



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CAMPUS MINISTRO PETRÔNIO PORTELLA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA TROPICAL
MESTRADO ACADÊMICO EM ZOOTECNIA TROPICAL

**INFLUÊNCIA DA MANIPULAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-
SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA E RESISTÊNCIA A OXITETRACICLINA
EM RAÇÃO PARA PEIXES**

Teresina, PI

2024

ANNA RAFAELA RODRIGUES DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DA MANIPULAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-
SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA E RESISTÊNCIA A OXITETRACICLINA
EM RAÇÃO PARA PEIXES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical - PPGZT da Universidade Federal do Piauí - UFPI, na área de concentração Produção Animal nos Trópicos e linha de pesquisa em Tecnologia e Qualidade de Alimentos de Origem Animal, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia Tropical.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Maria Christina Sanches Muratori

Teresina

2024

(...)

when I felt like I was an old cardigan,
under someone's bed, you put me and
said I was your favorite...

(Taylor Swift)

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Representação da Informação

S237i Santos, Anna Rafaela Rodrigues dos.
Influência da manipulação da qualidade higiênico-sanitária e físico-química e resistência a oxitetraciclina em ração para peixes / Anna Rafaela Rodrigues dos Santos. – 2024.
61 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Tropical, 2024.
“Orientadora: Profa Dra Maria Christina Sanches Muratori”.

1. Piscicultura. 2. *Bacillus cereus*. 3. *Escherichia coli*.
4. Resistência antibacteriana. 5. *Salmonella* spp. I. Muratori, Maria Christina Sanches. II. Título.


CDD 639.3

INFLUÊNCIA DA MANIPULAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA E RESISTÊNCIA A OXITETRACICLINA EM RAÇÕES PARA PEIXES


ANNA RAFAELA RODRIGUES DOS SANTOS

Dissertação aprovada em: 22/02/2024


Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **MARIA CHRISTINA SANCHES MURATORI**
Data: 20/06/2024 17:22:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Profa. Dra. Maria Christina Sanches Muratori (Presidente)/DMV/CCA/UFPI

Documento assinado digitalmente
 **RAIZZA EVELINE ESCORCIO PINHEIRO**
Data: 21/06/2024 16:13:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Raizza Eveline Escórcio Vieira (Interna)/DMV/CCA/UFPI

Documento assinado digitalmente
 **ROSA HELENA REBOUCAS**
Data: 20/06/2024 13:24:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Rosa Helena Rebouças (Interna)/UFDFPar

Documento assinado digitalmente
 **RODRIGO MACIEL CALVET**
Data: 20/06/2024 18:17:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo Maciel Calvet (Externo)/ IFMA

INFLUÊNCIA DA MANIPULAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA E RESISTÊNCIA A OXITETRACICLINA EM RAÇÃO PARA PEIXES

Anna Rafaela Rodrigues dos Santos¹, Maria Christina Sanches Muratori²,

¹ Programa de pós-graduação em Zootecnia Tropical

² Universidade Federal do Piauí

anna.rafs@hotmail.com

RESUMO

A análise bacteriológica das rações para peixes auxilia na segurança alimentar e a saúde dos animais, sendo possível identificar contaminações bacterianas e adotar medidas preventivas que garantam que os padrões estejam adequados. Entre as principais bactérias que podem ser veiculadas pela ração destacam-se: *Escherichia coli*, *Salmonella*, e *Bacillus cereus*. A presença de bactérias patogênicas pode interferir na digestão de nutrientes, na sanidade, no metabolismo e na resposta imunológica em peixes, podendo contaminar os alimentos derivados causando doenças nos consumidores. Para o tratamento de bacterioses, frequentemente são adicionados antibacterianos nas rações de peixes. O uso indevido de antibacterianos pode ampliar o espectro da resistência bacteriana, favorecendo o desenvolvimento de bactérias multirresistentes. Dessa forma, com esse estudo objetivou-se avaliar se a forma de estocagem para uso diário de rações para peixes com diferentes teores de proteínas interfere na qualidade bacteriológica e físico-química destes produtos e o efeito inibitório do antibiótico oxitetraciclina sobre as bactérias encontradas nas rações. Foram realizadas análises bacteriológicas, físico-químicas, sujidades leves, e a determinação da sensibilidade ao antibacteriano oxitetraciclina pelo método de difusão em disco. Os resultados encontrados mostram contaminação por bactérias heterotróficas mesófilas, *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes dentro do padrão recomendado. Sendo que a forma de estocagem para uso diário influenciou na quantidade de bactérias mesófilas heterotróficas e nos valores de umidade da ração em relação as rações embaladas de fábrica. Na análise de sujidades foram encontrados materiais biológicos de origem animal como asas de insetos e pelos e de origem sintética como microplásticos. O uso de oxitetraciclina possui o risco de que as cepas desenvolvam resistência aos fármacos aplicados na ração. Esse fato é perigoso para a saúde pública devido ao aumento da probabilidade de disseminação dos genes de

resistência, podendo estar atrelado ao déficit das boas práticas de manipulação das rações nas pisciculturas.

Palavras-chave: *Bacillus cereus*. *Escherichia coli*. Piscicultura. Resistência antibacteriana. *Salmonella* spp.

INFLUÊNCIA DA MANIPULAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA E FÍSICO-QUÍMICA E RESISTÊNCIA A OXITETRACICLINA EM RAÇÃO PARA PEIXES

Anna Rafaela Rodrigues dos Santos¹, Maria Christina Sanches Muratori²,

¹ Programa de pós-graduação em Zootecnia Tropical

² Universidade Federal do Piauí

anna.rafs@hotmail.com

ABSTRACT

Bacteriological analysis of fish feed helps to ensure food safety and animal health, making it possible to identify bacterial contamination and adopt preventive measures to ensure that standards are adequate. The main bacteria that can be transmitted by feed include: *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Bacillus cereus*. The presence of pathogenic bacteria can interfere with the digestion of nutrients, health, metabolism and the immune response in fish, and can contaminate derived food, causing illness in consumers. Antibacterials are often added to fish feed to treat bacteriosis. The improper use of antibacterials can broaden the spectrum of bacterial resistance, favoring the development of multi-resistant bacteria. The aim of this study was therefore to assess whether the way in which fish feed with different protein contents is stored for daily use interferes with the bacteriological and physico-chemical quality of these products and the inhibitory effect of the antibiotic oxytetracycline on the bacteria found in the feed. Bacteriological, physicochemical and light soiling analyses were carried out and the sensitivity to the antibacterial oxytetracycline was determined using the disk diffusion method. The results showed contamination by mesophilic heterotrophic bacteria, *Bacillus cereus*, total and thermotolerant coliforms within the recommended standard. The storage method for daily use influenced the amount of heterotrophic mesophilic bacteria and the moisture content of the feed compared to factory-packaged feed. In the analysis of dirt, biological materials of animal origin were found, such as insect wings and hair, and of synthetic origin, such as microplastics. The use of oxytetracycline carries the risk of strains developing resistance to the drugs applied to the feed. This is dangerous for public health due to the increased likelihood of resistance genes spreading, and may be linked to a lack of good feed handling practices in fish farms.

Keywords: *Bacillus cereus*. *Escherichia coli*. Fish farming. Antibacterial resistance.
Salmonella spp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Esquema geral de análise para contagem de bactérias heterotróficas mesófilas em placas..... | 27 |
| Figura 2 - Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp..... | 28 |
| Figura 3 - Esquema de análise de coliformes totais, termotolerantes em alimentos pelo método do NMP..... | 30 |
| Figura 4 - Esquema de análise para contagem de <i>B. cereus</i> pelo método de plaqueamento..... | 31 |
| Tabela 1 - Resultado da análise microbiológica das rações com teor de proteína de 28%..... | 37 |
| Tabela 2 - Resultado da análise microbiológica das rações com teor de proteína de 45%..... | 38 |
| Tabela 3 - Resultados das análises microbiológicas das rações de peixes com diferentes teores de proteínas e estocagem..... | 40 |
| Tabela 4 - Resultados das análises bromatológicas das rações de peixes com diferentes teores de proteínas e estocagem..... | 42 |
| Gráfico 1 - Valores de umidade relativa e temperatura do ar da piscicultura onde as amostras de rações foram coletadas..... | 43 |
| Figura 5 - Estocagem das rações comerciais destinada a alimentação de peixes na fazenda..... | 44 |
| Tabela 5 - Resultados dos valores das medições dos halos (mm)..... | 45 |

| | |
|--|----|
| Figura 6 - Material vegetal na ração controle com teor de proteína 28%..... | 46 |
| Figura 7 - Antena de inseto e pelo na ração manuseada com teor de proteína 28% | 46 |
| Figura 8 a, b - Microplásticos na cor azul na ração controle com teor de proteína 28 e 45%, respectivamente..... | 47 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|--------------|---|
| ANFAL-PET | Associação Nacional dos Fabricantes de alimentos para Animais de Estimação |
| APPCC | Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| BHM | Bactérias Heterotróficas Mesófilas |
| BPF | Boas Práticas de Fabricação |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| DRfA | Dose de Referência Aguda |
| EC | <i>Escherichia Coli</i> |
| EE | Extrato Etéreo |
| FB | Fibra Bruta |
| HE | Ágar Hektoen Enteric |
| IDA | Ingestão Diária Aceitável |
| IFA | Insumos Farmacêuticos Ativos |
| IN | Instrução Normativa |
| KG | Ágar Kim-Goepfert |
| LMR | Limites Máximos de Resíduos |
| LST | Caldo Lauril Sulfato Triptose |
| MAPA | Ministério da Agricultura e Pecuária |
| MYP | Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina |
| NMP | Número Mais Provável |
| NUEPPA | Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos |
| PB | Proteína Bruta |
| PCA | Ágar Padrão para Contagem |
| PH | Potencial Hidrogeniônico |
| PNCRC/ANIMAL | Programa Nacional de Controle de Análise de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal |
| POP | Procedimentos Operacionais Padrões |
| PVC | Policloreto de Vinila |
| RVS | Caldo Rappaport-Vassilidis Soja |

| | |
|------|---------------------------------|
| SP | Espécie |
| SPP | Espécies |
| SS | Ágar <i>Salmonella Shigella</i> |
| UFPI | Universidade Federal do Piauí |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 17 |
| 2.1 | Produção da ração..... | 17 |
| 2.2 | Processamento tecnológico para obtenção da ração para peixes..... | 18 |
| 2.3 | Controle de qualidade, fiscalização, comercialização e estocagem de rações para peixes..... | 20 |
| 2.4 | Presença de patógenos bacterianos nas rações | 21 |
| 2.5 | Resistência bacteriana | 23 |
| 3 | METODOLOGIA..... | 25 |
| 3.1 | Local de coleta e amostragem da ração para peixes | 25 |
| 3.2 | Processamento das amostras | 26 |
| 3.2.1 | Contagem de bactérias heterotróficas mesófilas..... | 26 |
| 3.2.2 | Pesquisa de Salmonella spp..... | 27 |
| 3.2.3 | Estimativa da população de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes..... | 28 |
| 3.2.4 | Método de plaqueamento para contagem de Bacillus cereus em alimentos..... | 30 |
| 3.3 | Determinação da sensibilidade ao antibacteriano oxitetraciclina..... | 32 |
| 3.4 | Análise bromatológica..... | 32 |
| 3.4.1 | Teor de umidade | 32 |
| 3.4.2 | Cinzas ou matéria mineral | 32 |
| 3.4.3 | Extrato etéreo..... | 33 |
| 3.4.4 | Fibra bruta | 33 |
| 3.4.5 | Proteína bruta..... | 34 |
| 3.4.6 | Atividade de água | 35 |
| 3.4.7 | Determinação do pH..... | 35 |
| 3.5 | Análise das sujidades leves..... | 35 |
| 3.6 | Análise estatística..... | 36 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 37 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.1 | Análises microbiológicas..... | 36 |
| 4.2 | Análises bromatológicas..... | 41 |
| 4.3 | Resistência da bactéria bacillus cereus a oxitetraciclina.. | 44 |
| 4.4 | Análise de sujidade..... | 46 |
| 5 | CONCLUSÕES..... | 48 |
| | REFERÊNCIAS..... | 49 |

1. INTRODUÇÃO

O principal desafio da piscicultura está atrelado aos custos elevados com alimentação dos peixes, que representam 60 a 80% dos custos de produção, além das práticas de manejo inadequadas com as rações. Os peixes precisam consumir dietas com boa qualidade sanitária e nutricionalmente balanceada para ter bom desempenho zootécnico no menor tempo possível (BHILAVE, BHOSALE e NADAF, 2012; KALEEM E SABI, 2021; OBWANGA *et al.*, 2018).

Devido à crescente demanda mundial da piscicultura, surge a necessidade de aumentar produção de rações e alimentos que garantam melhor desempenho zootécnico. O desafio para essa produção é manter os padrões de qualidades microbiológicos, bromatológicos, nutricionais e sensoriais durante todo o ciclo de fabricação, transporte, armazenamento e alimentação dos peixes (PIVATTO, BORNIAATTI e FASSINA, 2020; SILVA *et al.*, 2018).

O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) é responsável pela regulamentação, fiscalização dos produtos designados a alimentação animal. Ele estabelece que as empresas possuam manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e anexado a ele estejam os Procedimentos Operacionais Padrões (POP) com objetivo de garantir a qualidade, conformidade e segurança dos produtos destinados à alimentação animal através da Resolução nº 216, 15 de setembro de 2004 (ANVISA, 2004).

Antes da escolha da ração para alimentação dos peixes é importante ainda adotar ações que reduzam os perigos que alteram a qualidade nutricional, microbiológica e físico-química (BARONE, 2017). Dos problemas mais frequentes ligado à qualidade da alimentação são o fornecimento de rações elaboradas com ingredientes de baixa qualidade e o armazenamento em condições inadequadas de umidade, expostas a insetos e demais pragas e a luz solar (DI DOMENICO, 2014). Os componentes das rações podem servir como substratos para desenvolvimento de diversos tipos de micro-organismos adquiridos durante o processamento e armazenamento (MACIOROWSKI *et al.*, 2007).

Visto que os micro-organismos afetam a qualidade das rações faz-se necessário analisar a presença de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, pois comprometem a vida de prateleira e a sanidade dos peixes, ocasionando adversidades nos custos de produção devido menores ganhos de peso dos animais, piora da

conversão alimentar, morte dos peixes e risco de transmissão de bactérias patogênicas (PETRESKA, ZIBEROSKI, ZEKIRI, 2013; ZMYSŁOWSKA e LEWANDOWSKA, 1999).

O manuseio incorreto e indevido das rações em uso nas unidades de piscicultura pode favorecer a presença de bactérias que interferem na qualidade bromatológica, esta que avalia se o alimento cumpre com os requisitos essenciais para o consumo. Esses agentes bacterianos, podem ser potencialmente prejudiciais a sanidade dos peixes, favorecendo o desenvolvimento de enfermidades clínicas ou subclínicas em peixes.

Baseado nestes fatos formulou-se a seguinte hipótese: a forma de estocagem para uso diário de rações para peixes com diferentes teores de proteínas interfere na qualidade bacteriológica e físico-química destes produtos. Para testar a hipótese, com esse trabalho objetivou-se: quantificar as bactérias presentes nas amostras de rações para peixes durante a estocagem, antes e após a abertura das embalagens; identificar a contaminação das rações para peixes comerciais por bactérias patogênicas e deteriorantes; analisar o efeito da oxitetraciclina frente ao *Bacillus cereus*; verificar se o teor de proteína das rações interfere na multiplicação bacteriana; avaliar as alterações na qualidade físico-química das rações pelo manuseio; identificar a presença de perigos físicos (sujidades leves).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Produção da ração

A ração para a piscicultura tem forte influência na criação de peixes para produção em escala industrial, devido a necessidade de arraçoamento pelo fato de os animais estarem em confinamento. Há a evidência de um potencial crescimento na produção brasileira do peixe de cultivo mesmo diante dos altos custos com alimentação, na qual chegou a 860.355 toneladas de peixes produzidos no ano de 2022 (PEIXE BR, 2023; UN, 2016).

Assegurar a elaboração de uma ração com qualidade superior é essencial para o sucesso da piscicultura, que se apresenta como uma das principais fontes de proteína animal para alimentação humana (SARKER, RAHMAN e ALAM, 2015). Diante disso, a indústria aspira suprir a demanda por animais aquáticos decorrente da crescente população mundial e com a escassez de matérias primas para a alimentação animal, a indústria deve abordar de métodos mais avançados para otimizar a produção com qualidade e sustentabilidade (VAN DER POEL *et al.*, 2020).

Na piscicultura, a ração é um dos componentes de maior custo. A produção de ração tem como objetivo obter o alimento com o melhor custo-benefício, a fim de obter um produto reconhecido no mercado, gerando uma economia de liderança na obtenção de proteína animal, além de exigir uma mão de obra qualificada que supervisione as etapas do processo para garantir a excelência na produção em geral (BHUIYAN *et al.*, 2018; LARA, 2010; ZHOU *et al.*, 2018).

A formulação das rações de cultivo promove o crescimento eficiente dos peixes desde a fase de alevinos até o tamanho do mercado, sendo que os alevinos necessitam de alimentos ricos em proteína e energia, nutrientes necessários para que apresentem elevada taxa de crescimento. Por isso, deve ser utilizado para alevinos rações que contenham altos teores de proteína, cerca de 40 % ou mais (ARECHAVALA-LOPEZ *et al.*, 2022; SENAR, 2019).

As rações buscam atender bom índice de conversão alimentar, que é calculada dividindo-se a quantidade de alimento fornecido pelo aumento na biomassa de peixes. As rações de qualidade para a piscicultura devem atender os seguintes requisitos: favorecer o crescimento potencial, garantir a sanidade e o sucesso reprodutivo, garantir

boas qualidades sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas, além de apresentar um baixo impacto poluente (GLADJU, KAMALAM, KANAGARAJ, 2022).

As rações quanto a sua natureza podem ser artesanais ou industrializadas, quanto a umidade pode ser úmida, de baixa umidade ou secas. Quanto ao processamento, as rações comerciais mais utilizadas na piscicultura são as em pó, peletizadas e extrusadas. A escolha do tipo de ração pelo piscicultor dependendo do sistema de cultivo adotado e das condições financeiras (ARAÚJO, 2008; RODRIGUES, BERGAMIN e SANTOS, 2013).

A alimentação adequada deve fornecer todos os ingredientes necessários (proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e minerais) para o bom desempenho zootécnico e a sanidade dos peixes. A maioria dos piscicultores utiliza rações industrializadas com composição padronizada dos valores de macro e micronutrientes adequados às fases de crescimento. A composição pode oscilar da seguinte forma: proteína 18 % a 50 %; lipídios 10 % a 25 %; carboidratos 15 % a 20 %; cinzas 8,5 %; fósforo <1,5 %; umidade <10 %; traços de vitaminas e de minerais (CRAIG et., 2017).

2.2 Processamento tecnológico para obtenção da ração para peixes

O conceito de ração é definido pelo alimento consumido com todos os nutrientes exigidos para suprir as necessidades fisiológicas do animal em manutenção e produção. À vista disso, as fábricas de ração animal surgiram pela necessidade de fornecimento com eficiência de rações de acordo com as exigências nutricionais dos animais de produção e pelas grandes demandas de mercado, que são pressionadas a produzir e formular produtos tecnologicamente mais avançados com maior valor agregado (BEUS, 2017; LEITE *et al.*, 2008).

Para a fabricação de ração com qualidade e com características físico-químicas e biológicas garantidas, são necessários os controles iniciais, como seleção de fornecedores de matéria-prima e de insumos, preparação da matéria-prima (pesagem, mistura, moagem e peneiramento), pré-condicionamento, e os processamentos importantes para modificação das estruturas das rações, como a peletização ou extrusão, seguidos do ensaque e expedição de produtos acabados, as quais são todas as etapas de fabricação de ração animal (CHAABANI *et al.*, 2022; OLIVEIRA, 2016; RIAZ E ROKEY, 2011).

Inicialmente as rações para peixes eram produzidas apenas na forma peletizada, com o uso de tecnologia simples, como um moinho de *pellets*. O processo de peletização consiste na aglomeração de ingredientes ou mistura que em formato cilíndrico são nomeados de *pellet*. Para obtenção dos *pellets*, os ingredientes são agregados por ação mecânica, em combinação com umidade, pressão e temperatura (MASSUQUETTO, 2014). A peletização é realizada no conjunto peletizador composto por uma rosca alimentadora, condicionador, retentor e prensa peletizadora (MURAMATSU, 2013). A ração peletizada apresenta a redução de contaminação de bactérias pois são expostas às altas temperaturas durante o processo (CRUZ & RUFINO, 2017). Trata-se de método estável e baixo custo de produção, na qual poderia ser realizado na própria fazenda de cultivo de peixes. Porém, sua principal desvantagem é que há influência na qualidade físicas dos *pellets*, principalmente sua forma, densidade (LE GOUVELLO e SIMARD, 2017) e composição centesimal.

Com a tecnologia da extrusão das rações foi possível elaborar uma densidade variada, com baixa e alta densidade para adequar aos hábitos dos peixes e granulometria conforme a fase de desenvolvimento. Além da melhor qualidade das características físicas (estrutura firme, ausência de finos, tamanho e forma ajustáveis) e estabilidade na água (CRAIG, 2017; CYRINO e FRACALOSSO, 2012; TERPSTRA, 2015).

Na extrusão, os grãos moídos são condicionados por 30 segundos a 150,0 °C, e na expansão a temperatura é de 90 a 120°C por dois a três segundos, com compressão sobre o alimento (DE CASTRO MOURÃO *et al*, 2012). A ração extrusada possui alta estabilidade na superfície da água (cerca de 12 horas) e flutuabilidade com baixas perdas de nutrientes, sendo a mais indicada para a piscicultura com boa aceitabilidade pelos peixes. A técnica é aplicada extensivamente com matérias-primas como milho, trigo, arroz e a soja (SIMON, 2009).

Durante o processo de extrusão, as moléculas constituintes da mistura de rações são submetidas a uma sucessão de tratamentos quase instantâneos envolvendo altas tensões de cisalhamento, pressões e temperaturas, todos os quais representam um desafio na avaliação do teor de nutrientes retidos no produto tratado (PLATTNER, 2007). Utiliza-se a secagem para reduzir o teor de umidade do produto, que deixa a extrusora com aproximadamente 14% de umidade.

É importante manter a umidade final até 10%, a fim de evitar multiplicação de micro-organismos indesejados, especialmente os fungos. Porém, deve-se manter precaução quanto o excesso de secagem pode resultar em perdas de ingredientes como antioxidantes e antifúngicos (KRABBE, 2011).

2.3 Controle de qualidade, fiscalização, comercialização e estocagem de rações para peixes

A escolha dos fornecedores de ingredientes é fundamental na eficiência da produção da ração a ser ofertada aos peixes, assim como o preparo das rações deve ser criterioso, desde a moagem e mistura dos ingredientes até as etapas finais do processamento, para então garantir o bem-estar dos animais em cultivo (GRANADOS-CHINCHILLA, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2012). Os peixes tendem a ser comedores exigentes, pois exigem níveis mais altos de proteína dietética, as próprias rações de origem vegetal possuem menor conteúdo proteico em comparação com a origem animal (CASAGRANDE *et al.*, 2021; MARASCA *et al.*, 2019; SARKER, RAHMAN e ALAM, 2015).

A legislação referente à alimentação animal no Brasil é composta pela Lei Federal nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, que dispõe sobre a inspeção e a fiscalização obrigatórias dos produtos destinados à alimentação animal, regulamentada através do Decreto nº 6.296, de 11 de dezembro de 2007 (BRASIL, 2022; FORMIGONI *et al.*, 2017).

No processo de fabricação de alimentos para animais, o controle de qualidade inicia-se no projeto da fábrica, que envolve sua construção e instalação de equipamentos até o produto. As empresas que adotam as BPF possuem benefícios e evitam problemas futuros como a redução de custos e de contaminação (BEUS, 2017; FORMIGONI *et al.*, 2017; MENESES, 2018). Dentre elas as principais são: a qualificação de fornecedores e controle de matérias-primas e embalagens (IN 04/2007), limpeza/higienização de instalações, equipamentos e utensílios, higiene e saúde dos manipuladores, haver padrões aceitáveis de potabilidade da água, prevenção de contaminação cruzada, controle de pragas, resíduos e efluentes, programa de rastreabilidade e recolhimento de produtos (BRASIL, 2007).

Para valorizar ainda a eficiência da qualidade conta-se com o método Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) descrita pela Portaria nº 46, de 10

de fevereiro de 1998, que tem como fundamento identificar e analisar perigos envolvidos dentro da cadeia de produção para garantir a segurança do consumidor contra perigos, seja de origem físicos, químicos ou biológicos, sendo a última etapa referente a segurança do produto (DE PAULA e RAVAGNANI, 2011; MAPA, 1998).

A prevenção da multiplicação microbiana nas rações está relacionada com o uso de técnicas adequadas no processamento e armazenamento, juntamente com instalações adequadas de armazenagem (TACON *et al.*, 2011). O armazenamento a longo prazo influencia a composição química dos alimentos para animais, na qual devem ser conservadas de forma a garantir a sua inocuidade e integridade, sempre respeitando a temperatura e umidade adequadas para conservação, data de validade, tempo de armazenagem, pessoas responsáveis, organização, limpeza, higienização do local em que vai ser estocada (HOORNSTRA *et al.*, 2001; MAPA, 2007).

A armazenagem pode ser definida como o espaço onde as empresas, dos mais variados segmentos de operação, utilizam para armazenar seus produtos, desde a sua distribuição, com um processo que deve garantir a integridade física e a inocuidade dos produtos de acordo com sua finalidade. Todo alimento necessita ser armazenado de acordo com suas características, para garantir que o alimento tenha boa qualidade para o consumidor final. No caso de armazenamento à seco, deve-se manter o local em temperatura ambiente (PANDOLFI *et al.*, 2020; PAOLESCHI, 2018).

As rações passam por controle de qualidade durante o processo de fabricação que é garantida pela embalagem adequada. Por esse motivo, após abertura para distribuição diária nas unidades de piscicultura, as embalagens devem ser armazenadas adequadamente para que suas características originais sejam conservadas (LIMA, 2013; MARION, 2018).

2.4 Presença de patógenos bacterianos nas rações

A alimentação animal é vulnerável à introdução de bactérias patogênicas ao longo de toda a cadeia produtiva (ALALI e RICKE, 2012). A presença delas podem interferir na digestão de nutrientes, na sanidade, no metabolismo e na resposta imunológica. Também pode contaminar os alimentos derivados causando doenças nos consumidores (SAPKOTA *et al.*, 2007; TESSARI *et al.*, 2014; OU *et al.*, 2021).

A microbiota gastrointestinal dos peixes atua na prevenção da colonização de agentes infecciosos, na homeostase energética e na manutenção da imunidade da integridade da mucosa. A composição microbiana das rações favorece a manutenção da sanidade dos peixes propiciando bom desempenho zootécnico, conseqüentemente interfere economicamente na piscicultura mais sustentável (DEEPIKA *et al.*, 2019; JIN *et al.*, 2022; LIEKE *et al.*, 2020).

Bactérias patogênicas no ambiente da piscicultura ocorrem principalmente pelas atividades antrópicas perto das fazendas, a falta de manejo adequado dos tanques e pela utilização de ingredientes de fonte duvidosa nas rações (ZORRIEZHARA *et al.* 2016). A presença de coliformes termotolerantes nas rações e nos ingredientes está associada à falta de higiene geral na manipulação, preparo e armazenamento de produtos (SANTOS *et al.*, 2000). E as bactérias mesófilas são utilizadas para estimar a presença de patógenos nos alimentos fornecidos aos peixes, assim como a possível vida de prateleira. As rações são armazenadas em galpões expostas a umidade e a temperatura ambiente (entre 20,0 °C e 45,0 °C), condições que propiciam a multiplicação de bactérias mesófilas (FAO, 2008; FERREIRA, LIMA e COELHO, 2014; JAY, JUNIOR *et al.*, 2021; LOESSNER e GOLDEN, 2009).

Caso presentes nos alimentos, outros gêneros bacterianos podem afetar a saúde do consumidor por infecções e intoxicações. A multiplicação desses micro-organismos está condicionada as condições de armazenamento propícias ao seu desenvolvimento. Dentre os gêneros prováveis, o grupo dos coliformes (*Escherichia*, *Citrobacter* e *Klebsiella*), pode se multiplicar entre 5,0 °C a 44,5 °C, atividade de água até 0,90 e ampla faixa de pH (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2009; TORTORA, FUNKE e CASE, 2012).

A presença de *Salmonella* spp. em rações ocorre pela utilização de ingredientes contaminados, armazenamento inadequado, falhas nas BPF durante processamento de fábricas e dos manipuladores. Essa bactéria pode formar biofilmes e proteger-se contra ações desinfetantes, favorecendo sua multiplicação e permanência no interior do sistema de produção (MUNOZ *et al.*, 2021; PARKER *et al.*, 2022).

De um modo geral, os ingredientes da ração estão potencialmente sujeitos à contaminação por *Salmonella* spp., nas diversas etapas, desde a obtenção da matéria-prima, durante o processamento, no transporte até o armazenamento da ração na

fazenda (SANTOS *et al.*, 2000; SILVA e DUARTE, 2002; SILVA, 2011). As *Salmonella* spp. presentes nas matérias-primas utilizadas para alimentação dos peixes podem se instalar no microbioma intestinal, favorecendo a disseminação no ambiente e contaminação posterior dos filés beneficiados inadequadamente (COLE *et al.*, 2011; FAGUNDES e FERREIRA, 2018).

Em relação ao *Bacillus cereus*, trata-se de bactéria Gram positivas, com formato de bastonetes, formadoras de esporos elipsoidais ou cilíndricos, subterminais ou paracentrais (LOGAN e DEVOS, 2009). Essa bactéria pode ter capacidade de produção de toxinas gastroentéricas que causam as síndromes emética e diarreica pelo consumo de vários tipos de alimentos contaminados, incluindo peixes (HASSANIEN *et al.*, 2018; MAZIERO e BERSOT, 2011).

2.5 Resistência bacteriana

São classificados como agentes profiláticos, ou terapêuticos os fármacos que são utilizados para tratar de infecções. O controle tem sido feito com o uso de antibacterianos adicionados na ração ou na água (imersão), porém os peixes não metabolizam alguns antibacterianos e descartam nas fezes (FIGUEIREDO e LEAL, 2008; PESSOA *et al.*, 2020; ROMERO *et al.*, 2012).

A oxitetraciclina é um dos principais antibacterianos utilizado para controle de bacterioses na aquicultura (SERRANO, 2005). O MAPA pela Instrução Normativa - IN N° 162, de 1° de julho de 2022 facilita a busca aos limites máximos de resíduos para insumos farmacêuticos ativos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal, podendo ser consultados a gestão diária aceitável (IDA), a dose de referência aguda (DRfA) e os limites máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos (IFA). O limite máximo de resíduo de oxitetraciclina no músculo de peixe é de 200 mcg/Kg (CODEX ALIMENTARIUS, 2023; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

No Brasil há dois programas que monitoram a presença de resíduos de medicamentos nos produtos de origem animal, são eles: a) Programa Nacional de Controle de Análise de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal (PNCRC/Animal) baseado no Decreto N° 9.013, de 29 de março de 2017 que dispõe sobre a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (MAPA, 2017), a Instrução Normativa N° 42, de 20 de dezembro de 1999 que estabelece as diretrizes

do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em produtos de Origem Animal (MAPA, 1999). Foi instituído o Programa Nacional de Monitoramento de Resistência a Antimicrobianos em recursos Pesqueiros através da Instrução Normativa MAPA Nº 30, de 30 de dezembro de 2014 com a finalidade de garantir a sustentabilidade dos sistemas de produção de animais aquáticos e a sanidade dos recursos pesqueiros e seus derivados, obtidos a partir dos cultivos nacionais (BRASIL, 2014).

A utilização de antibacterianos não aprovados podem ampliar o espectro de resistência de bactérias (PORTELA, 2020; RIGOS e TROISI, 2005). A resistência aos antibióticos disponíveis é atualmente um desafio global, uma vez que o número de cepas resistentes a vários tipos de antibióticos tem aumentado dramaticamente a cada ano e se espalhado pelo mundo (GONZÁLEZ-BELLO, 2017; JØRGENSEN e HALLING-SØRENSEN, 2000).

Os piscicultores frequentemente usam antibióticos de amplo espectro como tratamento para infecções bacterianas devido à sua conveniência e como cobertura geral contra uma ampla gama de doenças bacterianas (BECO *et al.*, 2013). Os mecanismos de resistência aos antibacterianos engloba a alteração do sítio ativo, a diminuição da concentração celular e inativação do antibacteriano por síntese de proteínas (CASTANHEIRA *et al.*, 2013; GASTALHO *et al.*, 2014).

As bactérias patogênicas podem alterar a saúde humana e animal e adquirir resistência a fármacos afetando também as comunidades de zooplâncton e fitoplâncton pela seleção de mutantes espontâneos e pela transferência horizontal de genes (BURRIDGE *et al.*, 2010). Dentre eles, a tetraciclina bloqueia a síntese de proteínas bacteriana, inibindo sua multiplicação (ROMERO *et al.*, 2012). Esse fármaco é utilizado em piscicultura para tratamento de bacterioses, porém o uso indiscriminado pode favorecer o desenvolvimento de cepas multirresistentes que são lançadas nos corpos de água (SILVA *et al.*, 2022).

A farmacocinética de um medicamento é realizada no animal que foi utilizado para consumo, pois existe um tempo de eliminação do antibiótico dos tecidos e órgãos dos peixes, como Mouminta *et al.* (2019) detectaram resíduos de antibióticos abaixo de 0,1 ppm dentro de 21 dias após a medicação (50 mg oxitetraciclina/kg) em peixes. A concentração do fármaco é significativamente reduzida com o aumento da

temperatura, devido os níveis mais elevados do metabolismo, que é um ponto positivo para os peixes cultivados no clima tropical fornecendo uma maior segurança de peixes para consumo humano.

Segundo trabalho O de Mannan *et al.* (2020) os resultados sugeriram que a dosagem de 0,2% de oxitetraciclina usado em instalações aquícolas foi eficaz contra a maioria das bactérias, incluindo bactérias entéricas, e podendo ser usado com sucesso na aquicultura comercial (ANADÓN *et al.*, 2018).

3 METODOLOGIA

3.1 Local de coleta e amostragem da ração para peixes

As amostras de ração comercial foram coletadas em uma propriedade piscicultora localizada na cidade de Teresina, Piauí (5.2009431° O, 42.7846081° S). Essa empresa produz e comercializa semanalmente alevinos e juvenis de tilápias (*Oreochromis* sp), pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e panga (*Pangasius hypophthalmus*) para outros produtores. Realizam engorda das tilápias até atingirem aproximadamente 800g, dessa forma, a despesca de cada viveiro ocorre após quatro meses de povoamento conforme a demanda do mercado para comércio varejista e atacadista.

Para atender a demanda nutritiva dos peixes, a empresa armazena em galpões de alvenaria as rações para uso diário (teor de 28% de proteínas abertas por três dias e rações com teor de 45% de proteínas abertas por uma semana, aproximadamente). O galpão utilizado é arejado com teto forrado com telha metálica, paredes brancas rebocadas com cimento e possui estrados de policloreto de vinila (PVC) para evitar o contato dos sacos de rações direto com o piso de concreto. A empresa faz o controle de pragas, porém não controla a umidade e a temperatura no galpão.

De fevereiro a outubro de 2023 foram coletadas mensalmente no galpão amostras com 200 gramas de ração para alevinagem (45% de proteína) da embalagem que estava aberta para uso diário (Tratamento) e da embalagem fechada pelo fabricante que estava no estoque (Controle). Totalizando oito amostras de ração para alevinagem

em uso, e oito estocadas. O mesmo procedimento foi utilizado nas amostras da ração de engorda (28% de proteína). No total foram coletadas 32 amostras de ração.

No momento da coleta a temperatura e a umidade do galpão foram aferidos utilizando-se termo-higrômetro digital (capacidade de leitura para temperatura de 0,0 a 70 °C; e de umidade relativas 1,0 a 90,0 %).

As amostras de rações foram acondicionadas em sacos plásticos limpos e secos, juntamente com o termômetro, para a aferição diária de temperatura e umidade do ambiente. Para as análises, as amostras de cada tratamento foram transportadas em caixas isotérmicas ao laboratório para contagem em triplicata para contagem de bactérias heterotróficas mesófilas, coliformes totais, termotolerantes, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, pesquisa de *Salmonella*, e realização do teste de sensibilidade ao antibacteriano oxitetraciclina.

3.2 Processamento das amostras

Após a coleta, as amostras foram levadas para o Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos (NUEPPA), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

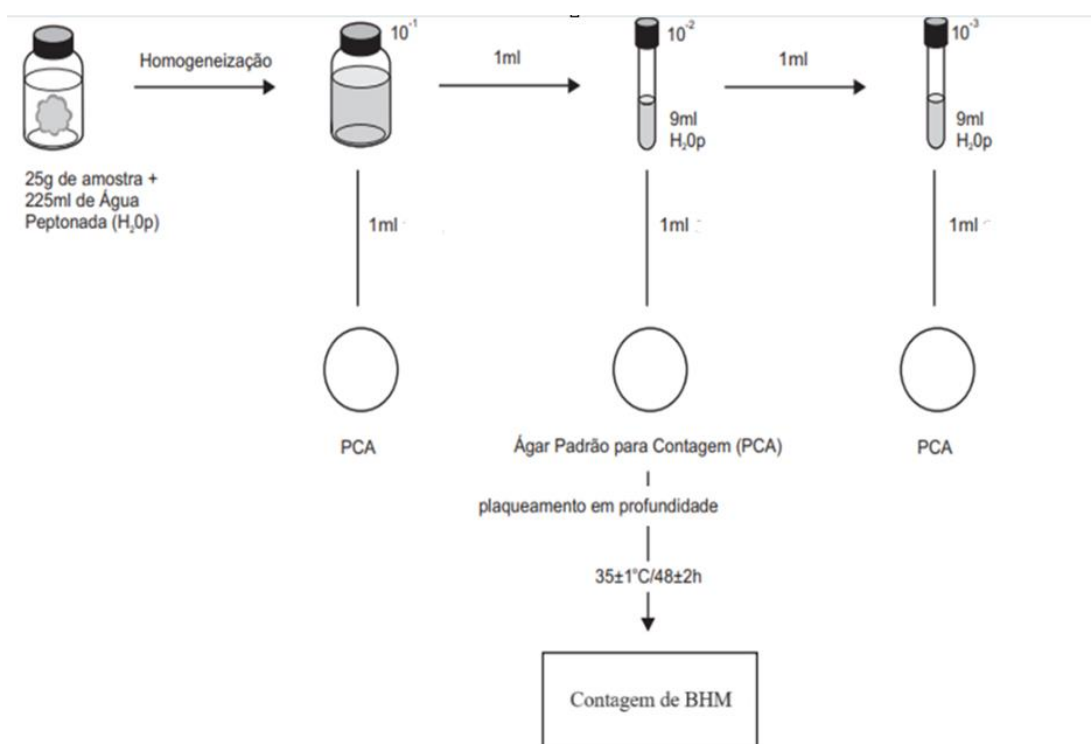
Para o preparo das amostras para as análises bacteriológicas, as rações foram trituradas com auxílio de um eletroportátil mixer vertical e logo após retiradas assepticamente 25 g da unidade analítica da amostra e transferidos para frascos contendo 225 mL de água peptonada estéril e homogeneizadas, obtendo-se assim a primeira diluição 10^{-1} . Em seguida, 1mL desta diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de água peptonada, obtendo-se a diluição de 10^{-2} e repetindo o procedimento a partir desta diluição para a obtenção da diluição 10^{-3} . Estas diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) foram utilizadas para a contagem de bactérias heterotróficas mesófilas, *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes.

3.2.1 Contagem de bactérias heterotróficas mesófilas

Para a contagem de bactérias heterotróficas mesófilas (BHM) foram transferidas alíquotas de 1,0 mL de cada diluição para o fundo de placas de Petri

estéreis em triplicatas, distribuídas e adicionados 15,0 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) pela técnica *Pour Plate*, seguindo-se de incubação por 48 h a 35°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) (Figura 1). Após a incubação, foram contadas as placas contendo entre 25 e 250 colônias, onde a médias das contagens foram multiplicadas pelo inverso da diluição, obtendo-se o número de unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas mesófilas por grama de ração (DA SILVA *et al.*, 2017).

Figura 1 - Esquema geral de análise para contagem de bactérias heterotróficas mesófilas em placas



FONTE: MORTON, 2001

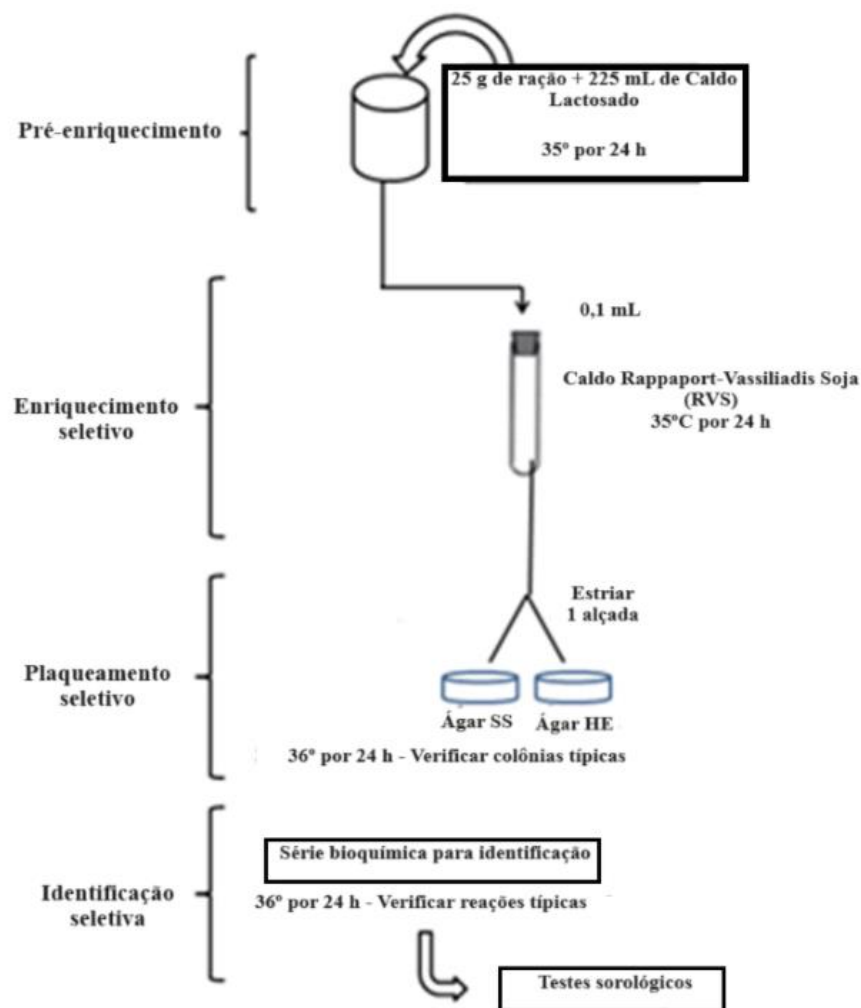
3.2.2 Pesquisa de *Salmonella* spp

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. foi transferida 25 g de cada amostra para um frasco contendo 225 mL de caldo lactosado e incubado a 35°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) por 24 horas, constituindo uma etapa de pré-enriquecimento da amostra. Toda a metodologia aplicada foi preconizada por Da Silva *et al.* (2017) (Figura 2).

A partir da amostra da ração enriquecida em caldo lactosado e incubados a 35°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) por 24 h, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL para 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) que foi incubado a 42°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 24h.

Posteriormente, foi efetuada a passagem para os meios seletivos de *Ágar Salmonella Shigella* (SS) e *Ágar Hektoen Enteric* (HE) com período de incubação de 24 horas na temperatura de 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), após o crescimento das colônias foi observado se havia a presença das características de colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto, cepas fortemente produtoras de H₂S que poderiam produzir colônias com centro preto grande e brilhante, ou mesmo inteiramente pretas com uso do *Ágar HE*.

Figura 2 –Pesquisa de *Salmonella* spp.



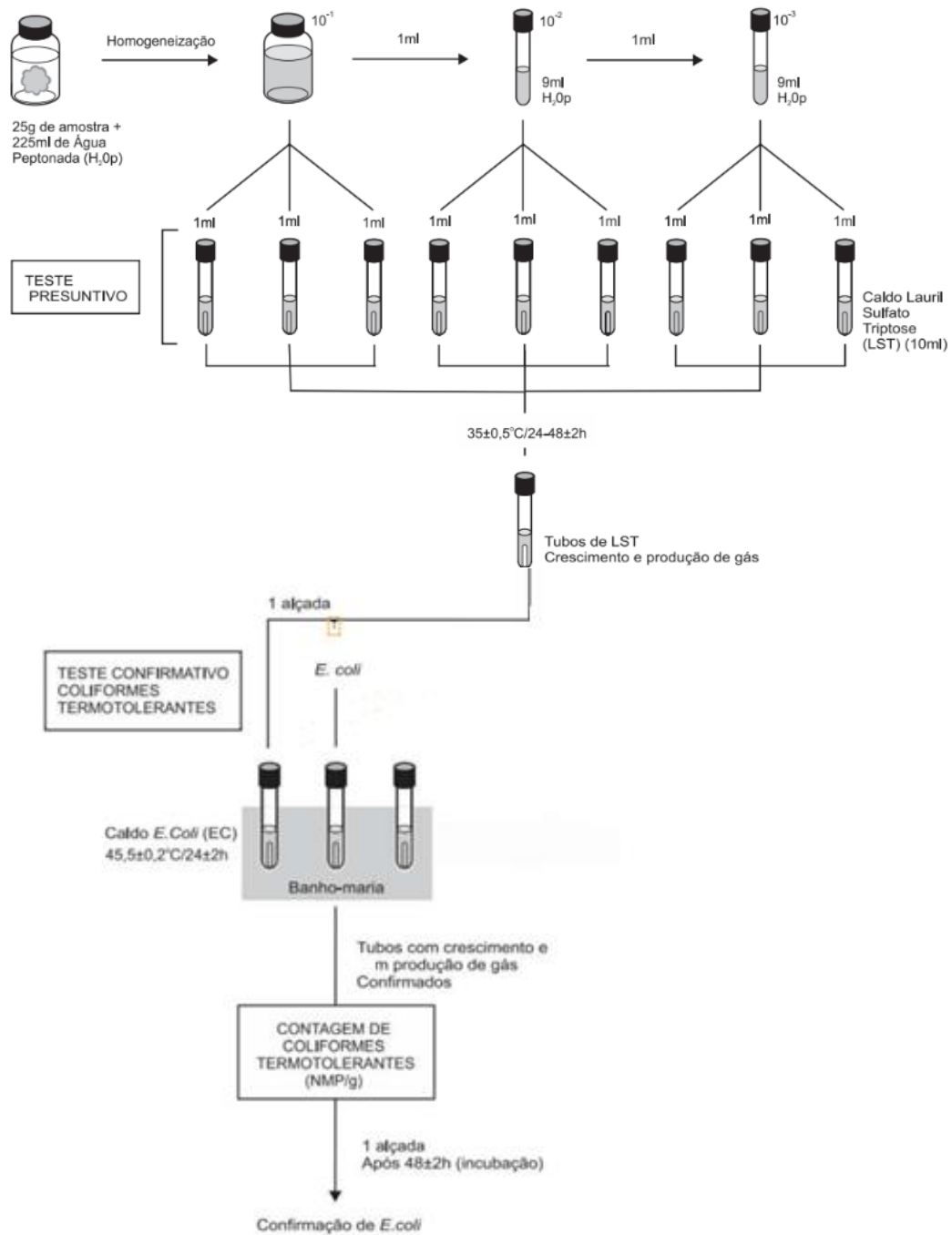
Fonte: AMERICANO, 2016

3.2.3 Estimativa da população de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

O método clássico de contagem de coliformes totais, termotolerantes é o do Número Mais Provável (NMP). A partir das diluições das amostras de ração, foi

realizado o teste presuntivo para estimar a população de coliformes totais e termotolerantes. Utilizando uma série de três tubos contendo 10mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durham invertidos, foram transferidos 1mL de cada diluição aos tubos de LST que foram incubados por 24-48h/35°C. A positividade para o teste presuntivo foi dada pela turvação do meio e observação da produção de gás. A partir da prova presuntiva para coliformes fecais, foi feita a prova confirmatória para a presença de coliformes termotolerantes. Dos tubos positivos de LST foi feito um repique para tubos de ensaio contendo Caldo EC e tubos de Durham invertidos, que foram incubados à 45,5°C/24h. A positividade para este teste foi a presença de turvação e produção de gás (Figura 3). Os resultados foram expressos em NMP (Número Mais Provável) /100 mL de amostra. Para se determinar o NMP, verificou-se a combinação formada pelo número de tubos positivos que apresentaram as diluições 1:1; 1:10 e 1:100 no Teste Confirmativo.

Figura 3 - Esquema de análise de coliformes totais, termotolerantes em alimentos pelo método do NMP



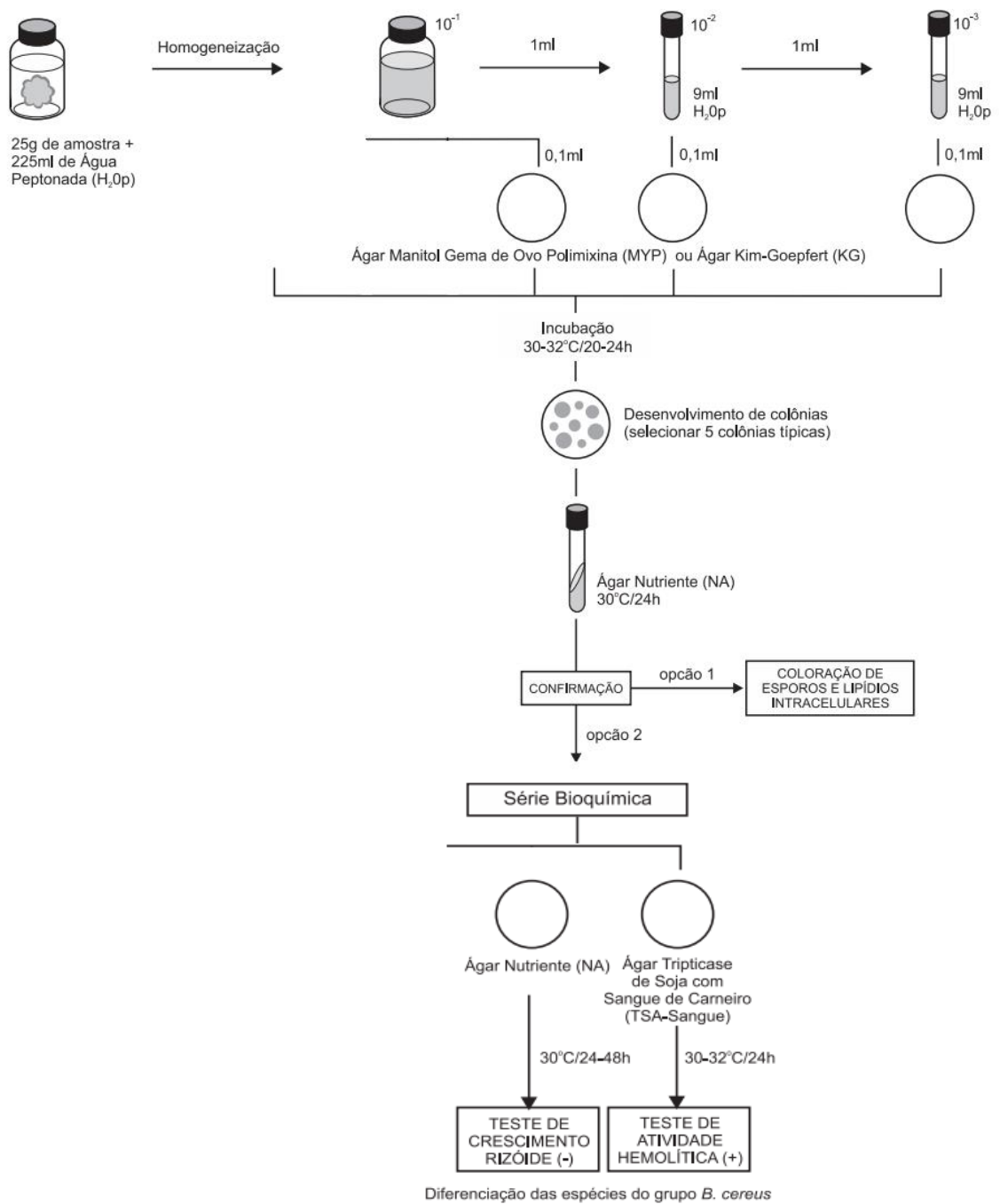
Fonte: KORNACKI *et al.*, 2015

3.2.4 Método de plaqueamento para contagem de *Bacillus cereus* em alimentos

Foi realizado três diluições adequadas da amostra e inoculadas 1 ml de cada diluição em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) previamente preparadas e secadas (plaqueamento em superfície). Foi espalhado o inóculo com alças de Drigalski, até que todo o líquido foi absorvido pelo meio de cultura. Havendo interesse em contar exclusivamente os esporos, a amostra foi submetida a choque

térmico por 15 minutos a 70 °C. Aguardou-se que as placas secassem completamente e incubou-se invertidas, a 30 a 32 °C/20 ± 2 horas. Selecionou-se para a contagem placas com 10 a 100 colônias, contendo não mais do que 30 colônias típicas de *B. cereus*, pois estas colônias são grandes e os halos característicos podem confundir-se em placas muito cheias. O Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) é idêntico ao Ágar Kim-Goepfert (KG), mas apresenta ainda uma coloração rósea leitosa ao redor das colônias, típica da não-fermentação do manitol (Figura 4).

Figura 4 - Esquema de análise para contagem de *B. cereus* pelo método de plaqueamento



Bennett *et al.*, 2015

3.3 Determinação da sensibilidade ao antibacteriano oxitetraciclina

Para o teste de antibiograma pela técnica de difusão em disco (Bauer *et al.*, 1996 com modificações), foram selecionadas sete cepas de *B. cereus* isoladas a partir das amostras de rações analisadas. As cepas de *B. cereus* com crescimento de 24h foram ressuscitadas em solução salina (NaCl 0,9%), para padronização do inóculo de acordo com a escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). O inóculo padronizado foi semeado com auxílio de um swab estéril na superfície de placas contendo ágar nutriente, modificação realizada. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro, previamente embebidos com o antibiótico comercial oxitetraciclina nas concentrações: 0,2% (concentração padrão utilizada para peixes), 0,5%, 1%, e 2%. As placas foram incubadas a 37°C por 24h. Logo após este período foi verificada a presença ou ausências de halos de inibição e foi efetuada a medição dos halos. A análise de disco difusão foi realizada de acordo com o método descrito pelo Manual Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (CLSI, 2015).

3.4 Análise bromatológica

Nas análises bromatológicas foram verificados os valores de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cinzas, umidade, fibra bruta (FB), segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2003).

3.4.1 Teor de umidade

Foram pesadas 40 a 50 g de ração e colocada em recipiente de secagem (tarar o recipiente de secagem, limpo e seco). Foi mantido a 75°C em estufa com circulação de ar forçado por 24 horas e em seguida pesou-se o material seco para aplicar a fórmula:

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{\text{Peso úmido} - \text{peso seco}}{\text{peso úmido}} \times 100$$

3.4.2 Cinzas ou matéria mineral

Para análise do teor de cinzas, procederam-se com o preparo dos cadinhos para pesagem da amostra. Esse preparo consistiu na queima dos cadinhos em forno Mufla a 550°C/15min. Em seguida, os cadinhos foram transferidos para um dessecador, onde permaneceram por 1h até esfriar. Então, foram pesados 3 g da amostra, que foi levada para incineração em forno Mufla a 550°C/4h até obter um cinza de cor clara. A temperatura inicial de 200°C foi adotada para evitar a queima brusca do material e, conseqüentemente, as perdas.

$$\% \text{Cinzas: } \frac{\text{peso (cinza)}}{\text{peso (amostra)}} \times 100$$

3.4.3 Extrato etéreo

A extração de etéreo foi feita com éter de petróleo cujo ponto de ebulição estava entre 40 e 65°C, entre 4 e 6 horas em extrator tipo “Goldfisch”. Pesou-se 3 gramas de amostra em um cadinho de porcelana para colocar em estufa a 105°C, durante 3 horas (secagem definitiva). Após esfriar a amostra, foi colocada em dessecador por trinta minutos, fazendo um embrulho com papel de filtro em forma de cartucho, e pesando a amostra contida no cadinho de porcelana. Os béquers foram tarados com cuidado para não tocar neles com as mãos, pois absorvem gordura, alterando o resultado da amostra. Numerou-se o papel de filtro à lápis e registrou-se o número do béquer onde foi colocado cada papel de filtro. Tarou-se o balão (recipiente apropriado do aparelho) com o cartucho de papel de filtro e o béquer e pesou-se 1,0 grama da amostra em papel de filtro para colocar no suporte de vidro (balão), fixando-o na presilha da entrada do condensador do aparelho de extração. Em seguida, foi adicionado de trinta a quarenta mililitro de éter de petróleo no béquer previamente tarado.

$$\% \text{gordura: } \frac{\text{Peso do cadinho + gordura extraída} - \text{peso do cadinho vazio}}{\text{peso da amostra}} \times 100$$

3.4.4 Fibra bruta

Inicialmente foi pesada 1 g da amostra e transferida para béquer de 600 ml para adicionar 100 ml de Ácido Sulfúrico 0,255 N e colocado imediatamente no aparelho digestor aquecido, e posteriormente foi ligada a água de circulação dos condensadores. Após o início da ebulição marcou-se trinta minutos. Concluída a etapa, procedeu à filtração em papel de filtro fazendo-se lavagens sucessivas com água quente sobre o resíduo. O material retido no papel foi transferido para o béquer de digestão com 110

ml de hidróxido de sódio 0,313N quente. Foi colocada aproximadamente quinze pérolas de vidro, seguindo os mesmos princípios da digestão ácida (trinta minutos). Em seguida, foi filtrada a fração fibrosa em gooch de placa, lavando o béquer com água quente e, a seguir, lavando-o duas vezes com álcool etílico 95%. Os gooch foram secos em estufa a 105°C durante 4 horas, esfriados em dessecador e pesados. Posteriormente, calcinados em mufla a 550°C durante 1 hora, esfriados em dessecador e pesados.

$$\%FB = \frac{(\text{Peso do cadinho} + \text{fibra bruta}) - (\text{peso do cadino} + \text{cinza})}{\text{peso da amostra} \times \text{matérias seca}(105^{\circ}\text{C})}$$

3.4.5 Proteína bruta

Foram pesadas 500 mg da amostra homogeneizada, em papel manteiga (anotar o peso). Foi colocado no tubo de digestão de proteína, e pesados 2,5g de sulfato de sódio para adicionar ao tubo. Foi espalhado 12 a 14 mL de solução sulfo-cúprica. Em seguida, realizou-se o processo de digestão ocorrido no digestor, ligando o equipamento de digestão de proteína, programado para temperatura de 420°C e realizando a digestão da amostra até não haver mais matéria a ser digerida, ficando a solução límpida transparente ou esverdeada (aproximadamente 1h). Após completar o ciclo, retirou-se os tubos, e realizou-se a destilação. Para a destilação (realizada no equipamento de destilação de proteína), foi colocado 12 mL de ácido bórico 4% em Erlenmeyer de 250mL, adicionado 40 mL de água destilada e três gotas de indicador Tashiro (coloração deverá ficar roxa). Foi colocado o Erlenmeyer (contendo ácido bórico) na ponta de saída do destilador, de modo que a ponta ficou submersa no líquido. Colocou-se o tubo com a amostra no equipamento de destilação de proteína (destilador). Através do funil introdutor do aparelho, foi adicionado 55-60 mL da solução de NaOH a 40% que foi aquecido à ebulição e destilado com a ponteira mergulhada na solução indicadora até completar 125 mL recolhidos no Erlenmeyer. Após isso, foi emergido a ponteira a qual recolheu mais 25 mL (completando 150 mL). A fim solução deverá ficar verde. E por fim, na titulação, foi colocado ácido sulfúrico 0,1N na bureta, titulado a solução destilada até a virada da cor do destilado (de verde para roxo) e anotado o volume de ácido sulfúrico gasto na titulação. Assim a quantidade total de H₂SO₄ 0,1N, consumidos pela destilação, multiplicados por 0,0014 resultou na quantidade de nitrogênio presente na amostra.

$$\% \text{ proteína bruta: } \frac{K \times V \times \text{Fator}}{P}$$

Onde:

$$K = Fc \times 0,0014 \times 100$$

Fc = fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1N

P = massa da amostra em grama

V = volume de ácido sulfúrico gasto na titulação

Fator = fator de conversão do nitrogênio em proteína (varia conforme o alimento, na qual: 6,25 para carnes em geral e alimentos com mistura de proteína animal e vegetal)

3.4.6 Atividade de água

Colocou-se uma pequena quantidade da amostra numa cápsula circular de polietileno, cobrindo apenas o fundo.– Em seguida, foi inserida no equipamento PAWKIT, e a leitura foi feita automaticamente depois de alguns minutos do rastreamento de toda a amostra.

3.4.7 Determinação do pH

O pH foi determinado eletrometricamente em pHmetro previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Antes e após qualquer medição o eletrodo foi lavado com água destilada e secado, para que não houvesse erro na leitura. Para medição do pH, foram pesados 5 gramas da amostra em vidro de relógio e transferido para o Erlenmeyer seco, com 50 mL de água. Em seguida o conteúdo do frasco foi agitado até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Ocasionalmente foi agitado por mais 30 minutos. A seguir deixado em repouso por 10 minutos. O líquido sobrenadante foi decantado para um frasco seco e, imediatamente, determinado o pH eletrometricamente.

3.5 Análise das sujidades leves

Foram adicionados 100 gramas da amostra a um frasco armadilha de Wildman, acrescentado 35 mL de querosene e misturado, então foi adicionado água destilada aquecida com temperatura de 50°C e novamente foi misturado, agitando bem a

amostra com o agitador do frasco, o movendo para cima e para baixo, por dois minutos. Então, foi vagarosamente acrescentado mais água destilada aquecida, deixando escorrer pela parede do frasco, até próximo do gargalo, em seguida deixado em repouso por 30 minutos. Após o tempo, foi adicionado água aquecida vagarosamente, elevando o querosene até o gargalo do frasco, então cuidadosamente levantou-se o agitador até a camada inferior de querosene, fechando o gargalo. A fase oleosa foi transferida para um béquer e esta foi filtrada à vácuo utilizando papel filtro. Após a filtração, como o auxílio de uma pinça, o papel foi colocado numa placa de Petri e deixado para secar em temperatura ambiente. Feito isso, o papel filtro foi observado em microscópio estereoscópico, os materiais estranhos foram isolados e com eles foram montadas lâminas utilizando glicerina e lamínulas, que foram examinadas no microscópio ótico com lentes de 40 vezes (PIVA *et al.*, 2013).

3.6 Análise estatística

Os dados foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2x2, sendo duas rações com níveis de proteína diferentes com rações de teor de proteína 45% (rações para alevinagem) e rações com teor de proteína 28% (ração para engorda), com amostras em sacos advindos de fábrica (controle) e amostras de sacos já manuseados na piscicultura (uso diário), sendo 8 repetições cada, totalizando 32 amostras. Foi realizada uma análise de variância com procedimento PROC ANOVA do SAS, e utilizado o teste de médias Tukey utilizando o pacote estatístico SAS versão 9.0 com $\alpha = 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas nas rações com teores de proteínas de 28% e 45% apresentadas nas tabelas 1 e 2, respectivamente, evidenciaram contaminação por bactérias mesófilas heterotróficas, *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes.

Tabela 1: Resultado da análise microbiológica das rações com teor de proteína de 28%

| Teor de proteína (%) | Avaliação microbiológica | Ração fechadas pelo fabricante | | | | | | | |
|----------------------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 28 | BHM (UFC/g) | 1,6 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ³ | 9,3 x 10 ² | 1,4 x 10 ³ | 5,0 x 10 ² | 4,5 x 10 ³ | 1,3 x 10 ³ | 9,4 x 10 ² |
| 28 | <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g) | 5,1 x 10 ³ | 1,7 x 10 ³ | 1,2 x 10 ⁴ | 3,8 x 10 ³ | 4,1 x 10 ³ | 1,8 x 10 ⁴ | 1,7 x 10 ⁴ | 1,3 x 10 ³ |
| 28 | <i>Salmonella</i> spp. | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| 28 | Coliformes totais (NMP/g) | 7,4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | Coliformes termotolerantes (NMP/g) | 3,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | <i>E. coli</i> (NMP/g) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Ração em uso | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 28 | BHM (UFC/g) | 7,5 x 10 ¹ | 8,2 x 10 ³ | 1,1 x 10 ⁴ | 3,4 x 10 ² | 4,0 x 10 ³ | 3,6 x 10 ³ | 3 x 10 ³ | 5,3 x 10 ³ |
| 28 | <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g) | 1,0 x 10 ⁵ | <1 | 7,0 x 10 ³ | 3,5 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁴ | 2,1 x 10 ⁴ | 2,0 10 ⁴ | 1,1 x 10 ² |
| 28 | <i>Salmonella</i> spp. | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| 28 | Coliformes totais (NMP/g) | 9,2 | 3,6 | 9,2 | 9,2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | Coliformes termotolerantes (NMP/g) | 11 | 3,6 | 7,4 | 7,4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | <i>E. coli</i> (NMP/g) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

UFC/g: Unidade Formadora de Colônia por grama; NMP/g: Número Mais Provável por grama; BHM: Bactérias Heterotróficas Mesófilas.

Tabela 2: Resultado da análise microbiológica das rações com teor de proteína de 45%

| Teor de proteína (%) | Avaliação microbiológica | Ração fechadas pelo fabricante | | | | | | | |
|----------------------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 45 | BHM (UFC/g) | 4,2 x 10 ³ | 3,0 x 10 ³ | 1,5 x 10 ³ | 2,4 x 10 ² | 8,5 x 10 ² | 3,7 x 10 ³ | 2,0 x 10 ² | 1,2 x 10 ³ |
| 45 | <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g) | 2,0 x 10 ³ | 1,5 x 10 ³ | 1,9 x 10 ³ | <1 | 3,7 x 10 ³ | 1,8 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁴ | 3,4 x 10 ³ |
| 45 | <i>Salmonella</i> spp. | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| 45 | Coliformes totais (NMP/g) | 0 | 0 | 9,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | Coliformes termotolerantes (NMP/g) | 3,6 | 0 | 3,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | <i>E. coli</i> (NMP/g) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Ração em uso | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 45 | BHM (UFC/g) | 1,1 x 10 ⁴ | 4,0 x 10 ³ | 3,9 x 10 ³ | 7,6 x 10 ² | 4,0 x 10 ³ | 6,5 x 10 ³ | 4,0 x 10 ³ | 8,1 x 10 ² |
| 45 | <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g) | 3,2 x 10 ³ | 2,0 x 10 ² | 8,0 x 10 ³ | <1 | 4,3 x 10 ³ | 1,6 x 10 ⁴ | 1,7 x 10 ⁴ | 3,7 x 10 ² |
| 45 | <i>Salmonella</i> spp. | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente | Ausente |
| 45 | Coliformes totais (NMP/g) | 15 | 3,6 | 3,6 | 3,6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | Coliformes termotolerantes (NMP/g) | 9,2 | 3,6 | 3,6 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | <i>E. coli</i> (NMP/g) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

UFC/g: Unidade Formadora de Colônia por grama; NMP/g: Número Mais Provável por grama; BHM: Bactérias Heterotróficas Mesófilas.

Os resultados microbiológicos foram apresentados na tabela 3. Pode-se observar que não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre as rações para engorda (proteína a 28%) e as que estavam abertas para utilização diária, quanto a quantidade de bactérias nas embalagens estocadas. Porém nas rações para alevinagem (45% de proteína) as contagens de bactérias mesófilas estavam maiores nas embalagens para uso diário ($p \leq 0,05$).

As embalagens em uso nos tanques para alevinagem permaneciam abertas por uma semana, com conseqüente exposição as condições ambientais por maior tempo e mais manipulação dos colaboradores, enquanto as embalagens das rações da fase de engorda que estavam em uso nos viveiros eram renovadas a cada três dias, favorecendo a maior contaminação por bactérias heterotróficas mesófilas.

Tabela 3: Resultados das análises microbiológicas das rações de peixes com diferentes teores de proteínas e estocagem

| Teor de proteína (%) | Condições de embalagem | Análises bacteriológicas realizadas | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---|---|--|--|
| | | BHM (UFC/g (log 10)) | <i>Bacillus cereus</i> UFC/g (log 10) | <i>Coliformes totais</i> (NMP/g log 10) | Coliformes Termotolerantes (NMP/g (log 10)) | <i>Escherichia coli</i> (NMP/g (log 10)) | Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. 25g |
| 28 (engorda) | Fechadas pelo fabricante | 3,24 a | 3,35 a | 0,10 a | 0,06 a | 0,00 | Ausente |
| | Em uso | 3,34 a | 3,50 a | 0,43 a | 0,41 a | 0,00 | Ausente |
| 45 (alevinagem) | Fechadas pelo fabricante | 3,00 b | 3,16 a | 0,13 a | 0,13 a | 0,00 | Ausente |
| | Em uso | 3,50 a | 3,16 a | 0,31 a | 0,31 a | 0,00 | Ausente |
| Legislação ANFAL-PET (2019) | | - | 1,00 a 4,00 | 1,00 a 3,00 | 1,00 a 3,00 | 0,00 em 25g | Ausência em 25g |

Letras minúsculas iguais nas mesmas colunas não diferem entre si. ($p \leq 0,05$)

UFC/g em log 10= ; NMP/g em log 10

A contagem de bactérias heterotróficas mesófilas é utilizada para se obter informações gerais da qualidade do produto, e valores elevados podem indicar deficiência ou falhas no processo de controle, nos ingredientes, na sanitização e na manipulação do produto. Não existe legislação vigente que estabelece padrões para micro-organismos em rações para animais (BERNARDI e NASCIMENTO, 2021). Em relação aos outros micro-organismos analisados utilizou-se como comparativo a legislação da Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação (ANFAL-PET, 2019) e constatou-se que os valores encontrados se adequam a quantidade máxima permitida em relação a essa legislação.

Foi verificado que não houve a presença de *E.coli* e *Salmonella* spp., que pode ter sido resultado da utilização de diversos mecanismos para reduzir a presença dessas bactérias, como: controle e monitoramento dos ingredientes e dos processos envolvidos na fabricação, isso é feito através da adoção de Boas Práticas de Fabricação, que envolvem procedimentos rigorosos para garantir a qualidade e segurança dos produtos. Além disso, são realizadas análises de perigo e pontos críticos de controle, conhecidas como APPCC, que identificam os possíveis riscos à saúde pública durante o processo produtivo da ração e estabelecem medidas corretivas para minimizar esses riscos. Outra estratégia importante é a aplicação de processamentos químicos e térmicos adequados na ração (Girio *et al.*, 2010; Wales, 2010).

4.2 Análises bromatológicas

Os resultados das análises bromatológicas descritos na tabela 4 foram semelhantes aos valores descritos nas embalagens das rações, com exceção da quantidade de proteína das embalagens em uso em relação as fechadas pelo fabricante com teor de 45%, na qual foi possível identificar que houve porcentagem superior de proteína (47,19%) (tabela 4).

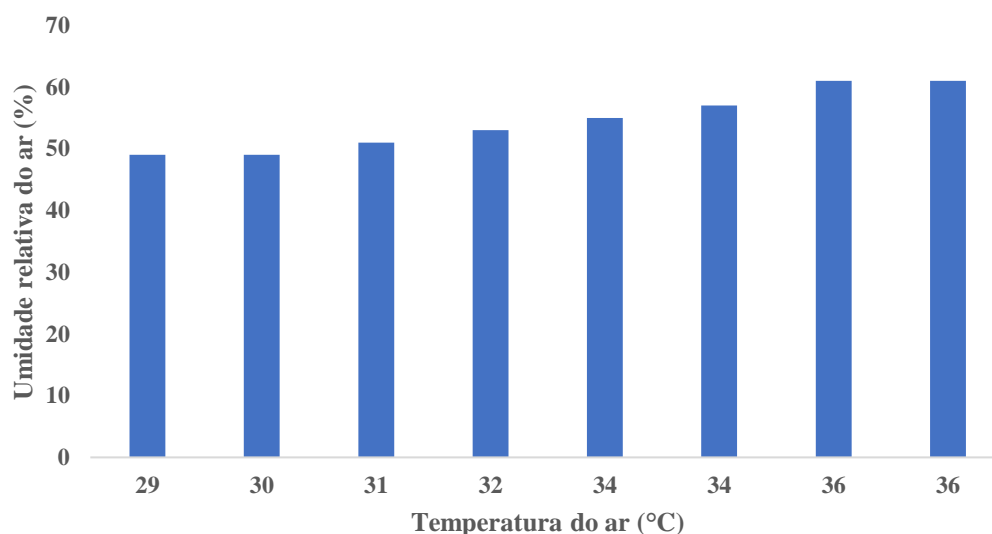
Os valores da umidade do ambiente variaram durante as análises (gráfico 1), sendo que o controle da umidade é importante para gerir a qualidade em relação a perdas de nutrientes, texturas, densidade das rações, e presença de invasores. Com o aumento da umidade pode ter gerado como consequência a presença de insetos que se apropriaram das rações devido estas ficarem expostas ao serem utilizadas na alimentação diária (GASCO, BIANCAROSA e LILAND, 2020). Essa infestação seria responsável pelo aumento no percentual de proteínas já que a constituição desses insetos é predominante proteica (MAKKAR *et al.*, 2014).

Tabela 4: Resultados das análises bromatológicas das rações de peixes com diferentes teores de proteínas e estocagem

| Teor de proteína (fase de cultivo) | Condições de estocagem | Análises bromatológicas realizadas | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------|------------------|---------------|-----------------|--------------------|------------|--------|-------------------|
| | | Umidade (%) | Matéria seca (%) | Carboidratos (%) | Proteínas (%) | Fibra bruta (%) | Extrato etéreo (%) | Cinzas (%) | pH | Atividade de água |
| 28 % (engorda) | Declarado na rotulagem | 10,00 | 90,00 | 44,00 | 28,00 | 0,50 | 4,00 | 14,00 | ND | ND |
| | Fechadas pelo fabricante | 9,97 a | 90,03 a | 43,37 a | 28,01 a | 2,56 a | 3,09 a | 13,00 a | 5,17 a | 0,53 b |
| | Em uso | 9,53 a | 90,46 a | 42,00 a | 29,60 a | 1,66 a | 4,53 a | 12,68 a | 5,30 a | 0,58 a |
| 45 % (alevinagem) | Declarado na rotulagem | 10,00 | 90,00 | 17,00 | 45,00 | 6,00 | 10,0 | 12,00 | ND | ND |
| | Fechadas pelo fabricante | 9,50 a | 92,50 a | 17,58 a | 45,38 a | 5,61 a | 9,11 a | 12,82 a | 5,61 a | 0,57 a |
| | Em uso | 11,00 b | 92,96 a | 17,99 a | 47,19 b | 5,38 a | 8,44 a | 12,00 a | 5,67 a | 0,58 a |

Letras minúsculas iguais nas mesmas colunas não diferem entre si. ($p \leq 0,05$)

Gráfico 1: Valores de umidade relativa e temperatura do ar da piscicultura onde as amostras de rações foram coletadas



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Os microrganismos possuem uma ampla tolerância em relação ao pH devido à sua capacidade de manter o pH interno próximo da neutralidade. Quando o pH interno cai abaixo de 5,0-5,5 os microrganismos morrem, enquanto os extremos de pH externo afetam os microrganismos causando a desintegração da membrana plasmática, inibição da atividade de enzimas e transportadores de membrana, desnaturação proteica e alterações no estado de dissociação e solubilidade de muitas moléculas, como nutrientes, CO₂ que indiretamente influenciam no metabolismo dos microrganismos (BOOTH, 1985; NICOLAU, 2014). Porém no teste de pH analisado, observou-se que mesmo nos diferentes teores de proteína e estocagem o pH da ração manteve-se similar.

Segundo Fonseca e Cantarelli (1984), é fundamental destacar que os microrganismos dependem da presença de água disponível, expressa através da atividade de água, para o seu desenvolvimento. Analisando o gráfico 1, de um modo geral, a atividade de água aumentou no decorrer do período de armazenamento com o aumento da temperatura, mas em nenhum dos casos estudados atingiu os valores das atividades mínimas de água (a_w) para o desenvolvimento de bactérias (0,90) (WIJTES *et al.*, 1993).

A partir das comparações realizadas, é possível concluir que, nas amostras analisadas, as atividades de água aumentaram conforme a temperatura foi elevada. Esse

aumento pode ser explicado pela solubilização de substâncias facilitada pelo aumento da temperatura, como mencionado por Gioielli e Pitombo (1998).

As condições de estocagem influenciam nos aspectos físico-químicos das rações comerciais como descrito por Piccinin, Cypriano, Gabbi (2011) sendo que na fazenda onde foram realizadas as análises a estocagem era aceitável, as rações eram estocadas em ambiente limpo, seco, em temperatura ambiente, não havia contato direto dos sacos com o chão e com empilhamento dentro do recomendado pelo fabricante (pilha de 15 sacos), como pode ser visualizado na figura 5, com o adendo que seria necessário, manter afastamento dos sacos das rações da parede devido a umidade que pode estar presente nas paredes.

Figura 5: Estocagem das rações comerciais destinada a alimentação de peixes na fazenda



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

4.3 Resistência da bactéria *Bacillus cereus* a oxitetraciclina

A inibição do crescimento bacteriano é mensurada pelo diâmetro em milímetros (mm) do halo de inibição formado ao redor do disco, como está apresentada na tabela 5. Quanto maior o halo, maior grau de inibição bacteriana. Foi constatado que pelo uso de oxitetraciclina na ração há o risco de que as cepas desenvolvam resistência aos fármacos aplicados na ração.

Tabela 5: Resultados dos valores das medições dos halos (mm)

| Nº de halos isolados | Concentrações | | | |
|----------------------|---------------|---------|---------|---------|
| | 0,2% | 0,5% | 1,0% | 2,0% |
| | TH (mm) | TH (mm) | TH (mm) | TH (mm) |
| 1 | 20 | 13 | 18 | 20 |
| 2 | 14 | 13 | 24 | 22 |
| 3 | 10 | 15 | 24 | 18 |
| 4 | 12 | 18 | 23 | 20 |
| 5 | 13 | 20 | 13 | 21 |
| 6 | 15 | 13 | 20 | 25 |
| 7 | 15 | 13 | 20 | 22 |

TH: tamanho do halo em milímetros. Fonte: elaborado pelo autor (2024).

Em razão dos antibióticos não serem completamente metabolizados pelos animais aquáticos, sendo que entre 70% e 80% deles são excretados na água e eventualmente liberados no sistema de esgoto e outras fontes hídricas, resultando na ocorrência do acúmulo de antibióticos no ambiente aquático, promovendo a seleção de microrganismos resistentes, podendo se espalhar de animais para pessoas (BISSO-ANDRADE, 2018; HOLLIS e AHMED, 2014; VERRAES *et al.*, 2014).

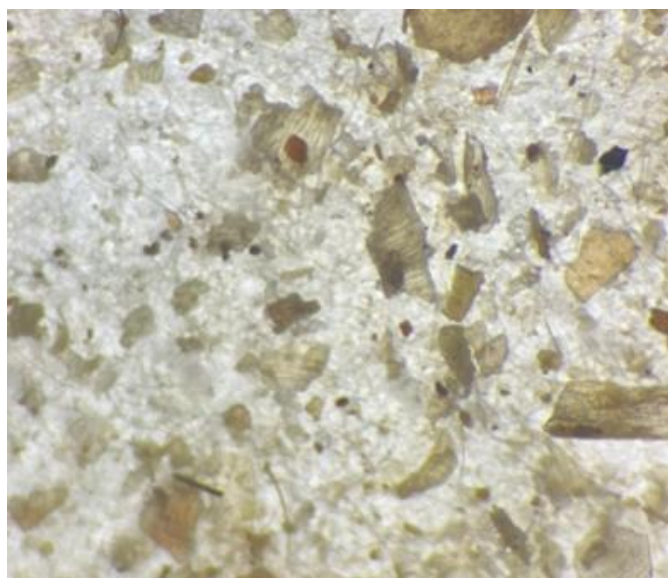
A resistência antibacteriana também está atrelada ao fato que os antibióticos costumam ser administrados em dosagens maiores devido à dificuldade de controlar a dose exata de consumo dos medicamentos nos peixes, e por serem administrados para toda a população em cultivo, não necessariamente apenas nos peixes doentes (ROMERO, FEIJOÓ e NAVARRETE, 2012).

Os resultados descritos por García-Pérez, Ulloa-Rojas, Mendoza-Elvira, 2021 demonstraram resistência à oxitetraciclina para diversas bactérias presentes em patógenos bacterianos de peixes corroborando com os resultados do presente trabalho. Ademais, o uso indiscriminado desse fármaco tem se tornado uma ameaça grave na aquicultura devido a ocorrência de resistência bacteriana.

4.4 Análise de sujidade

Dentre as amostras analisadas algumas apresentaram matérias estranhas a nível macroscópico como pedaços de insetos, pelo, fragmentos de microplásticos e material vegetal, sendo este último fazer parte da composição da ração. Em relação aos microplásticos encontrados, foi possível identificar os fragmentos em rações manuseadas, quanto na ração controle, afinal o microplástico tem estado presente em todos os ambientes causando um problema de saúde pública (CELI-SIMBAÑA, 2023) (Figura 6, 7 e 8 a, b).

Figura 6: Material vegetal na ração controle com teor de proteína 28%



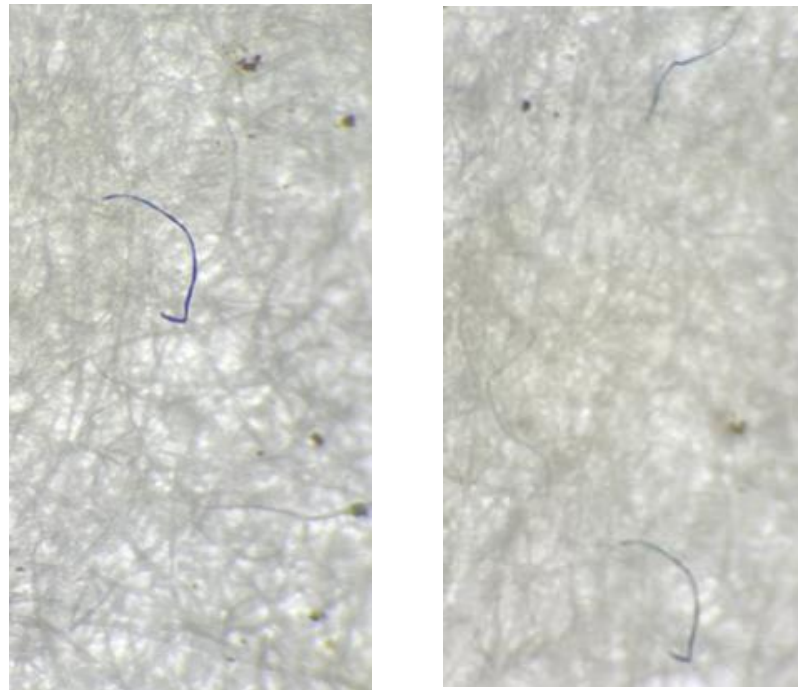
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura 7: Antena de inseto e pelo na ração manuseada com teor de proteína 28%



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura 8 a, b: Microplásticos na cor azul na ração controle com teor de proteína 28 e 45%, respectivamente



. Fonte: elaborado pelo autor (2024)

A presença de sujidades em alimentos foi observada por vários autores, dentre eles Dinelli *et al.*, (2020), Graciano, Atui e Dimov (2006), Rodrigues *et al.*, (2005) detectaram a presença de ácaro, pelos, insetos considerados impróprios para consumo, alertando a necessidade de que as indústrias de alimentos sejam mais rígidas nas BPF e consequentemente controle de pragas, a fim de evitar sujidades que podem apresentar risco a saúde (ALENCAR, 2022).

As sujidades possuem influências negativas na qualidade bromatológica de um dos componentes presentes nas rações, o milho. Existe uma tendência linear decrescente na porcentagem de proteína bruta, e extrato etéreo e uma tendência linear crescente da matéria seca, matéria mineral e fibra com aumento do nível de sujidade presente no milho (FIGUEIREDO, DA MATA e BOTELHO, 2023).

É de fundamental importância o conhecimento do valor nutricional dos componentes da ração, pois é possível otimizar o aproveitamento dos nutrientes pelos animais, diminuição dos custos, com a finalidade de evitar a carência ou excesso nutricional (ROSTAGNO *et al.*, 2017).

5. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que houve contaminação bacteriológica nas rações, sendo que a forma de estocagem para uso diário influenciou na quantidade de bactérias mesófilas heterotróficas em relação as rações embaladas de fábrica. Também apresentaram contaminação por *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes, porém, os resultados obtidos se revelaram dentro do padrão recomendado.

Verificou-se ainda um aumento da umidade que pode ter gerado como consequência a presença de insetos que se apropriaram das rações devido estas ficarem expostas ao serem utilizadas na alimentação diária, sendo que essa infestação pode ter sido responsável pelo aumento no percentual de proteínas já que a constituição desses insetos é predominante proteica.

O uso de oxitetraciclina há o risco de que as cepas desenvolvam resistência aos fármacos aplicados na ração. Esse fato é um perigo para a saúde pública devido ao aumento da probabilidade de disseminação desses genes de resistência, evidenciando o cuidado que deve ser mantido ao realizar manipulação de antibióticos na alimentação de peixes para tratar bacterioses.

A presença de sujidades pode comprometer negativamente a qualidade bromatológica dos componentes das rações. Os achados compreendem materiais biológicos de origem animal como asas de insetos e pelos e de origem sintética como microplásticos. Isto pode estar atrelado ao déficit das boas práticas de manipulação das rações nas pisciculturas.

REFERÊNCIAS

- ALALI, W. Q.; RICKE, S. C. The ecology and control of bacterial pathogens in animal feed. In: **Animal Feed Contamination**. Woodhead Publishing, 2012. p. 35-55.
- ALENCAR, Luana Sabrina Rodrigues Nobre de. **Análise de sujidades em ameixa e uva passa comercializadas a granel na cidade de Campo Mourão**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- AMERICANO, M. M. S.; Qualidade microbiológica de ração para cães produzidas e comercializadas no Estado de Mato Grosso; **Dissertação (Mestrado em Biociência Animal)** – Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2016.
- ANADÓN, Arturo et al. Aspectos regulatórios para os medicamentos e produtos químicos utilizados em animais produtores de alimentos na União Europeia. In: **Toxicologia veterinária**. Imprensa Acadêmica, 2018. p. 103-131.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A. As bases e os fundamentos da nutrição animal. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1990.
- ANVISA. Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html. Acesso em: 14 fev. 2024.
- ARAÚJO, Juliana Sheila de; SÁ, Maria de Fátima Pereira de. Sustentabilidade da piscicultura no baixo São Francisco alagoano: condicionantes socioeconômicos. **Ambiente & Sociedade**, v. 11, p. 405-424, 2008.
- ARECHAVALA-LOPEZ, Pablo et al. Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 704-728, 2022.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS; ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (US). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. The Association, 1925.
- BARONE, Rafael Simões Coelho. Ração é o principal insumo da produção aquícola. **Ativos da Aquicultura**, v. 13, p. 1-7, 2017.
- BAUER, A. W. *et al.* Teste de suscetibilidade a antibióticos por um método padronizado de disco único. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 454, p. 493-496, 1966.
- BECO, L. *et al.* Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part 2—antimicrobial choice, treatment regimens and compliance. **Veterinary Record**, v. 172, n. 6, p. 156-160, 2013.

BERNARDI, E., & NASCIMENTO, J. S. (2021). Fungos anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivos Do Instituto Biológico**, 72, 93–97

BEUS, Fabiana Camargo. Vivência numa Fábrica de Rações para Alimentação Animal. 2017, 46 f. **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.

BHILAVE, M. P.; BHOSALE, S. V.; NADAF, S. B. Protein efficiency ratio (PER) of *Ctenopharengedon idella fed* on soyabean formualted feed. In: **Biological Forum–An International Journal**. 2012. p. 79-81.

BISSO-ANDRADE, Aland. Resistencia a los antimicrobianos. **Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna**, v. 31, n. 2, p. 50-59, 2018.

BOOTH, Ian R. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. **Microbiological reviews**, v. 49, n. 4, p. 359-378, 1985.

BRASIL. Instrução Normativa nº 30, de 30 de dezembro de 2014. Institui o Programa Nacional de Monitoramento de Resistência a Antimicrobianos em Recursos Pesqueiros, e dá outras providências. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/arquivos-programas-sanitarios/INMPAn30de30.12.2014InstituioPNdeMonitoramentodeResistnciaaAntimicrobianosemRecursosPesqueiros.pdf>. Acesso em 30 nov. 2023.

BURRIDGE, Les *et al.* Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. **Aquaculture**, v. 306, n. 1-4, p. 7-23, 2010.

CARDOSO FILHO, Francisco das Chagas *et al.* Monitoramento de fungos toxigênicos e aflatoxinas em rações utilizadas em piscicultura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, p. 305-311, 2013.

CARDOSO FILHO, Francisco das Chagas *et al.* Monitoramento de fungos toxigênicos e aflatoxinas em rações utilizadas em piscicultura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, p. 305-311, 2013.

CASAGRANDE, Carine; KLINGER, Ana Carolina Kohlrausch; POLETTO, Rosângela. Eficiência produtiva de subprodutos e ingredientes alternativos utilizados na alimentação de coelhos. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 12015-12029, 2021.

CASTANHEIRA, Bruno Alexandre Martins Guerreiro *et al.* **Mecanismos de resistência a antibióticos**. 2013. Dissertação de Mestrado.

CHAABANI, Asma *et al.* Preconditioner influence on twin-screw extrusion cooking of starch-based feed pellets: the example of Fish Feed. **Aquacultural Engineering**, p. 102268, 2022.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Pensilvânia: NCCLS, 2021.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. m100-s25th. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, PA., 2015.

CODEX ALIMENTARIUS. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. **Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods**. CAC/MRL 2-2015.

CODEX ALIMANTARIUS. Maximum residue limits (MRLS) and risk management recommendations (RMRS) for residues of veterinary drugs in foods. **FAO/WHO**. Disponível em: <<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/miscellaneous/en/>>. Acesso em: 23 abr. 2024.

COLE, Martin *et al.* **Microorganisms in foods 8: use of data for assessing process control and product acceptance**. 2011.

CRAIG, Steven R. *et al.* Understanding fish nutrition, feeds, and feeding. 2017.

CRUZ, F.G.G.; RUFINO, J.P.F. Formulação e Fabricação de Rações - Aves, Suínos e Peixes. Manaus: EDUA, 2017. 92p.

CYRINO, J.E.P.; FRACALOSSO, D.M. Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, Florianópolis, 2012.

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

DAWOOD, Mahmoud AO *et al.* Probiotic application for sustainable aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 907-924, 2019.

DE CASTRO MOURÃO, Raphael *et al.* Processamento do milho na alimentação de ruminantes. **Pubvet**, v. 6, p. Art. 1289-1294, 2012.

DE PAULA, Samira Luana; RAVAGNANI, Mauro Antonio da Silva Sá. Sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) de acordo com a NBR ISO 22000. **Revista Tecnológica**, v. 20, p. 97-104, 2011.

DE SOUZA, Carla Catia Pereira; DE SOUZA SILVA, Marta Ires Pereira; DE OLIVEIRA SOUZA, Stefânia Marcia. Qualidade microbiológica de rações secas para cães e gatos adultos comercializadas à granel no Distrito Federal. **PUBVET**, v. 16, p. 180, 2022.

- DEEPIKA, G. et al. Isolation and characterization of bacteria from the gut of blue gourami (*Trichogaster trichopters*) and its role on growth. **J Pure and Appl Microbiol**, v. 13, p. 2479-2487, 2019.
- DI DOMENICO, Adriana Sbardelotto. Qualidade e segurança alimentar do milho em diferentes acondicionamentos de armazenagem. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel. 139 f. 2014.
- DINELLI, B. U. *et al.* Pesquisa de sujidades leves em diferentes alimentos comercializados no município de Niterói – RJ. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR. 7., 2020, Niterói – Rio de Janeiro. Anais [...] Niterói: Universidade Federal Fluminense, 2020, p. 3-5.
- DOS SANTOS, Karina Paula Oliveira *et al.* Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, v. 14, p. 148, 2020.
- FAGUNDES, Ranielly Moura; FERREIRA, Luiz Carlos. Contaminação microbiológica da ração e água fornecida a frangos em granja avícola da cidade de Januária, MG. **Hig. alim.**, p. 35-39, 2018.
- FAO. Food and Agriculture Organization. Fisheries and Aquaculture Departments - Garantia da Qualidade dos produtos de pesca. 2008
- FDA, Bad Bug Book. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. **US Food and Drug Administration, second edition edn**, 2012.
- FERREIRA, Heider; LIMA, Hiagos; COELHO, Thiago. Microrganismos indicadores em alimentos de origem animal. **Universidade Federal Rural do Semiárido**, 2014.
- FIGUEIREDO, Caio Cordeiro; DA MATA, Isabella Cristina Corrêa; BOTELHO, Luiz Fernando Rocha. Influência da sujidade em grãos de milho sobre a composição bromatológica. **Cerrado Agrociências**, v. 14, p. 97-107, 2023.
- FIGUEIREDO, Henrique César Pereira; LEAL, Carlos Augusto Gomes. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 8-14, 2008.
- FILTENBORG, Ole; FRISVAD, Jens Christian; THRANE, Ulf. Moulds in food spoilage. **International journal of food microbiology**, v. 33, n. 1, p. 85-102, 1996.
- FONSECA, H.; CANTARELLI, P. R. Princípios e métodos gerais de conservação de alimentos pelo controle da umidade, por preservativos e por radiações: embalagens. **CAMARGO, R.; FONSECA, H. Tecnologia dos produtos agropecuários: alimentos. São Paulo: Nobel**, p. 97-112, 1984.
- FONSECA, José Rafael Soares et al. EFFECTS OF BAC-TRATÂ® PROBIOTIC COMPLEX ON GROWTH, HEMATOLOGICAL AND INTESTINAL PARAMETERS OF NILE TILAPIA, REARED AT LOW TEMPERATURES. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 46, n. 2, 2020.

FØRE, Martin *et al.* Precision fish farming: A new framework to improve production in aquaculture. **biosystems engineering**, v. 173, p. 176-193, 2018.

FORMIGONI, A. S.; MARCELO, G. C.; NUNES, A. N. Importância do programa de qualidade–boas práticas de fabricação (BPF) na produção de ração. **Nutritime Revista Eletrônica, on-line, Viçosa**, v. 14, n. 6, p. 8016-8025, 2017.

GARCÍA-PÉREZ, Josué; ULLOA-ROJAS, Juan B.; MENDOZA-ELVIRA, Susana. Bacterial pathogens and their antimicrobial resistance in tilapia culture in Guatemala. **Uniciencia**, v. 35, n. 2, p. 46-59, 2021.

GASCO, Laura; BIANCAROSA, Irene; LILAND, Nina S. From waste to feed: A review of recent knowledge on insects as producers of protein and fat for animal feeds. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 23, p. 67-79, 2020.

GASTALHO, Soraia *et al.* Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: impacto em saúde pública. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 3, n. 1, p. 29-45, 2014.

GIOIELLI, Luiz Antonio; PITOMBO, Ronaldo Nogueira de Moraes. Conservação de alimentos pelo controle da umidade. **BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, MN Fundamentos de tecnologia de alimentos. São Paulo: Atheneu**, v. 3, p. 123-152, 1998.

GIRIO, T. M. S. Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagens e a granel. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.

GLADJU, J.; KAMALAM, Biju Sam; KANAGARAJ, A. Applications of data mining and machine learning framework in aquaculture and fisheries: A review. **Smart Agricultural Technology**, v. 2, p. 100061, 2022.

GONZÁLEZ-BELLO, Concepción. Antibiotic adjuvants–A strategy to unlock bacterial resistance to antibiotics. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 27, n. 18, p. 4221-4228, 2017.

GRACIANO, R. A.; ATUI, M. B.; DIMOV, M. Avaliação das condições higiênico sanitárias de cominho e pimenta do reino em pó comercializados em cidades do Estado de São Paulo, Brasil, mediante a presença de matérias estranhas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 204-208, 2006.

GRANADOS-CHINCHILLA, Fabio *et al.* Microbiological safety and presence of major mycotoxins in animal feed for laboratory animals in a developing country: The case of Costa Rica. **Animals**, v. 11, n. 8, p. 2389, 2021.

HARDY, Ronald W.; BARROWS, Frederick T. Diet formulation and manufacture. In: **Fish nutrition**. Academic Press, 2003. p. 505-600.

- HASSANIEN, F. S. et al. Incidence and toxigenic profile of *Bacillus cereus* in some fishes. **Benha Veterinary Medical Journal**, v. 34, n. 1, p. 420-429, 2018.
- HOLLIS, Aidan; AHMED, Ziana. The path of least resistance: Paying for antibiotics in non-human uses. **Health Policy**, v. 118, n. 2, p. 264-270, 2014.
- HOORNSTRA, E. et al. The use of quantitative risk assessment in HACCP. **Food Control**, v. 12, n. 4, p. 229-234, 2001.
- ILVA, N. Novos métodos de análise microbiológica de alimentos. **Coletânea do ITAL**, v.25, n.1, p.1-13, jan-jun. 1996.
- JAY, James M.; LOESSNER, Martin J.; GOLDEN, David A. **Microbiologia degli alimenti**. Springer Science & Business Media, 2009.
- JIN, Xingkun et al. Response of gut microbiota to feed-borne bacteria depends on fish growth rate: a snapshot survey of farmed juvenile Takifugu obscurus. **Microbial Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 683-702, 2022.
- JØRGENSEN, Sven Erik; HALLING-SØRENSEN, Bent. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 691-699, 2000.
- JÚNIOR, Sávio Tadeu Almeida *et al.* Controle de qualidade e parâmetros microbiológicos em rações comerciais para cães e gatos Quality control and microbiological parameters in commercial dog and cat food. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 11, p. 103158-103170, 2021.
- KALEEM, Oliver; SABI, Abudou-Fadel Bio Singou. Overview of aquaculture systems in Egypt and Nigeria, prospects, potentials, and constraints. **Aquaculture and Fisheries**, v. 6, n. 6, p. 535-547, 2021.
- KHATI, Akansha et al. Improved fish health: Key to successful aquaculture. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 2, p. 898-902, 2018.
- KOPANIC, RJ JR, SHELDON, BW, WRIGHT, C.G. Cockroaches as vectors of *Salmonella*: Laboratory and field trials. **Journal of Food Protection**, v. 57, n. 2, p. 125-132, 1994.
- KRABBE, E. L. Aplicação e pontos críticos no uso de enzimas. In: **Congresso Sobre Aditivos Na Alimentação Anima**. Campinas, SP. Enzimas Campinas: CBNA, 2011.
- LABBE, R. G. et al. *Clostridium perfringens*. **Foodborne diseases**, n. Ed. 2, p. 119-126, 2002.
- LARA, Marco Antonio Mayer. Processo de produção de ração—moagem, mistura e peletização. **Revista NF**, 2010.
- LE GOUVELLO, Raphaëla; SIMARD, François. Durabilité des aliments pour le poisson en aquaculture. 2017.

- LEIRA, Matheus Hernandes *et al.* Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **Pubvet**, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2017.
- LEITE, José Laureano Barbosa *et al.* Effect of pelleting and addition of enzymes and vitamins on the performance and advantage of energy and nutrients in broiler chickens from 1 to 21 days old. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1292-1298, 2008.
- LIEKE, Thora, et al. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. **Reviews in Aquaculture**, v. 12.2, p. 943-965, 2020.
- LIMA, Daniele Cristina de. Estágio de processamento de rações extrusadas: estabilidade de alimentos extrusados para cães armazenadas em embalagens abertas e fechadas. 2013. Trabalho Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- LOGAN, N. A.; DE VOS, P. Genus *Bacillus* in: Bergeys manual of systematic bacteriology, vol. 3. 2009.
- LYHS, Ulrike *et al.* Microbiological quality of mink feed raw materials and feed production area. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2019.
- LYHS, Ulrike *et al.* Microbiological quality of mink feed raw materials and feed production area. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2019.
- MACIOROWSKI, K. G. *et al.* Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. **Animal Feed Science and Technology**, v. 133, n. 1-2, p. 109-136, 2007.
- MAKKAR, Harinder PS *et al.* State-of-the-art on use of insects as animal feed. **Animal feed science and technology**, v. 197, p. 1-33, 2014.
- MANNAN, Mohsina et al. Antibacterial activity of oxytetracycline on microbial ecology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) gastrointestinal tract under laboratory condition. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 5, p. 2125-2133, 2020.
- MANNAN, Mohsina et al. Antibacterial activity of oxytetracycline on microbial ecology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) gastrointestinal tract under laboratory condition. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 5, p. 2125-2133, 2020.
- MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N 4 de 23 de fevereiro de 2007. **Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico Sanitárias e de Boas Práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinado a alimentação animal e roteiro de inspeção.** 2007
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. DECRETO - Nº 9.013, DE 29 DE MARÇO DE 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/mpa/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03->

[2017.pdf/view#:~:text=Regulamenta%20a%20Lei%20n%C2%BA%201.283,de%20produtos%20de%20origem%20animal. Acesso em: 8 dez. 2023.](#)

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.4, de 23 de fevereiro de 2007, Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Fabricantes de Produtos Destinados à Alimentação Animal e o Roteiro de Inspeção, 2007.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA Nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/documentos-da-pncrc/instrucao-normativa-sda-n-o-42-de-20-de-dezembro-de-1999.pdf/view>. Acesso em: 8 dez. 2023.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação – Alimentação Animal. 2022. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumosagropecuarios/insumos-pequarios/alimentacao-animais/legislacao-alimentacao-animais>. Acesso em: 13 de outubro de 2022.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 46, DE 10 DE FEVEREIRO. 1998. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/arquivos-publicacoes-dipoa/treinamento-sif-2019-voec-com-comentarios-1.pdf>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2023.

MARASCA, S. *et al.* Substituição da farinha de carne e ossos por farelo de soja em dietas para *Cyprinus carpio*. **Boletim De Indústria Animal**, v. 76, p. 1-9, 2019.

MARION, José Carlos; RIOS, Ricardo Pereira. Contabilidade empresarial: instrumentos de análise, gerência e decisão. **São Paulo: Atlas**, 2018.

MASSUQUETTO, Andréia. Avaliação da forma física da dieta e do tempo de condicionamento no processo de peletização de dietas para frangos de corte. 2014. 71 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) -Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014

MAZIERO, Maíke Taís; DOS SANTOS BERSOT, Luciano. BACILLUS CEREUS EM PRODUTOS LÁCTEOS-UMA REVISÃO. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 381, p. 5-12, 2011.

MENEZES, Raíssa Gabriela Dias. Boas Práticas de Fabricação (BPF) como ferramenta de controle de qualidade em fábricas de rações. 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº 4, de 23 de fevereiro de 2007. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinados à alimentação animal e o roteiro de inspeção**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos->

[agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animais/arquivos-alimentacao-animais/InstrucaoNormativa04.2007.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/instrucao-normativa-anvisa-2022-162.pdf). Acesso em: 29 nov. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE -MS AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA -ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN N° 162, DE 1° DE JULHO DE 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/instrucao-normativa-anvisa-2022-162.pdf>. Acesso 8 dez. 2023.

MUNOZ, L. R. *et al.* Evaluation of commercially manufactured animal feeds to determine presence of *Salmonella*, *Escherichia coli*, and *Clostridium perfringens*. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 30, n. 2, p. 100142, 2021.

MURAMATSU, Keysuke. Aplicação de modelagem preditiva no processo de peletização de rações para frango de corte. 2013. 99 f. Tese (Doutor em Ciências Veterinárias) –Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NICOLAU, Paula Bacelar. Microrganismos e crescimento microbiano. 2014.

Disponível em:

https://repositorioaberto.uab.pt/bitstream/10400.2/6137/1/UT2_Microrganismos%20e%20crescimento%20microbiano_PBN.pdf. Acesso em: 16 de abril, 2024.

OBWANGA, Bensen et al. **A comparative study of aquaculture sector development in Egypt, Ghana and Nigeria: Insights and lessons for Kenya**. Wageningen Marine Research, 2018.

OLIVEIRA, Aline Roberta Paula. Avaliação da importância do controle de qualidade na produção de ração animal extrusada: um estudo de caso. **Revista GeTeC**, v. 7, n. 15, 2018.

OU, Weihao et al. Recent progress in the understanding of the gut microbiota of marine fishes. **Marine life science & technology**, v. 3, p. 434-448, 2021.

PANDOLFI, Izabela Andrade; MOREIRA, Larissa Quirino; TEIXEIRA, Estelamar Maria Borges. Segurança alimentar e serviços de alimentação-revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 42237-42246, 2020.

PAOLESCHI, Bruno. **Estoques e armazenagem**. Saraiva Educação SA, 2018.

PARKER, Elizabeth M. et al. Salmonella detection in commercially prepared livestock feed and the raw ingredients and equipment used to manufacture the feed: A systematic review and meta-analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 198, p. 105546, 2022.

Peixe, B. R. Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário de Piscicultura Brasileira**. São Paulo: Peixe BR. <https://www.peixebr.com.br/anuario2023/>. Acesso em: 22/03/2023.

PELLEGRINI, Débora CP. Fatores de risco a contaminação por Salmonella ao longo da cadeia de produção de rações de suínos. **VI Simpósio Internacional de Suinocultura**, p. 35-42, 2011.

PESSOA, R. B. G. *et al.* Molecular characterization and evaluation of virulence traits of Aeromonas spp. isolated from the tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). **Microbial Pathogenesis**, v. 147, p. 104273, 2020.

PETRESKA, Meri; ZIBEROSKI, J.; ZEKIRI, M. Fish feed microbiological status. 2013.

PINTO, Nevil *et al.* Oxytetracycline efficacy and preliminary establishment of pharmacokinetic residues in tropical fish, *Catla catla* (Hamilton, 1822). **Aquaculture**, v. 571, p. 739481, 2023.

PIVATTO, Lisandra; BORNIAATTI, Tatiane; FASSINA, Patricia. Controle e prevenção de contaminação por Salmonella spp. No processo de produção de Farinhas de origem animal de uma empresa do Rio Grande do Sul. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 12, n. 3, 2020.

PLATTNER, B. Raw Materials and Their Impact on the Extrusion of Aqua Feeds In. In: **Proceedings of the Conference Name**. 2007.

RIAZ, Mian N.; ROKEY, Galen J. **Extrusion problems solved: Food, pet food and feed**. Elsevier, 2011.

RIBEIRO, Paula Adriane Perez *et al.* Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce. **Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais**, 2012.

RIGOS, G.; TROISI, G. M. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: a synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 15, p. 53-73, 2005.

ROCHA, Marcicleia Pereira *et al.* Sistema de armazenamento e incidência dos principais fungos produtores de micotoxinas em grãos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 50176-50193, 2020.

ROMERO, Jaime; FEIJOÓ, Carmen Gloria; NAVARRETE, Paola. Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. **Health and environment in aquaculture**, v. 159, n. 1, p. 159-198, 2012.

RODRIGUES, Ana Paula Oeda; BERGAMIN, Giovanni Taffarel; SANTOS, VRV dos. Nutrição e alimentação de peixes. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Brasília, DF: Embrapa**, p. 171-213, 2013.

RODRIGUES, R. M. S. *et al.* Matérias estranhas e identificação histológica em manjerona (*Origanum majorana* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e salsa

(*Petroselinum sativum* Hoffm.), em flocos, comercializados no estado de São Paulo.

Revista Instituto Adolfo Lutz, v.64, n.1, São Paulo, 2005.

ROHR, Jason R. *et al.* Emerging human infectious diseases and the links to global food production. **Nature sustainability**, v. 2, n. 6, p. 445-456, 2019.

ROMERO, Jaime *et al.* Antibiotics in aquaculture—use, abuse and alternatives. **Health and environment in aquaculture**, v. 159, p. 159-198, 2012.

ROSTAGNO, Horacio S. *et al.* Avanços metodológicos na avaliação de alimentos e de exigências nutricionais para aves e suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 295-304, 2007.

SAPKOTA, Amy R. *et al.* What do we feed to food-production animals? A review of animal feed ingredients and their potential impacts on human health. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 5, p. 663-670, 2007.

SARKER, Baadruzzoha; RAHMAN, Md Mamunur; ALAM, Mohammad Nurul. A study on fish feed manufacture with its nutritional quality and impacts on fish production. **Research in Agriculture Livestock and Fisheries**, v. 2, n. 2, p. 353-362, 2015.

SCHULTER, Eduardo Pickler; VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro. **Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. Texto para Discussão, 2017.

SEA FOOD BRASIL. **Produção de ração para aquicultura deve crescer 5,2% em 2022**. Disponível em: <https://www.seafoodbrasil.com.br/producao-de-racao-para-aquicultura-deve-crescer-52-em-2022>. Acesso em: 2 dez. 2023.

SENAR. **Piscicultura: alimentação Coleção SENAR 263**, 2019. Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/263-Piscicultura-Alimenta%C3%A7%C3%A3o_191025_203233.pdf Acesso em: 16 de abril, 2023.

SERRANO, Pilar Hernández. **Responsible use of antibiotics in aquaculture**. Food & Agriculture Org., 2005.

SILVA, A. M. S.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; DE ALEXANDRE S. F. Prospecting of essential oils in combination with florfenicol against motile *Aeromonas* isolated from tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 7, p. 1-12, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-022-03015-4>. Acesso em: 16 de abril, 2023.

SILVA, Edir Nepomuceno da; DUARTE, A. Salmonella Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 4, p. 85-100, 2002.

- SILVA, Ketrin Cristina da. **Monitoramento dos mecanismos de resistência em Salmonella. e Escherichia coli isoladas de animais de produção agropecuária e alimentos resultados.** 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 624p.
- SILVA, Wellington Luiz Melo et al. Sustentabilidade na aquicultura: dimensões social, econômica e ambiental—uma revisão de literatura. **Educamazônia-Educação, Sociedade e Meio Ambiente**, v. 20, n. 1, Jan-Jun, p. 87-108, 2018.
- SIMON, Cedric J. Identification of digestible carbohydrate sources for inclusion in formulated diets for juvenile spiny lobsters, *Jasus edwardsii*. **Aquaculture**, v. 290, n. 3-4, p. 275-282, 2009.
- SYLOS, Célia Maria de; AMAYA, Delia Rodriguez. Estudo comparativo de métodos para determinação de aflatoxina M1. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, p. 87-97, 1996.
- TACON, Albert GJ; HASAN, Mohammad R.; METIAN, Marc. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. **FAO Fisheries and Aquaculture technical paper**, n. 564, p. I, 2011.
- TERPSTRA, Antonius HM. The Composition and Production of Fish Feeds. **Universitate Vadensi: Orando, The Netherlands**, 2015.
- TESSARI, Eliana Neire Castiglioni *et al.* Analysis of the presence of *Clostridium perfringens* in feed and raw material used in poultry production. **Food and Nutrition Sciences**, v. 2014, 2014.
- TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiology: an introduction.** Pearson, 2018.
- UN – United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Rome: FAO, 200 p., 2016.
- VAN DER POEL, A. F. B. et al. Future directions of animal feed technology research to meet the challenges of a changing world. **Animal feed science and technology**, v. 270, p. 114692, 2020.
- VERRAES, Claire et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. **International journal of environmental research and public health**, v. 10, n. 7, p. 2643-2669, 2013.
- WALES, A.D. Chemical treatment of animal feed and water for the control of Salmonella. **Foodborne Pathogens and Diseases**, 2010.
- WANG, Miao et al. Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 6, p. 3163-3173, 2017.
- WANG, Xin; LIEN, Keng-Wen; LING, Min-Pei. Probabilistic health risk assessment for dietary exposure to aflatoxin in peanut and peanut products in Taiwan. **Food Control**, v. 91, p. 372-380, 2018.

WIJTES, T. et al. Modelling bacterial growth of *Listeria monocytogenes* as a function of water activity, pH and temperature. **International Journal of Food Microbiology**, v. 18, n. 2, p. 139-149, 1993.

XU, Jiaping *et al.* Wide occurrence of seven phthalate plasticizers and two typical microplastics in pig feed. **Chemosphere**, v. 307, p. 135847, 2022.

ZHANG, Ying et al. Prevalence, virulence feature, antibiotic resistance and MLST typing of *Bacillus cereus* isolated from retail aquatic products in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1513, 2020.

ZHOU, Chao *et al.* Intelligent feeding control methods in aquaculture with an emphasis on fish: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 975-993, 2018.

ZMYSŁOWSKA, I.; LEWANDOWSKA, D. Survival of bacterial strains in fish feeds stored at different temperatures. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 8, n. 6, p. 447-451, 1999.

ZORRIEHZAHRA, Mohammad Jalil et al. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. **Veterinary quarterly**, v. 36, n. 4, p. 228-241, 2016.