468 De 18 De Agosto De 2020. 2020.

BRASIL. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil. Ministério Da Saúde, Brasil. Acesso Em: 3 Ago 2022., 2022. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/copy_of_apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf

Brasil (2022b). Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial –República Federativa do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>

BROEKAERT, Katrien *et al.* Seafood quality analysis: molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. **Food Microbiology**, v. 28, n. 6, p. 1162-1169, 2011.

BUSH, Karen. Past and present perspectives on β -lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. 10.1128/aac. 01076-18, 2018.

CABELLO, Felipe C. *et al.* Misunderstandings and misinterpretations: Antimicrobial use and resistance in salmon aquaculture. **Environmental Microbiology Reports**, 2023.

CANGEMI, John R. Food poisoning and diarrhea: small intestine effects. **Current gastroenterology reports**, v. 13, n. 5, p. 442-448, 2011.

CARDOSO, Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal *et al.* Pesquisa de Salmonella spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Hig. alim.**, p. 144-150, 2005.

CECCARELLI, Daniela *et al.* Diversity of plasmids and genes encoding resistance to extended spectrum cephalosporins in commensal Escherichia coli from Dutch livestock in 2007–2017. **Frontiers in Microbiology**, p. 76, 2019.

CENTRE FOR FOOD SAFETY. Microbiological Guidelines for Food (For ready-to-eat food in general and specific food items). In: **Food and Environmental Hygiene Department, Hong Kong**. 2014.

CHANTZIARAS, Ilias *et al.* Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 3, p. 827-834, 2014.

CHERVY, M. *et al.* Adherent-Invasive E. coli: Update on the Lifestyle of a Troublemaker in Crohn's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 3734.

CLSI. Clinical And Laboratory Standards Institute. **Performance Standards For Antimicrobial Disk And Dilution Susceptibility Tests For Bacteria Isolated From Animals**; Approved Standard. (Clsi Document Vet01-A4). 2018

CORDEIRO, Karina Silva *et al.* Ocorrência de bactérias patogênicas e deteriorantes em sashimi de salmão: avaliação de histamina e de susceptibilidade a antimicrobianos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. e2019085, 2020.

CORNEJO-GRANADOS, Fernanda *et al.* A meta-analysis reveals the environmental and host factors shaping the structure and function of the shrimp microbiota. **PeerJ**, v. 6, p. e5382, 2018

DA SILVA, Neusely *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017.

DA SILVA PENS, Crístian Jean *et al.* Avaliação da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em sushis de buffets de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, conforme legislação municipal vigente. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 11, n. 1, p. 45-57, 2020.

DALBEN, M. *et al.* Investigation of an outbreak of *Enterobacter cloacae* in a neonatal unit and review of the literature. **Journal of Hospital Infection**, v. 70, n. 1, p. 7-14, 2008.

DE OLIVEIRA, Pedro Keller *et al.* Occupational health and safety in aquaculture: insights on Brazilian public policies. **Journal of agromedicine**, v. 22, n. 2, p. 148-158, 2017.

DE PINHO RODRIGUES, Káris Maria *et al.* High levels of gut carriage of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in community settings in Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 205-212, 2022.

DENAMUR, Erick *et al.* The Population Genetics of Pathogenic *Escherichia Coli*. **Nature Reviews Microbiology**. v., 19., p. 37-54. 2021

DOS REIS, Rodiney Medeiros *et al.* Ocorrência de microrganismos psicrotóxicos em carne moída in natura comercializada na cidade de Manaus, Amazonas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 41750-41759, 2020.

EMBRAPA. O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado. **Embrapa.br**, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado>. Acesso em 13 de setembro de 2023.

ESFA E CDC. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. **Efsa Journal**, V. 19, N. 12, 1 Dez 2021. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6971>

FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation. **The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA)**, 2022.

FERNANDES, Dandara Virginia Guia Semedo *et al.* Salmonella spp. in the fish production chain: a review. **Ciência Rural**, v. 48, 2018.

FURLAN, Marianna Ferrari. Avaliação da ocorrência de bactérias mesófilas no leite cru e análise do enquadramento das boas práticas de manuseio feito pelos produtores rurais de Ji-Paraná. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 2, 2017.

FORSLUND, Kristoffer *et al.* Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome. **Genome research**, v. 23, n. 7, p. 1163-1169, 2013.

GARLOCK, Taryn *et al.* A global blue revolution: aquaculture growth across regions, species, and countries. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 28, n. 1, p. 107-116, 2020.

GOES, José Angelo Wenceslau *et al.* Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Hig. aliment**, p. 20-2, 2001.

GONÇALVES, Flávia A. *et al.* Antibacterial activity of GUAVA, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, p. 11-15, 2008.

GOLET, Eva M. *et al.* Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Valley Watershed, Switzerland. **Environmental science & technology**, v. 36, n. 17, p. 3645-3651, 2002.

GOLKAR, Zhabiz. *et al.* Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 02, p. 129-136, 2014.

GREVSKOTT, Didrik H. *et al.* Marine bivalve mollusks as possible indicators of multidrug-resistant *Escherichia coli* and other species of the Enterobacteriaceae family. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 24, 2017.

GUERRERO-LEGARRETA, Isabel. Spoilage detection. **Handbook of processed meats and poultry analysis**, p. 446-456, 2009.

HAMMERUM, Anette M. *et al.* Human health hazards from antimicrobial-resistant *Escherichia coli* of animal origin. **Clinical infectious diseases**, v. 48, n. 7, p. 916-921, 2009.

HE, Ka *et al.* Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of cohort studies. **Circulation**, v. 109, n. 22, p. 2705-2711, 2004.

HIRAI, Claudio Kiyoshi. Atualização Sobre Enterobactérias. Disponível Em: <<https://Revistaanalytica.Com.Br/Atualizacao-Sobre-Enterobacterias-Analytica-93/>>. Acesso Em: 25 Jul 2022.

HUGHES, C. *et al.* Foodborne transmission of infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–2003. **Food control**, v. 18, n. 7, p. 766-772, 2007.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). Microorganisms in foods 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. 1986.

INDRAWATI, A. *et al.* Detection of tetracycline resistance genes among *Escherichia coli* isolated from layer and broiler breeders in west java, Indonesia. **Tropical Animal Science Journal**, v. 44, n. 3, p. 267-272, 2021.

JACKSON, Peter; MEAH, Angela. Re-assessing vulnerability to foodborne illness: pathways and practices. **Critical Public Health**, v. 28, n. 1, p. 81-93, 2018.

JAIN, Seema *et al.* An outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with sushi restaurants in Nevada, 2004. **Clinical infectious diseases**, v. 47, n. 1, p. 1-7, 2008.

KHALIL, Ibrahim *et al.* Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccines: Priority activities to enable product development, licensure, and global access. **Vaccine**, v. 39, n. 31, p. 4266-4277, 2021.

KIBRET, Mulugeta; ABERA, B. Antimicrobial susceptibility patterns of *E. coli* from clinical sources in northeast Ethiopia. **African health sciences**, v. 11, p. 40-45, 2011.

KRÄMER, Johannes. Lebensmittelmikrobiologie. Handbuch Für Lebensmittelchemiker. Bonn: Universität Bonn, **Lebensmittel-Mikrobiologie Und Hygiene**, 2010. P. 509–525.

LAORENZA, Yeyen *et al.* Polymeric packaging applications for seafood products: Packaging-deterioration relevance, technology and trends. **Polymers**, v. 14, n. 18, p. 3706, 2022.

LAZARUS, Benjamin *et al.* Do human extraintestinal *Escherichia coli* infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins originate from food-producing animals? A systematic review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 60, n. 3, p. 439-452, 2015.

LEININGER, Dagny Jayne. *et al.* Use of eosin methylene blue agar to differentiate *Escherichia coli* from other gram-negative mastitis pathogens. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 13, n. 3, p. 273-275, 2001.

LI, Yurong *et al.* Molecular characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from septicemic broilers. **Poultry science**, v. 94, n. 4, p. 601-611, 2015.

LING, Maurice HT *et al.* One Percent of *Escherichia coli* O157: H7 Peptides May Contain Putative Beta-Lactamase Activity. **EC Microbiology**, v. 16, p. 73-79, 2020.

LETCHUMANAN, Vengadesh *et al.* Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Vibrio Parahaemolyticus* Isolated from Retail Shrimps In Malaysia. **Frontiers In Microbiology**, V. 6, N. Jan, 2015.

MACFADDIN, J. F. Media for the isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1 Williams & Wilkins. **Baltimore, MD**, 1985.

MACHADO, Terezinha Feitosa. Patógenos Emergentes em Alimentos. **Embrapa Agroindústria Tropical**, Set 2013. Disponível Em: <www.cnpat.embrapa.br>.

MACKINNON, M. C. *et al.* Evaluation of the health and healthcare system burden due to antimicrobial-resistant *Escherichia coli* infections in humans: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-22, 2020.

MADIGAN, Michael T. *et al.* **Microbiologia De Brock**. 14. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARIJANI, Esther *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of bacteria isolated from marine and freshwater fish in Tanzania. **International Journal of Microbiology**, v. 2022, 2022.

MASNIYOM, Payap. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. **Songklanakarin Journal of Science & Technology**, v. 33, n. 2, 2011.

MENGE, Christian. The role of Escherichia coli Shiga toxins in STEC colonization of cattle. **Toxins**, v. 12, n. 9, p. 607, 2020.

Ministério Da Saúde. **Doenças De Transmissão Hídrica E Alimentar (Dtha)**. Disponível Em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>>. Acesso Em: 24 Jul 2022.

MORRISON, Lindsay E Zembower, Teresa R. Antimicrobial Resistance. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**. V. 30, n. 4, p. 619-635. 2020

MURUGAIYAN, Jayaseelan *et al.* Assessment of species and antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae isolated from mallard duck faeces. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 3, p. 1-11, 2015.

NATHAN, Carl. Resisting antimicrobial resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 259-260, 2020.

NIELSEN, Signe M. *et al.* Achromobacter species isolated from cystic fibrosis patients reveal distinctly different biofilm morphotypes. **Microorganisms**, v. 4, n. 3, p. 33, 2016.

NOVOSLAVSKIJ, Aleksandr *et al.* Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. **Annals of microbiology**, v. 66, n. 1, p. 1-15, 2016.

NUNES, Raquel Soares Casaes *et al.* Avaliação das condições higiênico-sanitárias na comercialização do camarão em feiras livres do Nordeste do Pará. 2022. **BDTA-UFRA**. Disponível em <https://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/2229>.

OLIVEIRA, Ana Beatriz Almeida de *et al.* Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA. Porto Alegre. Vol. 30, n. 3 (jul./set. 2010), p. 279-285**, 2010.

O'NEAL, Jim. **Review On Antimicrobial Resistance**. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for The Health and Wealth of Nations. Dez 2014. Disponível Em: <<https://Amr->

review.Org/Sites/Default/Files/Amr%20review%20paper%20-%20tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.Pdf>. Acesso Em: 19 Out 2022.

ONU, O. S. *et al.* Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Nworie River, Owerri, Imo State, Nigeria. **Journal of Advances in Microbiology**, 23(7), 32–39, 2023.

PALMELA, C. *et al* Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Gut* 2018, 67, 574–587.

PASQUA, Martina *et al.* The intriguing evolutionary journey of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward pathogenicity. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2390, 2017.

PATEL, Mitul A. *et al.* Whole genome sequencing and characteristics of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from poultry farms in Banaskantha, India. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 996214, 2022.

PEIXE BR, 2020. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2020. **Associação Brasileira da Piscicultura**, Sao Paulo, p. 1. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>

PINHEIRO, Hilda Maria de Castro *et al.* Salmonella sp. e coliformes termotolerantes em sushi e sashimi comercializados na cidade de Fortaleza-Ceará. 2006. **lcm.bio.gov.br**.

PITOUT, Johann DD; LAUPLAND, Kevin B. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. **The Lancet infectious diseases**, v. 8, n. 3, p. 159-166, 2008.

POKHAREL, Pravil *et al.* The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 344, 2023.

PORMOHAMMAD, Ali *et al.* Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. **Infection and drug resistance**, v. 12, p. 1181, 2019.

PRABHAKAR, Pramod K. *et al.* A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. **Food research international**, v. 133, p. 109157, 2020.

PRUDEN, Amy *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 23, p. 7445-7450, 2006.

REUBEN, Rine C. *et al.* Ciprofloxacin resistance among members of Enterobacteriaceae family in Lafia, Nasarawa State, Nigeria. **Journal of Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, n. 4, p. 34-37, 2013.

RIVAS, Marta *et al.* Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) *Escherichia coli*. **Escherichia coli in the Americas**, p. 97-123, 2016.

RYU, Seung Hee *et al.* Antimicrobial Resistance and Resistance Genes In *Escherichia Coli* Strains Isolated From Commercial Fish And Seafood. **International Journal Of Food Microbiology**, V. 152, N. 1–2, P. 14–18, 3 Jan 2012.

SAEKI, Erika K.; MATSUMOTO, Leopoldo S. Contagem de mesófilos e psicrotróficos em amostras de leite pasteurizado e UHT. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 377, p. 29-35, 2010.

SAINT-PAUL, Ulrich. Native fish species boosting Brazilian's aquaculture development. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2017.

SALEM, Amani M. *et al.* Assessment of Psychrotrophic Bacteria in frozen fish with special reference to *Pseudomonas* Species. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 34, n. 2, p. 140-148, 2018.

SANJEE, Sohana Al *et al.* Microbiological quality assessment of frozen fish and fish processing materials from Bangladesh. **International journal of food science**, v. 2016, 2016.

SANTOS, Eldo José R. dos *et al.* Qualidade higiênico-sanitária de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís-MA. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. e-46537, 2019.

SERVIN, Alain L. Pathogenesis of human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 823-869, 2014.

SIFUNA, A. W. *et al.* Microbiological quality and safety of *Rastrineobola argentea* retailed in Kisumu town markets, Kenya. **East African Medical Journal**, v. 85, n. 10, p. 509-513, 2008.

SINGH, Asem Sanjit *et al.* High prevalence of multiple antibiotic-resistant, extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in fresh seafood sold in retail markets of Mumbai, India. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 2, p. 46, 2020.

SMITH, Kirk E. *et al.* Antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157 infection and the risk of hemolytic uremic syndrome, Minnesota. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 31, n. 1, p. 37-41, 2012.

SORAGNI, Larrissa *et al.* Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 9, n. 2. P. 19-31, 2019.

STROCKBINE, Nancy A. *et al.* Escherichia, Shigella, and Salmonella. **Manual of clinical microbiology**, p. 685-713, 2015.

SWANSON, K.M.J *et al.* Microorganisms In Foods 8. Use Of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. 8. Ed. New York: **Springer Science + Business Media**, 2011. V. 8.

TANG, Xibiao *et al.* antimicrobial resistances of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolates from swine in China. **Microbial pathogenesis**, v. 50, n. 5, p. 207-212, 2011.

TADESSE, Daniel A. *et al.* Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. **Emerging infectious diseases**, v. 18, n. 5, p. 741, 2012.

TELLE-HANSEN, Vibeke H. *et al.* Daily intake of cod or salmon for 2 weeks decreases the 18: 1n-9/18: 0 ratio and serum triacylglycerols in healthy subjects. **Lipids**, v. 47, n. 2, p. 151-160, 2012.

TELLES, E. O.; AQUINO, A. C. L T. **Fundamentos da análise microbiológica de alimentos**. Higiene e segurança alimentar, 2018. 21 p.

VAIYAPURI, Murugadas *et al.* Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Seafood: prevalence, laboratory detection, clonal nature, and control in seafood chain. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 12, p. 3341-3351, 2019.

VALENTI, Wagner C. *et al.* Aquaculture in Brazil: past, present, and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100611, 2021.

VAN, Thi Thu Hao *et al.* Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of Escherichia coli isolations for antibiotic resistance and virulence genes. **International journal of food microbiology**, v. 124, n. 3, p. 217-223, 2008.

VENTOLA, C. Lee. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 277, 2015.

VERRAES, Claire *et al.* Antimicrobial resistance in the food chain: a review. **International journal of environmental research and public health**, v. 10, n. 7, p. 2643-2669, 2013.

YOUSSEF, Hussein *et al.* Role of aerobic intestinal pathogens of freshwater fish in transmission of human diseases. **Journal of food protection**, v. 55, n. 9, p. 739-740, 1992.

WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles *et al.* Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.

WHO. World Health Organization Europe. **The Burden of Foodborne Diseases in The Who European Region**. 2017. Disponível em: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/402989/50607-WHO-Food-Safety-publicationV4_Web.pdf

XU, Weihai *et al.* Residues of enrofloxacin, furazolidone and their metabolites in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 254, n. 1-4, p. 1-8, 2006.

ZOU, Shichun *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: impacts of river discharge and aquaculture activities. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2913-2920, 2011.

ANEXO I

Tabela geral de dados das amostragens de camarões coletadas de 10 barracas de feiras livres de Vitória, 10 barracas de feiras livres de Vila Velha e 10 barracas de feiras livres da Serra.

Amostragem de camarões obtidos de feiras da Grande Vitória, ES

Amostra	Cidade	Mesofilos	Psicrotróficos	Enterobactérias
C1	Vitória	$7,5 \times 10^5$	$3,31 \times 10^8$	$2,13 \times 10^3$
C2	Vitória	$2,4 \times 10^7$	$2,87 \times 10^8$	$3,5 \times 10^4$
C3	Vitória	$3,38 \times 10^7$	3×10^8	3×10^4
C4	Vitória	$6,88 \times 10^7$	$4,1 \times 10^8$	$1,33 \times 10^5$
C5	Vitória	$3,8 \times 10^6$	$1,05 \times 10^9$	$4,42 \times 10^7$
C6	Vitória	$4,58 \times 10^7$	$1,13 \times 10^9$	$2,2 \times 10^6$
C7	Vitória	$4,05 \times 10^7$	$2,32 \times 10^8$	$2,3 \times 10^6$
C8	Vitória	$1,67 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$7,6 \times 10^4$
C9	Vitória	$3,20 \times 10^3$	$2,5 \times 10^5$	8×10^2
C10	Vila Velha	$1,28 \times 10^5$	$2,42 \times 10^9$	$2,45 \times 10^4$
C11	Vila Velha	3×10^6	$1,04 \times 10^9$	$3,3 \times 10^3$
C12	Serra	$1,92 \times 10^7$	$1,57 \times 10^9$	$1,83 \times 10^5$
C13	Serra	5×10^6	$6,6 \times 10^9$	$7,90 \times 10^6$
C14	Vila Velha	$2,55 \times 10^6$	$1,03 \times 10^{10}$	$1,3 \times 10^6$
C15	Vila Velha	$7,2 \times 10^4$	$9,2 \times 10^7$	9×10^1
C16	Vila Velha	$1,15 \times 10^7$	$7,8 \times 10^8$	9×10^2
C17	Serra	$5,1 \times 10^5$	7×10^8	$5,6 \times 10^4$
C18	Serra	$6,30 \times 10^3$	$2,1 \times 10^9$	$2,1 \times 10^6$
C19	Serra	$3,7 \times 10^5$	$4,5 \times 10^8$	$3,6 \times 10^5$
C20	Serra	$2,57 \times 10^7$	$6,5 \times 10^7$	7×10^5
C21	Vitória	$4,4 \times 10^6$	$9,3 \times 10^7$	$6,2 \times 10^3$
C22	Serra	$1,49 \times 10^7$	$1,58 \times 10^9$	$1,86 \times 10^5$
C23	Vila Velha	$2,51 \times 10^7$	$1,74 \times 10^8$	$1,2 \times 10^4$
C24	Serra	$3,37 \times 10^6$	$2,96 \times 10^8$	9×10^3
C25	Vila Velha	$1,59 \times 10^7$	$1,02 \times 10^8$	3×10^3
C26	Vila Velha	$1,98 \times 10^6$	$2,01 \times 10^8$	5×10^3

C27	Serra	$3,78 \times 10^7$	$1,53 \times 10^8$	$4,9 \times 10^4$
C28	Vila Velha	$1,34 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$	3×10^1
C29	Serra	$2,19 \times 10^7$	$2,23 \times 10^8$	$4,7 \times 10^5$
C30	Vila Velha	$7,9 \times 10^6$	$2,23 \times 10^8$	9×10^5
Média		$1,49 \times 10^7$	$1,1 \times 10^9$	$2,11 \times 10^6$