



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
BACHARELADO EM BIOLOGIA**

ADRIANA PEREIRA SAMPAIO

**IDENTIFICAÇÃO E SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA
DE CEPAS DE *Salmonella* E *Escherichia coli* ISOLADAS DE
SURURU E SIRI PROCESSADO**

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

MAIO - 2013

ADRIANA PEREIRA SAMPAIO

**IDENTIFICAÇÃO E SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA
DE CEPAS DE *Salmonella* E *Escherichia coli* ISOLADAS DE
SURURU E SIRI PROCESSADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Bacharelado em Biologia da
Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia, para obtenção do grau de Bacharel
em Biologia

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Norma Suely
Evangelista Barreto

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

MAIO – 2013

ADRIANA PEREIRA SAMPAIO

**IDENTIFICAÇÃO E SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE
Salmonella E *Escherichia coli* ISOLADAS DE SURURU E SIRI
PROCESSADO**



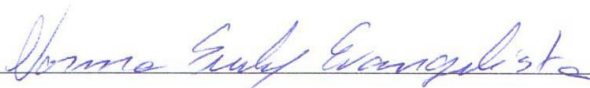
Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

(Orientadora)

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA



Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto

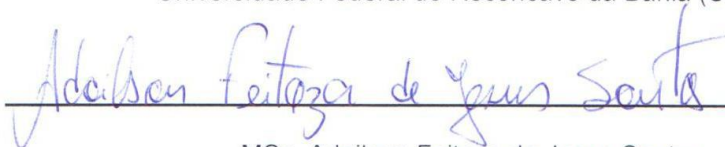
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

(Orientadora)



Dr^a. Margarete Alice Fontes Saraiva

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)



MSc. Adailson Feitoza de Jesus Santos

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

CRUZ DAS ALMAS- BAHIA

MAIO - 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

S192

Sampaio, Adriana Pereira.

Identificação e suscetibilidade antimicrobiana de cepas de *Salmonella* e *Escherichia coli* isoladas de sururu e siri processado / Adriana Pereira Sampaio. – Cruz das Almas, BA, 2013.

60f.; il.

Orientadora: Norma Suely Evangelista Barreto.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Salmonella – Escherichia coli. 2.Alimentos – Molusco – Crustáceo. 3.Antimicrobianos – Microorganismos. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 579.3

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ana Rita e William, por todo amor, incentivo e dedicação durante toda a minha vida e ao meu irmão Leandro, pela amizade e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder força, saúde e sabedoria e por estar sempre presente em todos os momentos.

Aos meus pais Ana Rita e William, por todo amor, dedicação, carinho, ensinamentos, e incentivo durante toda a minha vida.

Ao meu irmão Leandro, pelo companheirismo e amizade.

Ao meu namorado Ricardo, pelo amor, carinho e companheirismo.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto pela oportunidade, ensinamentos e experiências vivenciadas.

Aos professores Lidyanne Aona, Márcio Lopes, Márlon Paluch e Margarete Saraiva pelas contribuições e ensinamentos compartilhados.

Aos colegas de curso pelos bons momentos vividos durante a graduação.

A todos os colegas do laboratório de Microbiologia de Alimentos, em especial a Rebeca, Nayara e Pedro.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia a qual permitiu a realização do curso.

Enfim a todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.

RESUMO

O consumo de mariscos tem sido responsável por inúmeros surtos epidêmicos, devido ao seu contato com a poluição ambiental ou a falta de Boas Práticas durante a manipulação. As bactérias do gênero *Escherichia* e *Salmonella* têm sido os microrganismos mais implicados em surtos alimentares. Além disso, a elevada resistência antimicrobiana a diferentes agentes antimicrobianos comerciais tem dificultado o tratamento de pacientes com infecções alimentares. Assim, esse estudo teve como objetivo identificar cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* previamente isoladas de amostras de sururu in natura e siri processado, bem como verificar a resistência antimicrobiana frente a diferentes agentes antimicrobianos. As cepas pré-isoladas (25 de *E. coli* e 25 de *Salmonella*) que se encontravam no banco de culturas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura, inicialmente foram ativadas e purificadas para posteriormente serem submetidas a diversos testes bioquímicos e sorológicos quando se tratou das cepas de *Salmonella*. Para a suscetibilidade antimicrobiana dos microrganismos foram usados 12 antimicrobianos comerciais. A presença de *Salmonella* foi observada apenas nas amostras de sururu in natura, enquanto *E. coli* foi confirmada em ambos os alimentos analisados. *Salmonella* apresentou 100% de resistência a vancomicina e 88,8% a cefalotina e a tetraciclina, respectivamente. Todas as cepas de *Salmonella* apresentaram perfil de multirresistência. *Escherichia coli* apresentou resistência aos antimicrobianos, vancomicina (100%), tetraciclina (29,4%), ampicilina (23,5%), sulfametoxazol-trimetropin (23,5%) e a cefalotina (5,9%). Múltipla resistência foi observada apenas para as cepas de *E. coli* isoladas de sururu in natura. Resistência antimicrobiana mediada por plasmídeo foi observada tanto nas cepas de *E. coli* quanto nas cepas de *Salmonella*. Diante disso, as amostras de sururu in natura e siri processado apresentam um risco à saúde da população por conterem bactérias de origem fecal, além de servirem de veículo para a disseminação de bactérias resistentes a diferentes antimicrobianos comerciais.

Palavras - chave: Contaminação. Segurança alimentar. Multirresistência antimicrobiana.

ABSTRACT

The consumption of shellfish has been responsible for numerous epidemic outbreaks due to its contact with environmental pollution or lack of good practice during handling. Bacteria of the genus *Escherichia* and *Salmonella* have been implicated in most food outbreaks. Furthermore, the high antimicrobial resistance to various commercial antimicrobial agents, has hindered treatment of patients with food infections. Thus, this study aimed to identify strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* previously isolated from samples of fresh mussels and crab processed, as well check as antimicrobial resistance front to different antimicrobial agents. The pre-strains isolated (25 *E. coli* and 25 *Salmonella*) that were on the bench cultures Laboratory of Food Microbiology and Environmental on Core for Environmental Studies in Fisheries and Aquaculture initially were activated and purified for later subjected to various biochemical and serological tests when treated strains of *Salmonella*. For antimicrobial susceptibility of microorganisms were used 12 commercial antimicrobials. The presence of *Salmonella* was observed only in samples of fresh mussels, while *E. coli* was confirmed in both foods analyzed. *Salmonella* presented 100% resistance to vancomycin and 88.8% the cephalothin, and tetracycline, respectively. All *Salmonella* strains presented profile of multidrug. *Escherichia coli* presented resistencia to antimicrobials vancomycin (100%), tetracycline (29.4%), ampicillin (23.5%), trimethoprim-sulfamethoxazole (23.5%) and cephalothin (5.9%). Multiple resistance was observed only for strains of mussels in natura. Antimicrobial resistance mediated by plasmid was observed in strains of *E. coli* as the in strains of *Salmonella*. Thus, samples of mussels in natura and processed crab can pose a risk to public health because they contain bacteria of faecal origin, besides serving of vehicle to dissemination to bacteria resistant to different antimicrobials commercial.

Key - words: Contamination. Food safety. Multidrug resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de identificação de <i>Salmonella</i> a partir de isolados provenientes de amostras de sururu e siri processado.....	25
Figura 2. Crescimento característico para o gênero <i>Salmonella</i> em agar TSI	27
Figura 3. Crescimento característico para o gênero <i>Salmonella</i> em agar LIA.....	27
Figura 4. Teste de Citrato de Simmons para <i>Salmonella</i> spp.....	28
Figura 5. Teste de indol para <i>Salmonella</i> spp	29
Figura 6. Teste de uréase para <i>Salmonella</i> spp.....	29
Figura 7. Teste de Malonato para <i>Salmonella</i> spp	30
Figura 8. Teste de soroaglutinação para o gênero <i>Salmonella</i>	31
Figura 9. Fluxograma para a identificação de <i>Escherichia coli</i> a partir de isolados de amostras de sururu e siri	32
Figura 10. Teste de Indol para <i>Escherichia coli</i>	33
Figura 11. Teste de Vermelho de metila (VM) para <i>Escherichia coli</i>	34
Figura 12. Teste de Voges-Proskauer (VP) para <i>Escherichia coli</i>	34
Figura 13. Teste de Citrato de Simmons para <i>Escherichia coli</i>	35
Figura 14. Fluxograma mostrando o teste de suscetibilidade antimicrobiana para as cepas de <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i>	37
Figura 15. Fluxograma das etapas da cura do plasmídio	38
Figura 16. Percentual de cepas estudadas e confirmadas como <i>Salmonella</i> spp....	40
Figura 17. Percentual de cepas confirmadas como <i>Escherichia coli</i>	41
Figura 18. Percentual de cepas de <i>Escherichia coli</i> confirmadas de acordo com os alimentos analisados.....	41
Figura 19. Suscetibilidade antimicrobiana de <i>Salmonella</i> para os principais grupos de antimicrobianos testados.....	43
Figura 20. Suscetibilidade antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> para os principais grupos de antimicrobianos testados.....	47

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Reações bioquímicas características de <i>Salmonella</i>	26
Tabela 2. Reações bioquímicas características de <i>Escherichia coli</i> de acordo com o teste de IMViC.....	32
Tabela 3. Lista de antimicrobianos utilizados de acordo com a sua classe	36
Tabela 4. Tabela com os valores de intervalo dos halos de inibição	37
Tabela 5. Índice de resistência aos antimicrobianos (ARI), índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) e resistência plasmidial das cepas de <i>Salmonella</i>	45
Tabela 6. Índice de resistência aos antimicrobianos (ARI), índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) e resistência plasmidial das cepas de <i>Escherichia coli</i>	49

LISTA DE SIGLAS

- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AMI** – Amicacina
- ARI** – Índice de Resistência a Antimicrobianos
- AO** – Laranja de Acridina
- AMP** – Ampicilina
- CLF** – Cefalotina
- CAZ** – Ceftazidima
- CIP** – Ciprofloxacina
- CLO** – Cloranfenicol
- CLSI** – Clinical and Laboratory Standard Institute
- DAEC** – *Escherichia coli* difusa aderente
- EAEC** – *Escherichia coli* Enteroagregativa
- EHEC** – *Escherichia coli* Enterohemorrágica
- EIEC** – *Escherichia coli* Enteroinvasora
- EPEC** – *Escherichia coli* Enteropatogênica
- ETEC** – *Escherichia coli* Enterotoxigênica
- EMB** – Eosina azul de metileno
- IPM** – Imipenem
- LB** – Luria Bertani
- LIA** – Agar Lisina Ferro
- MAR** – Múltipla Resistência Antimicrobiana
- NAL** – Ácido nalidíxico
- NCCLS** – National Committee for Clinical Laboratory Standards
- NIT** – Nitrofurantoina
- SS** – Agar Salmonella Shigella

SUT – Sulfametoxazol-Trimetropin

TET – Tetraciclina

TSA – Agar Tríplice Soja

TSI – Agar Tríplice Ferro

VAN – Vancomicina

VM – Vermelho de Metila

VP – Voges-Proskauer

WHO – Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. JUSTIFICATIVA	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
4. OBJETIVOS	23
4.1. Geral	23
4.2. Específicos	23
5. MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1. Identificação de <i>Salmonella</i> sp.	24
5.2. Identificação de <i>Escherichia coli</i>	31
5.3. Testes de suscetibilidade antimicrobiana.	35
5.4. Cura do plasmídeo.....	38
5.5. Índice de Resistência (ARI).	39
5.6. Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR).....	39
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
7. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

Os mariscos são alimentos usualmente consumidos nas regiões costeiras, e apresentam importância nutricional destacável, por serem fontes de proteínas e de minerais (PEDROSA; COZZOLINO, 2001). Os moluscos bivalves marinhos têm atraído a atenção mundial, não somente devido ao crescente aumento de sua produção e consumo nas últimas décadas, mas também porque eles podem atuar como indicadores biológicos de poluição fecal tanto de humanos como de animais, nos locais onde os moluscos são cultivados ou coletados para o consumo humano (LEAL, 2008).

Conhecer a qualidade da água no local onde ocorre a coleta de moluscos bivalves destinado ao consumo humano é de grande importância (LIPP et al., 2001; LENOCH, 2004), pois a microbiota presente na carne desses organismos está diretamente relacionada com a qualidade do ambiente em que são cultivados ou extraídos, devido a sua forma de alimentação, que ocorre por filtração (NAVARRO, 2003; SAPKOTA et al., 2008).

Os crustáceos como o siri, pertencente a família Portunidae, possui um exoesqueleto calcário que lhe confere sustentação e proteção. Esta proteção dificulta o processo de retirada da carne do siri, que deve ser realizada após uma rápida cocção do crustáceo, seguida da quebra e abertura de sua carapaça. A ação microbiológica sobre este alimento se inicia no momento da captura e se estende por todas as etapas do processamento até a sua comercialização (ALVES, 2002; VIEIRA et al., 2006). Assim o contato direto com a água e o material calcário do exoesqueleto do siri, que é cortante, pode provocar ferimentos nas mãos dos manipuladores (VIEIRA et al., 2006) propiciando a contaminação do alimento.

Diante disso, práticas higiênicas durante as etapas de processamento dos frutos do mar são fundamentais para um produto com baixa carga microbiana e ausência de patógenos (DANTAS, 2010). Os agentes biológicos envolvidos na contaminação dos mariscos consistem em bactérias, vírus e parasitas, os quais podem causar doenças que vão desde gastroenterites leves a doenças mais graves, como por exemplo, meningites e hepatite A. Alguns agentes patogênicos estão

naturalmente presentes no meio aquático, enquanto outros são introduzidos através de animais ou da poluição de águas residuais (AMAGLIANI, 2012).

Os gêneros *Salmonella*, *Shigella* e *Escherichia* estão entre as principais bactérias patogênicas veiculadas pelos moluscos bivalves, como resultado da contaminação fecal (FELDHUSEN, 2000).

A *Escherichia coli* é a principal bactéria representante do grupo dos coliformes termotolerantes, sendo considerada a indicadora específica de contaminação fecal e da eventual presença de microrganismos patogênicos pertencentes às enterobactérias (FRANCO, 2002; VIEIRA, 2004).

A *Salmonella* é um dos microrganismos mais envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive o Brasil. As doenças causadas por *Salmonella* costumam ser divididas em febre tifóide, febre entérica e salmonelose (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Este gênero se encontra amplamente distribuída na natureza, sendo o principal reservatório da bactéria o trato intestinal do homem e animais (JAY, 2005).

A resistência antimicrobiana tem sido frequentemente elevada entre os membros da família Enterobacteriaceae. Dessa forma a presença de bactérias multirresistentes nos alimentos é uma ameaça à saúde pública, pois os consumidores ao ingerirem moluscos crus ou ligeiramente cozidos, podem ser contaminados com cepas de *Salmonella* de difícil tratamento, devido alguns antimicrobianos não possuírem atividade contra esses microrganismos (MALLMANN et al., 2007).

Bactérias resistentes aos antimicrobianos podem ser encontradas em diferentes nichos ecológicos, sendo o ambiente aquático o mais eficiente para a seleção de populações bacterianas resistentes (ALI ABADI; LESS, 2000; WEGENER; MOLLER, 2000). O contato físico entre as bactérias no meio aquático possibilita a troca de elementos genéticos móveis, como transposons e plasmídios, codificadores de genes de resistência aos antimicrobianos. Eventos como esses são importantes na difusão de resistência a diversas drogas (RHODES et al., 2000).

Dessa forma a seleção de drogas apropriadas tanto para testes de suscetibilidade quanto para a terapia antimicrobiana torna-se cada vez mais difícil, podendo levar ao aumento da morbidade e da mortalidade dos pacientes tratados incorretamente (VASCONCELOS, 2010).

2. JUSTIFICATIVA

O consumo de moluscos bivalves marinhos crus ou levemente cozidos é uma prática crescente em todas as regiões litorâneas do Brasil, no entanto, são vistos como alimentos de alto risco, pois estão associados a casos de surtos alimentares como consequência do aumento da poluição ambiental (PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2007).

Dentre os principais microrganismos envolvidos na contaminação dos mariscos, a *Salmonella* sp. e a *Escherichia coli* se destacam, pois são causadoras de inúmeras doenças, sendo frequentemente tratadas com antimicrobianos. Entretanto, a ocorrência de bactérias patogênicas e resistentes aos agentes antimicrobianos representa um risco à saúde em todo o mundo (BUSANI et al., 2004), sendo o aparecimento contínuo, bem como o desenvolvimento e a disseminação de organismos patogênicos, motivo de preocupação crescente (WHO, 2010).

Tendo em vista a importância desses microrganismos no contexto da saúde pública, torna-se fundamental a verificação de sua presença nos alimentos para o consumo humano, bem como verificar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana, com o intuito de constatar quais antimicrobianos são eficazes para o seu tratamento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Consumo de Frutos do Mar

Os moluscos bivalves e crustáceos são encontrados praticamente, em todo o litoral brasileiro e são utilizados na composição de diversos pratos típicos da culinária regional. Todavia a carne dos mariscos é altamente perecível e pode transmitir microrganismos com potencial patogênico, em caso de falhas higiênicas durante as etapas de processamento (DANTAS, 2010). Os moluscos bivalves são frequentemente ingeridos crus, ou levemente cozidos, porém o hábito de aquecer os bivalves somente até que abram as valvas, é insuficiente para a eliminação de microrganismos patogênicos eventualmente presentes no molusco (SALÁN, 2005).

A carne de mariscos é de alto valor nutricional, pois contém baixo valor calórico e pouca gordura quando comparado com a carne bovina, além de serem ricos em ácidos graxos insaturados e poliinsaturados (AVEIRO, 2007). Os ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega-3 e ômega-6 são importantes agentes antioxidantes, melhoram o desenvolvimento do sistema nervoso, a higidez da pele, o bom funcionamento da visão e o sistema imune, bem como previne problemas cardiovasculares. Além disso, agem na prevenção de vários tipos de câncer e retardam o envelhecimento (LIRA et al., 2004).

Mundialmente, a captura e o consumo de pescado e seus derivados tem crescido, tendo em vista que muitas regiões têm a pesca e a extração de mariscos como importante fonte de alimento e renda (RALL et al., 2008). No Brasil, o consumo de pescado ainda é inferior quando comparado ao consumo mundial, onde a falta de informações pela população brasileira, quanto aos benefícios da ingestão diária de pescado e seus derivados, tem sido um dos principais fatores para o consumo reduzido do produto no país (SILVA et al., 2008).

3.2 Moluscos Bivalves

O sururu é um molusco bivalve pertencente à família Mytilidae, e entre os gêneros mais comuns destaca-se o *Mytilus*. Este gênero é frequentemente encontrado em colchões rochosos ou na lama, sendo muito abundante no litoral brasileiro. Tem sua concha em forma de cunha lisa, não possuindo sabor tão agradável como as ostras, embora seja bastante apreciado e de grande valor comercial (MOUCHEREK FILHO et al., 2003).

Durante o beneficiamento do sururu os manipuladores podem contribuir de forma significativa para a sua contaminação, uma vez que o alimento é comercializado fora de sua concha. Além disso, o sururu geralmente é comercializado à temperatura ambiente, o que contribui para uma rápida proliferação de sua microbiota (DELGADO et al., 2002).

A alimentação dentro de padrões higiênicos satisfatórios é essencial para a manutenção da qualidade da saúde. Enquanto falhas na higienização das mãos dos manipuladores de alimentos é um fator de risco, por contaminar o alimento que está sendo manipulado (MILLEZI, 2007). Armazenamento inadequado também contribui para a contaminação microbiana dos mariscos, visto que a ausência de refrigeração abaixo de 4°C favorece a multiplicação de microrganismos, dentre eles os patogênicos (PEREIRA et al., 2004).

Dessa forma, moluscos bivalves, como os mexilhões, apresentam características microbiológicas, relacionadas tanto com seu habitat, sua microbiota natural, como também com a forma como estes são tratados no processamento e conservação (JAY, 2005).

3.3 Crustáceos

Os crustáceos, como os siris são frequentemente encontrados próximo aos ecossistemas estuarinos ao longo de todo o litoral brasileiro (WAKASA, 2003). No Brasil, estão registradas cerca de 21 espécies de siris da Família Portunidae que são explorados comercialmente (FERNANDES et al., 2006).

Esses animais possuem alto valor nutricional, porém podem albergar agentes etiológicos transmissores de doenças. A microbiota da carne do siri é variada, e pode conter bactérias indicadoras de contaminação fecal. O fato deste alimento

albergar agentes etiológicos transmissíveis de doenças está relacionado à sua manipulação, processamento e conservação inadequadas, além da captura em ambientes contaminados. Assim, o consumo de crustáceos contaminados, crus ou levemente cozidos, tem sido responsável por altas taxas de mortalidade (ROCHA et al., 2009).

3.4 Microrganismos indicadores

Os microrganismos indicadores podem ser utilizados na avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos em relação à segurança alimentar devido à presença de patógenos alimentares (LIMA, 2007).

Os mariscos, por exemplo, podem ser veiculadores de diversos microrganismos com potencial patogênico. Esses microrganismos podem ser oriundos da microbiota endógena do produto, como também introduzidos durante as etapas de processamento do pescado (DANTAS, 2010).

De acordo com a Legislação brasileira (RDC Nº 12/2001 – ANVISA), as bactérias que podem causar infecções alimentares, ligadas ao consumo de produtos a base de pescado, são a *Salmonella* sp., e os coliformes termotolerantes ou a 45°C, cujo maior percentual está ligado a *E. coli* (VIEIRA, 2003).

3.5 *Escherichia coli*

A *E. coli* é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae e entre suas principais características destacam-se: bacilos Gram negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, capazes de fermentar glicose com produção de ácido e gás (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

É encontrada no solo, na água e na microbiota de quase todos os animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. Como parte da microbiota humana, esse microrganismo tem papel importante na contaminação fecal dos alimentos (MERCK, 2010).

A maioria das cepas de *E. coli* não são patogênicas, embora algumas estirpes sejam envolvidas com frequência em diarreias na infância, septicemia, meningite neonatal e infecções do trato urinário (YINGST et al., 2006). Atualmente apenas seis linhagens de *E. coli* são consideradas virulentas: *E. coli* enteropatogênica clássica - EPEC, *E. coli* enterotoxigênica - ETEC, *E. coli* enteroinvasiva - EIEC, *E. coli* enteroagregativa – EAEC, *E. coli* de aderência difusa – DAEC e *E. coli* enterohemorrágica - EHEC (SILVA et al., 2007).

Por não fazer parte da microbiota do pescado marinho, a presença de *E. coli* nesses organismos está normalmente associada à contaminação fecal da água no local de captura e/ou transporte e manuseio do pescado (TORRES, 2004). Assim, dejetos provenientes de águas residuais de esgoto podem contaminar as águas estuarinas onde habitam os moluscos bivalves, acarretando na contaminação destes organismos (SERRA et al., 2004).

3.6 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás e ácido a partir da glicose (exceto *S. Typhi*), bem como utilizam o citrato como única fonte de carbono (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

A sua temperatura ótima de crescimento é de aproximadamente 38°C e a temperatura mínima é de 5°C. São termossensíveis por não formarem esporos, podendo ser destruídas a 60°C, por 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2005).

A *Salmonella* é considerada um dos mais importantes patógenos causadores de infecções de origem alimentar. Apresentam grande importância para a saúde coletiva por causarem enfermidades de difícil controle, devido a sua ampla distribuição na natureza, ser patogênica para o homem e muitas espécies de animais, e por ter sua disseminação favorecida por indivíduos portadores assintomáticos (BERSOT, 2006).

Dentre os sorovares do gênero *Salmonella* patogênicas ao homem destacam-se a *S. Typhi*, responsável pela febre tifóide, *S. Paratyphi* (A, B e C), causadora da febre entérica, e as salmonelas (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Bongori*, *S.*

Choleraesuis, S. Nyanza, S. Paratyphi, S. Virginia) responsáveis pela salmonelose (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Mundialmente a salmonelose é uma das doenças infecciosas mais comuns (OLIVEIRA et al., 2003), onde os sintomas surgem de 12 a 14 horas após a ingestão do alimento contaminado e normalmente são caracterizados por náuseas, vômitos, dores abdominais, cefaléia, calafrios e diarreia. Os sintomas podem ser acompanhados também por fraqueza, fadiga muscular e febre (JAY, 2005).

O tratamento da salmonelose com antimicrobianos normalmente não é indicado, pois prolonga o período de eliminação da bactéria pelas fezes e pode levar ao aparecimento de cepas multirresistentes. Todavia, o tratamento pode ser indicado em casos de salmonelose com complicações sistêmicas e na febre tifóide (CAMPOS, 2005).

3.7 Resistência Antimicrobiana

Os agentes antimicrobianos são essenciais nos cuidados com a saúde humana e animal, porém, promovem pressão seletiva na população bacteriana, fortalecendo o surgimento de cepas resistentes (FAO/ OIE/ WHO, 2003/ 2006).

De acordo com a suscetibilidade antimicrobiana as bactérias podem ser classificadas em sensíveis, intermediárias e resistentes:

1. Sensíveis (S): quando a dose padrão do antimicrobiano é apropriada para tratar a infecção causada pelo mesmo,

2. Intermediária (I): quando as cepas são moderadamente resistentes indicando que a cepa pode ser inibida por altas doses do antimicrobiano e,

3. Resistente (R): indica que a infecção causada pela bactéria não responderá ao agente antimicrobiano (COLLINS et al., 2004), resultando em tratamentos ineficazes, infecções persistentes e a possibilidade de transmitir essa característica para outros microrganismos (WHO, 2012).

Relatos de estirpes bacterianas resistentes aos antimicrobianos têm sido cada vez mais comum, principalmente, em espécies de interesse clínico (NIKAIDO, 2009).

O desenvolvimento de patógenos bacterianos zoonóticos resistentes como a *Salmonella enterica* sorovar Typhi, *E. coli* e *Listeria monocytogenes*, devido ao

amplo uso de antimicrobianos, tem ocasionado preocupação do ponto de vista da saúde pública, visto que as bactérias resistentes têm sido transmitidas aos seres humanos através de alimentos de origem animal, provocando a redução da eficácia das drogas utilizadas (HARADA; ASAI, 2010).

Uma bactéria sensível em uma determinada população pode vir a se tornar resistente através de mutação cromossômica (TAVARES, 2001), embora, a resistência também possa ser transferida de uma bactéria resistente para uma sensível através da conjugação. Este tipo de resistência é denominada de transferível ou transmissível (SMITH, 1974 *apud* MOTA et al., 2005). A transmissão da resistência é realizada por meio de elementos genéticos extracromossomais denominados plasmídios (MOTA et al., 2005).

Os plasmídios são pequenas moléculas de DNA de fita dupla, circulares, auto-replicativas, não conectadas ao cromossomo bacteriano principal. Podem ser transferidos de uma bactéria a outra, podendo transportar genes para determinadas atividades, como por exemplo, resistência aos antibióticos, tolerância a metais tóxicos, produção de toxinas e síntese de enzimas (TORTORA et al., 2012). Por esse motivo tanto a aquisição como a propagação de determinantes de resistência aos antimicrobianos entre populações de bactérias tem sido os problemas mais relevantes no tratamento de doenças infecciosas (ALONSO et al., 2001).

Segundo Palermo-Neto et al. (2005), os principais mecanismos de resistência aos antimicrobianos englobam a inativação enzimática, alteração do seu alvo celular e redução do nível intracelular do antimicrobiano. A inativação enzimática consiste na atuação de enzimas bacterianas sobre o princípio ativo do antimicrobiano e também o que se refere a alterações induzidas no local de ação dos antimicrobianos. A segunda estratégia de resistência consiste em alteração do alvo celular, alterando o alvo do antimicrobiano e finalmente, através de bombas de efluxo capazes de expulsar o antimicrobiano para fora da célula bacteriana, reduzindo rapidamente seu nível intracelular.

Assim, enquanto as bactérias resistentes continuarem a aumentar, novos problemas de resistência continuarão a emergir, complicando e impedindo o tratamento de doenças infecciosas. A problemática da resistência antimicrobiana abrange não somente as bactérias, mas também infecções fúngicas, virais e parasíticas. O diagnóstico correto dos agentes responsáveis pela infecção,

identificando o microrganismo e a seleção apropriada da terapia para o tratamento destas infecções assegura o uso rápido e eficaz dos agentes antimicrobianos (LEVY, 2005).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Realizar a identificação bioquímica de cepas previamente isoladas de amostras de sururu (*Mytella guyanensis*) e siri processado (Portunídeos) provenientes da Baía de Iguape, Maragogipe, Bahia, bem como realizar testes de suscetibilidade antimicrobiana nas cepas identificadas.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar através de testes bioquímicos e sorológicos o gênero *Salmonella*;
- Identificar através de testes bioquímicos cepas de *E. coli*;
- Determinar o perfil fenotípico de resistência a diferentes agentes antimicrobianos nas cepas de *E. coli* e *Salmonella*;
- Verificar a presença de cepas com perfil de multirresistência aos antimicrobianos;
- Submeter as culturas existentes a agente de cura para verificar se a resistência aos antimicrobianos é de origem plasmidial ou cromossômica.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desse trabalho foram utilizadas cepas suspeitas de *E. coli* e *Salmonella* sp. previamente isoladas de amostras de sururu in natura e siri processado e que se encontravam depositadas no banco de culturas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB. As cepas se encontravam armazenadas em estufa do tipo B.O.D. a 10°C, que após ativação em caldo nutriente foram novamente re-isoladas em meios seletivos específicos a fim de verificar a sua pureza antes da identificação bioquímica.

5.1. Identificação de *Salmonella* sp.

Para a identificação do microrganismo usou-se a metodologia recomendada por Silva et al. (2010). Ao todo foram testadas 25 cepas suspeitas de *Salmonella*, sendo 10 cepas provenientes de amostras de siri processado e 15 de sururu (*Mytella guyanensis*) in natura.

Para o re-isolamento, as cepas foram crescidas em tubos contendo caldo nutriente (Himedia) a 37°C por 24 horas. Após esse período foram retiradas alíquotas com o auxílio de uma alça níquel-cromo e inoculadas por esgotamento em placas de Petri contendo o meio seletivo Agar SS (Agar *Salmonella-Shigella*) (Himedia). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida, colônias com características de *Salmonella* (colônias incolores com ou sem o centro preto) foram transferidas para tubos contendo agar TSA (Agar Triptona de Soja) (Himedia) inclinado e incubados a 37°C por 24 horas. Depois deste período as cepas foram submetidas aos testes bioquímicos de triagem, sendo eles: agar TSI (Agar Tríplice Açúcar Ferro), agar LIA (Agar Lisina Ferro), agar Citrato de Simmons, Indol, Uréia e Malonato. Todos os meios utilizados foram da marca Himedia. Essa estratégia experimental está apresentada na Figura 1. As cepas que apresentaram características típicas de *Salmonella* sp. (Tabela 1) foram submetidas ao teste sorológico usando o soro polivalente somático (antígenos O e Vi) da Probac®.

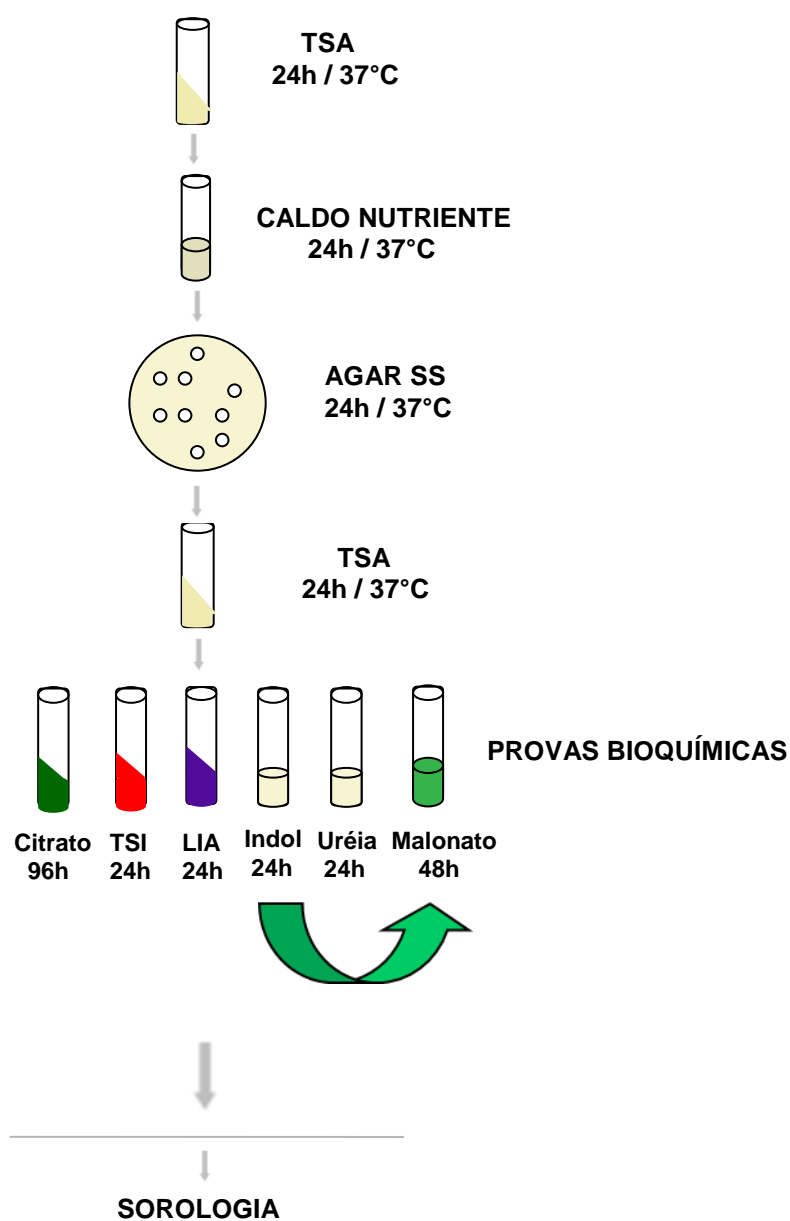


Figura 1. Fluxograma de identificação de *Salmonella* a partir de isolados provenientes de amostras de sururu e siri processado (Fonte: Elaboração do autor).

Tabela 1. Reações bioquímicas características de *Salmonella*.

Meios	Reações	Reações (+) ou (-)
TSI	Rampa alcalina (vermelha), fundo ácido (amarelo), produção de gás, produção de H ₂ S ou não	+
Lia	Fundo e rampa alcalinos (roxo, sem alteração da cor do meio), com presença ou ausência de H ₂ S	+
Uréia	Permanência do meio na cor original	-
Indol	Anel amarelo na superfície do meio, após colocação do reagente Kovacs	-
Malonato	Permanência da cor verde do meio	-
Citrato	Cor azul do meio	+

Fonte: Silva et al. (2010).

5.1.1 Agar Tríplice Açúcar Ferro (TSI)

Neste teste as cepas foram inoculadas em agar TSI (Himedia) inclinado, com picada no fundo e estrias na rampa. Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas. Após este período foi observado se havia positividade típica para o gênero *Salmonella*, ou seja, rampa alcalina (vermelha), fundo ácido (amarelo) com produção de gás (bolhas ou rachaduras no meio de cultura), com ou sem produção de H₂S (escurecimento ou não do meio no fundo) (Figura 2).



Figura 2. Crescimento característico para o gênero *Salmonella* em agar TSI.

5.1.2 Agar Lisina Ferro (LIA)

Neste teste as cepas foram inoculadas no meio de cultura com duas picadas profundas no meio e estrias na rampa e incubadas a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, observava-se se havia positividade típica para o gênero *Salmonella*, ou seja, fundo e rampa alcalinos (roxo, sem alteração da cor do meio), com ou sem produção de H₂S (escurecimento do meio) (Figura 3).



Figura 3. Crescimento característico para o gênero *Salmonella* em agar LIA. (A – sem produção de H₂S e B – com produção de H₂S).

5.1.3 Teste de Citrato de Simmons

Foi transferido um inóculo da cultura para tubos de ensaio contendo agar Citrato de Simmons (Himedia) inclinado, com estrias na rampa e uma picada no fundo. Os tubos foram incubados a 37°C por 96 horas e observado se havia crescimento com viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul (teste positivo). A não alteração do meio indicava teste negativo. *Salmonella* é positiva para este teste (Figura 4).

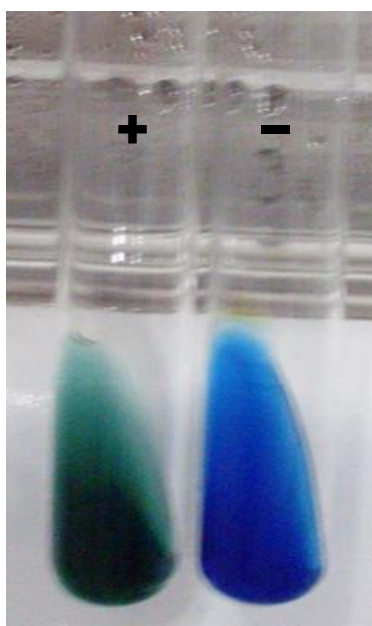


Figura 4. Teste de Citrato de Simmons para *Salmonella* spp.

5.1.4 Indol

Cada cultura de *Salmonella* foi inoculada em tubos de ensaio contendo 5 ml de caldo Triptona (Himedia) e incubados a 37°C por 24 horas. Após esse período foi adicionado de três a cinco gotas do Reagente de Kovac's para o teste de indol. A positividade do teste era observada se havia desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo), ou se o anel permanecia amarelo (teste negativo). As cepas de *Salmonella* são indol negativas (Figura 5).

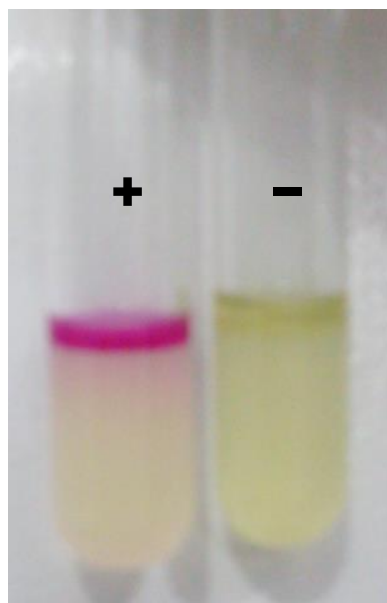


Figura 5. Teste de indol para *Salmonella* spp.

5.1.5 Caldo Uréia (UA)

As culturas de *Salmonella* foram inoculadas em tubos contendo Caldo Uréia (Himedia) e incubadas a 37°C por 24 horas. A ocorrência de viragem alcalina do indicador, com alteração da cor do meio de pêssego para uma cor rosa escuro indicava teste positivo, enquanto que a permanência do meio na cor original indicava teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* são uréase negativas (Figura 6).

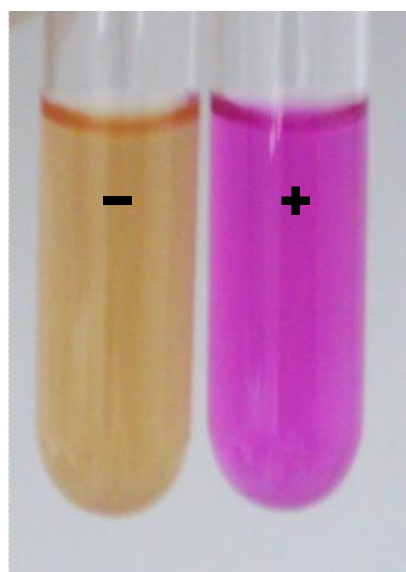


Figura 6. Teste de uréase para *Salmonella* spp. Fonte: Reis (2012)

5.1.6 Malonato

A partir da cultura crescida em Caldo Triptona 1%, foi inoculada três alçadas em tubos contendo Caldo Malonato e incubados a 37°C por 48 horas. A ocorrência de viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul indicava teste positivo. A permanência da cor verde do meio indicava teste negativo (Figura 7).

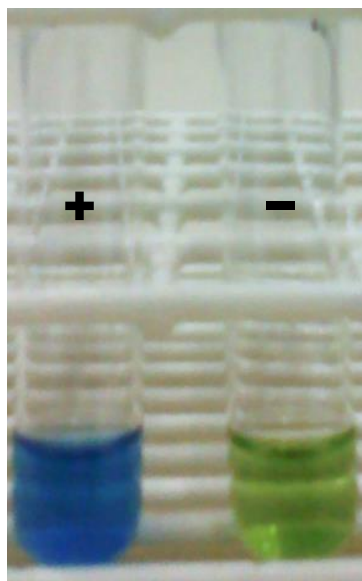


Figura 7. Teste de Malonato para *Salmonella* spp.

5.1.7 Teste Sorológico

As cepas que apresentaram positividade nas provas bioquímicas foram submetidas ao teste sorológico. Para a confirmação do gênero *Salmonella* foi utilizado o soro polivalente somático (antígenos O e Vi) da Probac®. Com o auxílio de uma alça estéril as cepas foram inoculadas em agar nutriente e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período adicionava-se 1 mL de solução salina (0,85%) e em seguida retirava-se 50 µl do inóculo. O inóculo foi colocado em uma lâmina, e adicionado o soro polivalente. O inóculo foi homogeneizado suavemente durante dois minutos e então observado a formação de grumos, o que representava teste positivo (Figura 8).



Figura 8. Teste de soroaglutinação para o gênero *Salmonella* Fonte: Tortora (2005).

5.2 Identificação de *Escherichia coli*

Para a identificação de *E. coli*, foram utilizadas 17 cepas, sendo cinco cepas isoladas de amostras de siri processado e 12 de sururu (*Mytella guyanensis*) in natura. A partir das culturas mantidas em agar TSA, armazenadas em estufa B.O.D foi retirada uma alçada do meio e inoculado em tubos de ensaio contendo caldo nutriente (Himedia) e incubados a 37°C por 24 horas. Após esse período, uma alíquota do meio foi inoculada em placas de Petri contendo o meio de cultura seletivo agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Himedia), e incubadas a 37°C por 24 horas para o isolamento de colônias características de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico). Após esse período as colônias típicas de *E. coli* foram transferidas para tubos contendo agar TSA (Himedia), os quais foram incubados a 37°C por 24 horas. Para as provas bioquímicas foram usados o teste de IMViC: Indol, VM (Vermelho de Metila), VP (Voges-Proskauer) e Agar Citrato de Simmons. Todos os meios utilizados foram da marca Himedia. As reações bioquímicas no teste de IMViC características para *E. coli* estão apresentadas na Tabela 2 e o fluxograma desse procedimento está apresentado na figura 9.

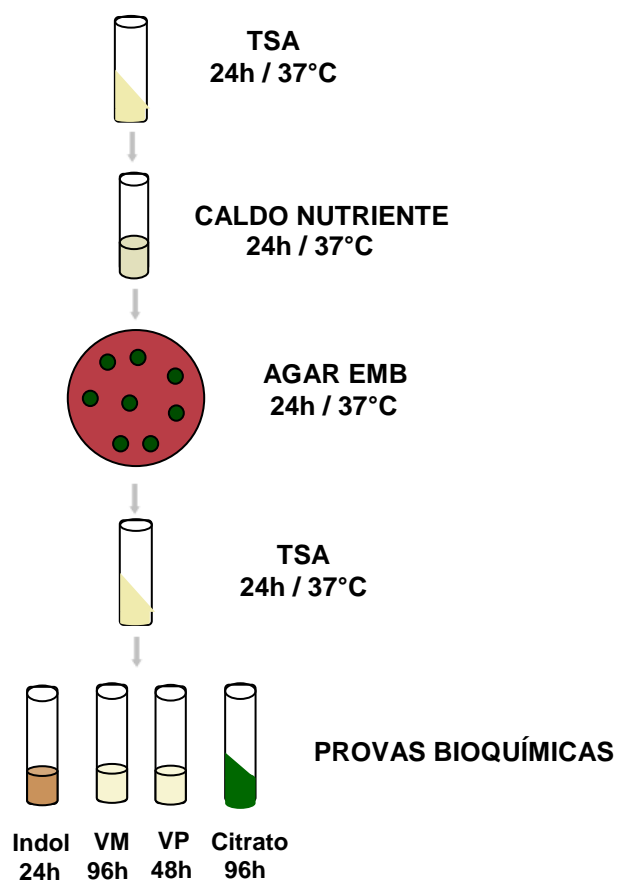


Figura 9. Fluxograma para a identificação de *Escherichia coli* a partir de isolados de amostras de sururu e siri. (Fonte: Elaboração do autor).

Tabela 2. Reações bioquímicas características de *Escherichia coli* de acordo com o teste de IMViC.

IMViC				
SIM		VM-VP		CITRATO
INDOL	MOTILIDADE	VM	VP	
+/-	+/-	+	-	-

Fonte: Adaptado de Mata (2003).

5.2.1 Teste de Indol

As culturas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo agar semi-sólido SIM (Himedia) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período foi observada a motilidade. Feito isso foi adicionado ao meio de cultura de três a cinco gotas do

reagente de Kovac's para observar se havia desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo), a permanência da cor amarelada indicava teste negativo. Desenvolvimento de vários tons entre vermelho e rosa indicava teste indeterminado. A *E. coli* é indol positivo, embora também possa ser negativa (Figura 10).



Figura 10. Teste de Indol para *Escherichia coli*.

5.2.2 Teste de Vermelho de Metila (VM)

Foi transferido um inóculo da cultura de *E. coli* para tubos contendo caldo VM-VP (Himedia) e então incubados a 37°C por 96 horas. Após o período de incubação foram adicionadas duas gotas de vermelho de metila. O aparecimento de um anel vermelho indicava a positividade do teste e o aparecimento de um anel amarelo indicava teste negativo. A *E. coli* é positiva para este teste (Figura 11).



Figura 11. Teste de Vermelho de metila (VM) para *Escherichia coli*. Fonte: Reis (2012)

5.2.3 Teste de Voges-Proskauer (VP)

Cada cultura de *E. coli* foi inoculada em tubos contendo caldo VM-VP (Himedia) e incubados a 37°C por 48 horas. Após a incubação, foi adicionado ao tubo, três gotas de solução de alfa-naftol 5% e duas gotas de solução de KOH 40%, nesta sequência, agitando o tubo entre um reagente e outro. O desenvolvimento de um anel avermelhado no meio de cultura, no intervalo de 15 min., indicava teste positivo. A permanência do meio na cor do reagente (amarelada) indicava teste negativo. *E. coli* é negativa para este teste (Figura 12).

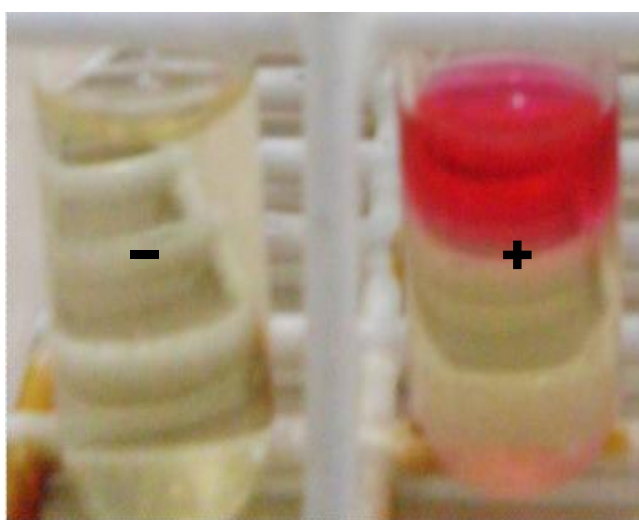


Figura 12. Teste de Voges-Proskauer (VP) para *Escherichia coli*

5.2.4 Teste de Citrato de Simmons

Foi transferido um inóculo leve de cada cultura de *E. coli* para tubos de ensaio contendo agar Citrato de Simmons (Himedia) inclinado, com estrias na rampa e uma picada no fundo. Os tubos foram incubados a 37°C por 96 horas. Após este período foi observado se havia crescimento com viragem alcalina do indicador, com alteração da cor do meio de verde para azul (teste positivo). A não alteração do meio indica teste negativo. *E. coli* é negativa para este teste (Figura 13).

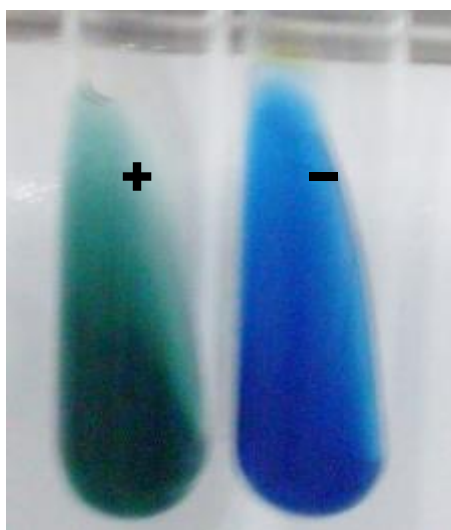


Figura 13. Teste de Citrato de Simmons para *Escherichia coli*.

5.3 Testes de suscetibilidade antimicrobiana

A suscetibilidade aos antimicrobianos comerciais foi avaliada pelo método de difusão em placa, seguindo a metodologia proposta pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009).

As cepas confirmadas como *Salmonella* sp. e *E. coli* foram testadas frente a 12 antimicrobianos (Tabela 3). Das culturas crescidas em agar TSA (Himedia), foi transferida uma alçada para tubos de ensaio contendo 9 ml de solução salina (0,85%), até se obter uma suspensão comparável à turbidez padrão correspondente a 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Para o ajuste da turbidez foi utilizado o aparelho espectrofotômetro, modelo Spectrum SP - 1105, em absorvância de 625 nm. O limite de leitura aceitável variou entre 0,08 e 0,10. Após o ajuste do

inoculo, mergulhou-se um *swab* estéril e em seguida foi espalhado em toda a superfície da placa de Petri contendo o meio ágar Mueller-Hinton (Himedia). A tampa foi deixada entreaberta de três a cinco minutos, de maneira a permitir que qualquer excesso de umidade fosse absorvida antes de se aplicar os discos impregnados da droga. Os discos foram aplicados com o auxílio de uma pinça estéril e pressionados levemente, sob a superfície do meio. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas, e após esse período foram medidos os halos de inibição com o auxílio de um paquímetro digital (Digimiss) (Figura 14). Para interpretar os resultados foram utilizadas tabelas do CLSI (2009) padronizadas em milímetros para cada disco de difusão (Tabela 4).

Tabela 3. Lista de antimicrobianos utilizados de acordo com a sua classe.

Classe	Antimicrobianos	Símbolo	Concentração do disco
Glicopeptídeos	Vancomicina	VAN	30 µg
β-lactâmicos	Cefalotina	CFL	30 µg
	Ampicilina	AMP	10 µg
	Ceftazidima	CAZ	30 µg
	Imipenem	IPM	10 µg
Tetraciclina	Tetraciclina	TET	30 µg
Sulfonamidas	Sulfametoxazol-Trimetropin	SUT	25 µg
Quinolonas	Ácido nalidíxico	NAL	30 µg
	Ciprofloxacina	CIP	05 µg
Fenicóis	Cloranfenicol	CLO	35 µg
Nitrofuranos	Nitrofurantoína	NIT	300 µg
Aminoglicosídeos	Amicacina	AMI	30 µg

Fonte: CLSI (2009).

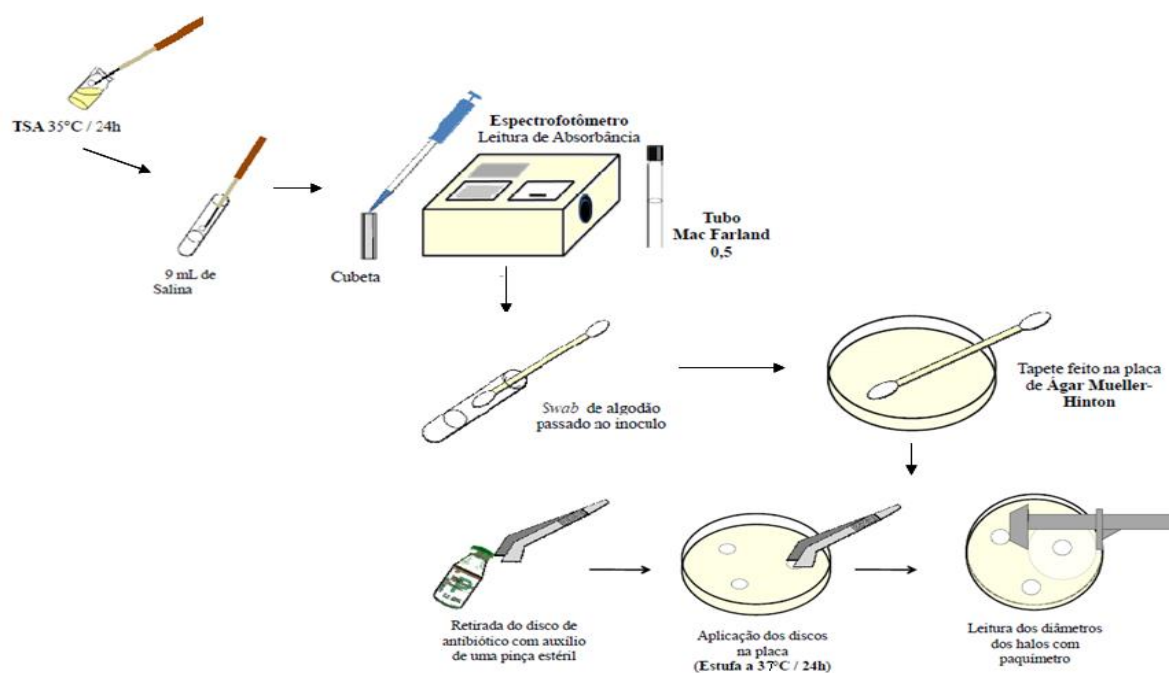


Figura 14. Fluxograma mostrando o teste de suscetibilidade antimicrobiana para as cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* Fonte: Rocha (2011).

Tabela 4. Tabela com os valores de intervalo dos halos de inibição.

Antimicrobianos	Perfil de suscetibilidade (mm)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina 10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Amicacina 30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Ácido Nalidíxico 30 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Cefalotina 30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Ceftazidima 30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Ciprofloxacina 05 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21
Cloranfenicol 35 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18
Imipenem 10 µg	≤ 13	14 – 15	≥ 16
Nitrofurantoína 300 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Sulfametoxazol-trimetropin 25µg	≤ 10	11 – 15	≥16
Tetraciclina 30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Vancomicina 30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17

Fonte: CLSI (2009).

5.4 Cura do plasmídio

As cepas de *Salmonella* e *E. coli* submetidas ao teste de suscetibilidade antimicrobiana e que apresentaram perfil de resistência foram submetidas a testes de cura plasmidial de acordo com Molina-Aja et al. (2002). Como agente de cura foi utilizado o agente mutagênico Laranja de acridina (Sigma) na concentração de 100 µg/mL. A partir do crescimento bacteriano em meio agar TSA, foi transferido um inoculo da cultura para tubos de ensaio contendo caldo LB (Luria Bertani) suplementado com o agente de cura e incubados por 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica. Após esse período o antibiograma foi repetido novamente para aquelas drogas em que os microrganismos apresentaram resistência a fim de se verificar se a característica de resistência foi perdida ou não (Figura 15).

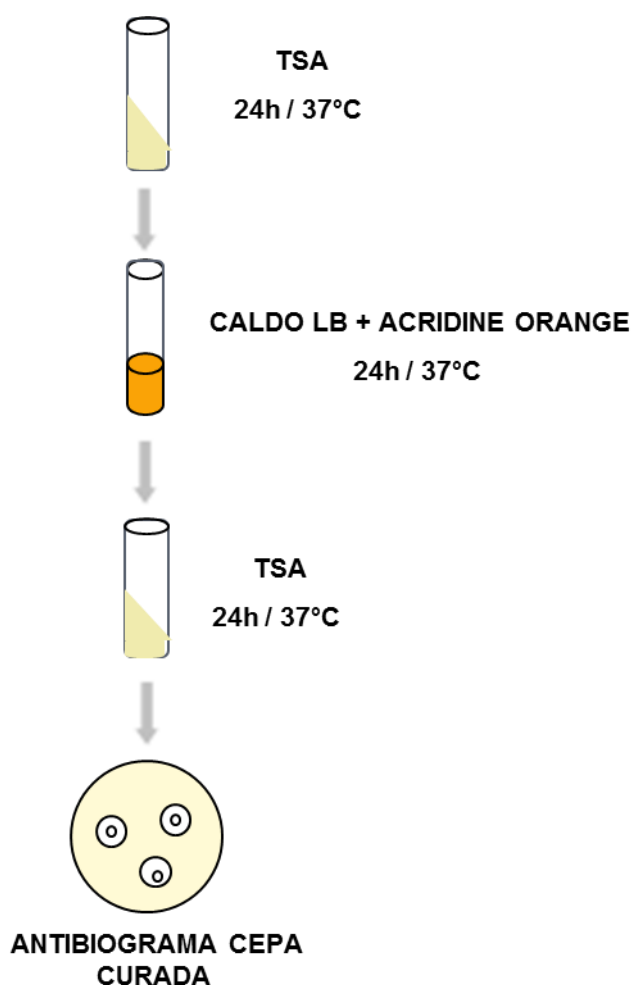


Figura 15. Fluxograma das etapas da cura do plasmídio. (Fonte: Elaboração do autor).

5.5 Índice de Resistência (ARI)

O índice de resistência aos antimicrobianos (ARI) foi calculado através da fórmula $y / (n \cdot x)$, onde y corresponde o total do número de cepas resistentes; n o número de isolados e x o número de antimicrobianos testados (JONES et al., 1986).

5.6 Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR)

O índice MAR (Múltipla Resistência Antimicrobiana) foi utilizado para determinação da múltipla resistência. Este índice, quando aplicado a um isolado bacteriano, é definido como a/b , ou seja, o número de antimicrobianos ao qual o isolado foi resistente (a) dividido pelo número de antimicrobianos ao qual o isolado foi exposto (b), multiplicando-se o valor final por 100 para obtenção dos resultados em percentuais (KRUMPERMAN, 1983).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Identificação das cepas

Das 25 cepas suspeitas de *Salmonella* spp. analisadas, 10 (40%) foram isoladas em amostras de siri processado e 15 (60%) de sururu in natura. Destas, apenas 09 (36%) foram confirmadas como *Salmonella* spp., sendo todas provenientes das amostras de sururu in natura (Figura 16).

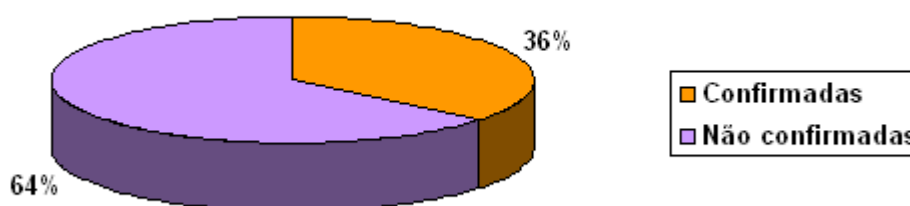


Figura 16. Percentual de cepas estudadas e confirmadas como *Salmonella* spp.

O fato de não ter sido isolado *Salmonella* nas amostras de siri processado é justificado porque durante o beneficiamento desses organismos para a retirada da carapaça os mesmos passam por uma etapa de aquecimento o que seria suficiente para a eliminação da bactéria. As bactérias do gênero *Salmonella* são termosensíveis, podendo ser destruídas a temperatura acima de 60°C por 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2005).

A presença da bactéria nas amostras de sururu se deve ao fato deste organismo apresentar caráter filtrador e poder acumular altas densidades de bactérias, além do seu habitat natural ser o sedimento lamoso.

De acordo com a legislação brasileira, Resolução RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001), para os moluscos bivalves, carne de siri e similares cozidos, temperados ou não, industrializados resfriados ou congelados, *Salmonella* deve ser ausente em 25 g do produto analisado. Dessa forma, a presença de *Salmonella* nas amostras de sururu indica a inadequação do produto para o consumo, constituindo um sério problema para a saúde dos consumidores, visto que este grupo é altamente patogênico, estando frequentemente envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar (FRANCO; LANDGRAF, 2003)

Embora *Salmonella* não seja um componente normal da microbiota de animais marinhos, a sua presença nos frutos do mar ocorre devido a contaminação de origem fecal da água, manipuladores assintomáticos ou contaminação cruzada (LUNESTAD; BORLAUG, 2009).

Como no nosso estudo, Gil (2010) analisando amostras de sururu e vongole quanto à presença de *Salmonella* sp. encontrou incidência da bactéria em 10% do sururu e de 20% no vongole, enquanto Calixto (2010) relatou a presença de

Salmonella em 100% nas amostras de mexilhões da espécie *Perna perna* provenientes da baía de Ilha Grande, RJ. Furlan (2004) relatou a presença de *Salmonella* em 6,7% da carne de mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP.

Resultados opostos foram relatados por Henriques et al. (2000) ao avaliarem 50 mexilhões coletados da Ilha de Urubuqueçaba, SP, e não detectarem a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras. Pereira et al. (2006) também não relataram a presença de *Salmonella* em amostras de ostras cultivadas e comercializadas em Florianópolis.

A ausência de *Salmonella* sp. em amostras de siri provenientes da Baía de Antonina foi descrito por Vieira (2006) corroborando com o presente trabalho, em adição Lourenço et al. (2006), também constataram ausência de *Salmonella* sp. na carne de caranguejo uçá in natura no município de Belém-Pará.

Com relação a presença de *E. coli*, das 25 cepas testadas (09 de siri processado e 16 de sururu in natura apenas 17 (68%) foram confirmadas como *E. coli* (Figura 17). Dessas culturas, 05 (29,4%) foram isoladas das amostras de siri processado e 12 (70,5%) de amostras de sururu in natura (Figuras 18).

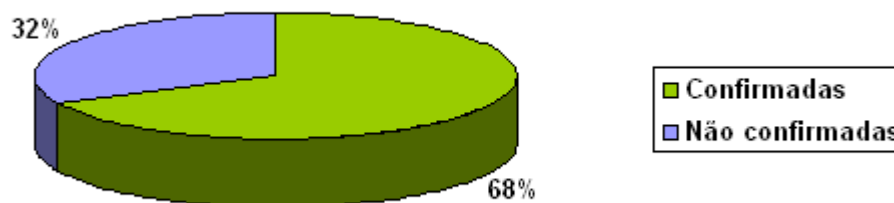


Figura 17. Percentual de cepas confirmadas como *Escherichia coli*

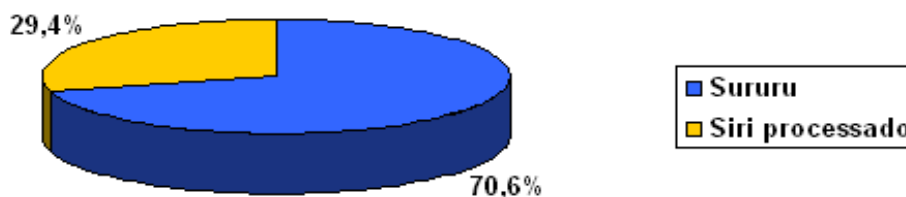


Figura 18. Percentual de cepas de *Escherichia coli* confirmadas de acordo com os alimentos analisados.

A presença de bactérias do grupo dos coliformes a 45°C em alimentos, principalmente nos frutos do mar é indicativo de contaminação de origem fecal, ou seja, condições higiênicas sanitárias insatisfatórias, uma vez que a população desse grupo é constituída principalmente de estirpes de *E. coli* (BRITO, 2003). A elevada contaminação fecal observada na área de estudo pode está relacionada ao despejo de esgotos domésticos e o lançamento de lixo na Baía do Iguape, devido a falta de saneamento básico no município. Outro fator que contribui para a presença de lixo orgânico e inorgânico nas águas da Baía é a presença de estabelecimentos comerciais, que atraem banhistas, principalmente aos fins de semana.

Considerando que os moluscos bivalves são organismos filtradores e, portanto, acumulam microrganismos, a concentração destes no tecido comestível dos moluscos indica perigo potencial à saúde dos consumidores (GALVÃO, 2004), uma vez que algumas estirpes são comprovadamente patogênicas e, portanto, responsáveis por diarreias e enfermidades graves, tais como colites hemorrágicas e síndrome urêmica (NASCIMENTO et al., 2007).

Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados por Jesus et al. (2006), ao relatarem elevadas concentrações de *E. coli* na carne de sururu provenientes de uma área de manguezal na Baía de Vitória (ES) Barros et al. (2005), também verificaram elevados percentuais de bactérias do grupo dos coliformes a 45°C em ostras comercializadas na Praia do Futuro, Ceará.

Nascimento et al. (2011) relataram a presença de *E. coli* em amostras de ostras e sururu comercializadas no mercado central na cidade de Aracaju-SE. Já Pereira et al. (2010) relataram a presença de *E. coli* em 58,8% em amostras de siri processado na Baía do Iguape, demonstrando a baixa qualidade microbiológica do sururu comercializado na região.

A falta de conhecimento por parte dos manipuladores/marisqueiras no que diz respeito a higiene pessoal, bem como a higienização de utensílios e equipamentos, durante o processamento artesanal da carne de sururu e siri, compromete a inocuidade dos mariscos.

6.2. Suscetibilidade antimicrobiana de *Salmonella*

Das nove cepas de *Salmonella* sp. submetidas aos testes de suscetibilidade antimicrobiana de diferentes classes, verificou-se que 100% das cepas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano.

O maior percentual de resistência foi observado para a vancomicina (100%), seguida da cefalotina e tetraciclina (88,8%), ampicilina e sulfametoxazol (77,7%), ácido nalidíxico (33,3%), ceftazidima (22,2%) e ciprofloxacina, cloranfenicol e nitrofurantoína (11,1%,) (Figura19).

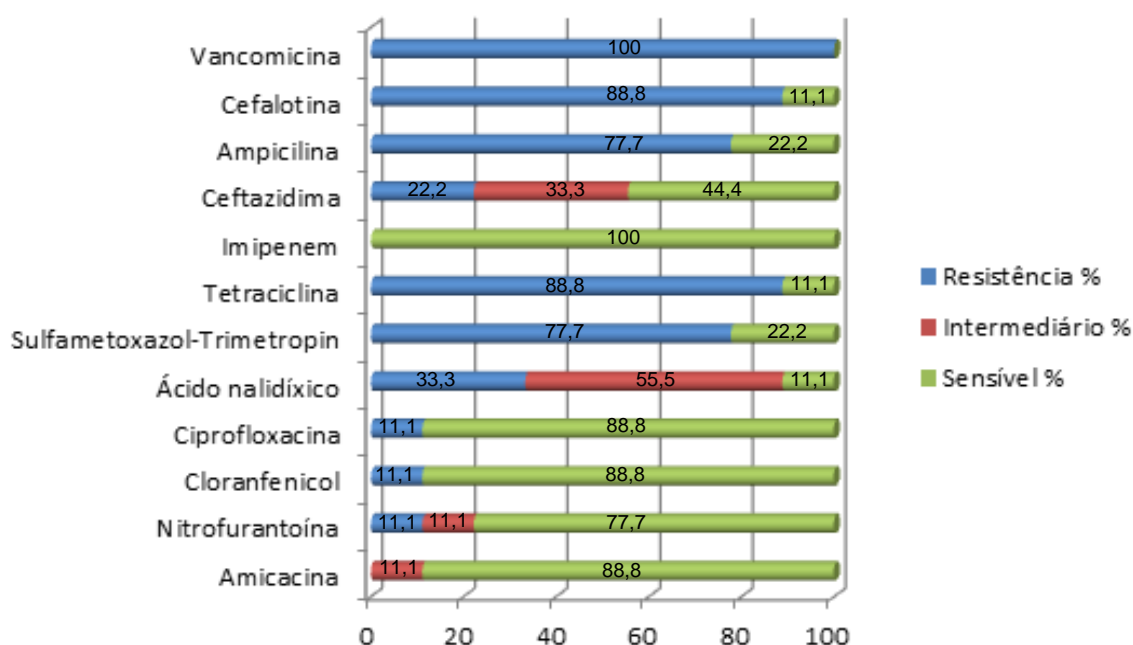


Figura 19. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* para os principais grupos de antimicrobianos testados.

A presença de bactérias resistentes no presente estudo pode ser atribuída à contaminação da água pelo lançamento de esgotos domésticos ou a presença de cultivos de animais. A presença dessas drogas nos sistemas de esgoto pode ocorrer em virtude do uso de antimicrobianos pela comunidade e que seriam excretados nas fezes e urinas. No meio aquático a presença de bactérias resistentes pode propagar resistência entre a microbiota natural mediante elementos genéticos móveis. Este fato promoveria a transmissão de estirpes resistentes aos humanos, através da ingestão dos alimentos.

Segundo Schmidt e Cardoso (2003), bactérias resistentes aos antimicrobianos podem ser encontradas em ambientes contaminados com efluentes industriais, e sofrerem pressão seletiva. Este fenômeno favorece a instalação, manutenção e propagação de características de resistência entre as populações bacterianas no ambiente aquático (BELDA et al., 2005; HIRSCH et al., 2006).

A elevada resistência verificada para a tetraciclina era presumível, uma vez que a tetraciclina é um dos mais antigos antimicrobianos utilizados no tratamento de doenças infecciosas. (FUZIHARA, 2001). Enquanto a elevada resistência observada à vancomicina está relacionada à presença da membrana externa nas bactérias Gram negativas, a qual dificulta a passagem de moléculas grandes como a vancomicina, limitando o seu acesso até o sítio alvo (ARAÚJO, 2009).

Com relação ao sulfametoxazol-trimetropin, a sua eficácia antimicrobiana e o seu baixo custo fizeram com que se tornasse o antimicrobiano eleito para o tratamento de diversas infecções, como por exemplo, infecções urinárias e infecções gastrointestinais (MASTERS et al., 2003). Entretanto, nas últimas décadas tem-se verificado um aumento da resistência bacteriana a este antimicrobiano (TAVARES, 2010), devido a baixa concentração intracelular do antimicrobiano, a impermeabilização da membrana e a bomba de efluxo (SOUSA, 2006).

A elevada resistência antimicrobiana observada para os β -lactâmicos, principalmente ampicilina e cefalotina é preocupante, uma vez que essa classe é amplamente utilizada no controle de doenças infecciosas (LOURENÇO, 2007).

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Phan et al. (2001) ao relatarem cepas de *Salmonella* spp. isoladas de fontes de água da vila de Tan Phu Thanh, Vietnã, resistente a ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina. Já Rahimi et al. (2013) relataram resistência aos antimicrobianos ácido nalidíxico, tetraciclina, trimetoprim e ciprofloxacina em cepas de *Salmonella* isoladas de peixe, camarão, lagosta e carangueijo no Irã.

Resistência intermediária foi observada aos antimicrobianos ácido nalidíxico em 55,5% (05) dos isolados, a ceftazidima em 33,3% (03) e a amicacina e a nitrofurantoína em 11,1% (01).

Suscetibilidade antimicrobiana nos isolados de *Salmonella* foi observada principalmente para o imipenem (β -lactâmico) em 100%, amicacina (aminoglicosídeo) em 88,8%, ciprofloxacina (quinolona) em 88,8%, cloranfenicol

(fenicol) em 88,8% e a nitrofurantoína (Nitrofuranos) em 77,7%. O imipenem oferece excelentes resultados no ponto de vista terapêutico uma vez que apresenta atividade contra praticamente todos os Gram positivos e negativos (TRABULSI et al., 2005).

Quando verificado o índice de resistência aos antimicrobianos (ARI), observou-se valores variando de 0,01 a 0,07, ou seja, demonstrando que as amostras bacterianas podem representar um risco para a disseminação de genes de resistência (Tabela 6). Com relação ao perfil de multirresistência, todas as cepas apresentaram índice MAR variando de 16,6 a 66,6, ou seja, resistência a dois e oito antimicrobianos (Tabela 6). A elevada presença de resistência múltipla aos antimicrobianos pode está associada à existência de plasmídios nos isolados.

Tabela 5. Índice de resistência aos antimicrobianos (ARI), índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) e resistência plasmidial das cepas de *Salmonella*.

Cepa	Antimicrobianos	ARI	MAR (%)	Resistência Plasmidial
1	AMP, NAL, CFL, SUT, TET, VAN	0,05	50,0	NAL, SUT
2	TET, VAN	0,01	16,6	-
3	AMP, CFL, SUT, TET, VAN	0,04	41,6	SUT
4	AMP, NAL, CFL, SUT, TET, VAN	0,05	50,0	NAL, SUT
5	AMP, CFL, SUT, TET, VAN, CAZ	0,05	50,0	CFL, SUT, CAZ
6	AMP, NAL, CFL, SUT, TET, VAN, CAZ	0,06	58,3	CAZ, SUT
7	AMP, CFL, CIP, CLO, NIT, SUT, TET, VAN	0,07	66,6	CIP, CLO, NIT
8	AMP, CFL, SUT, TET, VAN	0,04	41,6	-
9	CFL, VAN	0,01	16,6	-

ARI: Índice de resistência a antimicrobianos; MAR: Múltipla Resistência Antimicrobiana.

VAN - vancomicina, CFL- cefalotina, TET - tetraciclina, AMP - ampicilina, SUT - sulfametoxazol-trimetropin, NAL- ácido nalidíxico, CAZ - ceftazidima, NIT - nitrofurantoína, CIP = ciprofloxacina, CLO - cloranfenicol.

De acordo com os resultados as cepas de *Salmonella* spp. multirresistentes e isoladas dos mariscos analisados, representam um grave risco a saúde pública, principalmente para a população local que consome estes alimentos, uma vez que

os surtos causados por cepas resistentes podem representar uma barreira para o tratamento de infecções, aumentando o custo do tratamento, bem como a mortalidade na população de risco (PARRY, 2003).

Resultados semelhantes foram relatados por Kumar et al. (2010) ao encontrarem em frutos do mar tropical cepas de *Salmonella* resistentes, algumas das quais resistentes a até quatro antimicrobianos.

Trabalhos recentes relataram a resistência de cepas de *Salmonella* em frutos do mar ao redor do mundo. Na China, Yan et al. (2010) descreveram sorovares de *Salmonella* resistente aos frutos do mar a diversas classes antimicrobianas como os β -lactâmicos, aminoglicosídeos, nitrofuranos, sulfonamidas, quinolonas e fluoroquinolonas, demonstrando ainda padrões de multirresistência de dois até 10 antimicrobianos. Bouchrif et al. (2009) isolaram diversos sorovares de *Salmonella* em Marrocos e observaram resistência e resistência múltipla a tetraciclina, ácido nalidíxico, ampicilina e estreptomicina.

As cepas de *Salmonella* spp. resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados, foram submetidas à cura plasmidial. Das três cepas resistentes ao ácido nalidíxico, e das sete cepas resistentes para o sulfametoxazol-trimetropin, 02 (22,2%) e 05 (55,5 %) (Tabela 5) respectivamente apresentaram resistência plasmidial, As cepas resistentes aos antimicrobianos ciprofloxacina, cloranfenicol e nitrofurantoína, também apresentaram resistência plasmidial.

Com relação à resistência antimicrobiana de *Salmonella* para os antimicrobianos ampicilina, cefalotina, tetraciclina, vancomicina e ceftazidima, todos apresentaram resistência cromossômica, uma vez que essa característica não foi perdida após o processo de cura. Além dessas, duas cepas de *Salmonella* resistente ao ácido nalidíxico e uma resistente ao sulfametoxazol-trimetropin também apresentaram resistência cromossômica.

Costa et al. (2006) analisando 122 cepas de *Salmonella* isoladas de diferentes fontes e regiões do Brasil observaram plasmídios de resistência para a tetraciclina e o cloranfenicol, em *Salmonella* Panama, *Salmonella* Saintpaul e *Salmonella* Mbandaka de origem animal, alimentar e ambiental.

Araújo et al. (2009) constataram a presença de bactérias portando plásmidios de resistência nas águas do Ribeirão Paciência, MG o qual recebe dejetos de esgoto doméstico, abatedouros, o hospital da cidade, criatórios de frangos e suínos. A

presença desses dejetos constitui uma fonte de contaminação para as pessoas da região, bem como um ambiente propício para a disseminação de plasmídios de resistência.

6.3. Suscetibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli*

Das 17 cepas de *E. coli* isoladas do sururu in natura e siri processado, 100% (17/17) foram resistentes a vancomicina, 29,4% a tetraciclina, 23,5% a ampicilina e ao sulfametoxazol-trimetropin e 5,9 % a cefalotina (Figura 20).

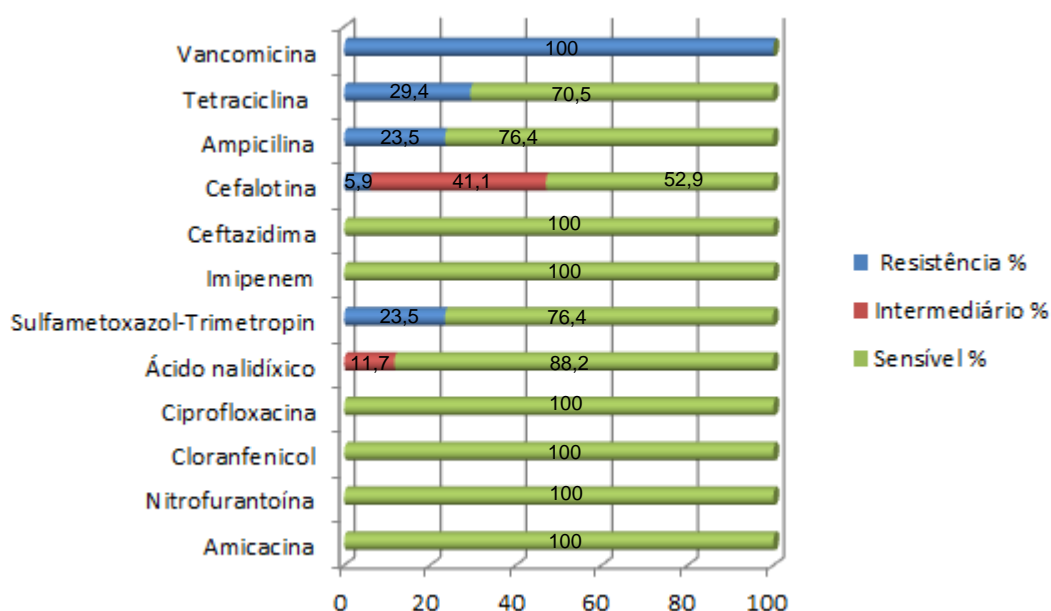


Figura 20. Susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* para os principais grupos de antimicrobianos testados.

Ambientes contendo resíduos de antimicrobianos podem exercer forte pressão seletiva e contribuir para o isolamento de cepas resistentes (AGERSO; SANDVANG, 2005; WITTE et al., 2005). A presença de linhagens de *E. coli* com este perfil é preocupante, uma vez que pode dificultar o tratamento de doenças em animais e humanos, agravando os quadros clínicos curáveis (MOTA et al., 2005). Também podem favorecer a disseminação de resistência para outras bactérias, inclusive bactérias patogênicas (DEPIZZOL, 2006).

Dentre os antimicrobianos utilizados, as cepas de *Escherichia coli* apresentaram resistência a ampicilina e ao sulfametoxazol - trimetropin. Essas drogas são muito utilizadas na medicina humana e a sua resistência em bactérias veiculadas pelos alimentos pode comprometer o tratamento de pacientes infectados (SOARES, 2007).

Alguns trabalhos mostraram cepas de *E. coli* isoladas de mariscos resistentes a antimicrobianos, como Vieira et al. (2010) que pesquisando a suscetibilidade aos antimicrobianos em cepas de *E. coli* isoladas de camarão e ambientes de carcinicultura encontraram 33% dos isolados resistentes a tetraciclina, enquanto Vieira et al. (2008) encontraram cepas de *E. coli* isoladas de ostras, resistentes aos antimicrobianos tetraciclina e imipenem.

Resultado semelhante foi relatado por Alam et al. (2006) ao encontrarem taxas de resistência à ampicilina, tetraciclina e sulfametoxazol-trimetropina em isolados de *E. coli* obtidos a partir de diversos ambientes como lagoas, rios, lagos e outros reservatórios aquáticos.

Cepas com resistência intermediária foi observada apenas para os antimicrobianos cefalotina em 41,1% e ao ácido nalidíxico em 11,7% (Figura 20). Segundo Krempels (2006) cepas com perfil intermediário são caracterizadas como sensíveis, embora possam ser potencialmente resistentes, visto que do ponto de vista clínico, é necessário uma concentração do antimicrobiano superior à clinicamente usada (CLSI, 2010).

Suscetibilidade antimicrobiana de 100% foi observada frente a seis antimicrobianos: amicacina, ciprofloxacina, cloranfenicol, nitrofurantoína, imipenem e ceftazidima.

Jeyasanta et al. (2012) ao analisarem frutos do mar de Tuticorin, Sudeste da Índia, também relataram cepas de *E. coli* com perfil de suscetibilidade a amicacina, cloranfenicol e a ciprofloxacina,

Segundo Koneman (2001) a *E. coli* é suscetível à maioria dos antimicrobianos, comprovando os resultados obtidos no presente estudo.

Cardonha et al. (2004) ao analisarem a água em três praias de Natal, RN detectaram cepas de *E. coli* sensíveis a ciprofloxacina e imipenem. Da mesma forma Vasconcelos (2005), relatou elevada suscetibilidade a estes antimicrobianos em *E. coli* isolada em duas praias de Fortaleza, CE.

Em relação ao perfil de multirresistência, das 17 cepas analisadas, seis apresentaram índice MAR variando de 16,6 a 33,3, ou seja, resistência entre dois e quatro antimicrobianos testados (Tabela 6). Nas demais cepas foram verificadas monorresistência. Para o índice de resistência aos antimicrobianos (ARI) os valores observados foram de 0,004 a 0,019 (Tabela 6).

Tabela 6. Índice de resistência aos antimicrobianos (ARI), índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) e resistência plasmidial das cepas de *Escherichia coli*.

Cepa	Antimicrobianos	ARI	MAR (%)	Resistência Plasmidial
1	AMP, SUT, VAN	0,014	25	-
2	VAN	0,004	-	-
3	AMP, SUT, TET, VAN	0,019	33,3	SUT
4	VAN	0,004	-	-
5	VAN	0,004	-	-
6	VAN	0,004	-	-
7	VAN	0,004	-	-
8	VAN	0,004	-	-
9	CFL, VAN, TET	0,014	25	CFL
10	VAN	0,004	-	-
11	VAN	0,004	-	-
12	VAN	0,004	-	-
13	VAN	0,004	-	-
14	SUT, TET, AMP, VAN	0,019	33,3	-
15	TET, VAN	0,009	16,6	-
16	VAN	0,004	-	-
17	SUT, AMP, TET, VAN	0,019	33,3	-

ARI: Índice de resistência a antimicrobianos; MAR: Múltipla Resistência Antimicrobiana.
VAN - vancomicina, CFL- cefalotina, TET - tetraciclina, AMP - ampicilina, SUT - sulfametoxazol-trimetropin,

A presença de bactérias multirresistentes gera implicações ecológicas e de saúde pública, principalmente em relação aos determinantes de resistência, que podem ser disseminados entre as diferentes espécies bacterianas, assim como a possibilidade de transferência de genes de resistência para a microbiota do consumidor (MIRANDA; ZEMELMAN, 2001).

Cardonha et al. (2004), avaliando o perfil de resistência de cepas de *E. coli*, relataram resistência a um ou mais antimicrobianos, enquanto Evangelista-Barreto et

al. (2012) relataram cepas de *Escherichia coli* isoladas de pescado na cidade de Cruz das Almas, BA, resistentes até a cinco antimicrobianos. Segundo o autor o perfil de multirresistência nas cepas de *Escherichia coli* demonstra que o ambiente de captura sofre com o lançamento de resíduos de antimicrobianos.

Em relação ao perfil de resistência mediado por genes cromossomais ou plasmidiais, observou-se que apenas duas cepas, uma para o sulfametoxazol-trimetropin e outra para a cefalotina apresentaram resultados que sugerem que a resistência pode ser plasmidial.

De acordo com Alterthum (2008), resistência antimicrobiana mediada por genes cromossômicos apresenta transferência com uma frequência relativamente baixa, sendo o seu impacto clínico menor quando comparado a resistência plasmidial.

Cepas bacterianas com perfil de resistência plasmidial representam um problema de saúde pública devido a facilidade de disseminação entre os microrganismos da mesma espécie ou de espécies diferentes (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005) aumentando assim o número de bactérias multirresistentes em um determinado ambiente (CARNEIRO et al. 2007).

Vieira et al. (2010) ao avaliarem o perfil de multirresistência de cepas de *E. coli* isoladas do açude Santo Anastácio – CE, constataram que 78% das cepas apresentaram resistência cromossômica enquanto 56% apresentaram resistência plasmidial.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, a presença de *Salmonella* foi confirmada apenas nas amostras de sururu in natura, enquanto, *E. coli* foi verificada em ambos os alimentos. Tendo em vista a presença de bactérias patogênicas e de origem fecal, o consumo destes produtos representa um risco à saúde dos consumidores.

Com relação à suscetibilidade antimicrobiana, *Salmonella* apresentou elevada resistência aos antimicrobianos, ao contrário do observado para as cepas de *E. coli*, embora o perfil de multiresistência tenha sido observado em ambas as bactérias.

Diante do exposto a presença de bactérias multirresistentes nos alimentos destinados ao consumo humano é um fator preocupante, uma vez que podem causar infecções de difícil tratamento, como também transferir genes de resistência para outras bactérias, ou para o homem em virtude da ingestão de alimentos contaminados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGERSO, Y.; SANDVANG, D. Classe 1 integrons e tetraciclina genes de resistência em *Alcaligenes*, *Arthrobacter* e *Pseudomonas* spp. isolado a partir de pocilgas e solo adubado. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 71, p. 7941-7947, 2005.

ALAM, M.; NUR, A. H.; AHSAN, S.; PAZHANI, G.P., TAMURA, K.; RAMAMURTHY, T.; GOMES, D.J.; RAHMAN, S.R.; ISLAM, A.; AKHTAR, F.; SHINODA, S.; WATANABE, H.; FARUQUE, S.M.; NAIR, G.B. Phenotypic and molecular characterization of *Escherichia coli* isolated from aquatic environment of Bangladesh. **Microbiology and Immunology** [S.l.], v. 50, n. 5, p. 359 – 370, 2006.

ALI ABADI, F.S.; LEES, P. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimization. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S.l.], v. 14, p. 307-313, 2000.

ALONSO, A.; SÁNCHEZ, P.; MARTÍNEZ, J.L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, [S.l.], v.3, n.1, p.1-9, 2001.

ALTERTHUM, F. Mecanismo de ação dos antibacterianos e mecanismos de resistência. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2008, v. 1, p. 67-84.

ALVES, C.L.; CARVALHO, F. de L. N., GUERRA, C. G.; ARAÚJO, W. M.C. Comercialização de pescado no Distrito Federal: Avaliação das condições. **Higiene Alimentar**, Brasil, v.16, n. 102-103, p. 41-49, 2002.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, [S.l.], v. 45, n. 2, p. 780-788, 2012.

ARAÚJO, J. G.; ALVES, E. M. G.; BECHTLUFFT, M. P. Perfil de DNA Plasmidial em bactérias resistentes a antibióticos isoladas do Ribeirão Paciência – Pará de Minas- MG. **Synthesis**, Pará de Minas, v. 1, n. 1, 282-292, out. 2009.

AVEIRO, M. V. **Análise nutricional, microbiológica e histológica do berbigão *Anomalocardia brasiliensis* da Reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Remapi) Florianópolis/SC**. 2007. 77 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

BARROS, L.M.O.; THEOPHILO, G.N.D.; COSTA, R.G.; RODRIGUES, D.P.; VIEIRA, H.S.F. Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 285-289, 2005.

BELDA JUNIOR, W.; FAGUNDES, L. J.; SIQUEIRA, L. F. G. *Neisseria gonorrhoeae*: resistência cromossômica à tetraciclina em São Paulo, Brasil. In: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2005, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: USP, 2005, p. 37-40.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 05 de abril de 2013.

BRITO, B.G.; VIDOTTO, M.C.; TAGLIARI, K.C.; Clones de *Escherichia coli* causadores de celulite aviária. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, n. 5, p. 137, 2003.

BERSOT, L. S. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. In: V SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM, 2006, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2006, p. 90- 94.

BOUHRIF, B.; PAGLIETTI, B.; MURGIA, M.; PIANA, A.; COHEN, N.; ENNAJI, M.; RUBINO, S.; TIMINOUNI, M. Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco. **Journal of Infection in Developing Countries**, [S.l.], v. 3, n. 28, p. 35 – 40, 2009.

BUSANI, L.; DEL GROSSO, M.; PALADINI, C.; GRAZIANI, C.; PANTOSTI, A.; BIAVASCO, F.; CAPRIOLI, A. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-susceptible and -resistant enterococci isolated in Italy from raw meat products, farm animals, and human infections. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 97, p. 17–22, 2004.

CALIXTO, F. A. A. **Avaliação dos parâmetros bacteriológicos em mexilhão, *Perna perna*, de mitilicultura da Baía de Ilha Grande, RJ, submetidos a irradiação gama**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. 2010.

CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, M.B.M.; CAMPOS, L.C.; GOMPERTZ, O.F.; RÁCZ, M.L. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2005, p. 319-328.

CARDONHA, A.M.; VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; MACRAE, A.; PEIRANO, G.; TEOPHILO, G.N.D. Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in Natal. **International Microbiology**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 213-218, 2004.

CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PEREIRA JUNIOR, D.J.; LEAL, C.A.G.; LOGATO, P.V.R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nylo (*Oreochromis*

niloticus). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Lavras, v. 59, n. 4, p. 869 - 876, 2007.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement**, [S.I.], v. 2, n. 7, p. 1- 24, 2009.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**, [S.I.], n. 9, 2010.

COLLINS, C.H.; LYNE, P.M.; GRANGE, J.M.; FALKINHAM, J.O. **Collins and Lyne's Microbiological Methods**. 8. ed. London: Arnold, 2004, 456 p.

COSTA, R. G.; FESTIVO, M. L.; REIS, E. M.; RODRIGUES, D. P. Características plasmidiais de diferentes sorovares de *salmonella* sp. isoladas no Brasil no ano de 2006. In: III SIMPÓSIO DE RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIMICROBIANOS, 2006, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2006.

DANTAS, R. A. **Avaliação microbiológica e físico-química de vôngole (*Anomalocardia brasiliana*) e siri (Família Portunidae) embalados em diferentes atmosferas e armazenados sob refrigeração e congelamento**. 2010. 218 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

DELGADO da SILVA, M. C.; NORMANDE, A. C. L.; FERREIRA, M. V.; RAMALHO, L. S. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Pescado Comercializado em Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 96, p. 61-64, 2002.

DEPIZZOL, F. **Avaliação da resistência a antibióticos em isolados de *Escherichia coli* provenientes de esgotos hospitalar e sanitário**. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Centro Tecnológico, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006.

EVANGELISTA - BARRETO, N. S.; MOURA, F. C. M.; TEIXEIRA, J. A.; ASSIM, D. A.; MIRANDA, P. C. Avaliação das condições higiênico –sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 3, p. 86-95, 2012.

FAO/OIE/WHO. Antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance. In: **Report of a joint FAO/OIE/WHO expert consultation on antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance**, p. 107, 2006. Disponível em: < ftp://ftp.fao.org/ag/agn/food/aquaculture_rep_13_16june2006.pdf. Acesso em: 24 de fevereiro de 2013.

FAO/OIE/WHO. **Joint FAO/OIE/WHO Workshop on Non- Human Antimicrobial usage and Antimicrobial resistance: scientific assessment**. World Health Organization, Geneva, p. 40, 2003.

FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne disease. **Microbes and Infection**, [S.l.], v. 2, n. 13, p. 1651-1660, 2000.

FERNANDES, J. M.; ROSA, D. M.; ARAUJO, C. C. V.; RIPOLI, L.V.; SANTOS, H. S. Biologia e distribuição temporal de *Callinectes ornatus* Ordway 1863 (Crustacea, Portunidae) em uma praia arenosa da Ilha do Frade, Vitória-ES. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, Espírito Santo, n. 20, p. 59-71, 2006.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005, 424 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

_____ - _____ - São Paulo: Atheneu, 2004.

_____ - _____ - São Paulo: Atheneu, 2005, 182 p.

_____ - _____ - São Paulo: Atheneu, 2006, 182 p.

_____ - _____ - São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9ed. São Paulo: Atheneu, 2002, 307p.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

FUZHARA T.O. **Frequência e características de *Salmonella* em abatedouros de pequeno e médio portes da região do grande ABC**. 2001. 98 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

GALVÃO, J. A. **Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna Perna* (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba, SP**. 2004. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)–Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

GIL, A. G. **Pesquisa de coliformes e *Salmonella* spp. em mariscos processados, congelados e refrigerados**, 2010. Disponível em: <<https://download.ufba.br/download/sisbic/relatorio/1099.pdf>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2013.

HARADA, K., ASAI, T. Role of Antimicrobial Selective Pressure and Secondary Factors on Antimicrobial Resistance Prevalence in *Escherichia coli* from Food-

Producing Animals in Japan. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, 12 p, 2010.

HENRIQUES, M. B.; PEREIRA, O. M.; ZAMARIOLI, L. A.; FAUSTINO, J. S. Contaminação bacteriológica no tecido mole do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) coletado nos bancos naturais do litoral da Baixada Santista. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 33, p. 69- 76, 2000.

HIRSCH, D.; JUNIOR, D. J. P.; LOGATO, P. V. R.; PICCOLI, R. H. FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambiente aquáticos. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p.1211-1217, 2005.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

JESUS, H. C.; AMORIM, N. R.; CASSINI, S. T. A.; JOYEUX, J. C. Avaliação da qualidade da carne de sururu de mangue (*Mytella guyanensis*) da Baía de Vitória-ES através da análise de metais, colimetria e agrotóxicos. **Relatório Técnico**, Espírito Santo, 32p. 2005.

JEYASANTA, K.I.; AIYAMPERUMAL.V.; PATTERSON, J. Prevalence of Antibiotic Resistant *Escherichia coli* in Sea Foods of Tuticorin Coast, Southeastern India. **Advances in Biological Research**, [S.I.], v. 6, n. 2, p. 70-77, 2012.

JONES, J. G., GARDENER, S.; SIMON, B. M.; PICKUP, R. W. Factors affecting the measurement of antibiotic resistance in bacteria isolated from lake water. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 60, n. 5, p. 455-462, 1986.

KONEMAN, E. W.; WASHINGTON C.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M. **Diagnóstico Microbiológico** –Texto e Atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KREMPELS, D. **Culture and sensitivity test**. In: Case of Infection, 2006, 8p. Disponível em: <<http://www.bio.miami.edu/hare/warrenpeace06.pdf>> Acesso em: 05/ 02/ 2013.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic indexing of *Escherichia coli* to identify high risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 46, p. 165-170, 1983.

KUMAR, R.; SURENDRAN, P.K.; THAMPURAN, N. Rapid quantification of *Salmonella* in seafood using real-time PCR assay. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Cairo, v. 20, n. 3, p. 569- 573, 2010.

LEAL, D. A. G.; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle. **Revista Panamericana de Infectologia**, Campinas, v. 10, n. 4, p. 48-57, 2008.

LEVY, S. B. Antibiotic resistance- the problem intensifies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.I.], v. 57, n. 10, p. 1446-1450, 2005.

LENOCH, R. Saúde Pública e Moluscos Marinhos Cultivados. In: **Gerenciamento Costeiro Integrado**. Santa Catarina: UNIVALI, 2004, p. 15 – 17.

LIMA, C.P.S.; SERRANO, N. F. G.; LIMA, A. W. O.; SOUSA, C. P. Presença de Microrganismos Indicadores de Qualidade em Farinha e Goma de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Revista APS**, Juiz de Fora, v.10, n.1, p. 14-19, 2007.

LIPP, E. K.; FARRAH, S.A.; ROSE, J.B. Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogens in a coastal community. **Marine Pollution Bulletin**, [S.l.], v. 42, p. 286-293, 2001.

LIRA, G.M.; MANCINI FILHO, J.; SANT'ANA, L.A.; TORRES, R.P.; OLIVEIRA, A.C.; OMENA, C.M.B.; SILVA NETA, M.L. Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió-Al. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 529-237, 2004.

LOURENÇO, L. F. H. Análises físico-químicas e microbiológicas de carne de caranguejo – uca *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), comercializada nos municípios de São Caetano de Odivelas e Belém, PA. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 142, p. 90 -95, 2006.

LOURENÇO, N. G. G. S.; TAKAHASHI, K.; LOPES, T. F.; LOPES, C. A. M. Environmental parameters and antimicrobial susceptibility of enterobacteriaceae isolated from estuarine waters of São Vicente, São Paulo, Brasil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, [S.l.], v. 13, n. 2, p. 472-478, 2007.

LUNESTAD, B. T.; BORLAUG, K. J. Persistence of *Salmonella enterica* serovar Agona in oil for fish feed production. **Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition**, [S.l.], v. 1, n. 3, p.73-77, 2009.

MALLMANN, E. J. J.; REBOUÇAS, F.D.J.; AMORIM, L.N.; NASCIMENTO, K.M.; CUNHA, F.A.; SOUSA, G.C.; SANTO, R.S.; SOARES, K.P.; LIMA NETO, J.G.; MENDES, L.G.; MENEZES, E.A. Isolamento, identificação e perfil de sensibilidade de cepas de *Salmonella* spp isoladas de ambientes aquáticos urbanos de Fortaleza. In: 47° CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007, Natal. **Anais eletrônicos...** Natal: ABQ, 2007.

MASTERS P.A.; O'BRYAN, T.A.; ZURLO, J.; MILLER, D.Q.; JOSHI, N. Trimethoprim-sulfamethoxazole revisited. **Archives of Internal Medicine**, [S.l.], V. 4, n. 163, p. 402-410, 2003.

MATA, M. M. **Avaliação Microbiológica de Lingüiça Suína Frescal Comercializada em feira-livre na cidade de Pelotas-RS**. 49 f. 2003. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

MEDEIROS, L. M. **Estudo sobre cepas de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium resistentes a antimicrobianos isoladas de diferentes fontes da**

cadeia alimentar no Brasil. 2006. 127f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

MERCK. **Manual Merck de informação médica.** São Paulo: Roca, 2010, 1944p. Disponível em: <http://www.manualmerck.net/>. Acesso em: 02/04/2013.

MILLEZI, A. F. TONIAL, T. M.; ZANELLA, J. P.; MOSCHEN, E. E. S.; AVÍLA, C. A. C.; KAISER, V. L.; HOFFMEISTER, S. Avaliação e Qualidade Microbiológica das Mãos de Manipuladores e do Agente Sanificante na Indústria de Alimentos. **Revista Analytica**, Lavras, v. 6, n. 28, p. 74-79, 2007.

MIRANDA, C.D.; ZEMELMAN, R. Antibiotic resistant bacteria in fish from Concepción Bay, Chile. **Marine Pollution Bulletin**, [S.l.], v. 42, n. 11, p.1096-1102, 2001.

MOLINA-AJA, A.; GARCÍA –GASCA, A.; ABREU – GROBOIS, A.; BOLÁN-MEJÍA, C.; ROQUE, A.; GOMEZ-GIL, B. Plasmid profiling and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 213, n. 1, p. 7-12, 2002.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465 – 470, 2005.

MOUCHREK FILHO, V. E.; VAZ, M. S. O.; MARANHÃO, S. C. Avaliação organoléptica e análise bromatológica, para fins nutricionais, do camarão, caranguejo e sururu (in natura), consumidos na ilha de São Luís – MA. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 14, n. 1, p. 24-34, 2003.

NASCIMENTO P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.17, p.108-113, 2007.

NASCIMENTO, V. A. Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 7, n. 4, p. 1-5, 2011.

NAVARRO J. M.; LABARTA, U.; FERNANDEZ – REIRIZ, M. J.; VELASCO, A. Feeding behavior and differential absorption of biochemical components by the infaunal bivalve *Mulinia edulis* and the epibenthic *Mytilus chilensis* in response to changes in food regimes. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, [S.l.], v. 287, p. 13- 35, 2003.

NIKAIDO, H. Multidrug resistance in bacteria. **Anual Review of Biochemistry**, [S.l.], v. 78, p. 119-146, Jul. 2009.

OLIVEIRA, S. D.; RODENBUSCH, C. R.; CÉ, M.C.; ROCHA, S. L. S.; CANAL, C. W. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. **Letters in Applied Microbiology**, [S.l.], v.36, n. 4, p. 217-221, 2003.

PARRY, C. M. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica*. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [S.l.], v. 16, n. 5, p. 467-472, 2003.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos da cidade de Natal/RN. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n. 2, p. 154-157, 2001.

PALERMO-NETO, J. Resíduos de Medicamentos Veterinários em Carne e Ovos. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005, p. 287-302.

PEREIRA, C. S.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de uréase isolados a partir de ostras (*Crassostrea rizophorae*) coletadas in natura em restaurantes e mexilhões (*Perna perna*) de banco natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 591-595, 2004.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis – Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 159-163, 2006.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Vibrio* spp. isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 387-390, 2007.

PEREIRA, A. F.; SILVA, I. P.; BARBALHO – FERREIRA, L. T.; SILVEIRA, C. S.; EVANGELISTA – BARRETO, N. S. Avaliação da qualidade microbiológica do sururu do mangue, *Mytella guyanensis* na Baía do Iguape, Maragogipe – Ba. In: REUNIÃO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIENCIA, 2010, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: UFRB, 2010, 930 p.

PHAN, T. T.; KHAI, L. T. L.; TAM, N. T.; HAYASHIDANI, H.; AKIBA, M. Antimicrobial susceptibility of serotypes isolated from domestic animals and water sources in Tan Phu Thanh Village. **Japan International Research Center for Agricultural Sciences**, [S.l.], p. 1- 5, 2001

RAHIMI, E. H.; SHAKERIAN, A.; FALAVARJANI, G. A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fish, shrimp, lobster, and crab in Iran. **Comparative Clinical Pathology**, [S.l.], v. 22 n. 1, p. 59-62, 2013.

RALL, V. L. M.; CARDOSO, K.F.G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes termotolerantes em pescados frescos e congelados. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 2, n. 39, p. 95, 2008.

REIS, N. A. **Contaminantes fecais em ostras em criadouro natural na região do Baixo Sul da Bahia**. 68 f. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2012.

RHODES G.; HUYS, G.; SWINGS, J.; MC GANN, P.; HINEY, M.; SMITH, P.; PICKUP, R. W. Distribution of oxytetracycline plasmids between *Aeromonads* in hospital and aquaculture environments: implications of Tn 1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. **Applied Environmental Microbiology**, [S.I.], v. 66, n. 9, p. 3883-3890, 2000.

ROCHA, L. S.; MESQUITA, E. F. M.; FRANCO, R. M. Aspectos bacteriológicos da carne de siri, *Callinectes danae* (SMITH, 1869) (CRUSTACEA: MALACOSTRACA), comercializado pela apescasiriluz, São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23. p. 418-419, 2009.

ROCHA, R. S. **Perfil de susceptibilidade antimicrobiana e preliminar de virulência entre cepas de *vibrio* spp. isoladas da água e sedimento do estuário do rio acaraú, Ceará, Brasil**. 2011. 86f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

SALÁN, E. O. **Tratamento térmico de mexilhões *Perna perna* como forma de assegurar a qualidade – avaliação do crescimento de *Bacillus cereus* e de *Staphylococcus aureus***. 2005. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A. R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potencial human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environment International**, [S.I.], v. 34, p. 1215-1226, 2008.

SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a Antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 3, n. 5, p. 881-888, 2003.

SERRA, C. L. M.; CAVALCANTE, P. R.; COÊLHO, L. M. A.; NASCIMENTO, A. R.; COUTINHO, M. F. O. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em sarnambi (*Anomalocardia brasiliiana*) e sururu (*Mytella falcata*) capturados no estuário do Rio Anil, São Luis, Ma. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 116-117, p. 73-78, 2004.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007, 552 p.

SILVA, E. V. C.; SILVA, G. F.; AMARAL, A. J. L.; SANTANA, M. E. B. Elaboração e caracterização do fiambre de peixe a partir da gurijuba. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, Ponta Grossa**, v. 2, n. 2, p. 15-24, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010, 624 p.

SMITH, H. W. Antibiotic-resistant bacteria in animal: the danger to human health. **The British Veterinary Journal**, [S.I.], v. 130, p. 110-119, 1974.

SOUSA J. C. **Manual de Antibióticos Antibacterianos**. 2. ed. Porto, 2006, p. 47-413.

SOARES, K. P.; MENDES, L. G.; AMORIM, L. N.; NASCIMENTO, K. M.; CUNHA, F. A.; SOUZA, G. C.; SANTOS, G. R.; LIMA NETO, J. G.; MENEZES, E. A. Perfil de sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de alimentos comercializados na cidade de Fortaleza. In: 47º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007, Natal. **Anais...** Natal: ABQ, 2007.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

TAVARES, A. R. P. S. **Resistência antimicrobiana em exsudatos e detecção de β -lactamases em *Proteus***. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Tradução Roberta Marchiori Martins. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 894 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TORRES, R. C. O. *Escherichia coli*. In: VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. 2004. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2004, 125-149p.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005, 718 p.

VASCONCELOS, R. H. **Balneabilidade das praias de Iracema e Náutico (Fortaleza – Ceará) e pesquisa de cepas de *Escherichia coli* patogênicas em suas águas**. 31 f. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

VASCONCELOS, F. R.; REBOUÇAS, R. H.; EVANGELISTA – BARRETO, N. S.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, R. H. S. F. Perfil de Resistência Antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, Fortaleza, v. 77, n. 3, p. 405-410, 2010.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2003, 380 p.

VIEIRA, R. H. S. F. Normas e padrões microbiológicos para o pescado. In: VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Varela, 2004, p 203- 210.

VIEIRA, M. D.; NAUMANN, C. R. C.; ICHIKAWA, T.; CÂNDIDO, L. M. B. Características Microbiológicas de Carne de Siri Beneficiada em Antonina (PR) antes e após a adoção de medidas de Boas Práticas. **Revista Scientia Agrária**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 41-48, 2006.

VIEIRA, R. H. S. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R.; CARVALHO, F. C. T.; FONTELES FILHO, A. A. Contaminação fecal da ostra, *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

VIEIRA, R. H.; CARVALHO, E. M.; CARVALHO, F. C.; SILVA, C. M.; SOUSA, O. V.; RODRIGUES, D. P. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and pond environment in northeastern Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, Philadelphia, v. 45, n.3, p.198-203, 2010.

WAKASA, Y. S. **Contaminação mercurial em siris e caranguejos da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro**. 2003. 97f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

WEGENER, H. C.; MOLLER, N.F. Reducing the use of antimicrobial agents in animals and man. **Journal of Medical Microbiology**, [S.I.], v. 49, p. 111-113, 2000.

WITTE, M.; KELLER, J.; WASSENAAR, T. M.; STEPHAN, R.; HOWALD, D.; REGULA, G.; BISSIG – CHOISAT, B. Diversidade genética e padrões de resistência a antibióticos em uma população de *Campylobacter* isolado do granjas na Suíça. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I.], v. 71, p. 2840 – 2847, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial resistance**. 2010. Disponível em < http://www.who.int/foodborne_disease/resistance/en/index.html > Acesso em: 26 de fevereiro de 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **10 Facts on Antimicrobial resistance**. 2012. Disponível em: http://www.who.int/features/factfiles/antimicrobial_resistance/facts/en/index.html. Acesso em: 15 de março de 2013.

YAN, H.; LI, L.; ALAM, M. J.; SHINODA, S.; MIYOSHI, S.; SHI, L. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in retail foods in northern China. **International Journal of Food Microbiology**, [S.I.], v. 143, n. 3, p. 230–234, 2010.

YINGST, S.L.; SAAD, M.D.; FELT, S.A. Classifying *Escherichia coli*. **Emerging Infectious Diseases**, [S.I.], v. 12, n. 8, p. 1297- 1298, 2006.