



SUELLEN ROCHA DE OLIVEIRA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA CULTIVÁVEL DO
MUCO EXTERNO DE *Astronotus ocellatus* E AVALIAÇÃO DO
PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DOS
ISOLADOS**

LAVRAS-MG

2025

SUELLEN ROCHA DE OLIVEIRA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA CULTIVÁVEL DO
MUCO EXTERNO DE *Astronotus ocellatus* E AVALIAÇÃO DO
PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA DOS
ISOLADOS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em produção e nutrição de não ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Profº. Drº. Luis David Solis Murgas

Orientador

Profº. Draº. Gláucia Frasnelli Mian

Coorientadora

LAVRAS – MG

2025

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Andrade, Suellen Rocha de Oliveira.

Estudo sobre a microbiota comensal presente no muco externo em peixe
amazônico *Astronotus ocellatus* / Suellen Rocha de Oliveira Andrade. - 2025.
80 p. : il.

Orientador: Luis David Solis Murgas

Coorientadora: Gláucia Frasnelli Mian

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. *Astronotus ocellatus*. 2. Muco externo. 3. Microbiota . 4. Resistência
bacteriana. 5. Saúde única . I. Solis Murgas, Luis David . II. Frasnelli Mian,
Gláucia. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

SUELLEN ROCHA DE OLIVEIRA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA CULTIVÁVEL DO MUCO EXTERNO
DE *Astronotus ocellatus* E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE
ANTIMICROBIANA DOS ISOLADOS**

**CHARACTERIZATION OF THE CULTIVABLE MICROBIOTA FROM THE
EXTERNAL MUCUS OF *Astronotus ocellatus* AND EVALUATION OF THE
ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PROFILE OF THE ISOLATES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em produção e nutrição de não ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 30- 07 - 2025

Dr.(a) Luis David Solis Murgas UFLA

Dr.(a) Gláucia Frasnelli Mian UFLA

Dr.(a) Dirceia Aparecida da Costa Custódio UFLA

Dr.(a) Gleí Dos Anjos De Carvalho Castro ANIMALNUTRI

Profº. Drº. Luis David Solis Murgas
Orientador

Profa Drª Gláucia Frasnelli Mian
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Pai de meu amado Senhor Jesus Cristo, que esteve sempre comigo, guardando e livrando meus caminhos, me dando forças e descanso e abrindo portas e oportunidades em minha vida.

Ao meu esposo Felipe Andrade, que sempre me apoiou, esteve presente e proveu oportunidades para trilhar minha vida acadêmica.

Ao meu pai João Tomaz e minha mãe Magnólia Rocha por estarem sempre me apoiando e incentivando desde a infância meu crescimento na vida acadêmica, e me trazendo estrutura e cuidado em cada etapa trilhada.

Agradeço ao meu orientador professor Luis Murgas pela oportunidade de poder cursar esse mestrado e pelos conhecimentos, conselhos e amparo durante esse período, agradeço também a minha Coorientadora professora Glaucia Mian, por todo apoio, carinho, conhecimento e orientação para a elaboração deste projeto que tanto prezo e estimo.

Aos núcleos de estudo que me auxiliaram na execução desse projeto NEPAD e LISASC, sem a cooperação de todos, sua execução não seria possível. Especialmente ao membro Dircéia Custódio que esteve a par de cada ponto no desenvolvimento microbiológico, e a William Cordeiro pelo auxílio e conhecimentos compartilhados.

A todos os familiares, professores, amigos e colegas que estiveram de alguma forma ao meu lado, auxiliando e incentivando em cada momento dessa jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFLA.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio e financiamento deste presente trabalho.

“O vento sopra onde quer. Você o escuta, mas não pode dizer de onde vem nem para onde vai. Assim acontece com todos os nascidos do Espírito” (Jo 3:8)

RESUMO

Astronotus ocellatus é um peixe nativo da bacia amazônica com grande apelo comercial na aquariofilia ornamental, parte da popularidade deste está em ser um animal de grande porte, com marcações fortes, robusto, tolerante a doenças e mudanças de parâmetros. Tais características conferem a ele não somente um animal desejável para entusiastas, mas também um potencial agente invasor carregando patógenos nativos para regiões exóticas. Em conjunto esses aspectos fazem deste uma espécie de interesse para o estudo de sua microbiota comensal externa, rastreando não somente sua composição, algo inédito na literatura, mas também sua resistência a diversas classes de antibióticos. Este trabalho teve como objetivo o mapeamento da microbiota comensal do muco externo em *Astronotus ocellatus* das regiões lateral e opercular, foram selecionados seis animais jovens com peso médio de 49 g mantidos em sistema e recirculação com parâmetros controlados. As amostras foram processadas através de cultivo e testes microbiológicos e a análise da microbiota encontrada foi realizada por metodologia Maldi-Tof. Também foram realizados ensaios em antibiograma das espécies identificadas. Foram identificados 101 isolados e 29 espécies/gêneros: *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas veronii*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter freundii*, *Gordonia hongkongensis*, *Janibacter melonis*, *Kocuria carniphila*, *Kocuria sp*, *Microbacterium paraoxydans*, *Micrococcus flavus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Nocardia farcinica*, *Nocardia niwae*, *Nocardia nova*, *Nocardia spp*, *Paracoccus spp*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas sp*, *Solibacillus silvestres*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus simulans*. As diferenças na diversidade microbiana entre as regiões lateral e opercular foram avaliadas por meio do teste não paramétrico de Kruskal–Wallis. Para o índice de Richness, observou-se uma diferença significativa entre as regiões ($H_1 = 8,52$; $p = 0,004$). De forma análoga, o índice de Shannon também apresentou diferença significativa ($H_1 = 8,34$; $p = 0,004$), indicando maior diversidade na região lateral em comparação ao opérculo. Para o antibiograma foram realizados testes em 29 isolados, os antibióticos utilizados foram: Ampicilina, Ciprofloxacina, Florfenicol, Gentamicina, Penicilina G, Sulfatozimid e Tetraciclina, e as ATCCs 25922 *E.coli* e 25923 *S.aureus*. Nos resultados Ampicilina e Penicilina G demonstraram o maior percentual de resistência com 72% e 83% respectivamente. Sulfatozimid e Tetraciclina apresentaram valores intermediários de resistência, 28% e 34% de resistência e 59% e 52% de susceptibilidade respectivamente. Gentamicina, Ciprofloxacina e Florfenicol apresentaram bons valores de sensibilidade, apresentando respectivamente valores de 90%, 83% e 79% de susceptibilidade. Os resultados sugerem uma alta diversidade microbiológica associada ao muco externo de *A. ocellatus* e a importância da compreensão dessas comunidades microbianas para o monitoramento da saúde da fauna nativa, visto que há percentuais significativos de resistência a diversos antibióticos o que deve ser monitorado para impactos significativos na pesquisa ambiental, na saúde única e preservação do ambiente.

Palavras-chave: Apaiari; resistência bacteriana; água; saúde única.

ABSTRACT

Astronotus ocellatus is a fish native to the Amazon basin with great commercial appeal in ornamental aquariums. Part of its popularity lies in its large size, strong markings, robustness, and tolerance to disease and changes in parameters. These characteristics make it not only a desirable animal for enthusiasts but also a potential invasive agent, carrying native pathogens to exotic regions. Together, these aspects make this species of interest for the study of its external commensal microbiota, tracking not only its composition something unprecedented in the literature but also its resistance to several classes of antibiotics. This study aimed to map the commensal microbiota of the external mucus of *Astronotus ocellatus* from the lateral opercular regions. Six young animals with an average size and weight of 49 g were selected and kept in a recirculation system with controlled parameters. The samples were processed through culture and microbiological testing, and the microbiota analysis was performed using the Maldi-Tof methodology. Antibioassays were also performed on the identified species. 101 isolates and 29 species/genera were identified: *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas veronii*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter freundii*, *Gordonia hongkongensis*, *Janibacter melonis*, *Kocuria carniphila*, *Kocuria sp*, *Microbacterium paraoxydans*, *Micrococcus flavus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Nocardia farcinica*, *Nocardia niwae*, *Nocardia nova*, *Nocardia spp*, *Paracoccus spp*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas sp*, *Solibacillus selvas*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* and *Staphylococcus simulans*. Differences in microbial diversity between the lateral and opercular regions were assessed using the nonparametric Kruskal–Wallis test. For the Richness index, a significant difference was observed between the regions ($H_1 = 8.52$; $p = 0.004$). Similarly, the Shannon index also showed a significant difference ($H_1 = 8.34$; $p = 0.004$), indicating greater diversity in the lateral region compared to the operculum. For the antibiogram, tests were performed on 29 isolates; the antibiotics used were: ampicillin, ciprofloxacin, Florfenicol, Gentamicin, Penicillin G, Sulfazotrim, and Tetracycline, and the ATCCs 25922 *E. coli* and 25923 *S. aureus*. Ampicillin and Penicillin G demonstrated the highest resistance rates, at 72% and 83%, respectively. Sulfazotrim and Tetracycline showed intermediate resistance rates, at 28% and 34%, and susceptibility rates of 59% and 52%, respectively. Gentamicin, Ciprofloxacin, and Florfenicol showed good sensitivity rates, with susceptibility rates of 90%, 83%, and 79%, respectively. The results suggest a high microbiological diversity associated with the external mucus of *A. ocellatus* and the importance of understanding these microbial communities for monitoring the health of native fauna, given that there are significant resistance rates to several antibiotics, which should be monitored for significant impacts on environmental research, one health, and environmental preservation.

Keywords: Apaiari; bacterial resistance; water; one health.

INDICADORES DE IMPACTO

O *Astronotus ocellatus*, peixe nativo da Amazônia, é amplamente difundido no Brasil e no mundo devido à sua beleza e resistência, tornando-se potencial espécie invasora. Sua capacidade de transportar patógenos sem apresentar sinais clínicos representa risco à aquicultura e ao meio ambiente. Apesar disso, não existem estudos que caracterizem a microbiota presente no muco superficial dessa espécie nem sua possível resistência a antibióticos — conhecimento essencial diante de sua ampla distribuição. O muco externo é a primeira barreira de defesa dos peixes e reflete uma coevolução com microrganismos, o que torna seu estudo relevante para avanços em saúde, meio ambiente e biotecnologia. A pesquisa alinha-se a três áreas da Política Nacional de Extensão (meio ambiente, saúde e educação) e contribui diretamente para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU: ODS 6: uso responsável de antibióticos para proteger a qualidade da água; ODS 12: incentivo a práticas de produção e consumo sustentáveis; ODS 14: avaliação do impacto de espécies exóticas e poluição no ecossistema aquático; ODS 15: compreensão dos efeitos ecológicos em cadeia, ligando ambientes aquáticos e terrestres. Assim, o estudo fornece subsídios científicos para a conservação ambiental, manejo sustentável e conscientização sobre o uso de antimicrobianos, com potencial de gerar descobertas aplicáveis a diversas áreas da ciência e tecnologia.

IMPACT INDICATORS

Astronotus ocellatus, a fish native to the Amazon, is widespread in Brazil and worldwide due to its beauty and hardiness, making it a potential invasive species. Its ability to carry pathogens without showing clinical signs poses a risk to aquaculture and the environment. Despite this, there are no studies characterizing the microbiota present in the surface mucus of this species or its possible antibiotic resistance—essential knowledge given its wide distribution. External mucus is the first defense barrier of fish and reflects coevolution with microorganisms, making its study relevant for advances in health, the environment, and biotechnology. The research aligns with three areas of the National Extension Policy (environment, health, and education) and directly contributes to the UN Sustainable Development Goals: SDG 6: Responsible use of antibiotics to protect water quality; SDG 12: Encouraging sustainable production and consumption practices; SDG 14: Assessing the impact of exotic species and pollution on the aquatic ecosystem; and SDG 15: Understanding the ecological knock-on effects, linking aquatic and terrestrial environments. Thus, the study provides scientific support for environmental conservation, sustainable management, and raising awareness about the use of antimicrobials, with the potential to generate discoveries applicable to various areas of science and technology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem de perfil do peixe Oscar, <i>Astronotus ocellatus</i> adulto em aquário.....	18
Figura 2 – Coleta do muco superficial da região opercular.....	28
Figura 3 – Volume de muco coletado em <i>Astronotus ocellatus</i>	28
Figura 4 – Distribuição de colônias através da metodologia Miles e Misra.....	29
Figura 5 – Gráfico de pizza em porcentagem total de microrganismos identificados na análise em Maldi-Tof.....	35
Figura 6 – Heatmap de presença/ausência total de cada espécie por origem.....	36
Figura 7 – Composição relativa total das espécies identificadas em Maldi-Tof.....	37
Figura 8 – Índices diversidade alfa: Shannon e Richness.....	38
Figura 9 – Representação da sensibilidade a antimicrobianos por região de estudo.....	41
Figura 10 – Índice de multirresistência (MAR) referente a região lateral e opercular.....	42
Figura 11 – Índice de multirresistência (MAR) em relação às espécies.....	43
Figura 12 – Análise em Heatmap referente às áreas de inibição.....	44
Figura 13 – Análise em Heatmap referente ao teste exato de Fisher.....	45
Figura 14 – Heatmap representativo da área de inibição total das amostras.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção brasileira da pesca extrativa continental em toneladas do espécime <i>Astronotus ocellatus</i> – 2007.....	19
Tabela 2 – Resultados dos testes microbiológicos.....	31
Tabela 3 – Relação animal e microrganismos identificados em análise Maldi-Tof.....	33
Tabela 4 – Resultados da análise em antibiograma do perfil de resistência dos microrganismos encontrados.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	Importância da aquicultura	16
2.2	<i>Astronotus ocellatus</i> - Peixe Oscar	17
2.3	Muco superficial e sua importância para os peixes.....	20
2.3.1	Métodos de extração do muco superficial em peixes	21
2.4	Microbiota comensal	22
2.5	Antimicrobianos, Resistência Antimicrobiana e Saúde Única	23
3	OBJETIVOS.....	25
3.1	Objetivo geral.....	25
3.2	Objetivos específicos.....	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	Declaração de ética:.....	25
4.2	Aquisição, manejo e manutenção dos peixes.....	26
4.3	Qualidade da água.....	26
4.4	Coleta do muco.....	27
4.5	Isolamento dos microrganismos e testes de identificação clássica	28
4.6	Identificação de espécies de microrganismos pelo método de espectrofotometria de massa (Maldi-Tof).....	29
4.7	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos.....	30
4.8	Análises estatísticas	30
5	RESULTADOS.....	31
5.1	Identificação dos microrganismos por cultivo microbiológico.....	31
5.2	Identificação dos isolados bacterianos encontrados no muco externo em <i>Astronotus ocellatus</i> através da metodologia Maldi-Tof	32

5.3	Resultados do perfil de resistência dos microrganismos encontrados através de antibiograma	38
6	DISCUSSÃO.....	46
6.1	Análise da microbiota encontrada em <i>A. ocellatus</i>	46
6.2	Microrganismos multirresistentes.....	50
7	CONCLUSÃO	52
8	REFERÊNCIAS.....	53
9	APÊNDICES.....	59
9.1	Apêndice I: Contagem de colônias para microbiologia em diluição seriada inicial	59
9.2	Apêndice II resultados microbiológicos	73

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura configura-se como um dos ramos da produção animal que mais tem crescido no Brasil nos últimos anos. Esse avanço está diretamente relacionado a condições favoráveis, como o clima propício ao cultivo de organismos aquáticos, a grande disponibilidade de reservatórios naturais de água e a ampla aceitação dos produtos aquícolas pela população (DOS SANTOS SILVA; E BARROS, 2020). No cenário nacional, a atividade abrange diferentes setores, sendo o mais representativo o mercado voltado para a produção de peixes destinados ao consumo humano. Entretanto, outras modalidades também se destacam, como a pesca esportiva e a aquariofilia. Esta última, também chamada de aquarismo, consiste na criação de peixes ornamentais para fins recreativos, voltados principalmente à apreciação estética em aquários domésticos ou lagos ornamentais (EMBRAPA PESCA E AQUICULTURA, 2021). Trata-se de uma prática que, embora bastante difundida no Brasil, também apresenta expressiva relevância em diversos países, favorecendo a intensa circulação de espécies nativas e exóticas em diferentes regiões do mundo (JAIN; KARUNASAGAR, 2025).

Dentre os peixes nativos, o *Astronotus ocellatus*, popularmente conhecido como peixe Oscar ou Apaiari, possui grande valor comercial na piscicultura ornamental em diversos países (DEAN et al., 2024). Caracteriza-se por seu porte avantajado, coloração marcante, docilidade e elevada resistência a variações de parâmetros ambientais e a doenças, o que o torna uma das espécies mais populares entre os entusiastas (GELLER et al., 2020). Entre as diversas particularidades desta espécie, destacam-se sua notável capacidade cicatrizante, quando comparada a outras espécies estudadas, e a intensa produção de muco, características que suscitam o questionamento sobre uma possível inter-relação entre esses fatores (MANSUR et al., 2021).

Sabe-se que o muco superficial dos teleósteos desempenha um papel fundamental na proteção desses animais, atuando como a primeira barreira de defesa contra agentes externos (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023). Nas últimas décadas, o estudo desse muco tem se intensificado, abrangendo diferentes áreas de interesse, como a prospecção de substâncias com potencial antibacteriano, antifúngico e cicatrizante (REVERTER et al., 2018). Essas propriedades intrínsecas estão diretamente relacionadas ao ambiente altamente competitivo no qual os teleósteos evoluíram. Ao longo de sua história evolutiva, os organismos aquáticos

coexistiram com uma ampla diversidade de microrganismos, muitos deles com potencial patogênico, o que favoreceu o desenvolvimento de mecanismos de defesa específicos. Por outro lado, grande parte desses microrganismos estabeleceu relações de comensalismo com os hospedeiros, adaptando-se coletivamente ao ambiente e convivendo no muco destes animais (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023; REVERTER et al., 2018). A investigação dessa complexa interação pode representar um ponto de partida para importantes descobertas acerca das relações entre a microbiota presente no muco dos peixes, os mecanismos de defesa desses animais e as comunidades microbianas existentes na água.

Nesse contexto, o *Astronotus ocellatus* (Oscar) pode atuar não apenas como espécie sentinela para a diversidade de microrganismos presentes no ambiente aquático, mas também como um indicador biológico de bactérias resistentes a antimicrobianos, reunindo, assim, diferentes pontos de interesse. Além disso, destaca-se seu potencial invasor, capaz de introduzir patógenos desconhecidos em ecossistemas exóticos, muitas vezes despreparados para lidar com determinadas potenciais patógenos (CHAUDHARY et al., 2024).

Considerando todos esses aspectos, o estudo do muco externo de *Astronotus ocellatus* revela-se uma área promissora, oferecendo um amplo leque de possibilidades investigativas. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo específico a caracterização da microbiota cultivável do muco externo de *A. ocellatus* e a avaliação do perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos isolados, uma vez que o monitoramento da diversidade microbiana e da presença de microrganismos resistentes a antibióticos constitui um tema de elevado interesse científico e de grande relevância para a saúde única — humana, animal e ambiental. Alinhado a essa perspectiva, o estudo desses elementos pode contribuir significativamente para a formulação de políticas de prevenção de epidemias locais causadas por microrganismos resistentes, para a conscientização sobre o uso indiscriminado de antimicrobianos, bem como para medidas de profilaxia e de proteção à saúde coletiva e ambiental, especialmente diante do risco de propagação de espécies exóticas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da aquicultura

A aquicultura é uma atividade pecuária que vem crescendo exponencialmente ao decorrer das últimas décadas, conforme dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (©FAO. 2025) em 2022 a criação de organismos aquáticos superou pela primeira vez na história a pesca por captura, com um total de 130,9 milhões de toneladas produzidas mundialmente. Ainda segundo a organização, América Latina e Caribe produziram um total de 4,3 milhões de toneladas na produção aquícola, o que representa 3,3% da produção mundial, sendo a maior produtora a Ásia que representa 91,4% da produção mundial (©FAO. 2025).

A piscicultura no mercado brasileiro vem ganhando cada vez mais relevância, fatores como clima, disponibilidade e diversidade de aquíferos, proporcionam um território altamente propício para essa prática (DOS SANTOS SILVA; E BARROS, 2020). Dados da Associação Brasileira da Piscicultura revelam que a produção de peixes para consumo no país teve um aumento de 51,8% em dez anos, com avanço gradual de 2014 a 2024, totalizando 968.745 toneladas de produto (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA, 2025). Dados da FAO sugerem que o mercado empregue cerca de 40.000 trabalhadores em toda sua cadeia produtiva nacional (©FAO. 2025., 2020).

A aquicultura brasileira tem seu principal foco e impacto na produção de peixes para corte, entretanto outras demandas são advindas desse mercado não tendo um foco no mercado agropecuário, como a pesca esportiva e a aquariofilia (EMBRAPA PESCA E AQUICULTURA, 2021). A aquariofilia ou aquarismo, denominação popularmente conhecida, é a prática de se criar organismos aquáticos em um ambiente artificial, aquários ou lagos, com intuito de manutenção da vida destes, na forma de “hobby” para contemplação (EMBRAPA PESCA E AQUICULTURA, 2021). Em sua maioria os peixes destinados a esse fim são denominados ornamentais e compõem uma grande diversidade de espécies (GOLEBIE et al., 2025). Análises deste mercado mostraram resultados promissores, no período de 2001 a 2016 houve um crescimento significativo das exportações internacionais de peixe ornamentais com um total de 84,8%, no mesmo período as exportações do mercado brasileiro tiveram aumento de 103,7%, esses dados em valores monetários representam um total US\$ 6,5 milhões resultantes das exportações brasileiras de peixes ornamentais

(EMBRAPA PESCA E AQUICULTURA, 2021).

Com a intensificação das atividades aquícolas (JAIN; KARUNASAGAR, 2025), observa-se um aumento da carga microbiana nos ambientes de cultivo, resultante do acúmulo de resíduos alimentares, da excreção dos peixes e das próprias condições de criação pisciculturas (DOS SANTOS SILVA; E BARROS, 2020). Esses microrganismos, que podem ser patogênicos ou não, têm potencial para causar desequilíbrios ambientais e comprometer a saúde dos animais cultivados. Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos nas pisciculturas exerce forte pressão seletiva, favorecendo a emergência e disseminação de cepas resistentes (DOS SANTOS SILVA; E BARROS, 2020). Essa situação, quando não monitorada de forma adequada, pode levar a perdas produtivas significativas, risco de zoonoses e impactos ambientais.

2.2 *Astronotus ocellatus* - Peixe Oscar

Astronotus ocellatus (Figura 1) é um peixe nativo da bacia amazônica, encontrado em três países, Peru, Brasil e Colômbia, também conhecido como peixe Oscar, Acará-açu ou Apaiari (CHAUDHARY et al., 2024). Ele é um ciclídeo amazônico (Família *Cichlidae*) porém está distribuído em diferentes regiões como espécie invasora (CATELANI et al., 2021), hoje se encontra introduzido no território continental dos Estados Unidos, Porto Rico, Austrália, Índia, Polônia, Cingapura e sul do Brasil (CHAUDHARY et al., 2024; GUTIERRE; SCHOFIELD; PRODOCIMO, 2016), devido a sua adaptabilidade e tolerância a diversos intempéries o torna um potencial risco a fauna nativa (NICO; FULLER; NEILSON, 2019).

Algumas características fazem com que o Oscar seja um peixe muito estimado na aquarofilia como peixe ornamental, a alta resistência a mudanças de parâmetros e um grande espectro de tolerância a eles, tais como uma flexibilidade a ambientes desfavoráveis desde temperaturas extremas, variações de pH e oxigênio dissolvido (ALMEIDA-VAL et al., 2000; MUUSZE et al., 1998; SHAFLAND; PESTRAK, 1982; VAL; RANDALL, 2005), aliados a uma rápida regeneração a traumas faz dele um peixe robusto que não definha por erros iniciantes (GOZLAN, 2009) isso juntamente com seu fenótipo atrativo e interação com o cuidador o torna um peixe ideal para iniciantes (PAES et al., 2012). Além do seu apelo econômico na aquarofilia, o Oscar também é produzido para consumo em algumas regiões do Brasil, principalmente por comunidades ribeirinhas da região amazônica (OLIVEIRA,

2016).

Figura 1 – Imagem de perfil do peixe Oscar, *Astronotus ocellatus*, adulto em aquário



Fonte – Arquivos do autor 2023

Como todo ciclídeo o Oscar possui um comportamento territorial e agressivo com semelhantes, quando juvenis coabitam em pequenos cardumes, porém ao atingirem a maturidade sexual adquirem um comportamento monogâmico se separando em casais e tornam-se extremamente agressivos com os da mesma espécie, isto se torna algo desafiante em sua criação visto que este comportamento gera ferimentos e óbito de alguns exemplares (OLIVEIRA, 2016). Porém foi constatado uma rápida e eficiente regeneração destes animais após lesões decorrentes de disputas ou cirurgias, ainda não se sabe ao certo os fatores por trás deste fenômeno, uma vez que não há estudos abordando este tema na espécie, mas especula-se que pode estar atribuído a composição de seu muco externo (MANSUR, 2018). O Oscar produz uma quantidade demasiada de muco, o que se estima que pode estar associado a fatores importantes em sua regeneração e eficaz convalescença, estudar e analisar as substâncias ali presentes pode apresentar avanços significativos para o desenvolvimento científico (MANSUR, 2018).

A piscicultura do peixe Oscar no Brasil ainda não é oficialmente documentada e consta com informações escassas, porém dados do Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) (IBAMA, 2007, p.175), demonstram que há um significativo valor econômico na espécie, especialmente na pesca extrativa. Em seu último relatório o Oscar foi apontado como umas das espécies com maior valor no mercado pesqueiro da região Norte do país, juntamente com o pirarucu, tambaqui e tilápia-tailandesa, espécies de alto valor comercial (IBAMA, 2007, p.175). No ano de 2007 houve um total de 1.825,5

toneladas pescadas no território nacional totalizando em arrecadações monetárias 4.258.950,00 de reais. Dados oficiais sobre a produção, aquicultura e exportação se mostraram nulos nesta pesquisa, e há grande escassez de estudos oficiais sobre o tema, porém fontes atentam sua importância para a aquicultura ornamental (OLIVEIRA, 2016; PAES et al., 2012).

Na Tabela 1 estão descritos os dados de forma sucinta sobre o mercado pesqueiro nacional de *Astronotus ocellatus*:

Tabela 1 – Produção brasileira da pesca extrativa continental em toneladas do espécime *Astronotus ocellatus* - 2007.

<i>Região</i>	<i>Estado</i>	<i>Toneladas produzidas (t)</i>	<i>Preço comercial médio (R\$/Kg)</i>	<i>Total arrecadado (R\$)</i>
<i>Norte</i>	Acre	41.5	2,50	103.750,00
	Amazonas	196.0	5,00	980.000,00
	Amapá	597.0	1,90	1.134.300,00
	Pará	608.5	2,00	1.217.000,00
	Rondônia	28.0	3,30	92.400,00
	Roraima	15.0	3,50	52.500,00
<i>Nordeste</i>	Ceará	108.0	2,00	216.000,00
	Bahia	39.0	2,00	78.000,00
	Paraíba	128.0	2,00	256.000,00
	Pernambuco	6.5	2,00	13.000,00
	Piauí	0.5	2,00	1.000,00
	Rio Grande do Norte	8.0	2,00	16.000,00
<i>Sudeste</i>	Sergipe	0.5	2,00	1.000,00
	São Paulo	49.0	2,00	98.000,00
Total		1.825,5	-	4.258.950,00

Fonte: Adaptação Estatística da Pesca 2007- IBGE

O conhecimento da microbiota associada ao *Astronotus ocellatus* (Oscar), assim como dos microrganismos presentes na água de cultivo, é essencial para compreender as interações microbianas e detectar potenciais desequilíbrios ambientais e sanitários. Nesse contexto, a análise do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos desses microrganismos é de grande relevância para a Saúde Única, pois possibilita identificar mecanismos de resistência adquirida, orientar o uso racional de fármacos, promover práticas de manejo mais seguras e

contribuir para a redução do risco de disseminação de cepas resistentes entre animais, seres humanos e o ambiente.

2.3 Muco superficial e sua importância para os peixes

O muco superficial, ou muco externo, dos peixes é a primeira barreira de defesa que esses animais possuem contra agentes externos, vários estudos correlacionam sua presença a uma boa resposta ao combate a infecções, já foram listados inúmeros compostos bioativos como proteínas, peptídeos e outras substâncias com propriedades antimicrobianas e cicatrizantes como descrito por Díaz-Puertas (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023). Para se entender um pouco mais sobre a ação protetora que o muco dos peixes tem é importante ressaltar sua história evolutiva, os peixes, osteíctes, estão presentes na terra há mais de 500 milhões de anos, fazendo deles os vertebrados mais antigos do planeta (NELSON; GRANDE; WILSON, 2016; SALLAN, 2014), sua diversidade e número impressionam em comparações numéricas a outros táxons, além disso seu habitat sendo exclusivamente a água os tornam expostos a uma infinidade de microrganismos (bactérias, fungos e vírus) de maneira constante de um modo muito superior a organismos terrestres (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023).

É certo que nem todo microrganismo presente na água será patogênico e que apenas uma parcela pequena destes terá essa ação (RICHIARDI et al., 2023), porém vale ressaltar que milhares de anos de evolução em um ambiente altamente competitivo adaptou estes vertebrados a ação de inúmeros microrganismos e os proporcionou resistência com maquinarias de defesa que ainda são pouco compreendidas e estudadas pelo homem (REVERTER et al., 2018).

A camada mucosa dos peixes é basicamente composta por água e glicoproteínas chamadas mucinas que lhe proporciona seu aspecto viscoelástico (RICHIARDI et al., 2023), esse aspecto está diretamente relacionado com os primeiros mecanismos de defesa do animal, que lhe permite maior proteção mecânica a fuga de predadores e proteção contra escoriações, além de cobrir ferimentos expostos (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023). Ele também possui uma importante ação imunológica já demonstrada em experimento, onde quadros infecciosos eram agravados com sua ausência (TAPIA-PANIAGUA et al., 2018).

Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) estão dentre os componentes do muco que se destacam, eles se caracterizam por sua ação antibiótica principalmente sobre ação direta ao

microrganismo, também possuem ativadores imunomoduladores e quimiotáticas que em conjunto potencializam a resposta antimicrobiana (RAKERS et al., 2013). Os AMPs encontrados nos peixes descritos são as catelicidinas, defensinas, hepcidinas, peptídeos derivados de histonas, piscidinas e pleurocidinas (RAKERS et al., 2013). Sua expressão é predominante no muco externo da pele sendo cerca de 70%, destes 52% na região opercular, enquanto apenas 29% é expresso no intestino (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023). Acredita-se que durante uma infecção que gera morte celular há um estímulo para a liberação das AMPs (VALERO et al., 2013). Outros peptídeos com atividade antimicrobiana de amplo espectro exclusivos de peixes encontrados em sua camada mucosa externa são a mixinidina, pardaxina, pelteobagrina e piscidina, que age sobre bactérias Gram-positivas, negativas e fungos (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023). Ainda há presença das proteínas no muco externo de lectinas, de lisozima (N-acetilmuramida glucanohidrolase), de proteases e de proteínas do citoesqueleto além da mucina, todas com algum mecanismo de ação antibiótico (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023).

2.3.1 Métodos de extração do muco superficial em peixes

Os métodos de extração do muco superficial em peixes ainda não são padronizados uma vez que esta não é uma matriz convencional, assim como seu armazenamento e processamento (RICHIARDI et al., 2023). Em seu trabalho Fernandez Cunha (FERNANDEZ CUNHA et al., 2024) revisa os diferentes métodos de coleta para o muco externo em peixes, dentre as técnicas mais utilizadas na literatura segundo o autor estão raspagem, ensacamento e absorção.

O método de raspagem é realizado se utilizando uma suave raspagem nas regiões de coleta, evitando-se regiões urogenitais, com auxílio de utensílios como espátulas, lâminas ou qualquer ferramenta em que com o atrito induza a produção de muco (FERNANDEZ CUNHA et al., 2024). Esse método garante a coleta do muco bruto/in natura sem a contaminação do material por solventes ou particulados. Outro método de coleta descrito na literatura é a extração por solvente ou ensacamento, onde o animal é exposto a determinados compostos químicos que estimulam a produção do muco, tais como soro fisiológico, água, bicarbonato de amônio e solução salina NaCl 50 µg, sendo essa última o material mais utilizado, o muco extraído nessas condições é denominado aquoso (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023; FERNANDEZ

CUNHA et al., 2024). Por fim o método de coleta por absorção é realizado se utilizando de materiais absorventes como tecidos, lenços de algodão, papel, que possibilitem a absorção do muco até que este fique saturado, após o material é levado para centrifuga onde o muco é separado do material de coleta (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023; FERNANDEZ CUNHA et al., 2024).

Há estudos que comparam a ação antibiótica do muco in natura dos peixes e do muco extraído com solventes, os resultados encontrados foram bem diversos, alguns estudos relatam que o muco in natura (de *Hypophthalmichthys nobilis*, *Ctenopharyngodon idella* e *Cyprinus carpio*) tendo uma ação superior ao aquoso (KUMARI; TYOR; BHATNAGAR, 2019), já outro estudo demonstrou que o muco in natura em *Channa striata* teve ação nula ao combate a infecções causadas por patógenos humanos enquanto alguns extratos tiveram uma ação positiva (WEI; XAVIER; MARIMUTHU, 2010).

2.4 Microbiota comensal

Os estudos da microbiota de diversas espécies se tornaram rotineiros, o estudo dos microrganismos que coabitam com um ser, a chamada microbiota comensal, vem se mostrando relevante e com importantes dados para o avanço da ciência nas mais diversas áreas (SYLVAIN; THOMAS, 2024). Dentre essas áreas observa-se um foco crescente na relação das bactérias comensais presentes no muco de peixes e sua ação antibiótica contra fatores externos, um foco totalmente novo e promissor. Já foi analisado em estudos que a microbiota comensal exerce funções, ainda não totalmente compreendidas, no controle de patógenos externos (REVERTER et al., 2018) e esse controle não é feito somente por competição entre os organismos mas por mecanismos mais específicos de sua relação com o hospedeiro, onde seu organismo reconhece sua microbiota comensal e está ao se deparar com um patógeno invasor produz substâncias que estimulam o sistema imune do hospedeiro a produzir uma resposta imune mais eficiente (REVERTER et al., 2018). Além disso há estudos que evidenciam que estes microrganismos comensais produzem metabólitos específicos para o combate a patógenos inibindo sua propagação (LOWREY et al., 2015; STEVENS; JACKSON; OLSON, 2016).

A pesquisa da microbiota comensal não tem sua importância apenas em investigações na área da saúde, um monitoramento destes microrganismos se mostra necessário uma vez que

uma gama significativa destes possui natureza patogênica para o homem e outras espécies (HU et al., 2021; KROTMAN et al., 2020; RASAL et al., 2023; TAPIA-PANIAGUA et al., 2018). Com o advento dos antibióticos um fenômeno antes irrelevante passou a ser uma preocupação mundial, a resistência adquirida por bactérias a antibióticos (MANYI-LOH et al., 2018), e neste ponto um monitoramento das bactérias comensais se mostra de grande importância, pois o equilíbrio adquirido por elas e seu hospedeiro em milhões de anos de evolução pode estar desbalanceado com consequências imprevisíveis (REVERTER et al., 2018).

Dos microrganismos encontrados em diversos estudos com peixes os filos que apresentaram maior ocorrência foram Fusobacterium, Proteobacteria, Actinobacteria e Bacteroidetes (SYLVAIN; THOMAS, 2024). Trabalhos recentes analisaram a composição microbiológica da mucosa externa branquial de peixes amazônicos (*Mesonauta festivus*) e demonstraram uma presença abundante de Proteobacteria, seguida por Bacterioides, uma porcentagem menor de Firmicutes (FRANÇOIS-ÉTIENNE et al., 2022). Outro estudo analisou a microbiota branquial presente em peixes de amazônicos de águas negras (*Mesonauta festivus*, *Cichla spp.*, *Triporthus albus* e *Serrasalmus rhombeus*), apresentando a presença de Betaproteobacterias algumas Alphaproteobacteria, Desulfobionia, Gammaproteobacteria e Flavobacteriia (FRANÇOIS-ÉTIENNE et al., 2023). Estudo conduzido em *Colossoma macropomum* apontou alta presença de Betaproteobacterias e Flavobacteria (SYLVAIN et al., 2016).

2.5 Antimicrobianos, Resistência Antimicrobiana e Saúde Única

A descoberta dos antimicrobianos representou um marco na medicina moderna, revolucionando o tratamento de doenças e reduzindo de forma significativa a mortalidade causada por infecções bacterianas (FERNANDES, 2017). Os antibióticos, com ação bacteriostática ou bactericida, se consolidaram como pilares no combate a agentes infecciosos, promovendo avanços não apenas na saúde humana, mas também na medicina veterinária e na agricultura (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). No entanto, desde a década de 1960, a resistência bacteriana começou a ser documentada, impulsionada principalmente pelo uso indiscriminado e exacerbado desses fármacos (FERNANDES, 2017).

O surgimento e disseminação de cepas multirresistentes têm sido cada vez mais relatados nas últimas décadas, despertando preocupação mundial pela possibilidade de desencadear epidemias que afetam tanto a saúde pública quanto a animal (ALMEIDA-VAL et al., 2000). Nesse cenário, a resistência antimicrobiana (AMR) é hoje considerada uma das dez maiores ameaças à saúde global, com projeções que apontam para 10 milhões de mortes anuais até 2050, além de impactos diretos na produção agrícola, na economia e na segurança alimentar, afetando especialmente países em desenvolvimento (ONU, 2023).

A resistência antimicrobiana se manifesta pela presença de bactérias resistentes a antibióticos (ARB) e genes de resistência (ARGs), cuja disseminação em ecossistemas aquáticos e terrestres é amplamente documentada (CHUANWU et al., 2009; MANYILOH et al., 2018). Estudos demonstram resistência genotípica e fenotípica a diferentes classes de antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, fenicóis, β -lactâmicos, macrolídeos, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclinas (FERREIRA, 2025). Esse quadro é agravado pela ineficiência dos sistemas convencionais de tratamento de água e esgoto em remover resíduos antimicrobianos, favorecendo a contaminação de solos e corpos hídricos (DANTAS, 2024).

A água doce, presente em múltiplos contextos — urbanos, agrícolas, pecuários e naturais —, funciona como importante via de disseminação de ARB e ARGs, dada sua relevância ecológica e a grande diversidade microbiana que abriga (PINHEIRO et al., 2022; ROSÁ et al., 2022). O uso desses recursos para consumo humano, irrigação, recreação e produção animal pode ser seriamente comprometido, demandando políticas públicas urgentes para garantir seu aproveitamento seguro (FERREIRA, 2025; ROSÁ et al., 2022).

Nesse contexto, o conceito de Saúde Única torna-se fundamental, pois integra a interconexão entre seres humanos, animais e meio ambiente na prevenção e no controle de doenças que transitam nesses três domínios (DANTAS, 2024). A poluição ambiental, resultante do saneamento inadequado, da fabricação farmacêutica, dos resíduos hospitalares e da produção intensiva de animais terrestres e aquáticos, é apontada como uma das principais fontes de disseminação de microrganismos resistentes e resíduos antimicrobianos (ONU, 2023). Assim, o enfrentamento da resistência antimicrobiana requer uma abordagem global, integrada e interdisciplinar, que considere não apenas o

uso racional de antibióticos, mas também a vigilância ambiental e o fortalecimento das políticas públicas de saúde.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Isolamento da microbiota presente no muco do peixe *Astronotus ocellatus* e perfil de resistência desta microbiota a antimicrobianos.

3.2 Objetivos específicos

- Isolamento e identificação da microbiota comensal presente no muco externo do peixe *Astronotus ocellatus* e da água do sistema de cultivo pelas técnicas clássicas de Microbiologia;
- Identificação da microbiota comensal presente no muco externo do peixe *Astronotus ocellatus* e da água do sistema de cultivo pelo Maldi-Tof;
- Avaliar o perfil de sensibilidade das bactérias isoladas e identificadas pelo teste de difusão de disco.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Declaração de ética:

Todos os procedimentos experimentais deste estudo foram conduzidos em estrita conformidade com o Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Lavras- UFLA, Lavras, MG, Brasil, sob o nº 3687010324 e atende às diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), seguindo as diretrizes para o cuidado e uso de animais de laboratório.

4.2 Aquisição, manejo e manutenção dos peixes

Foram adquiridos 10 juvenis de *Astronotus ocellatus* de fornecedor idôneo e transportados para o Biotério Central da Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras. Os animais permaneceram em caixa-d'água de 500 L por cinco meses, para crescimento, engorda e estabilização da microbiota, sendo monitorados quanto a pH, amônia, nitrito, temperatura e oxigênio, sob fotoperíodo de 12L:12E (LOPES, 2023). Todo o manejo foi realizado com equipamentos previamente higienizados em álcool 70%.

A dieta foi fornecida duas vezes ao dia e ajustada ao tamanho dos animais, iniciando com ração Poytara Marinhos M Black Line (50% proteína), seguida por Poytara Ciclídeos Juvenis (36% proteína) e, posteriormente, Poytara Colors Monsters Floating Black Line (42% proteína) associada à ração Alcon específica para Oscars (40% proteína). Após o período de aclimatação, seis peixes foram selecionados para o experimento segundo Liam (LIAM et al., 2015), priorizando maior escore corporal, com média de 49 g (DP = 8,6) e 13,6 cm de comprimento (DP = 0,91), uma vez que animais maiores produzem maior quantidade de muco (FERNANDEZ CUNHA et al., 2024).

4.3 Qualidade da água

Os parâmetros da água: pH, amônia e nitrito eram aferidos através de testes colorimétricos da Alcon, enquanto o oxigênio dissolvido e para temperatura foram utilizados oxímetro e termômetro digital infravermelho respectivamente. As alterações de pH foram corrigidas utilizando-se produto Acid Buffer, uma solução tampão sem fosfatos que atua na conversão de carbonatos (KH) em CO₂ diminuindo assim a alcalinidade do sistema. Os parâmetros pH e temperatura foram aferidos diariamente, e os demais parâmetros uma vez na semana.

A qualidade da água foi mantida por meio da técnica de filtragem por sistema de recirculação, composta por bomba 500L/h que transporta água da caixa de alojamento para um filtro composto por uma densa camada de perlona para filtragem física, e mídias cerâmicas

para filtração biológica. A temperatura foi mantida com auxílio de termostato 500w, 200v ajustado em 27° C.

4.4 Coleta do muco

Para a coleta do muco, foi formada uma equipe de quatro pessoas: uma responsável pela captura e anestesia dos animais; a segunda pela coleta do muco; a terceira pela pesagem, medição e registro dos dados; e a quarta pela microchipagem e monitoramento da anestesia.

Os animais foram capturados com redes previamente esterilizadas em álcool 70% e transferidos para um aquário contendo solução anestésica de eugenol (140 mg/L) (ANEST, 2007). O método de anestesia, por imersão, foi conduzido até que os peixes atingirem o estágio III de sedação, caracterizado por desequilíbrio lateral, redução dos movimentos e diminuição da frequência respiratória, observada pelo movimento opercular (ANEST, 2007; ROMANELI et al., 2018).

Após a indução anestésica, os animais foram retirados com auxílio de tecido sintético úmido, previamente esterilizado, e lavados com jato de água esterilizada. O muco foi coletado das regiões laterais por raspagem suave, utilizando pipetas, luvas cirúrgicas estéreis e da região opercular utilizando swabs estéreis (Figura 2). As amostras foram armazenadas em microtubos de 1,5 mL esterilizados e identificados conforme indivíduo e região de coleta. O processo teve duração de 1 a 3 minutos por animal. Em seguida, ainda sob efeito anestésico, os peixes foram submetidos às medições de comprimento total e peso, microchipagem (≈ 1 min) e posterior transferência para aquário de recuperação. Durante todo o procedimento, os animais foram constantemente umedecidos com água do sistema para manutenção do bem-estar.

As regiões escolhidas para coleta seguiram a literatura (DÍAZ-PUERTAS et al., 2023), evitando a área ventral próxima à papila urogenital devido à alta contaminação, e priorizando o muco lateral e opercular, cujas diferenças de composição estão relacionadas à oxigenação, regiões como cabeça, pedúnculo e nadadeiras não foram utilizadas por produzirem quantidades reduzidas de muco e não apresentarem composição relevante (HU et al., 2021; IVANOVA et al., 2018; KROTMAN et al., 2020; RASAL et al., 2023; TAPIA-PANIAGUA et al., 2018).

Foram obtidas amostras de aproximadamente 0,5 mL de muco da região lateral e um swab da região opercular de cada indivíduo (Figuras 3). Além disso, coletou-se uma amostra de 0,5 mL de água do sistema para análise.

Figura 2 – Coleta do muco superficial da região opercular



Fonte: Arquivos do autor 2025

Figura 3 – Volume de muco coletado em *Astronotus ocellatus*



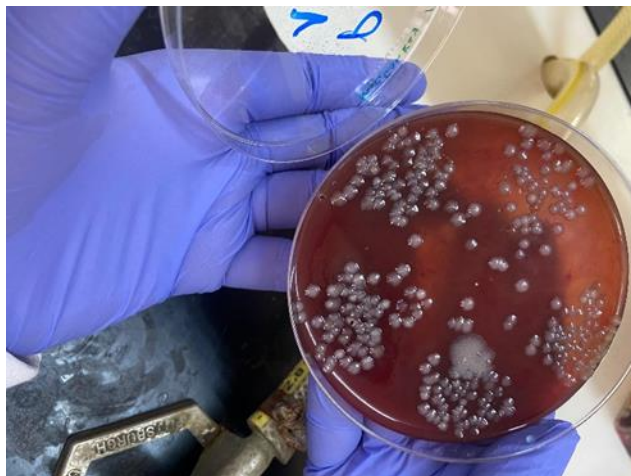
Fonte: Arquivos do autor 2025

4.5 Isolamento dos microrganismos e testes de identificação clássica

Após a coleta do muco dos animais, o material foi encaminhado ao Laboratório Integrado de Sanidade Animal e Saúde Coletiva (LISASC), localizado no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, onde foi imediatamente semeado em meios de cultura: MacConkey, para o crescimento de bactérias Gram-negativas; Ágar Sangue de ovino desfibrinado base BHI (Brain Heart Infusion), para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; Ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS), para lactobacilos; e TSA (Tryptic Soy Agar), visando a abrangência de um espectro maior de espécies.

As amostras foram submetidas à diluição seriada até 10^{-5} , utilizando solução salina estéril de NaCl 0,85% (TRAESSEL; GUERRA; GASPARETTO, 2023). O método de semeadura empregado foi o de Miles e Misra (Figura 4), escolhido para otimizar o uso de meios de cultura (HEDGES; SHANNON; HOBBS, 1978).

Figura 4 – Distribuição de colônias através da metodologia Miles e Misra



Fonte: Arquivos do autor 2025

Após a semeadura, as placas foram incubadas em estufa a 28 °C por 48 horas. Em seguida, as colônias foram contadas e caracterizadas de acordo com sua morfologia (Vide APÊNDICE I). Os diferentes morfotipos selecionados foram repicados em placas contendo o mesmo meio de cultura de origem, visando à obtenção de isolados puros, e novamente incubados a 28 °C por 48 horas. Um total 178 isolados obtidos da água de cultivo e dos animais foram escolhidos para a identificação fenotípica.

Todos os isolados foram identificados com base na morfologia das colônias, característica microscópica (Gram), teste de catalase e KOH, seguindo os procedimentos descritos por Quinn (QUINN, 1994) e posteriormente os isolados foram armazenados em freezer a -80 °C.

4.6 Identificação de espécies de microrganismos pelo método de espectrofotometria de massa (Maldi-Tof)

Para a identificação pelo Maldi-Tof (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) 159 isolados foram selecionados. A técnica consiste na identificação precisa a nível de espécie por meio da espectrofotometria de massa conhecida como Maldi-Tof (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight), nessa técnica as amostras são submetidas a curtos pulsos de laser que acarretam a dessorção e ionização molecular das

amostras, conseqüentemente é gerado o espectro de massa que é comparado a um banco de dados e assim identificado sua espécie (CALDERARO; CHEZZI, 2024).

4.7 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de Bauer Kirby, também conhecido como teste de difusão em disco ou antibiograma, segundo as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024) e realizado no LISASC. Foram selecionadas 29 amostras com base na diversidade observada nos diferentes locais de coleta. Para validação e padronização dos ensaios, utilizaram-se as cepas de referência *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e os antibióticos selecionados foram os autorizados para uso em piscicultura no Brasil (ISRAEL; DE MATOS, 2023), bem como fármacos amplamente utilizados na Medicina Humana e Veterinária: Ampicilina 10 µg, Ciprofloxacina 5 µg, Florfenicol 30 µg, Gentamicina 10 µg, Penicilina G 10 µg, Sulfatozim 25 µg e Tetraciclina 30 µg.

4.8 Análises estatísticas

Para a análise de diversidade foram calculados dois índices clássicos de diversidade alfa: Shannon e Richness. Com base nas espécies bacterianas identificadas nas amostras de muco das regiões Lateral e Opercular dos peixes. Esses índices foram comparados entre as duas regiões por meio de gráficos boxplot, que representam a distribuição da diversidade em cada grupo. Foram avaliadas diferenças nos índices de diversidade Richness e Shannon entre as regiões Lateral e Opercular do muco de peixes. Antes da comparação entre grupos, foram testados os pressupostos para aplicação de testes paramétricos. Para normalidade dos dados: Teste de Shapiro-Wilk aplicado separadamente para cada grupo (Lateral e Opercular). Para a homogeneidade de variâncias: Teste de Levene. Ambos os pressupostos foram atendidos para os dois índices (valores de $p > 0,05$), o que permitiu o uso de testes paramétricos. Para comparação entre grupos: Foi utilizado o teste ANOVA (Análise de Variância de um fator) para comparar os valores de Richness e Shannon entre as duas regiões. Após a ANOVA, foi aplicado o teste post-hoc de Tukey para explorar possíveis diferenças pareadas, os resultados obtidos foram: Richness: $p > 0,05$. Para fazer a análise destes dados foi realizada a

normalização pelo método de MinMax. A normalização foi feita para ajudar a comparar Richness vs Shannon na mesma escala.

Os dados de antibiograma foram analisados com o objetivo de avaliar os padrões de resistência dos isolados bacterianos provenientes de diferentes origens: muco lateral, muco do opérculo e água. Foi realizado o Cálculo de índice de multirresistência (MAR Index) em grupos com mais de duas amostras, e foi realizado o teste de Mann-Whitney. O teste exato de Fisher para comparar a frequência de amostras resistentes versus não resistentes (intermediárias + sensíveis) entre pares de origens (Lateral, Opérculo, Água) para cada antibiótico.

5 RESULTADOS

5.1 Identificação dos microrganismos por cultivo microbiológico

Na tabela 2 estão descritos os dados referentes aos testes microbiológicos aplicados aos isolados encontrados muco externo de *A. ocellatus*. Nesta avaliação não foi possível identificar os isolados a nível de espécie.

Tabela 2 – Resultados dos testes microbiológicos

Teste	Região lateral	Região opercular	Água	Total
Gram +	50 – 52%	23 – 52%	6 – 33%	
Gram -	44 – 46%	20 – 46%	11 – 61%	158
Erro Gram	2 – 2%	1 – 2%	1 – 6%	
Total	96	44	18	
Catalase +	71 – 74%	36 – 82%	9 – 50%	
Catalase -	22 – 23%	7 – 16%	9 – 50%	158
Erro catalase	3 – 3%	1 – 2%	0	
Total	96	44	18	
Bacilos	52 – 54%	33 – 75%	8 – 45%	

Cocos	5 – 5%	2 – 5%	2 – 11%	
Cocobacilos	7 – 7%	1 – 2%	2 – 11%	
Diplococos	0	1 – 2%	0	
Diplobacilos	5 – 5%	1 – 2%	2 – 11%	158
Estafilococos	8 – 8%	1 – 2%	0	
Estreptococos	3 – 3%	0	0	
Estreptobacilos	10 – 11%	2 – 5%	2 – 11%	
Filamentos	5 – 5%	3 – 7%	2 – 11%	
Não identificada	2 – 2%	0	0	
Total	96	44	18	158

Fonte: Autor 2025

Observou-se que coincidentemente as regiões lateral e opercular tiveram a incidência de microrganismos Gram positivos e negativos iguais, com 52% de amostras Gram +, 46% de Gram- e 2% indeterminados. Por outro lado, em Água o índice de Gram negativas foi predominante com 61% e 33% de Gram positivas .

Em relação a catalase se observou uma predominância de cepas catalase positivas, apresentando para as regiões lateral, opercular e Água respectivamente 74%, 82% e 50%, o que resulta em um total de 73% do número total de colônias isoladas.

Da morfologia encontrada é possível notar uma alta predominância de Bacilos em todas as regiões de análise abrangendo 59% dos isolados, as demais morfologias apresentaram índices abaixo de 9%. Pode-se destacar uma predominância de Cocobacilos, Estafilococos e Estreptobacilos na região Lateral, e uma distribuição uniforme de Filamentos nas três regiões de coleta. Para mais detalhes vide Apêndice II.

5.2 Identificação dos isolados bacterianos encontrados no muco externo em *Astronotus ocellatus* através da metodologia Maldi-Tof

Neste estudo foram identificados 102 isolados e 29 identificações pela metodologia Maldi-Tof. As espécies/identificados detectadas em ordem alfabética são: *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas veronii*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*,

Citrobacter braakii, *Citrobacter freundii*, *Gordonia hongkongensis*, *Janibacter melonis*, *Kocuria carniphila*, *Kocuria sp*, *Microbacterium paraoxydans*, *Micrococcus flavus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Nocardia farcinica*, *Nocardia niwae*, *Nocardia nova*, *Nocardia spp*, *Paracoccus spp*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas sp*, *Solibacillus silvestres*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus simulans*. Na tabela 3 estão apresentados os dados totais de região de coleta (Lateral, Opercular e Água) e resultados obtidos pela metodologia Maldi-Tof.

Tabela 3 – Relação animal e microrganismos identificados em análise Maldi-Tof

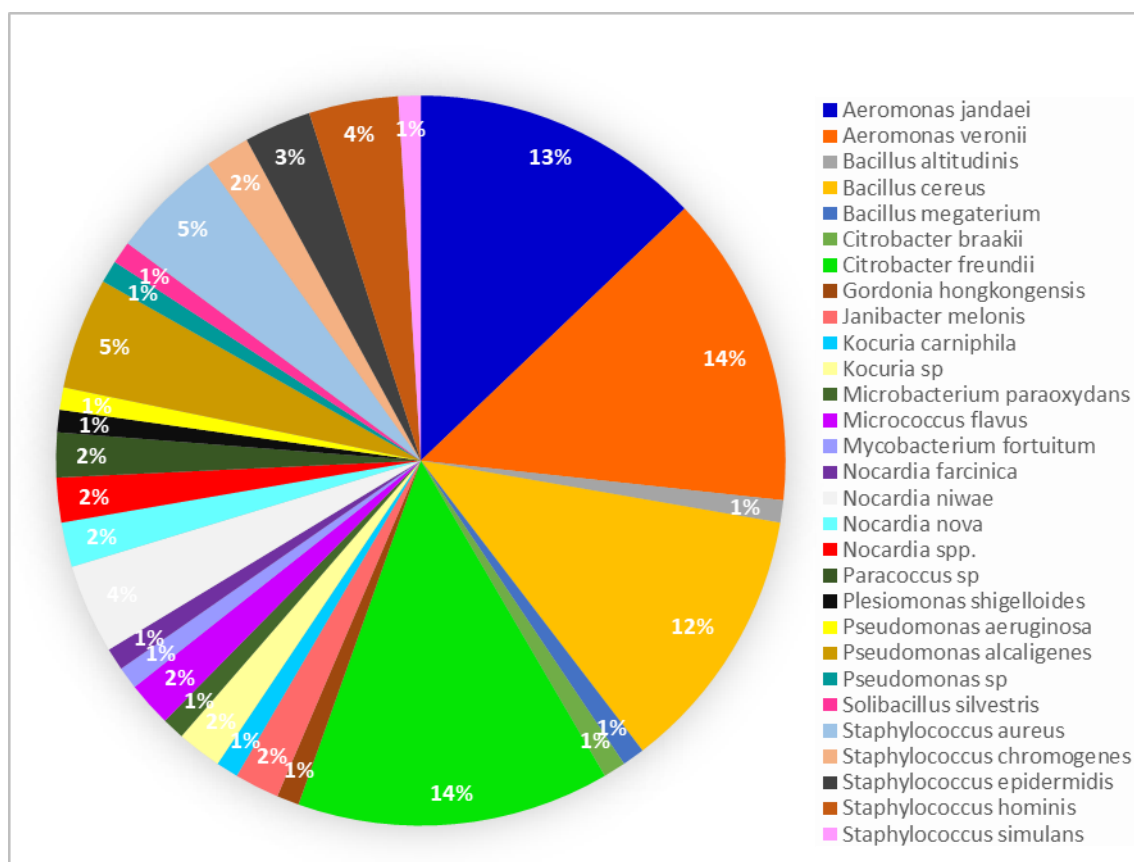
Animal	Espécie microrganismo encontrada	Contagem de Resultado Maldi-Tof	Total
Água	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	10
	<i>Aeromonas veronii</i>	3	
	<i>Bacillus cereus</i>	2	
	<i>Citrobacter freundii</i>	3	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	
Peixe 1 região Lateral	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	14
	<i>Aeromonas veronii</i>	4	
	<i>Bacillus cereus</i>	3	
	<i>Nocardia niwae</i>	2	
	<i>Staphylococcus hominis</i>	3	
	<i>Paracoccus sp</i>	1	
Peixe 1 região Opercular	<i>Aeromonas veronii</i>	1	4
	<i>Bacillus cereus</i>	1	
	<i>Pseudomonas sp</i>	1	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	
Peixe 2 região Lateral	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	8
	<i>Bacillus cereus</i>	2	
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	
	<i>Kocuria carniphila</i>	1	
	<i>Micrococcus flavus</i>	1	
	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	
Peixe 2 região Opercular	<i>Bacillus cereus</i>	1	3
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	
	<i>Solibacillus silvestris</i>	1	
Peixe 3 região Lateral	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	8
	<i>Bacillus cereus</i>	1	
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	
	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	
	<i>Bacillus megaterium</i>	1	
	<i>Janibacter melonis</i>	1	

	<i>Kocuria sp</i>	1	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	
Peixe 3 região Opercular	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	1
	<i>Aeromonas jandaei</i>	2	
	<i>Citrobacter braakii</i>	1	
	<i>Citrobacter freundii</i>	1	
Peixe 4 região Lateral	<i>Gordonia hongkongensis</i>	1	9
	<i>Kocuria sp</i>	1	
	<i>Nocardia farcinica</i>	1	
	<i>Nocardia nova</i>	1	
	<i>Nocardia spp</i>	1	
	<i>Aeromonas veronii</i>	1	
Peixe 4 região Opercular	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1	5
	<i>Nocardia spp.</i>	1	
	<i>Staphylococcus hominis</i>	1	
	<i>Staphylococcus simulans</i>	1	
	<i>Aeromonas jandaei</i>	2	
Peixe 5 região Lateral	<i>Aeromonas veronii</i>	3	16
	<i>Bacillus cereus</i>	2	
	<i>Citrobacter freundii</i>	4	
	<i>Micrococcus flavus</i>	1	
	<i>Nocardia niwae</i>	2	
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	2	
	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	
Peixe 5 região Opercular	<i>Bacillus altitudinis</i>	1	4
	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	1	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	
	<i>Aeromonas veronii</i>	1	
Peixe 6 região Lateral	<i>Citrobacter freundii</i>	3	13
	<i>Janibacter melonis</i>	1	
	<i>Paracoccus sp</i>	1	
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	1	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	2	
	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	
Peixe 6 região Opercular	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	7
	<i>Aeromonas jandaei</i>	1	
	<i>Aeromonas veronii</i>	2	
	<i>Nocardia nova</i>	1	
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	
Total Geral		102	102

Fonte: Dados do Autor 2025

É possível observar uma forte prevalência do gênero *Aeromonas* com a identificação de 14 isolados de *Aeromonas veronii* e 13 de *A. jandaei*. *C. freundii* e *B. cereus* também apresentaram significativa presença com 14 e 12 isolados identificados respectivamente. As 4 espécies representam juntas 53% da microbiota identificada no muco externo em *A. ocellatus*. Na figura 5 é possível visualizar o gráfico contendo os percentuais de espécies e gêneros identificados.

Figura 5 – Gráfico de pizza em porcentagem total de microrganismos identificados na análise em Maldi-Tof

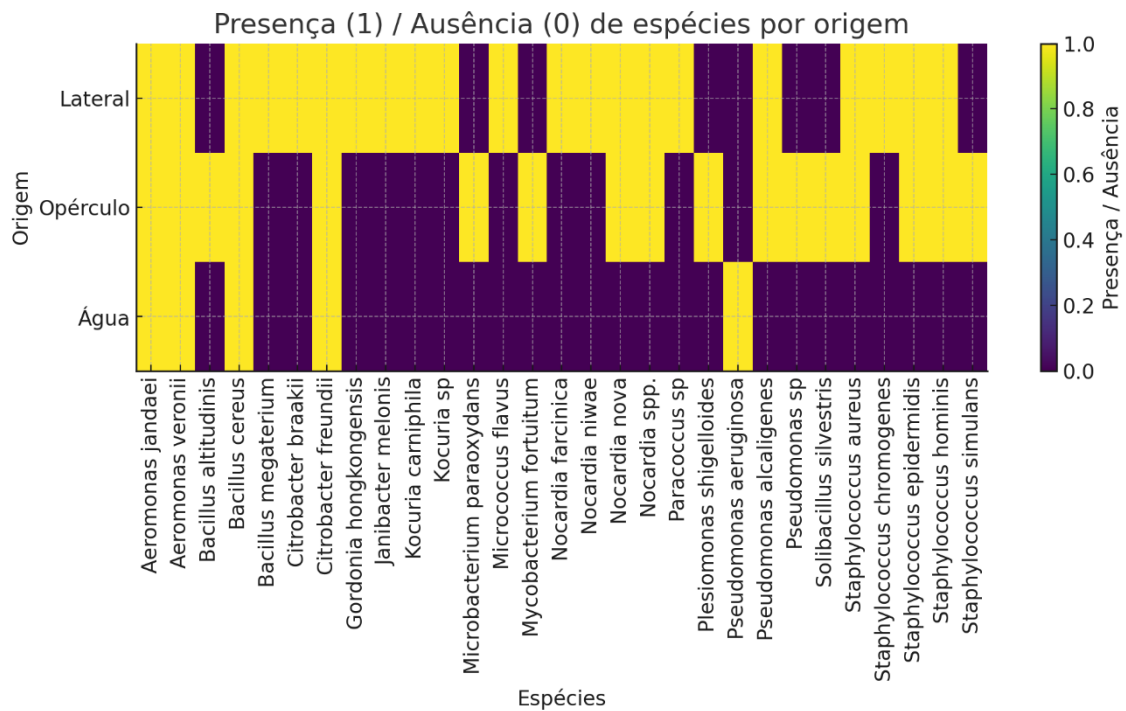


Fonte: Dados do Autor 2025

Na figura 6 podemos observar a presença total de espécies e gêneros encontrados na análise em Maldi-Tof de modo comparativo com as três regiões de estudo, lateral, opercular e Água. É interessante de se perceber que *A jandaei*, *A veronii*, *B cereus* e *C freundii* tiveram presença em todas as regiões de estudo, demonstrando assim sua prevalência em sistemas e organismos aquáticos, o que já é estabelecido na literatura.

Outro ponto interessante, é a presença do gênero *Mycobacterium* apenas na região opercular, isso pode denotar a uma necessidade de oxigenação e comensalismo deste microrganismo, assim como os outros gêneros encontrados apenas nesta região, *Plesiomonas*, *Staphylococcus* e *Solibacillus*. Heatmap (Figura 6) representando a presença e ausência de espécie por região de estudo. Eixo Vertical: região de estudo lateral, opercular e Água, eixo horizontal: espécies encontradas na análise Maldi-Tof, cores: amarelo presença, roxa ausência.

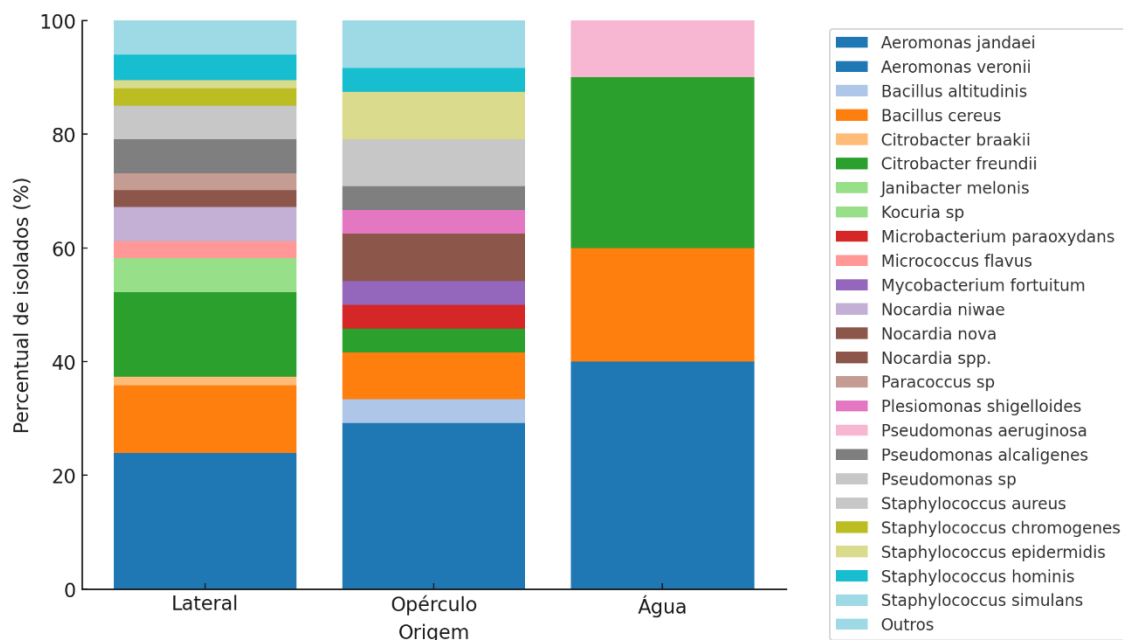
Figura 6 – Heatmap de presença/ausência total de cada espécie por origem



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

Na figura 7 podemos observar a composição total de espécies e gêneros identificados em Maldi-Tof por região de estudo (Lateral, opercular e água), percebe-se a grande prevalência de *A jandaei*, *A veronii*, *B cereus* e *C freundii*.

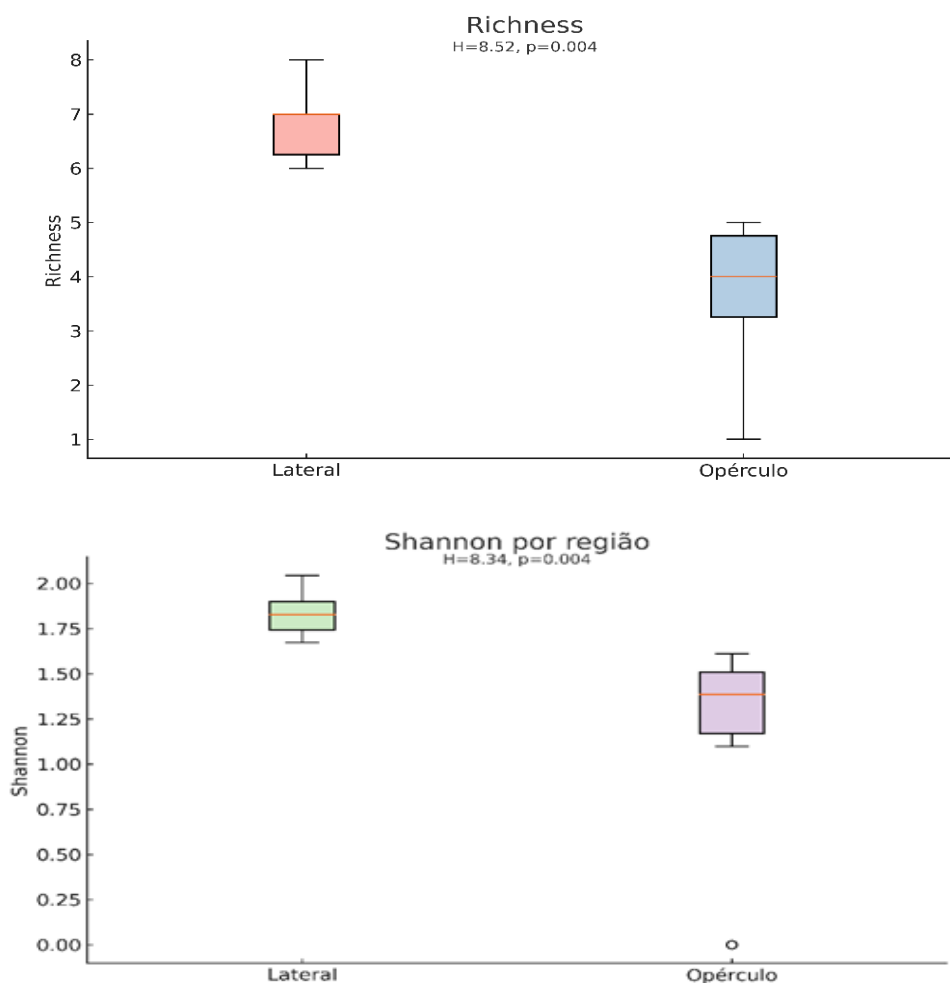
Figura 7 – Composição relativa total das espécies identificadas em Maldi-Tof



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

As diferenças na diversidade microbiana entre as regiões lateral e opérculo foram avaliadas por meio do teste não paramétrico de Kruskal–Wallis. Para o índice de Richness, observou-se uma diferença significativa entre as regiões ($H_1 = 8,52$; $p = 0,004$). De forma análoga, o índice de Shannon também apresentou diferença significativa ($H_1 = 8,34$; $p = 0,004$), indicando maior diversidade na região lateral em comparação ao opérculo conforme demonstrado na figura 8.

Figura 8 – Índices diversidade alfa: Shannon e Richness



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

5.3 Resultados do perfil de resistência dos microrganismos encontrados através de antibiograma

A análise em antibiograma revelou um perfil de resistência a Ampicilina e Penicilina G que demonstraram o maior percentual com 72% e 83% respectivamente. Sulfazotrim e Tetraciclina apresentaram valores intermediários de resistência, 28% e 34% de resistência e 59% e 52% de susceptibilidade respectivamente. Gentamicina, Ciprofloxacina e Florfenicol mostraram ser antimicrobianos eficientes, apresentando valores de 90%, 83% e 79% de susceptibilidade. Algumas amostras não foram testadas devido a não crescimento do isolado

após sucessivos testes, como ocorreu com a amostra *Plesiomonas shigelloides*. Em algumas espécies como *Nocardia nova* e *Bacillus megaterium* não havia padrão para a análise dos halos de inibição em Ampicilina com base no CLSI 2024 (DME, 2024).

A tabela 4 apresenta os dados da análise em antibiograma com seu resultado e tamanho do halo de inibição em mm. Abreviações usadas para: Peixe (P), Lateral (L) e Opercular (O). As Iniciais S, R e I se referem aos resultados do antibiograma: sensível, resistente e intermediário a ação do antibiótico, respectivamente. Os antibióticos utilizados estão representados por sua respectiva sigla, áreas não preenchidas, indicadas por –, representam amostras que não obtiveram crescimento.

Tabela 4 – Resultados da análise em antibiograma do perfil de resistência dos microrganismos encontrados.

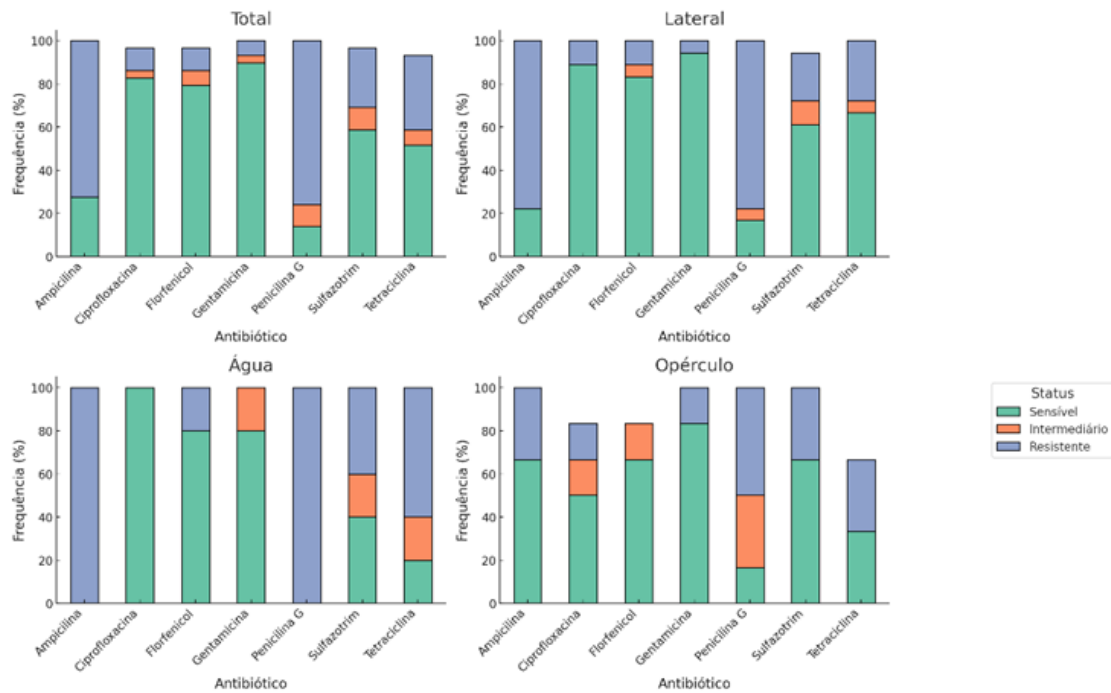
Animal	Espécie	Amp	Cip	Flor	Gent	Pen G	Sulf	Tet
Água	<i>A. veronii</i>	R - 0	S - 25	S - 31	I - 14	R - 0	S - 20	R - 8
Água	<i>P. aeruginosa</i>	R - 0	S - 35	R - 9	S - 21	R - 0	R - 0	R - 0
Água	<i>C. freundii</i>	R - 0	S - 33	S - 20	S - 22	R - 0	S - 21	S - 20
Água	<i>A. veronii</i>	R - 0	S - 23	S - 34	S - 19	R - 0	I - 15	R - 11
Água	<i>B. cereus</i>	R - 7	S - 27	S - 35	S - 27	R - 0	R - 0	I - 18
P1L	<i>A. veronii</i>	R - 0	S - 22	S - 34	S - 20	R - 0	S - 24	R - 0
P1L	<i>B. cereus</i>	R - 0	S - 32	S - 40	S - 24	R - 0	R - 11	R - 14
P1L	<i>S. hominis</i>	R - 26	S - 36	S - 30	S - 32	R - 24	S - 30	S - 26
P1O	<i>A. veronii</i>	R - 0	S - 24	S - 36	S - 22	R - 0	S - 24	R - 9
P1O	<i>S. epidermidis</i>	S - 30	S - 34	S - 38	S - 28	R - 24	R - 0	S - 26
P2L	<i>P. alcaligenes</i>	R - 0	S - 42	S - 20	S - 29	R - 0	S - 25	S - 38
P2L	<i>B. cereus</i>	R - 10	S - 30	S - 31	S - 25	R - 0	I - 15	S - 26
P2L	<i>K. carniphila</i>	S - 40	S - 30	R - 10	S - 22	S - 34	S - 20	S - 24
P3L	<i>C. freundii</i>	R - 0	S - 26	S - 25	R - 11	R - 0	S - 20	S - 19
P3L	<i>A. jandaei</i>	R - 0	S - 33	S - 32	S - 28	R - 0	S - 20	R - 11

P3L	<i>B. megaterium</i>	27	S - 28	S - 30	S - 26	S - 29	S - 29	S - 24
P3L	<i>S. epidermidis</i>	R - 24	R - 2	S - 30	S - 25	R - 19	S - 27	S - 22
P4L	<i>N. farcinica</i>	R - 9	S - 24	S - 38	S - 20	R - 0	R - 0	R - 12
P4L	<i>N. nova</i>	23	R - 14	S - 30	S - 15	R - 0	-	R - 0
P4L	<i>G. hongkongensis</i>	R - 0	S - 28	S - 24	S - 19	R - 0	R - 0	S - 32
P4O	<i>Nocardia spp</i>	R - 0	I - 19	I - 18	S - 34	R - 0	S - 30	S - 20
P5L	<i>P. alcaligenes</i>	R - 0	S - 43	S - 24	S - 29	R - 0	S - 17	S - 27
P5L	<i>C. freundii</i>	R - 0	S - 35	S - 24	S - 20	R - 0	R - 0	S - 20
P5L	<i>M. flavus</i>	S - 42	S - 22	R - 9	S - 22	S - 30	S - 28	S - 32
P5O	<i>M. paraoxydans</i>	S - 30	S - 22	S - 44	R - 8	S - 30	S - 34	R - 8
P6L	<i>C. freundii</i>	R - 0	S - 35	S - 24	S - 19	R - 0	S - 20	I - 18
P6L	<i>P. alcaligenes</i>	R - 0	S - 35	I - 17	S - 26	R - 0	I - 16	S - 22
P6O	<i>P. shigelloides</i>	S - 21	-	-	S - 15	I - 16	S - 28	-
P6O	<i>N. nova</i>	20	R - 0	S - 22	S - 28	R - 0	R - 0	-

Fonte: Arquivos do Autor 2025

Foram realizadas as análises dos dados obtidos através do antibiograma com o objetivo de avaliar os padrões de resistência dos isolados bacterianos provenientes das diferentes regiões de estudo: muco lateral, muco do opérculo e Água. Na figura 9 temos o gráfico de barras empilhadas representativo do processamento dos dados.

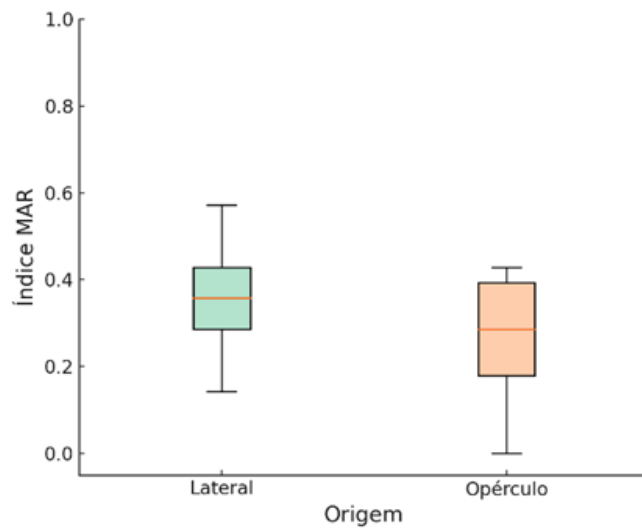
Figura 9 – Representação da sensibilidade a antimicrobianos por região de estudo.



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

O teste de cálculo de multirresistência (MAR Index) não demonstrou diferença estatística significativa entre as regiões de estudo lateral e opercular ($p > 0.05$), como pode ser observado na figura 10.

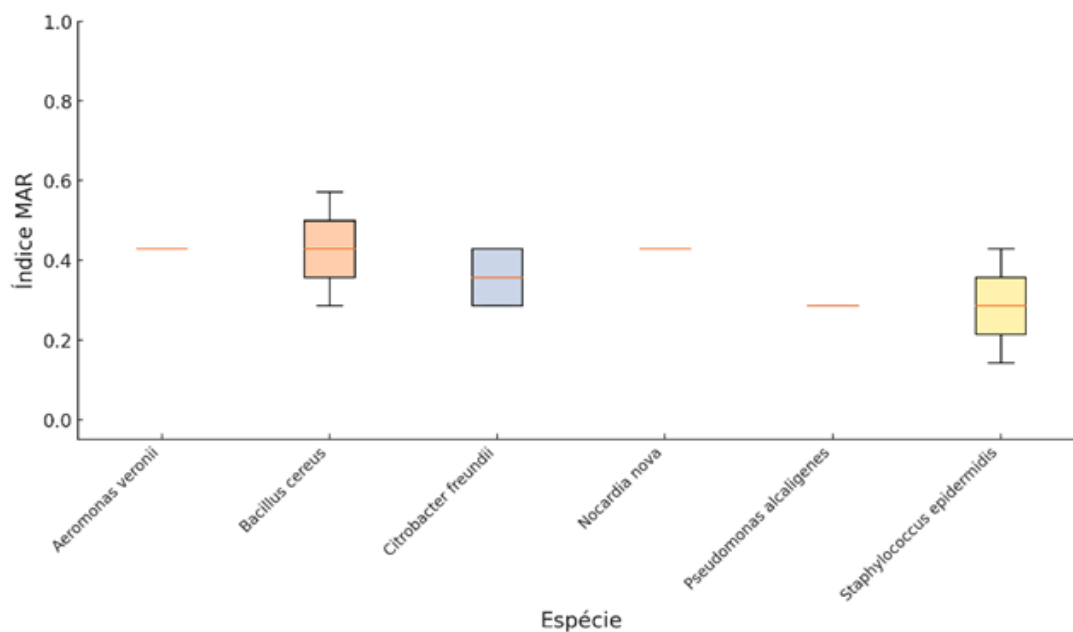
Figura 10 – Índice de multirresistência (MAR) referente a região lateral e opercular.



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro
2025

Na figura 11 é apresentado o boxplot do índice MAR por espécie, sem considerar a origem (Lateral/Opérculo/Água), incluindo apenas espécies com pelo menos 2 amostras no total.

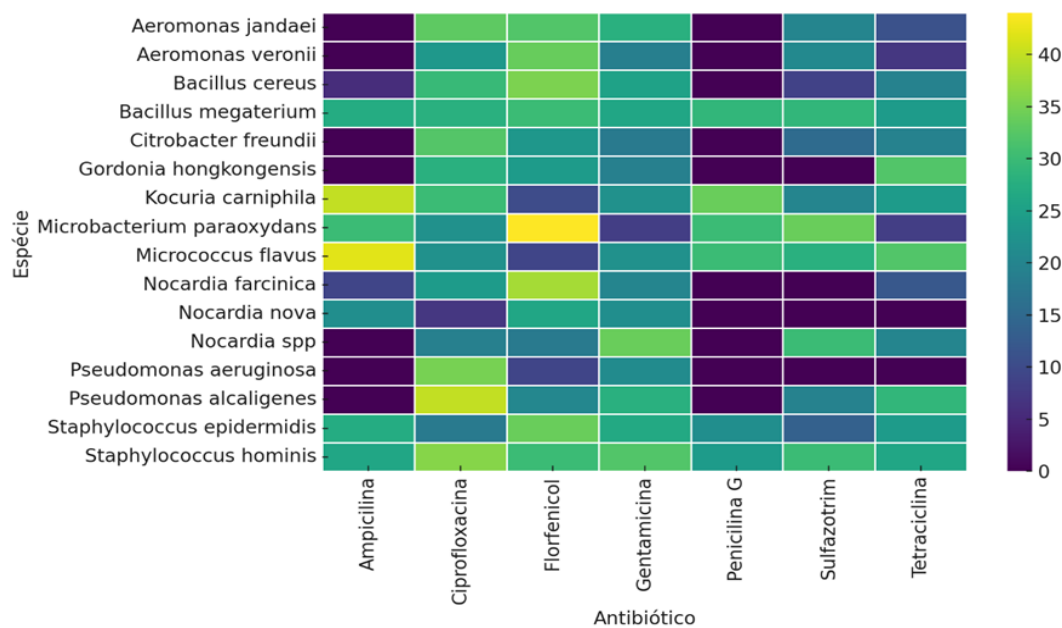
Figura 11 – Índice de multirresistência (MAR) em relação as espécies



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro

Para avaliação do perfil de multirresistência foi realizada uma análise em heatmap (Figura 14) referente ao diâmetro dos halos de inibição. Nesta imagem o eixo vertical representa espécies bacterianas (exceto *Plesiomonas shigelloides*), o eixo horizontal os antibióticos avaliados. A escala de cor indica a média da área de inibição em mm, quanto mais clara a cor, maior a sensibilidade do isolado ao antibiótico; quanto mais escura, menor a inibição e, portanto, maior a resistência potencial. Espécies com coloração predominantemente claras (áreas de inibição maiores) demonstram perfil de sensibilidade mais favorável, indicando que os antibióticos foram eficazes na inibição do crescimento bacteriano. Espécies com cores escuras em várias colunas refletem resistência generalizada aos antibióticos testados, evidenciada pelas menores áreas de inibição. As demais figuras em heatmap seguirão este mesmo padrão (Figuras 12).

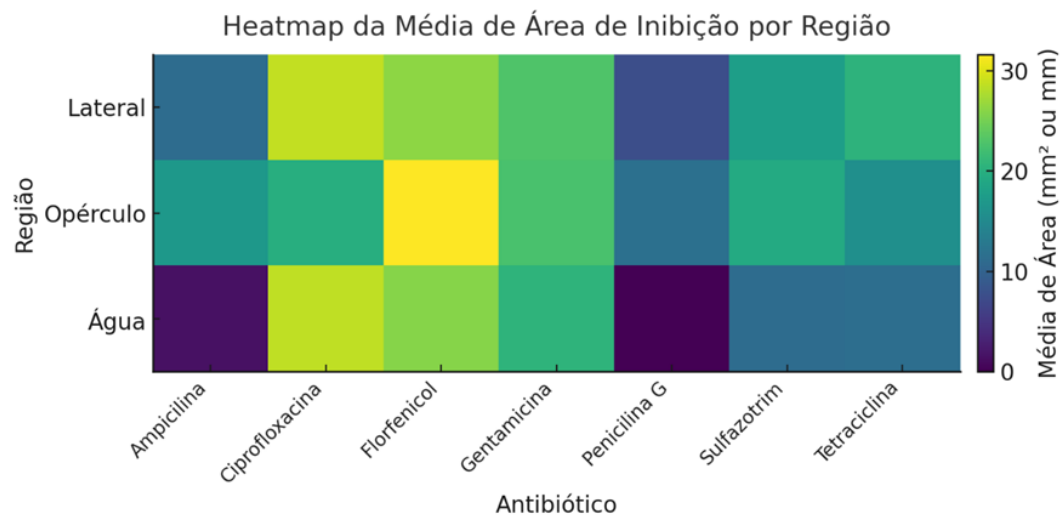
Figura 12 – Análise em Heatmap referente às áreas de inibição



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

O teste exato de Fisher não demonstrou nenhuma diferença estatística entre as frequências comparadas entre pares das regiões de origem (Lateral, opercular e Água) para cada antibiótico testado ($p > 0,05$). A figura 13 apresenta o heatmap referente a análise, com a área média de inibição por antibiótico e por origem.

Figura 13 – Análise em Heatmap referente ao teste exato de Fisher



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

A figura 14 apresenta o heatmap representando a área de inibição para todos os animais e para a água, com a média desconsiderada. As áreas em branco são de amostras que não foi possível medir os alôs de inibição por falta de antibióticos ou por não crescimento das colônias.

Figura 14 – Heatmap representativo da área de inibição total das amostras.



Fonte: Dados do Autor, Análise William Cordeiro 2025

6 DISCUSSÃO

6.1 Análise da microbiota encontrada em *A. ocellatus*

É possível observar uma forte prevalência do gênero *Aeromonas* com a identificação de 14 isolados de *Aeromonas veronii* e 13 de *A. jandaei*, ressaltando a marcante presença deste gênero no ambiente aquático. Porém também aponta um sinal de alerta uma vez que possui capacidades patogênicas de relevância médica não somente para organismos aquáticos, mas também em animais domésticos e para o ser humano

conforme descrito por Fernández-Bravo (FERNÁNDEZ-BRAVO; FIGUERAS, 2020). Majeed (MAJEED et al., 2023) cita diversas doenças que podem ser desencadeadas por *A.veronii*, que evoluem desde infecções em feridas, gastroenterite e diarreia até quadros mais graves como meningite, pneumonia e septicemia. Os autores realizaram um estudo do gênero *Aeromonas* como um todo e relatam o aspecto de diversas espécies, dentre elas *A.jandaei* é mencionada como um causador de virulência em organismos aquáticos não abrangendo fortemente organismos terrestres, os autores citam as espécies *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii* como maior importância médica para o ser humano e outros tetrápodes (FERNÁNDEZ-BRAVO; FIGUERAS, 2020; MAJEED et al., 2023).

Outro microrganismo que se mostrou abundante no muco superficial de *A. ocellatus* foi a espécie *Bacillus cereus*, esta espécie é comumente encontrada nos solos, mas também encontrada em vegetais rasteiros e animais de pastagem (TIRLONI et al., 2022). Sua presença no muco superficial de peixes nativos no Brasil é considerável, uma vez que há abundância de chuvas e irrigação na região o que pode transportar por lixiviação os microrganismos a corpos d'água (BRILLARD et al., 2015). *B. cereus* possui características preocupantes, com um elevado fator de virulência esse espécime é reconhecido por causar quadros de intoxicação alimentar, acarretando em síndromes eméticas ou diarreicas (TUIPULOTU et al., 2021), estes efeitos se dão as enterotoxinas produzidas pela espécie: termolábeis e eméticas (TORKI BAGHBADORANI; RAHIMI; SHAKERIAN, 2023). *B.cereus* também age como um patógeno oportunista causando infecções localizadas em feridas e nos olhos (endoftalmite e ceratite), bem como doenças sistêmicas em pessoas imunossuprimidas conforme mencionado por MONIKA (MONIKA; DIDIER; M., 2019). *B.cereus* também está relacionado a casos de infecção hospitalar, infecções do sistema nervoso central, infecções do trato respiratório e urinário, endocardite, infecções de feridas e septicemia são quadros que acometem pacientes que contraem esse patógeno conforme demonstra Monika (MONIKA; DIDIER; M., 2019). Exemplares desta espécie possuem um grau de sobrevivência elevado a ambientes inóspitos, sendo microrganismos formadores de esporos, já foram identificados em ambiente altamente controlados e improváveis como interiores de espaçonaves (MOHAMMADI et al., 2023).

Outras espécies presentes no muco externo em *A.ocellatus*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Staphylococcus hominis e epidermidis* e o gênero *Nocardia* (*Farcinican*, *nova*, *niwae* e *spp*).

Pargali (PARGALI; SALEHI; BAHADOR, 2025) descrevem em seu estudo uma análise de espécies de *Nocardia* e *Mycobacterium* no contexto hospitalar. Já é de conhecimento científico que cepas de *Mycobacterium* causam transtornos tanto na piscicultura acometendo diversos organismos aquáticos (com caráter zoonótico) como também acomete animais terrestres e seres humanos tanto como uma espécie de interesse *Mycobacterium tuberculosis* por exemplo (PARGALI; SALEHI; BAHADOR, 2025). Espécies de *Mycobacterium* tem em sua maioria ação oportunista, a espécie encontrada em nosso estudo *M. paraoxydans* tem pouca relevância médica sendo relatada em casos isolados (CHOROST et al., 2018, SERANDOUR et al., 2025), os estudos voltados para esta espécie vem sendo relacionados para seu potencial degradativo (JI et al., 2024), assim como ela *Pseudomonas alcaligenes*, também encontrada no presente estudo, é uma espécie com potencial degradativo e raros casos de infecções oportunistas em humanos e animais (SUZUKI et al., 2013). O gênero *Nocardia* é comumente encontrado em solos e água e possui grau de patogenicidade associada a graves infecções no sistema respiratório, no cérebro e na pele de pessoas imunocomprometidas, também é um gênero que frequentemente apresenta resistência aos medicamentos conforme descrito por Pargali (PARGALI; SALEHI; BAHADOR, 2025). Essas análises revelam uma importância no monitoramento destes microrganismos principalmente para *Nocardia* que demonstrou uma considerável presença nas amostras de muco e conseqüentemente no ambiente.

A presença de *Staphylococcus hominis*, *epidermidis* e *simulans* é um ponto que pode parecer intrigante à primeira vista, visto que são microrganismos comumente encontrados e associados a pele humana (NAMVAR et al., 2014; SEVERN et al., 2022) o que pode sugerir uma contaminação apesar dos protocolos de segurança adotados para este experimento, entretanto estudos realizados já ressaltam a presença de *Staphylococcus*, incluindo as espécies isoladas neste estudo, em sistemas de produção e em peixes (ÇANAK; TIMUR, 2020; ŘEHULKA; MAREJKOVÁ; PETRAS, 2020). Há o interesse de se investigar o quanto esses microrganismos estão presentes e coexistindo no ambiente aquático e o quanto isso pode interferir nos ecossistemas e na saúde animal e humana. Vale se ressaltar que *S. simulans*, é um patógeno que comumente é encontrado em animais de criação (SHIELDS; TSCHETTER; WANAT, 2016), causando patogenias o que difere ainda mais a diversidade encontrada de *Staphylococcus* na mucosa externa em *A. ocellatus*.

Citrobacter freundii é encontrado nos solos, água e sistema digestivo de vertebrados, por essas razões sua presença nas amostras de muco é esperada (MESEGUER RUIZ et al., 2002). Shields (SHIELDS; TSCHETTER; WANAT, 2016) destaca este isolado juntamente com *C. koseri*, espécies de interesse médico, são habitualmente associados a infecções oportunistas e de gravidade elevada em humanos. O estudo e monitoramento desta espécie se mostra indispensável, há registros de casos de infecções graves e óbitos decorrentes desta espécie juntamente com a presença de alta resistência a antibióticos (LIU et al., 2018).

A presença de espécies como, *Plesiomonas aeruginosa*, *Mycobacterium fortuitum*, *Kocuria sp* *Kocuria carniphila*, *Plesiomonas shigelloide*, levanta um alerta uma vez que são bactérias causadoras de patologias e zoonoses, *P. aeruginosa* é um microrganismo que vem causando surtos e demonstrando resistência a antimicrobianos como descreveu Neves (NEVES et al., 2011), igualmente o gênero *Kocuria* que compreende *Kocuria sp* e *Kocuria carniphila*, relatadas neste presente estudo, também vem sendo alvo de pesquisas, ele é um microrganismo normalmente encontrada nos solos, pele e sistema digestivo de mamíferos conforme descrito por Ziogou (ZIOGOU et al., 2023), contudo seu caráter infeccioso oportunista em chamando a atenção na medicina humana, principalmente em pacientes imunossuprimidos (ZAHEEN et al., 2022). *Mycobacterium fortuitum*, é encontrada nos mais diversos ambientes e também se destaca por sua ação oportunista acometendo animais e humanos, sua contaminação causa infecções respiratórias, cutâneas ou de tecidos moles em indivíduos imunodeficientes conforme citado por Roberto Tavolari (ROBERTO TAVOLARI JORTIEKE; ROCHA JOAQUIM; FUMAGALLI, 2025). *Plesiomonas shigelloide* conforme descrito por Xia (XIA et al., 2025) é um patógeno oportunista que pode acometer aves, mamíferos e organismos aquáticos causando os mais diversos sintomas como infecções entéricas, abscessos e septicemia.

A presença de *Bacillus altitudinis*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus flavus*, *Gordonia hongkongensis* e *Solibacillus silvestres*, no muco externo de *A. ocellatus* demonstra uma rica fauna bacteriana, estes são microrganismos naturais dos solos e água e não apresentam um risco patogênico eminente. *Bacillus altitudinis* possui uma alta capacidade degradativa e um alvo de interesse para a indústria (ZHAO et al., 2022), igualmente *Bacillus megaterium* e *Gordonia hongkongensis*, também são microrganismos ambientais de interesse industrial, produzindo enzimas específicas em

escala, e compostos bioativos e antioxidantes respectivamente (RHENALS-MONTOYA et al., 2024; VARY et al., 2007). Há poucos documentos relacionados a *Solibacillus silvestris*, o que torna intrigante sua presença nas amostras de muco, o que denota uma importância maior no estudo desta espécie.

6.2 Microrganismos multirresistentes

Das espécies analisadas, grande parte demonstrou um perfil de multirresistência a antibióticos. Medicamentos como a Ampicilina e Penicilina já vem sendo alvo de estudos como medicamentos que já demonstram ineficácia em sua ação antibiótica (FERREIRA, 2025). Ainda segundo o autor, microrganismos também vem apresentando relativa resistência a tetraciclina o que corrobora com os dados obtidos em nosso estudo (FERREIRA, 2025). Pavelquesi (PAVELQUESI et al., 2021) disserta em seu trabalho sobre a resistência desenvolvida por *Salmonella spp.* a Tetraciclina e Sulfonamidas, e como esse evento pode estar relacionado ao uso excessivo destes medicamentos na pecuária suína e avícola, o que é relatado por Saha (SAHA et al., 2023) como um dos agravantes para a presença de genes de resistência a Sulfonamidas em corpos d'água.

Ciprofloxacina apresentou ótimos valores de susceptibilidade neste estudo, o que contrasta com dados relacionados à saúde humana, onde os microrganismos vem apresentando valores de resistência ao fármaco conforme descreveu Shariati (SHARIATI et al., 2022). Embora não seja um antibiótico de uso em pisciculturas e pecuária sua presença já foi descrita em níveis significativos no ambiente aquático (IGWEGBE et al., 2021). A eficácia da Gentamicina neste trabalho demonstra conformidade com os dados científicos (GAO et al., 2021), porém sua presença como contaminante em baixas concentrações em ambientes aquáticos pode acarretar um aumento na abundância de transcrição de genes de resistência à gentamicina (SANCHEZ-CID et al., 2022). O Florfenicol é um antibiótico usado na aquicultura em diversos países incluindo o Brasil, sua ação eficaz neste presente trabalho apresenta um cenário positivo para sua utilização, contudo deve ser observado com cautela uma vez que seu uso demasiado propicia a seleção de genes de resistência para o mesmo conforme descreveu Zhang (ZHANG et al., 2022).

Dentre as espécies analisadas a multirresistência em *Aeromonas veronii* apresentada neste experimento demonstra um quadro preocupante. Fernandes Santos (FERNANDES SANTOS et al., 2024) descreve em seu artigo sobre a prevalência de cepas contendo genes de resistências deste microrganismo em diversos ambientes aquáticos, e o risco dessa presença para a saúde humana. *Pseudomonas aeruginosa* apresentou multirresistência a quatro antibióticos, o estudo de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (MDRP) vem sendo debatido cada vez mais na comunidade científica devido ao seu potencial ofensivo a saúde humana (YASUDA et al., 2023). Sua susceptibilidade a gentamicina e ciprofloxacina corrobora com os dados científicos uma vez que são um dos poucos antibióticos eficazes contra essa espécie, em contrapartida algumas cepas vêm expressando genes de resistência contra estes antibióticos quando amostrados em conjunto (YASUDA et al., 2023). A Multirresistência encontrada no gênero *Nocardia* também se mostra um quadro preocupante, uma vez que este é um gênero ambiental e está associado a diversos quadros infecciosos na saúde humana (HAO et al., 2022). Esse fenômeno já vem sendo monitorado nos últimos anos e *Nocardia* demonstra um alto fator de resistência a diversos antibióticos, o que é preocupante e necessita de estudos mais aprofundados que visem entender esses mecanismos de resistência e prevenção para os tais (HAO et al., 2022; PARGALI; SALEHI; BAHADOR, 2025).

Bacillus cereus apresentou multirresistência a quatro antibióticos testados neste trabalho, Ampicilina, Penicilina G, Sulfazotrim e Tetraciclina o que corrobora com os dados descritos por Torki Baghbadorani (TORKI BAGHBADORANI; RAHIMI; SHAKERIAN, 2023) em relação a Ampicilina e Penicilina G demonstrando sua resistência a antibióticos beta-lactâmicos, este dado também é evidenciado por Mohammadi (MOHAMMADI et al., 2023), e que em seu trabalho também demonstrou a prevalência de susceptibilidade a Gentamicina. Estes dados demonstram a importância de se atentar a medidas de profilaxia a fim de se evitar contaminações, principalmente decorrentes de produtos alimentícios, principal forma de acometimento (ADAMSKI et al., 2023), uma vez que este microrganismo se mostrou altamente abundante no ambiente e muco externo em *A. ocellatus*, reafirmando sua forte presença no ambiente.

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho pode-se concluir que há uma alta diversidade de microrganismos presentes no muco externo de *Astronotus ocellatus*, totalizando 29 identificações (espécies e gêneros) em ambiente controlado. Uma relação entre composição da microbiota comensal e do ambiente em que foram mantidos também foi traçada o que revelou uma forte presença das espécies, em ambas regiões de estudo, de *A. jandaei*, *A. veronii*, *B. cereus* e *C. freundii*, demonstrando assim a influência do meio ambiente na composição da microbiota externa.

Dentre os antibióticos analisados, os isolados apresentaram uma alta resistência a Ampicilina e Penicilina G, em contrapartida demonstraram susceptibilidade aos antibióticos do uso humano Gentamicina, Ciprofloxacina com 90% e 83% de sensibilidade respectivamente. Analisando os antibióticos de uso na piscicultura, Florfenicol apresentou uma ação significativa abrangendo 79% de susceptibilidade nas amostras testadas. Esses dados evidenciam uma boa sensibilidade da microbiota a distintas classes de medicamentos.

A presença de multirresistência em *Aeromonas veronii*, *B. cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e o gênero *Nocardia* ressalta a importância do monitoramento destes microrganismos no ambiente, uma vez que isto pode implicar em danos significativos para a saúde única.

REFERÊNCIAS

- ©FAO. 2025. **Perfiles de Pesca e Acuicultura por Países. Brasil, 2020**. Disponível em: <<https://www.fao.org/fishery/es/facp/BRA?lang=en>>. Acesso em: 18 set. 2025.
- ADAMSKI, P. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Bacillus* sp. isolated from raw milk. **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1065, 2023.
- ALMEIDA-VAL, V. M. F. et al. Scaling effects on hypoxia tolerance in the Amazon fish *Astronotus ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): contribution of tissue enzyme levels. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 125, n. 2, p. 219–226, 2000.
- ANEST, U. Embrapa Anestesia oleo de cravo em peixes 2007. 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuário 2025 peixe BR da piscicultura**. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario-2025/>>.
- BRILLARD, J. et al. The water cycle, a potential source of the bacterial pathogen *Bacillus cereus*. **BioMed research international**, v. 2015, n. 1, p. 356928, 2015.
- CALDERARO, A.; CHEZZI, C. MALDI-TOF MS: a reliable tool in the real life of the clinical microbiology laboratory. **Microorganisms**, v. 12, n. 2, p. 322, 2024.
- ÇANAK, Ö.; TIMUR, G. An initial survey on the occurrence of staphylococcal infections in Turkish marine aquaculture (2013–2014). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 36, n. 6, p. 932–941, 2020.
- CATELANI, P. A. et al. When a freshwater invader meets the estuary: the peacock bass and fish assemblages in the São João River, Brazil. **Biological Invasions**, v. 23, n. 1, p. 167–179, 2021.
- CHAUDHARY, A. et al. An Expansion of the Invasive Species *Gussevia asota* Kritsky, et al., 1989 (Monogenea: Dactylogyridae) In Western Uttar Pradesh, India. **International Journal of Zoology and Animal Biology**, v. 7, n. 2, p. 1–9, 2024.
- CHOROST, M. S. et al. Bacteraemia due to *Microbacterium paraoxydans* in a patient with chronic kidney disease, refractory hypertension and sarcoidosis. **JMM case reports**, v. 5, n. 11, p. e005169, 2018.
- CHUANWU, X. et al. Prevalence of Antibiotic Resistance in Drinking Water Treatment and Distribution Systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 17, p. 5714–5718, 1 set. 2009.
- CLSI. **Antibiograma: interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima**. Disponível em: <<https://www.dme.ind.br/wp-content/uploads/Bula-de-Bancada-CLSI-2022.pdf>>.
- DANTAS, J. F. DE A. Resistência aos antibióticos em uma visão de saúde única: bactérias resistentes no meio hídrico. 2024.
- DEAN, E. M. et al. America's Most Wanted Fishes: cataloging risk assessments to prioritize invasive species for management action. **Management of Biological Invasions**, v. 15, n. 1, p. 1–20, 2024.

DÍAZ-PUERTAS, R. et al. **Fish Skin Mucus Extracts: An Underexplored Source of Antimicrobial Agents.** *Marine Drugs* Multidisciplinary Digital Publishing Institute, , 7 jun. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-3397/21/6/350>>. Acesso em: 13 jul. 2023

DME DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ESPECIALIZADOS. **Antibiograma: Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima.** 34. ed. [s.l: s.n.].

DOS SANTOS SILVA, A.; E BARROS, L. S. S. Food safety and fish farming: Serious issues for Brazil. **Food and Nutrition Sciences**, v. 11, n. 2, p. 123–152, 2020.

EMBRAPA PESCA E AQUICULTURA. **Peixes Ornamentais no Brasil: Mercado, legislação, sistemas de produção e sanidade.** [s.l: s.n.].

FERNANDES, A. L. **Antibióticos do século XX-ascensão e declínio.** , 2017.

FERNANDES SANTOS, F. et al. Unveiling novel threats: Urban river isolation of *Aeromonas veronii* with unusual VEB-28 extended-spectrum β -lactamase and distinct mcr variants. **Chemosphere**, v. 357, p. 141918, 2024.

FERNÁNDEZ-BRAVO, A.; FIGUERAS, M. J. **An Update on the Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Epidemiology, and Pathogenicity.** *Microorganisms*, 2020.

FERNANDEZ CUNHA, M. et al. Methods for the Collection of Fish Mucus: A Systematic Review. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 32, n. 2, p. 334–368, 2 abr. 2024.

FERREIRA, P. F. A. Resistência a antimicrobianos em solos e resíduos de origem animal sob uma perspectiva de saúde única. 2025.

FRANÇOIS-ÉTIENNE, S. et al. Genomic and Environmental Factors Shape the Active Gill Bacterial Community of an Amazonian Teleost Holobiont. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 6, p. e02064-22, 29 nov. 2022.

FRANÇOIS-ÉTIENNE, S. et al. Important role of endogenous microbial symbionts of fish gills in the challenging but highly biodiverse Amazonian blackwaters. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 3903, 2023.

GAO, Y. et al. Gentamicin combined with hypoionic shock rapidly eradicates aquaculture bacteria in vitro and in vivo. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 641846, 2021.

GELLER, I. V et al. Aquarismo no Brasil: do simples ao complexo eo descarte de espécies não nativas. **Bol. Soc. Bras. Ictiol.(Online)**, v. 131, n. 1, p. 33–52, 2020.

GOLEBIE, E. J. et al. Confronting the “knowledge-action gap” in invasive species prevention: A study of biosecurity behaviors among aquarium hobbyists in Illinois, USA. **Water Biology and Security**, v. 4, n. 3, p. 100337, 2025.

GOZLAN, R. E. Response by R Gozlan Biodiversity crisis and the introduction of non-native fish: Solutions, not scapegoats. **Fish and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 109–110, 2009.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. DA S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, p. 667–679, 2010.

GUTIERRE, S. M. M.; SCHOFIELD, P. J.; PRODOCIMO, V. Salinity and temperature tolerance of an emergent alien species, the Amazon fish *Astronotus ocellatus*. **Hydrobiologia**, v. 777, n. 1, p. 21–31, 2016.

HAO, W. et al. Epidemiology and Antimicrobial Resistance Profiles of the *Nocardia* Species in China, 2009 to 2021. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e01560-21, 2 mar. 2022.

HEDGES, A. J.; SHANNON, R.; HOBBS, R. P. Comparison of the precision obtained in counting viable bacteria by the spiral plate maker, the droplette and the Miles & Misra methods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 57–65, 1978.

HU, C. et al. Shift in skin microbiota and immune functions of zebrafish after combined exposure to perfluorobutanesulfonate and probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 218, p. 112310, 2021.

IBAMA. **Estatísticas de pesca 2007**. Disponível em:
<<https://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/estatisticadepescadigital.pdf>>.

IGWEGBE, C. A. et al. Adsorption of ciprofloxacin from water: A comprehensive review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 93, p. 57–77, 2021.

ISRAEL, L. G.; DE MATOS, M. R. O USO DE ANTIBIÓTICOS NA PISCICULTURA. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 8, p. 2758–2773, 2023.

IVANOVA, L. et al. **Workflow for the Targeted and Untargeted Detection of Small Metabolites in Fish Skin Mucus**. **Fishes**, 2018.

JAIN, A. K.; KARUNASAGAR, I. Ornamental Fish and Aquarium Trade in the Globalized World. In: **Ornamental Fisheries and Aquarium Keeping**. [s.l.] CRC Press, 2025. p. 1–70.

Jl, L. et al. Insights into the biodegradation of pentachlorobiphenyl by *Microbacterium paraoxydans*: proteomic and metabolomic studies. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1389805, 2024.

KROTMAN, Y. et al. Dissecting the factors shaping fish skin microbiomes in a heterogeneous inland water system. **Microbiome**, v. 8, n. 1, p. 9, 2020.

KUMARI, S.; TYOR, A. K.; BHATNAGAR, A. Evaluation of the antibacterial activity of skin mucus of three carp species. **International Aquatic Research**, v. 11, n. 3, p. 225–239, 2019.

LIAM, L. et al. Topographical Mapping of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Microbiome Reveals a Diverse Bacterial Community with Antifungal Properties in the Skin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 19, p. 6915–6925, 1 out. 2015.

LIU, L.-H. et al. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 51, n. 4, p. 565–572, 2018.

LOPES, A. C. C. Ritmos biológicos de parâmetros fisiológicos em peixes amazônicos. 2023.

LOWREY, L. et al. Topographical mapping of the rainbow trout (*Oncorhynchus*

mykiss) microbiome reveals a diverse bacterial community with antifungal properties in the skin. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 19, p. 6915–6925, 2015.

MAJEED, S. et al. Occurrence of potential virulence determinants in *Aeromonas* spp. isolated from different aquatic environments. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 3, p. lxad031, 1 mar. 2023.

MANSUR, V. F. R. IDENTIFICAÇÃO DO SEXO DO ORNAMENTAL AMAZÔNICO *Astronotus ocellatus* (AGASSIZ, 1831), POR MEIO DE VIDEOCELOSCOPIA E BIOPSIA GONADAL. 2018.

MANSUR, V. F. R. et al. Sex identification of the ornamental amazon fish *Astronotus ocellatus* by videoceloscopy and gonadal biopsy. **Animal Reproduction Science**, v. 230, p. 106780, 2021.

MANYI-LOH, C. et al. **Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications. Molecules**, 2018.

MESEGUER RUIZ, V. et al. **Bacteriemia por *Citrobacter freundii*: presentación de dos casos**. Anales de Medicina Interna. **Anais...SciELO Espana**, 2002.

MOHAMMADI, B. et al. Profiling toxin genes and antibiotic resistance in *Bacillus cereus* isolated from pre-launch spacecraft. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1231726, 2023.

MONIKA, E.-S.; DIDIER, L.; M., K. T. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 3, p. 10.1128/microbiolspec.gpp3-0032–2018, 17 maio 2019.

MUUSZE, B. et al. Hypoxia tolerance of Amazon fish: Respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus Ocellatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 120, n. 1, p. 151–156, 1998.

NAMVAR, A. E. et al. Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. **GMS hygiene and infection control**, v. 9, n. 3, p. Doc23, 2014.

NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V. H. **Fishes of the World**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2016.

NEVES, P. R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 409–420, 2011.

NICO, L.; FULLER, P.; NEILSON, M. ***Astronotus ocellatus* (Agassiz in Spix and Agassiz, 1831): US Geological Survey, Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL.** , 2019.

OLIVEIRA, A. N. A. P. G. Comportamento de peixes oscar *Astronotus ocellatus* (Pisces, Cichlidae) em aquário. 2016.

ONU, O. DAS N. U. **Preparando-se para superbactérias. Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, 2023**. [s.l.: s.n.].

PAES, M. DO C. F. et al. Early development of *Astronotus ocellatus* under stereomicroscopy and scanning electron microscopy. **Zygote (Cambridge, England)**,

v. 20, n. 3, p. 269–276, ago. 2012.

PARGALI, R. H.; SALEHI, M. B.; BAHADOR, N. Molecular epidemiology and antibiotic resistance profiles of Mycobacterium and Nocardia species in patients with cancer: Detection of multidrug-resistant and extensively drug-resistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 204, p. 107514, 2025.

PAVELQUESI, S. L. S. et al. Presence of tetracycline and sulfonamide resistance genes in Salmonella spp.: literature review. **Antibiotics**, v. 10, n. 11, p. 1314, 2021.

PINHEIRO, I. M. et al. Pesquisa de genes de resistência em bactérias de origem clínica, comumente encontradas em infecções do trato urinário. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e439111323446–e439111323446, 2022.

QUINN, P. J. Clinical veterinary microbiology. (No Title), 1994.

RAKERS, S. et al. Antimicrobial Peptides (AMPs) from Fish Epidermis: Perspectives for Investigative Dermatology. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 5, p. 1140–1149, 2013.

RASAL, K. D. et al. Identification of host-specific skin-mucus and gut microbiota in snakehead murrel (Channa striata)(Bloch, 1793) using metagenomics approach. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, 2023.

ŘEHULKA, J.; MAREJKOVÁ, M.; PETRAS, P. Staphylococcal infections of freshwater fishes in Czech Republic. 2020.

REVERTER, M. et al. Biological and Ecological Roles of External Fish Mucus: A Review. **Fishes**, v. 3, n. 4, p. 41, 9 out. 2018.

RHENALS-MONTOYA, P. et al. Optimized carotenoid production and antioxidant capacity of *Gordonia hongkongensis*. **Science Progress**, v. 107, n. 2, p. 00368504241253695, 2024.

RICHIARDI, L. et al. Are indicator microorganisms predictive of pathogens in water? **Water**, v. 15, n. 16, p. 2964, 2023.

ROBERTO TAVOLARI JORTIEKE, C.; ROCHA JOAQUIM, A.; FUMAGALLI, F. Advances in antibacterial agents for *Mycobacterium fortuitum*. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 37–49, 2025.

ROMANELI, R. DE S. et al. Efficacy of benzocaine, eugenol, and menthol as anesthetics for freshwater angelfish. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 30, n. 3, p. 210–216, 2018.

ROSÁ, F. et al. **Coliformes e bactérias resistentes a antibióticos em água de rios e poços em Curitiba**. 9º Congresso Florestal Brasileiro. **Anais...**2022.

SAHA, S. et al. Dissemination of sulfonamide resistance genes in digester microbiome during anaerobic digestion of food waste leachate. **Journal of Hazardous Materials**, v. 452, p. 131200, 2023.

SALLAN, L. C. Major issues in the origins of ray-finned fish (Actinopterygii) biodiversity. **Biological Reviews**, v. 89, n. 4, p. 950–971, 2014.

SANCHEZ-CID, C. et al. Gentamicin at sub-inhibitory concentrations selects for antibiotic resistance in the environment. **ISME Communications**, v. 2, n. 1, p. 29, 1

dez. 2022.

SEVERN, M. M. et al. The ubiquitous human skin commensal *Staphylococcus hominis* protects against opportunistic pathogens. **MBio**, v. 13, n. 3, p. e00930-22, 2022.

SHAFLAND, P. L.; PESTRAK, J. M. Lower lethal temperatures for fourteen non-native fishes in Florida. **Environmental Biology of Fishes**, v. 7, n. 2, p. 149–156, 1982.

SHARIATI, A. et al. The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. **Frontiers in public health**, v. 10, p. 1025633, 2022.

SHIELDS, B. E.; TSCHETTER, A. J.; WANAT, K. A. *Staphylococcus simulans*: An emerging cutaneous pathogen. **JAAD Case Reports**, v. 2, n. 6, p. 428–429, 2016.

STEVENS, J. L.; JACKSON, R. L.; OLSON, J. B. Bacteria associated with lionfish (*Pterois volitans/miles* complex) exhibit antibacterial activity against known fish pathogens. **Marine Ecology Progress Series**, v. 558, p. 167–180, 2016.

summary-21093512. , [s.d.].

SUZUKI, M. et al. Genome sequence of a strain of the human pathogenic bacterium *Pseudomonas alcaligenes* that caused bloodstream infection. **Genome announcements**, v. 1, n. 5, p. 10–1128, 2013.

SYLVAIN, F.-É. et al. Fish-microbe systems in the hostile but highly biodiverse Amazonian blackwaters. **bioRxiv**, p. 2022.10.22.513327, 1 jan. 2022.

SYLVAIN, F.-É.; THOMAS, A. Symbionts: An Intricate Co-Dependence Relationship in a Changing Environment. **The Future of Amazonian Aquatic Biota**, p. 361, 2024.

SYLVAIN, F. E. et al. pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). **SCIENTIFIC REPORTS**, v. 6, 2016.

TAPIA-PANIAGUA, S. T. et al. Mucus glycosylation, immunity and bacterial microbiota associated to the skin of experimentally ulcerated gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 75, p. 381–390, 2018.

TIRLONI, E. et al. *Bacillus cereus* in dairy products and production plants. **Foods**, v. 11, n. 17, p. 2572, 2022.

TORKI BAGHBADORANI, S.; RAHIMI, E.; SHAKERIAN, A. Investigation of Virulence and Antibiotic-Resistance of *Bacillus cereus* Isolated from Various Spices. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2023, n. 1, p. 8390778, 2023.

TRAESEL, C. K.; GUERRA, M. E. DE M.; GASPARETTO, R. Roteiro de aulas práticas microbiologia geral. 2023.

TUIPULOTU, D. E. et al. *Bacillus cereus*: epidemiology, virulence factors, and host–pathogen interactions. **Trends in Microbiology**, v. 29, n. 5, p. 458–471, 2021.

VAL, A. L.; RANDALL, D. J. **Fish physiology: the physiology of tropical fishes**. [s.l.] Elsevier, 2005.

VALERO, Y. et al. Biological role of fish antimicrobial peptides. **Centro**

Oceanográfico de Murcia, 2013.

VARY, P. S. et al. Bacillus megaterium—from simple soil bacterium to industrial protein production host. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 76, p. 957–967, 2007.

WEI, O. Y.; XAVIER, R.; MARIMUTHU, K. Screening of antibacterial activity of mucus extract of snakehead fish, Channa striatus (Bloch). **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 14, n. 10, 2010.

XIA, J. et al. First report of multidrug-resistant and pathogenic Plesiomonas shigelloides from endangered crested ibis (Nipponia nippon). **BMC Veterinary Research**, v. 21, n. 1, p. 299, 2025.

YASUDA, N. et al. Effects of the order of exposure to antimicrobials on the incidence of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 8826, 2023.

ZAHREEN, Z. et al. Chapter 7 - Common bacterial infections affecting freshwater fish fauna and impact of pollution and water quality characteristics on bacterial pathogenicity. In: DAR, G. H. et al. (Eds.). [s.l.] Academic Press, 2022. p. 133–154.

ZHANG, T. et al. Effects of broad-spectrum antibiotic (florfenicol) on resistance genes and bacterial community structure of water and sediments in an aquatic microcosm model. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1299, 2022.

ZHAO, D. et al. Isolation and Genome Sequence of a Novel Phosphate-Solubilizing Rhizobacterium Bacillus altitudinis GQYP101 and Its Effects on Rhizosphere Microbial Community Structure and Functional Traits of Corn Seedling. **Current Microbiology**, v. 79, n. 9, p. 249, 2022.

ZIOGOU, A. et al. **Kocuria Species Infections in Humans—A Narrative Review. Microorganisms**, 2023.

APÊNDICES

9.1 Apêndice I: Contagem de colônias para microbiologia em diluição seriada inicial

Poucas colônias foram encontradas nas diluições 10^{-5} e 10^{-4} , decorrente disto apenas a tabela referente ao peixe 1 estará completa a título de exemplo, as demais apresentaram as diluições até onde houve crescimento de colônias. Algumas colônias cresceram em um período superior ao dia da contagem por isso não estarão presentes na tabela abaixo, como as colônias do meio MRS

Peixe 1 região lateral

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 3	Grande fosca, pequena branca, cinza claro.
	Setor 2- 10	Grande fosca, 2 brancas, 2 cinza escuro, 1 branca intensa, 3 minúsculas pequenas.
	Setor 3- 5	1 grande fosca, 2 cinza claro, 2 brancas.
	Setor 4- 5	Grande fosca, fosca menor, branca, 2 minúsculas brancas.
	Setor 5- 6	3 grande fosca, cinza escuro, branca minúscula, branca acinzentada.
TOTAL	29	
10 ⁻²	Setor 1- 1	Branca fosca
	Setor 2- 1	Banca minúscula
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	
10 ⁻³	Setor 1	
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	
10 ⁻⁴	Setor 1- 1	Branca fosca
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	
10 ⁻⁵	Setor 1	
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	0	

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1 e 2 se juntaram	Mancha grande amarela, 3 pequenas vermelhas.
	Setor 2-	
	Setor 3- 2	Mancha grande avermelhada, pequena vermelha.
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	6	
10 ⁻²	Setor 1	
	Setor 2	

	Setor 3 Setor 4 Setor 5
TOTAL	0
	Setor 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5
10 ⁻³	
TOTAL	0
	Setor 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5
10 ⁻⁴	
TOTAL	0
	Setor 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5
10 ⁻⁵	
TOTAL	0

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
	Setor 1- 3	Cinza grande, amarelado, branca minúscula.
10 ⁻¹	Setor 2- 8	Cinza grande, 2 amarelados, 2 branco minúscula, 2 brancas, 1 cinza fosco pequeno
	Setor 3 Setor 4 Setor 5	
TOTAL	11	
	Setor 1 – 1 e 2 se juntaram Setor 2-	Grande cinza, amarelada.
10 ⁻²	Setor 3- 1 Setor 4- 1 Setor 5	Amarelo intenso Amarelada
TOTAL	4	
	Setor 1- 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Branca muito fosca
10 ⁻³		
TOTAL	1	
	Setor 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5	
10 ⁻⁴		

TOTAL	0
10 ⁻⁵	Setor 1
	Setor 2
	Setor 3
	Setor 4
	Setor 5
TOTAL	0

Não houve crescimento em MRS para P1L

Peixe 1 região opercular

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	Cinza
	Setor 2- 1	Branca
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	Pequena branca
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	

Peixe 2 região lateral

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 5	2 grandes foscas com hemólise, 3 brancas brilhantes.
	Setor 2- 4	3 brancas brilhantes, 1 fosca branca com hemólise.
	Setor 3- 2	2 brancas minúsculas.
	Setor 4- 5	3 brancas minúsculas, 2 brancas maiores.

	Setor 5- 4	3 brancas maiores com possível hemólise, 1 branca minúscula.
TOTAL	20	
10 ⁻²	Setor 1- 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Branca brilhante
TOTAL	1	

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1 Setor 2- 1 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Vermelha rosada fosca Avermelhada minúscula
TOTAL	2	

MRS

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Branco parecido com fungo
TOTAL	1	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 4 Setor 2- 6 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Grande branco fosco, amarelada brilhante, minúscula transparente, minúscula amarelada. 4 amarelas brilhantes, 2 minúsculas amareladas.
TOTAL	10	
10 ⁻²	Setor 1- 3 Setor 2 Setor 3 Setor 4 Setor 5	Grande branco fosco, 2 amarelas brilhantes.
TOTAL	3	

Peixe 2 região opercular**Agar sangue**

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	Pequena cinza
	Setor 2	
	Setor 3- 1	Fosca
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	Branca
	Setor 2- 1	Amarela
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

Peixe 3 região lateral**Agar sangue**

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 7	4 brancas brilhantes, 2 cinzas menores e 1 minúscula.
	Setor 2	Setores 2, 3 e 4 se mesclaram- 19
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5- 8	
TOTAL	34	
10 ⁻²	Setor 1- 1	Branco brilhante.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	
10 ⁻³	Setor 1- 3	3 brancos brilhantes minúsculos.

	Setor 2
	Setor 3
	Setor 4
	Setor 5
TOTAL	3

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 2	1 vermelho fosco, 1 pequeno brilhante.
	Setor 2- 1	1 vermelho brilhante.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	3	
10 ⁻²	Setor 1- 1	1 vermelho brilhante.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 10	8 amarelas brilhantes, 2 minúsculas amarelo brilhante.
	Setor 2- 4	1 fosco grande, 2 amarelas brilhantes, 1 amarelo forte.
	Setor 3- 7	7 amarelos brilhantes.
	Setor 4- 4	3 amarelos brilhantes, 1 pequeno.
	Setor 5- 6	1 fosco gigante, 4 amarelos intensos anexados, 1 amarelo brilhante anexado.
TOTAL	31	
10 ⁻²	Setor 1- 1	1 grande fosco branco.
	Setor 2- 1	1 amarelo brilhante.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	
10 ⁻³	Setor 1- 3	2 amarelos brilhantes, 1 fosco pequeno.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	3	

Peixe 3 região opercular**Agar sangue**

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	1 pequeno cinza.
	Setor 2- 1	1 cinza.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	1 pequena e amarela.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL		

Peixe 4 região lateral**Agar sangue**

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 4	4 brancas.
	Setor 2- 7	7 brancas.
	Setor 3- 9	9 brancas.
	Setor 4- 11	2 grandes foscas brancas, 1 cinza, 8 brancas.
	Setor 5	
TOTAL	31	

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	1 rosa.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 2	2 amarelas.

	Setor 2- 3	2 brancas, 1 amarela.
	Setor 3- 2	2 amarelas.
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	7	
	Setor 1- 1	1 amarela.
10 ⁻²	Setor 2- 1	1 amarela.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

Peixe 4 região opercular

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
	Setor 1- 1	1 pequena branca.
10 ⁻¹	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
	Setor 1- 1	1 muito pequena amarela.
10 ⁻¹	Setor 2	
	Setor 3- 2	2 amarelas.
	Setor 4- 1	1 amarela.
	Setor 5- 1	1 muito pequena amarela.
TOTAL	5	

Peixe 5 região lateral

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
	Setor 1 Setor 1 e dois se Setor 2 mesclaram- 26	1 grande fosca, 13 brancas brilhantes, 12 brancas brilhantes minúsculas.
10 ⁻¹	Setor 3- 17	10 brancas brilhantes, 7 brancas minúsculas.
	Setor 4- 11	2 minúsculas, 9 brancas brilhantes.
	Setor 5	
TOTAL	54	
10 ⁻²	Setor 1- 1	1 branca brilhante pequena.
	Setor 2- 1	1 branca brilhante pequena.

	Setor 3
	Setor 4
	Setor 5
TOTAL	2

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 7	4 rosas, 3 amarelas limão.
	Setor 2- 1	1 rosa.
	Setor 3- 2	1 rosa, 1 amarela limão.
	Setor 4- 5	2 amarelas limão, 1 rosa, 2 transparentes.
	Setor 5- 1	1 rosa fosco.
TOTAL	16	
10 ⁻²	Setor 1- 5	3 brancas grandes, 2 pequenas.
	Setor 2- 1	1 branca grande.
	Setor 3- 3	2 brancas grandes, 1 minúscula.
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	9	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 14	10 brancas brilhantes, 1 amarelo, 3 minúsculas.
	Setor 2- 14	9 brancas brilhantes, 1 amarelado, 4 minúsculas.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	28	

Peixe 5 região opercular

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 1	1 branca.
	Setor 2	
	Setor 3- 2	2 brancas.
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	3	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 2	1 grande fosca, 1 pequena lisa

	Setor 2- 1	1 minúscula.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	3	

Peixe 6 região lateral

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 27	2 foscas grandes, 1 branca, 24 cinzas.
	Setor 2- 63	36 cinzas, 1 fisco, 26 minúsculas.
	Setor 3- 90	41 minúsculas, 49 cinzas.
	Setor 4- 76	33 pequenas, 43 cinzas.
	Setor 5- 97	41 minúsculas, 56 cinzas.
TOTAL	353	
10 ⁻²	Setor 1- 33	33 Brancas.
	Setor 2- 15	15 Brancas.
	Setor 3- 22	22 Brancas.
	Setor 4- 28	28 Brancas.
	Setor 5- 11	11 Brancas.
TOTAL	109	
10 ⁻³	Setor 1	
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	0	
10 ⁻⁴	Setor 1- 1	1 muito pequena branca.
	Setor 2- 1	1 pequena branca.
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

MacConkey

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 80	68 minúsculas transparentes, 1 vermelha, 8 rosas, 2 amarelas limão 1 branca.
	Setor 2	Setores 2 e 3 se
	Setor 3	mesclaram- 170
	Setor 4	Setores 4 e 5 se
	Setor 5	mesclaram- 196
		124 pequenas, 2 vermelhas, 44 rosas.
		139 pequenas transparentes, 30 pequenas brancas, 15 rosas, 12 claras.
TOTAL		

10 ⁻²	Setor 1- 20	3 rosas, 17 transparentes.
	Setor 2- 17	3 rosas, 14 transparentes.
	Setor 3- 12	2 rosas, 10 transparentes.
	Setor 4- 14	2 rosas, 12 transparentes.
	Setor 5- 17	4 rosas, 13 transparentes.
TOTAL	80	

TSA

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1	Impossível de contar e separar, as colônias estavam todas interligadas e sobrepostas
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL		
10 ⁻²	Setor 1- 24	24 amarelas.
	Setor 2- 13	13 amarelas.
	Setor 3- 20	20 amarelas.
	Setor 4- 12	12 amarelas.
	Setor 5- 6	6 amarelas.
TOTAL	75	
10 ⁻³	Setor 1- 1	1 muito pequena e amarela.
	Setor 2- 1	1 muito pequena e amarela.
	Setor 3	
	Setor 4- 2	2 muito pequenas e amarelas.
	Setor 5- 1	1 muito pequena e amarela.
TOTAL	5	
10 ⁻⁴	Setor 1- 2	2 amarelas pequenas.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	

Peixe 6 região opercular

Agar sangue

Diluição	N de colônias	Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 5	5 brancas.
	Setor 2- 12	12 brancas.
	Setor 3- 8	3 brancas com hemólise, 5 brancas.
	Setor 4- 7	7 brancas.
	Setor 5	
TOTAL	32	
10 ⁻²	Setor 1	
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	

TOTAL		
10 ⁻³	Setor 1- 1	1 pequena e branca.
	Setor 2- 1	1 pequena e branca.
	Setor 3- 2	2 minúsculas e brancas.
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL		4

MacConkey

Diluição	N de colônias		Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 80		68 minúsculas transparentes, 1 vermelha, 8 rosas, 2 amarelas limão, 1 branca.
	Setor 2	Setores 2 e 3 se	124 pequenas, 2 vermelhas,
	Setor 3	mesclaram- 170	44 rosas.
	Setor 4	Setores 4 e 5 se	139 pequenas transparentes,
	Setor 5	mesclaram- 196	30 pequenas brancas, 15 rosas, 12 claras.
TOTAL		446	
10 ⁻²	Setor 1- 3		2 rosas intensas, 1 amarelo limão.
	Setor 2- 2		2 transparentes.
	Setor 3	Setores 3 e 4 se	21 rosas.
	Setor 4	mesclaram- 21	
	Setor 5		
TOTAL		26	
10 ⁻³	Setor 1- 1		1 rosa.
	Setor 2		
	Setor 3		
	Setor 4		
	Setor 5		
TOTAL		1	

TSA

Diluição	N de colônias		Características da colônia
10 ⁻¹	Setor 1- 7		7 brancas brilhantes.
	Setor 2- 72		65 brancas brilhantes (3 pequenas), 6 cinzas brilhantes.
	Setor 3- 49		45 brancas brilhantes, 2 cinzas, 2 brancas brilhantes pequenas.
	Setor 4- 48		1 fosco grande, 40 brancas brilhantes, 4 transparentes, 3 brancas brilhantes pequenas.
	Setor 5- 39		39 brancas brilhantes.
TOTAL		215	
10 ⁻²	Setor 1- 3		3 amarelas.
	Setor 2- 7		7 amarelas.
	Setor 3- 7		7 amarelas.
	Setor 4- 5		5 amarelas.
	Setor 5- 7		7 amarelas.

TOTAL	29	
10 ⁻³	Setor 1- 2	2 pequenas e amarelas.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	2	
10 ⁻⁴	Setor 1- 1	1 amarela.
	Setor 2	
	Setor 3	
	Setor 4	
	Setor 5	
TOTAL	1	

H2O - Água

Agar sangue

Diluição	N de colônias		Características da colônia
Sem diluição	Setor 1	Setor 1 e 2 se mesclaram- 59	24 minúsculas, 32 brancas brilhantes, 2 foscas, 1 amarela.
	Setor 2		1 minúscula, 28 brancas brilhantes.
	Setor 3- 29		7 grandes foscas, 1 amarelo brilhante, 3 transparente, 8 minúsculas.
	Setor 4- 13		2 vermelhas 34 claras.
TOTAL	144		

MacConkey

Diluição	N de colônias		Características da colônia
Sem diluição	Setor 1	Setor 1 e 2 se mesclaram- 54	4 rosas, 49 claras.
	Setor 2		
	Setor 3	Setor 3 e 4 se mesclaram- 55	4 vermelhas, 51 claras.
	Setor 4		
	Setor 5- 36		2 vermelhas, 34 claras.
TOTAL	144		
10 ⁻¹	Setor 1- 1		Cinza.
	Setor 2		
	Setor 3- 2		2 Rosas.
	Setor 4		
	Setor 5		
TOTAL	3		

TSA

Diluição	N de colônias		Características da colônia
Sem diluição	Setor 1	Setores 1 e 2 se mesclaram- 148	121 minúsculas, 24 claras brilhantes, 2 amarelos intensos, 1 fosco grande.
	Setor 2		
	Setor 3- 95		72 pequenas, 23 grandes claras brilhantes.
	Setor 4- 39		23 pequenas, 15 claras brilhantes, 1 grande fosco.
	Setor 5		18 pequenas, 8 claras brilhantes, 2 grandes foscas, 1 amarelo fosco.
TOTAL	311		
10 ⁻¹	Setor 1- 1		Amarela.
	Setor 2- 1		Amarela.
	Setor 3- 1		Amarela.
	Setor 4		
	Setor 5		
TOTAL	3		

9.2 Apêndice II resultados microbiológicos

Os testes realizados para identificação inicial das colônias isoladas foram Catalase KOH e Gram, as colônias isoladas foram nomeadas com um número seguindo a ordem de testagem, por região e animal analisado. Em algumas amostras não foi possível realizar todos os testes devido ao baixo crescimento da colônia ficando identificado como “NULO”.

Identificação	Testes Microbiológicos				
	Peixe 1 Lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
1		+	+	-	Bacilos
2		+	+	-	Cocobacilos
3		+	-	+	Diplobacilos
4		+	-	+	Estreptococos
5		+	+	-	Bacilos
6		+	+	-	Bacilos

7	+	-	+	Estafilococos
8	+	-	+	Diplobacilos
9	+	+	-	Bacilos
10	-	+	-	Bacilos
11	+	-	+	Estafilococos
12	+	+	-	Bacilos
13	+	-	+	Estafilococos
14	+	+	+	Bacilos
15	+	-	-	Estreptococos
<hr/>				
Peixe 1	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
Opercular				
<hr/>				
87	+	-	+	Bacilos
88	+	+	-	Bacilos
89	+	+	+	Bacilos
90	+	+	-	Bacilos
91	Nulo	Nulo	+	Filamentos
92	+	-	+	Cocos
93	-	-	+	Diplobacilos
94	-	+	-	Bacilos
<hr/>				
Peixe 2 Lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
<hr/>				
148	+	+	-	Bacilos
149	+	-	+	Estreptococos
150	+	-	-	Estreptobacilos
151	+	-	+	Estreptobacilos
152	-	+	-	Bacilos
153	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo/colônia seca possível Nocardia
154	+	-	+	Bacilos
155	+	-	+	Estafilococos
156	+	-	+	Bacilos
157	+	+	-	Bacilos
158	+	-	+	Estafilococos

159	+	-	+	Bacilos
160	+	+	-	Bacios
161	+	-	+	Estreptobacilos
162	+	+	-	Bacilos
163	-	+	-	Bacilos
Peixe 2	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
Opercular				
164	+	-	+	Bacilos
165	+	-	+	Estreptobacilos
166	+	+	-	Bacilos
167	+	-	+	Cocos
168	+	Nulo	+	Cocobacilos
169	+	Nulo	+	Bacilos
170	+	-	Nulo	Filamentos disformes
171	+	+	+	Bacilos
Peixe 3 Lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
121	+	-	+	Cocos
122	-	+	-	Bacilos
123	+	-	+	Cocobacilos
124	+	+	-	Bacilos
125	-	+	-	Bacilos
126	+	-	+	Estreptobacilos
127	+	+	-	Bacilos
128	+	-	+	Bacilos
129	Nulo	-	Nulo	Nulo
130	-	+	-	Bacilos
131	+	+	-	Bacilos
132	+	+	-	Bacilos
133	+	-	+	Estreptobacilos
134	+	-	+	Estreptobacilos
135	-	-	+	Cocobacilos
136	+	-	+	Bacilos

137	Nulo	Nulo	-	Filamentos
138	+	+	+	Bacilos
139	+	-	+	Cocos
140	+	-	+	Cocos
141	+	-	+	Estafilococos
Peixe 3	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
Opercular				
142	+	+	-	Bacilos
143	+	+	+	Bacilos
144	+	+	-	Bacilos
145	+	+	-	Bacilos
146	+	+	-	Bacilos
147	+	-	+	Bacilos
Peixe 4 Lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
101	+	-	+	Estreptobacilos
102	+	-	-	Bacilos
103	-	+	-	Cocos
104	+	-	+	Estafilococos
105	-	-	+	Filamentos
106	-	-	+	Bacilos/ Filamentos
107	-	-	+	Bacilos
108	-	-	+	Filamentos
109	+	-	+	Diplobacilos
110	+	-	+	Cocobacilos
111	+	-	+	Cocobacilos
112	+	-	+	Estreptobacilos
113	-	+	-	Bacilos
114	+	+	-	Bacilos/ Filamentos
115	-	-	+	Bacilos
116	-	+	-	Bacilos
117	-	-	+	Bacilos

118	+	Nulo	-	Estreptobacilos
Peixe 4	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
Opercular				
119	-	+	-	Bacilos
120	+	-	-	Bacilos
174	+	-	+	Diplococos
175	+	+	-	Bacilos
176	+	-	+	Bacilos/ filamentos
177	-	Nulo	-	Bacilos
178	+	Nulo	+	Bacilos
Peixe 5 Lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
46	+	+	-	Bacilos
47	+	+	-	Bacilos
48	-	+	-	Bacilos
49	-	+	-	Bacilos
50	+	+	-	Cocobacilos
51	-	+	-	Bacilos
52	+	+	-	Bacilos
53	+	-	+	Estreptobacilos
54	+	-	+	Bacilos
Peixe 5	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
Opercular				
55	-	+	-	Bacilos
56	-	+	-	Bacilos
57	+	-	+	Bacilos
58	+	-	+	Bacilos
59	+	-	+	Bacilos
60	+	-	+	Bacilos
Peixe 6 lateral	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
61	+	-	+	Bacilos
62	+	+	-	Bacilos
63	+	+	-	Bacilos

64	-	-	+	Diplobacilos
65	+	-	+	Bacilos
66	+	-	+	Bacilos
67	+	-	+	Bacilos
68	-	-	+	Bacilos
69	-	+	-	Diplobacilos
70	+	-	-	Bacilos
71	+	+	-	Cocobacilos
72	+	+	-	Cocos
73	+	+	-	Bacilos
74	+	+	+	Bacilos
75	+	-	+	Bacilos
76	+	-	+	Bacilos
77	+	-	-	Bacilos
Peixe 6	Catalase	KHO	Gram	Morfologia
Opercular				
78	+	+	-	Bacilos
79	+	+	-	Bacilos
80	-	+	-	Bacilos
81	+	+	-	Bacilos
82	+	-	+	Estafilococos
83	+	-	+	Estreptobacilos
84	+	+	-	Bacilos
85	+	+	+	Bacilos
86	+	+	-	Bacilos
H20	Catalase	KOH	Gram	Morfologia
16	-	-	Nulo/negro	Filamentos
17	-	+	-	Diplobacilos
18	+	+	-	Cocobacilos
19	+	+	-	Bacilos
20	+	+	-	Cocos
21	-	+	-	Bacilos
22	-	+	-	Bacilos

23	+	-	+	Bacilos
24	+	+	-	Cocos
25	-	+	-	Bacilos
26	+	+	-	Bacilos
27	+	-	+	Bacilos
28	-	-	+	Filamentos
29	+	+	-	Cocobacilos
30	+	-	+	Estreptobacilos
31	-	-	+	Diplobacilos
32	-	-	+	Estreptobacilos
172	-	+	-	Bacilos
Total				158