

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

**PATÓGENOS DAS FAMÍLIAS VIBRIONACEAE,
AEROMONADACEAE E ENTEROBACTERIACEAE ISOLADOS DE
CAMARÃO (*Penaeus spp.*) DE VIDA LIVRE NO RIO DE JANEIRO E
DE CRIATÓRIOS (*Litopenaeus vannamei*) ORIUNDOS DO RIO
GRANDE DO NORTE.**

Ronaldo Leão Guimarães

Seropédica, RJ

2008



**Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro**

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA**

**PATÓGENOS DAS FAMÍLIAS VIBRIONACEAE,
AEROMONADACEAE E ENTEROBACTERIACEAE ISOLADOS DE
CAMARÃO (*Penaeus* spp.) DE VIDA LIVRE NO RIO DE JANEIRO E
DE CRIATÓRIOS (*Litopenaeus vannamei*) ORIUNDOS DO RIO
GRANDE DO NORTE.**

RONALDO LEÃO GUIMARÃES

Sob a Orientação da Dra.
Norma dos Santos Lázaro

e Co-orientação da Dra.
Dália dos Prazeres Rodrigues

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária, Área de Concentração em Microbiologia Veterinária

Seropédica, RJ
Dezembro de 2008.

FICHA CATALOGRÁFICA

Guimarães, Ronaldo Leão, 1954-

Patógenos das famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae isolados de camarão (*Penaeus* spp) de vida livre e de cativeiro no Rio de Janeiro

Ronaldo Leão Guimarães. – 2008.

03 fig.: 01 graf., 09 tabs.

Orientador: Norma dos Santos Lázaro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Veterinária.

Bibliografia: f. 42-50.

1. *Vibrio* – *Aeromonas* – Enterobacteriaceae – Camarões – Dissertação. 2. Desenvolvimento organizacional – Brasil – Teses. I. Guimarães, Ronaldo Leão. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Microbiologia Veterinária.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA**

RONALDO LEÃO GUIMARÃES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária área de Concentração em Microbiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 01/12/2008 (Data da defesa)

Dra. Christiane Soares Pereira. FIOCRUZ

Dra. Dália dos Prazeres Rodrigues. FIOCRUZ

Dra. Glória Maria Direito. UFRRJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho as Dras: Dália dos Prazeres Rodrigues e Norma dos Santos Lázaro que tem contribuído para o sucesso profissional dos alunos de pós-graduação de várias universidades deste país que necessitaram de sua ajuda.

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Cumpro apresentar minha gratidão a todos àqueles que de modo amigo, contribuíram na execução desta tese.

À Dra Norma dos Santos Lázaro pela orientação, participação, atenção e estímulo em todas as fases desta pesquisa.

À Dra Dália dos Prazeres Rodrigues pela co-orientação, participação, atenção e incentivo em todas as etapas deste trabalho.

À Bióloga Danielle Fadul Vilas Boas pela colaboração nos ensaios bioquímicos.

Ao Dr. Fábio Vieira Araújo pela colaboração em diversas etapas deste trabalho.

Ao técnico de laboratório do Departamento da Bacteriologia da FIOCRUZ, Sr. Evaldo Soares da Silva pelo constante e imprescindível apoio para a realização dos ensaios bioquímicos.

Aos professores do curso de Mestrado em Microbiologia Veterinária da UFRRJ, em especial ao Dr. Francisco Baroni, Dr. Sérgio Gaspar Lemos e Dra. Glória Maria Direito que muito contribuíram para o êxito deste curso.

À Fundação Oswaldo Cruz pelos recursos técnico-científicos ofertados para a execução desta pesquisa.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo pesquisar em camarões de vida livre e criados em cativeiro a presença de microrganismos dos gêneros *Vibrio*, *Aeromonas* e representantes da família Enterobacteriaceae. Para tal, foram coletadas 20 amostras de camarão de vida livre (*Penaeus* sp.) do canal de Itajuru, Cabo Frio, RJ; e outras 20 amostras de camarão de cativeiro do comércio local deste município, no período de Janeiro a Agosto de 2007. Estas amostras foram processadas seguindo metodologia padrão e inoculadas em meios seletivos para a pesquisa dos microrganismos citados. A identificação dos isolados foi realizada através de testes bioquímicos específicos. 88 cepas foram isoladas, das quais, 51,1% pertencente ao gênero *Vibrio*, 28,5% ao gênero *Aeromonas* e 20,4% a *Plesiomonas shigelloides*. Em nenhuma amostra foi detectada a presença de *E. coli* ou *Salmonella* spp. Dentre os Vibrios, houve predominância de *Vibrio alginolyticus* com 45% e *Vibrio parahaemolyticus* com 10,5%. *Aeromonas hydrophila* contribuiu com 30% dos isolados deste gênero e 83,3% dos isolados de *Plesiomonas shigelloides* foram obtidos de camarão de vida livre enquanto 16,7% foram obtidos de camarão de cativeiro. Os resultados apresentam uma grande frequência de cepas potencialmente patogênicas ao homem presentes nestes camarões; ressaltando a importância do monitoramento destes organismos não só para a indústria de carcinicultura como também para a saúde pública.

Palavras-chaves: *Vibrio*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, camarões de vida livre, camarões de cativeiro.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the presence of *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp. and Enterobacteriaceae in marine and farmer shrimp. For this, 20 samples of marine shrimp (*Penaeus* sp.) were collected from Itajuru channel, Cabo Frio, RJ, and other 20 samples of farmer shrimp were acquired in municipal market of Cabo Frio, RJ between January to August 2007. These samples were processed using standard methodology and inoculated in selective media for the research of these microorganisms. The isolates identification was performed by specific biochemical tests. 88 strains were isolated; 51.1% belonging to *Vibrio* sp., 28.5% to *Aeromonas* sp. and 20.4% to *Plesiomonas shigelloides*. It was not detected the presence of *E. coli* or *Salmonella*. Among the *Vibrio* sp., there was a prevalence of *Vibrio alginolyticus* with 45% and *Vibrio parahaemolyticus* with 10.5%. *Aeromonas hydrophila* contributed with 30% of the isolates of this genus and 83.3% of the isolates from *Plesiomonas shigelloides* were obtained from marine shrimp while 16.7% were obtained from farmer shrimp. The results show a high frequency of potentially pathogenic strains in these shrimps, emphasizing the importance of monitoring these organisms not only to shrimp industry but also to public health.

Key-words: *Vibrio*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, marine shrimp, farmer shrimp.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 – O Canal de Itajuru liga a Lagoa de Araruama ao Oceano Atlântico, renovando suas águas, sendo responsável pela piscosidade da Lagoa.....	PÁG. 23
FIGURA 2 – Camarões capturados no Canal de Itajuru	PÁG. 24
FIGURA 3 – Seleção das amostras de camarão capturadas no Canal de Itajuru	PÁG. 24
FIGURA 4 – Frequência dos gêneros / espécies bacterianas isolados de camarões de vida livre em relação a sazonalidade	PÁG. 33

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 – Projeções e Metas da Carcinicultura Brasileira	PÁG. 10
TABELA 2 – Frequência de isolados de <i>Vibrio</i> spp, <i>Aeromonas</i> spp, e <i>P. shigelloides</i> em camarões de vida livre e de cativeiro.....	PÁG. 27
TABELA 3 – Percentual de <i>Vibrio</i> potencialmente patogênicos para o homem, isolados do camarão de vida livre e de cativeiro	PÁG. 28
TABELA 4 – Distribuição das espécies de <i>Vibrio</i> isoladas de camarão, potencialmente patogênicas para o homem	PÁG. 28
TABELA 5 – Distribuição das espécies de <i>Vibrio</i> potencialmente patogênicas para o camarão.....	PÁG. 29
TABELA 6 – Distribuição das espécies de <i>Aeromonas</i> isoladas de camarão potencialmente patogênicas para o homem	PÁG. 29
TABELA 7 – Distribuição das Espécies de <i>Aeromonas</i> Potencialmente Patogênicas para o Camarão.....	PÁG. 30
TABELA 8 – Frequência de isolados de <i>Plesiomonas shigelloides</i>	PÁG. 30
TABELA 9 – Frequência e distribuição dos gêneros / espécies bacterianas isolados de camarões de vida livre e de cativeiro em relação à sazonalidade.....	PÁG. 30

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	01
1.1 – Justificativa	02
1.2 – Objetivos	03
2 – REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 – Panorama da carcinicultura no Mundo	04
2.2 – Panorama da carcinicultura no Brasil	05
2.3 – Família Vibrionaceae	13
2.4 – Família Aeromonadaceae	17
2.5 – Família Enterobacteriaceae	19
2.5.1 – <i>Salmonella</i>	20
2.5.2 – <i>Escherichia coli</i>	20
3 – MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 – Local de Estudo	23
3.2 – Amostragem	23
3.3 – Procedimentos Laboratoriais	24
3.3.1 – Isolamento e identificação de patógenos das famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae	24
3.3.2 – Caracterização bioquímica presuntiva	25
3.3.3 – Caracterização bioquímica complementar	25
4 – RESULTADOS	27
5 – DISCUSSÃO	34
6 – CONCLUSÕES	40
9 – RECOMENDAÇÃO	41
10 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	51

1 INTRODUÇÃO

A carcinicultura engloba o cultivo de crustáceos (camarões, siris, lagostas e caranguejos), destacando-se em nosso país, o cultivo de camarão marinho cuja atividade se encontra em franca expansão, devido à existência de um mercado garantido e que, por isso, proporciona boa lucratividade para o carcinicultor. (ABCC, 2001).

A produção mundial de camarão em criatórios, embora apresente valores inferiores aos do setor de pesca extrativista, vem, ao longo dos anos, apresentando taxas de produtividade cada vez maiores. (ABCC, 2004).

Esse crescimento tornou-se evidente, a partir da década de 80, sendo que no ano de 1989 a produção de camarão de criatórios representou 24,1% da produção mundial. Na década de 90, essa atividade se manteve estável sendo responsável por 29% da produção total de camarão. (ABCC, 2004).

Entre os camarões cultivados em fazendas, as espécies *Farfantepenaeus chinensis*, *Penaeus monodon* e *Litopenaeus vannamei* são as mais adequadas para esta atividade, sendo que juntas são responsáveis por 80% da produção mundial de camarão oriundo de criatórios. (BARBIERI & OSTRENSKY, 2002).

O *L. vannamei*, vulgarmente conhecido como camarão-branco do Pacífico, é uma espécie rústica, de fácil cultivo, com boa capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais e muito bem aceita pelos consumidores, devido a sua carne apresentar sabor agradável, ser firme e de coloração adequada.

A introdução do camarão-branco do Pacífico no Brasil foi o fator responsável pela intensificação dos criatórios de camarão marinhos durante a década de 90. Além disso, essa introdução associada aos avanços tecnológicos que se seguiram, revolucionou a própria atividade no país, possibilitando auferir ganhos de mais de 600% em relação ao que era alcançado com a utilização de espécies nativas. (BARBIERI & OSTRENSKY, 2003).

Ainda assim, a produção de camarão ainda não é suficiente para atender a demanda interna e externa do mercado consumidor, fazendo com que o camarão, que já é considerado um produto nobre, tenha mercado garantido e obtenha preços atraentes para os carcinicultores, contribuindo, significativamente, para a contínua expansão da carcinicultura no Brasil.

A criação de camarões de cativeiro em nosso país não é uma atividade exclusivamente para grandes empreendedores, podendo ser desenvolvida também por pequenos e médios carcinicultores, que se reúnem em cooperativas ou sistema de condomínio para viabilizar o negócio.

A investigação microbiológica do pescado pode contribuir para definir o risco de exposição a patógenos potenciais e para focar a importância relativa de diferentes produtos como veiculadores destes.

A presença de bactérias pertencentes às famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae no camarão é de suma importância para a carcinicultura, pela possibilidade em causar sérias doenças nos hospedeiros e provocar perdas econômicas para a indústria do camarão. Destaca-se a relevância para a saúde pública, uma vez que estes microrganismos podem determinar patogenicidade associada a quadros gastrointestinais após o consumo de crustáceos submetidos a processos inadequados de cocção.

Entre as espécies de importância em saúde pública, isoladas a partir de camarões de vida livre e cativeiro, destacam-se o *Vibrio parahaemolyticus* e *Aeromonas hydrophila*, além do *Vibrio alginolyticus*, espécies relevantes por ocasionar infecções em ferimentos pré-existent, especialmente entre indivíduos imunocomprometidos.

Embora a pesquisa de *Aeromonas* sp. em alimento não seja preconizada pela legislação brasileira, é considerado um patógeno emergente, que vem sendo, cada vez mais, relacionado a doenças transmitidas pelo pescado.

1.1 Justificativa

Os aspectos acima relacionados, aliados ao discreto respaldo da literatura nacional sobre o tema, justificam do ponto de vista de saúde pública, estudos que avaliem a qualidade sanitária do camarão de vida livre e de cativeiro, considerando a magnitude de seu consumo e ponderando-se o risco de transmissão de espécies pertencentes às famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae, potencialmente patogênicas para o homem e camarões de vida livre capturados no Canal de Itajuru situado no município de Cabo Frio no Estado do Rio de Janeiro e camarões de cativeiro oriundos do Rio Grande do Norte, adquiridos no comércio local.

1.2 Objetivos

A) Geral:

Isolar, caracterizar e verificar a frequência de cepas potencialmente patogênicas das Famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae presentes no camarão de vida livre (*Penaeus* sp.) no Rio de Janeiro e de criatórios (*Litopenaeus vannamei*) oriundos do Rio Grande do Norte.

B) Específicos:

Pesquisar a ocorrência de *Vibrio* spp, *Aeromonas* spp e *Plesiomonas shigelloides* no camarão de vida livre e de cativeiro.

Verificar a correlação destes patógenos em relação ao grau de poluição do canal de Itajuru no município de Cabo Frio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama da Carcinicultura no Mundo

O camarão é na atualidade um produto com mercado mundial solidamente estabelecido e em expansão, situação que o coloca como um produto gerador de divisas por excelência.

O mercado global do camarão de cativeiro mostra uma crescente demanda nos principais centros importadores: EUA, Europa e Japão. Em 2003 as importações norte-americanas de camarão atingiram a marca de 504.495 toneladas, apresentando um crescimento de 17,51% em relação a 2002, e o consumo *per capita* nacional, a 4,3 libras, o que posicionou o camarão como o produto do setor pesqueiro de maior consumo, consolidando a sua supremacia sobre o atum que há 50 anos liderava o consumo desse setor. O mercado europeu, com destaque para a Espanha, França, Reino Unido, Itália etc, realizou importações da ordem de 569.128 toneladas em 2003. O Japão manteve-se como o maior mercado importador de camarão congelado em toda a Ásia, com 233.251 toneladas em 2003. (ABCC, 2001).

O dinâmico crescimento da atividade comercial vem sendo acompanhado de crescentes preocupações sobre sua sustentabilidade ambiental como atividade econômica que usa recursos naturais com fins produtivos.

Entretanto, o cultivo do camarão, implementado com práticas e procedimentos tecnológicos apropriados, pode conviver harmonicamente com os ecossistemas costeiros que o cercam.

Pelas próprias exigências do mercado internacional, os países exportadores estão conduzindo o cultivo do camarão com o enfoque de convivência com o meio ambiente, dentro de uma ação combinada entre o governo, com regulamentação ambiental do cultivo, e o setor privado, com o uso de tecnologia adequada e implementação de códigos de conduta e de práticas ambientalmente responsáveis e de medidas de biossegurança e gestão de qualidade. (ABCC, 2002).

O camarão marinho de cativeiro tem a sua cadeia direta de produção organizada em três segmentos: o laboratório de maturação e larvicultura; os viveiros de crescimento e engorda; e o centro de processamento e congelamento para o mercado consumidor.

O crescimento mundial do cultivo do camarão marinho em termos comerciais torna-se evidente a partir dos anos 80, e continua tendo por sustentáculo a crescente demanda do produto em escala mundial aliada a boa rentabilidade do agronegócio e a sua capacidade de gerar renda, emprego e divisas. (ABCC, 2002).

No ano de 2003, a produção mundial do camarão em mais de 50 países emergentes alcançou cerca de 1.630.000 toneladas, ou seja, 35,2% do total de camarão produzido em todo o mundo, cujo volume anual envolvendo captura e cultivo foi de cerca de 4.630.000 toneladas, indicando que o camarão capturado dos mares continua sendo o principal responsável pela oferta mundial do produto (64,8%). (ABCC, 2004).

O hemisfério oriental contribuiu com a maior produção mundial do camarão cultivado, com cerca de 1.359.000 toneladas em 2003, correspondentes a 83,37% do total produzido no mundo, sendo o principal centro produtor o sudoeste da Ásia tendo a China como principal produtor. (ABCC, 2004).

Em relação ao hemisfério ocidental, a produção de 2003 alcançou a 271.000 toneladas, 16,63% do total mundial tendo como principal produtor o Brasil com 90.190 toneladas. (ABCC, 2004).

2.2 Panorama da Carcinicultura no Brasil

Dos 8.000 Km da faixa costeira do Brasil, pouco menos da metade – do sul da Bahia ao norte do Maranhão – está inserida dentro das coordenadas longitudinais que dão lugar a ecossistemas e condições climáticas ideais para o desenvolvimento do camarão de cativeiro, o que confere ao país extraordinário potencial para o seu cultivo. (ABCC, 2004).

Estima-se que somente no Nordeste, onde as condições naturais de clima e solo conferem vantagens comparativas altamente favoráveis à Região em termos mundiais, existem 300.000 hectares de áreas propícias para o cultivo do camarão marinho.

Esse potencial se vê ampliado quando estados como Santa Catarina e Espírito Santo, nas Regiões Sul e Sudeste, respectivamente, e Pará, na Região Norte, demonstram a viabilidade técnica e econômica da carcinicultura comercial em suas áreas litorâneas. (ABCC, 2004).

As condições de solo, clima, hidrobiológicas e topográficas das áreas rurais costeiras do Nordeste que recebem influência das marés, se situam num patamar de tal maneira que

propícia à produção do camarão de cativeiro, sendo perfeitamente viável utilizar os 365 dias do ano para o seu cultivo, permitindo realizar três ciclos anuais de produção. (ABCC, 2004).

Esse indicador põe em evidência as vantagens comparativas da região, ao ser comparado com os 180 a 240 dias que caracterizam o indicador dos países asiáticos, tradicionais produtores de camarão marinho, em cujo caso apenas um ou no máximo dois ciclos anuais de produção podem ser obtidos. (ABCC, 2004).

O trabalho que vem sendo realizado no Brasil pelo setor privado na área tecnológica / comercial tem como marco de referência transformar as vantagens competitivas duráveis para a colocação do produto brasileiro no mercado mundial. (ABCC, 2004).

Os principais fatos relacionados com a introdução e evolução do cultivo do camarão no Brasil podem ser sintetizados deste modo:

Na metade da década de 70 o governo do Estado do Rio Grande do Norte realizou os primeiros experimentos para viabilizar o cultivo do camarão utilizando espécies nativas *Farfantepenaeus subtilis*, *F. brasiliensis* e *Litopenaeus schmitti* e a partir de 1980, com a introdução, adaptação e disseminação da espécie *Marsupenaeus japonicus*, de origem asiática, foi dado início ao primeiro ciclo de desenvolvimento de uma nova atividade no Nordeste, a qual despontava como alternativa à extração do sal, que confrontava série crise de preço e mercado com o conseqüente desemprego generalizado nas áreas salineiras (FIGUEIREDO, 2006).

Com os resultados favoráveis obtidos com essa nova espécie, a partir de 1982 foram instaladas as primeiras fazendas de cultivo comercial de camarão no Nordeste com apoio financeiro dos programas Fiset/PESCA/BANCO DO BRASIL e BID-PROPESCA/BNCCC, tendo sido viabilizado cerca de 10 grandes empreendimentos.

Em 1985 estava descartada a viabilidade de se desenvolver uma carcinicultura comercial com a referida espécie, que não se adaptou a normalização das estações chuvosas a partir de 1984, principalmente por falta de um plano muito mais abrangente de pesquisa.

Não obstante o insucesso, esta primeira fase deixou uma sólida experiência que serviu de estímulo para continuar os trabalhos de viabilização com as espécies nativas (*F. subtilis*, *F. paulensis* e *L. schmitti*) (NUNES, 2002)

Duraram 10 anos os esforços de domesticação das nossas espécies, cujo desempenho técnico / financeiro mostrou-se apenas suficiente para cobrir os custos diretos de produção das fazendas com melhor manejo, levando algumas grandes unidades produtivas à desativação.

Ao descontinuar a domesticação das espécies nacionais, técnicos e produtores tomaram a decisão de adotar a espécie exótica, o *Litopenaeus vannamei*, originária do Oceano Pacífico, na altura de Sonora no México até Thumbes, norte do Peru. É a espécie comercial mais explorada no sul do México, Guatemala e El Salvador e a espécie mais cultivada do Hemisfério Ocidental. Além de boa aceitação no mercado, a espécie possui grande capacidade de adaptação às variadas condições de cultivo, apresentando altos rendimentos em elevadas densidades, em águas hiper ou oligohalinas. (BARBIERI & OSTRENSKY, 2003).

Além disso, suporta ambientes com elevada amplitude térmica entre 9 e 34°C. Em verdade, o *L. vannamei* foi introduzido para fins de cultivo comercial no Brasil em 1983, Maricultura da Bahia, onde se manteve confinada por mais de uma década (ABCC). Somente a partir do início dos anos 90, quando alguns laboratórios de larvicultura privados viabilizaram a disponibilidade de pós-larvas dessa espécie é que as validações tecnológicas realizadas pelas fazendas de camarão nos Estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Paraíba demonstraram a *melhor adaptação do L. vannamei* em relação às espécies nativas. (BARBIERI & OSTRENSKY, 2003)

É válido afirmar que a partir de 1995/1996 ficou comprovada a viabilidade comercial da produção do camarão marinho no Brasil (ABCC, 2004).

O cultivo de camarão de cativeiro no Brasil cresceu não só em relação à área de cultivo que teve um incremento total de 317,81% no período de sete anos como também a da produtividade que obteve a marca de 499,41% indicando o intenso processo tecnológico a que a atividade vem sendo submetida. (ABCC, 2004)

Como resultado, o crescimento da produção é extraordinário ao passar de 3.600 toneladas, em 1977, para 90.190 toneladas, em 2003. A produtividade nacional de 6.084 Kg/ha/ano registrada nesse último ano é digna de menção já que coloca o Brasil como líder mundial em relação ao indicador que mostra eficiência tecnológica na produção. (ABCC, 2004).

A produção mundial de camarão cultivado e capturado em 2004 foi da ordem de 5.328 milhões de toneladas, das quais 33,87% vieram das fazendas de camarão (FAO, 2006). A produção mundial de camarão de cativeiro foi de 2,36 milhões de toneladas em 2005, comparada a uma produção de 2,07 milhões de toneladas em 2004.

Por outro lado, a produção de camarão de captura evoluiu de 3,1 milhões de toneladas em 2000 para 3,6 milhões em 2006, um crescimento médio de 3,83% a.a. Todavia, entre 2003 e 2004, o crescimento foi de 2,0% a.a., o que indica uma tendência à saturação enquanto o

crescimento da produção de camarão de cativeiro foi, no período de 2000 a 2005, de 14,66% a.a. Assim, a produção por captura ainda representa a maior parcela (63,56% do volume bruto em 2004), mas se espera que a produção por cultivo supere a produção por captura, representando uma alternativa viável ao aumento da procura no mercado nacional e internacional (BARBIERI & OSTRENSKY, 2003).

A distribuição geográfica da área cultivada e do volume de produção por regiões brasileiras, em 2003, mostra a absoluta predominância da Região Nordeste com 95,2% da produção nacional, confirmando assim a vocação de sua faixa costeira para o cultivo do camarão. (ABCC, 2004).

Em relação ao nível de produtividade das fazendas por Estados da Federação, temos o Rio Grande do Norte ocupando a primeira posição, seguido pelo Ceará, Bahia, Pernambuco, Paraíba e Piauí. O estado de Alagoas (8.667 Kg/ha/ano) com apenas dois produtores e área de 15 há, detém a maior produtividade, seguida pelo Paraná (7.959 Kg/ha/ano), com um produtor com área de 49 hectares, e pelo Ceará (7.676 Kg/ha/ano) com 185 fazendas e área de 3.376 ha. (ABCC, 2004).

Os Estados da Região Sul, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, se destacam por demonstrarem a viabilidade do cultivo de camarão em condições climáticas adversas, o que significa o potencial brasileiro para a produção de camarão marinho de cativeiro (ABCC, 2004).

Em relação ao tamanho das fazendas, a estrutura do setor mostra acentuada predominância do pequeno produtor com menos de 10 hectares ao participar com 74,92% do número total, e em área de viveiros, com 18,84%. Somados pequenos e médios, a participação sobe para 94,48% em número de produtores. No outro extremo aparecem os grandes produtores com mais de 50 hectares que em quantidade, correspondem a 50,52%, mas que detêm 53,28% da área total em produção. A participação do pequeno produtor na proporção indicada desmitifica a idéia de que o camarão de cativeiro é um agronegócio exclusivo do grande empresário (ABCC, 2004).

Importantes aspectos sociais do cultivo do camarão estão sendo revelados à medida que o agronegócio cresce e se consolida. Além da importante participação do pequeno produtor, a geração de emprego é outro aspecto que concede destaque ao cultivo do camarão no Nordeste sob o prisma social, já que o coloca como um dos mais importantes segmentos do setor agropecuário na geração de emprego constituindo-se num importante aliado para os planos de desenvolvimento humano. Com efeito, conforme estudo do Departamento de

Economia da Universidade Federal de Pernambuco (SAMPAIO & COSTA, 2003), a atividade está gerando 3,75 empregos diretos e indiretos por hectare de viveiro em produção.

Este número revela que a cadeia produtiva do cultivo de camarão (laboratório de larvicultura, fazenda de engorda e centro de processamento), gera mais empregos do que as atividades agrícolas tradicionais do Nordeste, a exemplo da cana-de-açúcar e do coco e, o que é importante destacar, mais do que as atividades do setor dinâmico da fruticultura irrigada como a manga e a uva. (SAMPAIO & COSTA, 2003)

O fato de 88% dos empregos gerados pelo camarão de cativeiro ser ocupado por trabalhadores de baixo nível de escolaridade e sem qualificação profissional, segundo o estudo citado, mostra que a carcinicultura marinha está tendo considerável impacto social nas comunidades rurais de sua área de influência. (SAMPAIO & COSTA, 2003)

O emprego gerado pelo camarão de cativeiro beneficia diretamente os trabalhadores egressos das atividades tradicionais do litoral nordestino (pesca artesanal, extração do sal, extração da cera de carnaúba, produção de coco e da própria cana-de-açúcar), todas apresentando declínio econômico. (SAMPAIO & COSTA, 2003)

Adicionalmente, merece destaque o fato de que 14% dos empregos gerados pelo setor são ocupados por mão de obra feminina nas indústrias de beneficiamento.

A experiência brasileira tem demonstrado que é perfeitamente possível produzir camarão em harmonia com o meio ambiente como é o caso de algumas fazendas com mais de 20 anos de produção continuada no Ceará (Artemisa, Seafarm e Cina); Rio Grande do Norte (Marine, Camanor e Formosa); Bahia (Pescom, Maricultura da Bahia e Valença da Bahia) e Piauí (Secom, Aquinor e Conmar), com sucessivos incrementos de produtividade. Entretanto, a criação de camarões em áreas próximas de manguezais se constitui um elevado risco ao ecossistema, pois transformam a paisagem, avançam sobre os manguezais, captam água limpa dos estuários e devolvem água contendo matéria orgânica e elementos químicos nocivos as espécies nativas, em especial com relação à transmissão de doenças, modificando a base da cadeia alimentar e o equilíbrio do ecossistema (CUNHA, 2005).

Os impactos ambientais desta atividade nos ecossistemas costeiros têm sido alvo de vários estudos. Meireles (2006) identificou diversos impactos da criação de camarão para regiões litorâneas, sendo os de maior relevância:

1. Desmatamento do manguezal, da mata ciliar e do carnaubal;
2. Bloqueio do fluxo das marés;
3. Soterramento dos canais de maré;

4. Contaminação da água por efluentes dos viveiros e das fazendas de larva e pós-larva;
5. Redução e extinção de habitats de numerosas espécies;
6. Extinção de áreas de mariscagem, pesca e captura de caranguejos.

A sustentabilidade ambiental do camarão de cativeiro, tal como está demonstrada em algumas fazendas no Brasil, é uma questão de tecnologia, de adoção de códigos de ética (adotado em maio de 2001 pela Associação Brasileira de Criadores de Camarão), de medidas de biossegurança e de gestão de qualidade por parte do setor produtivo, e de regulamentação ambiental e fiscalização por parte das autoridades governamentais (ABCC, 2004).

Assumindo um ritmo de crescimento da carcinicultura brasileira nos próximos anos, de tipo moderado, as projeções da tabela 1 indicam as metas que poderiam ser alcançadas até 2010.

Tabela 1. Projeções e Metas da Carcinicultura Brasileira

Ano	Viveiros (hectare)		Produtividade		Exportação
	Incorporado	Acumulado	Kilogramas/hectare	toneladas	US\$ (mil)
2003*	-----	14.824	6.084	90.190	225.943
2004	3.176	18.000	6.500	117.000	300.000
2005	3.000	21.000	6.800	142.000	370.000
2006	4.000	25.000	7.000	175.000	462.000
2007	5.000	30.000	7.200	216.000	616.000
2008	4.000	34.000	7.300	248.000	736.000
2009	3.000	37.000	7.400	273.000	864.000
2010	3.000	40.000	7.500	300.000	1.000.000

* = ano zero da projeção

Fonte: Censo 2003 e Projeções ABCC

O nível de produtividade do camarão de cativeiro do Nordeste, de 6.084 Kg por hectare, significativamente superior a dos demais países produtores, permite a Região gerar incrementos sucessivos e apreciáveis de produção e de emprego, renda e divisas, utilizando quantidade relativamente pequena de recursos naturais, em comparação com os principais países produtores. (ABCC, 2004).

Nesse contexto de produção sustentável, que reforça o potencial do Nordeste, é que deve ser visto o cultivo em cativeiro do camarão marinho e analisada qualquer questão relativa ao seu desenvolvimento. (ABCC, 2004).

Por suas características, a atividade requer a realização de um constante esforço institucional, técnico e financeiro para evitar que, no Nordeste, se repita mais uma frustração de iniciativas de caráter econômico com potencial para superar os níveis de pobreza da região

A criação de camarão em cativeiro exerce relevante papel sócio-econômico, e de cidadania por gerar empregos em diversos setores: reduzir os índices de miséria, incentivar a dieta com alimentos protéicos além de minorar a exploração cada vez maior dos recursos naturais costeiros. (ABCC, 2005).

Em relação à pesca do camarão marinho na Região de Cabo Frio no município do Rio de Janeiro destaca-se o Canal de Itajuru, com 6 Km navegáveis, que liga a Lagoa de Araruama, que está localizada entre as latitudes 22°49' – 22°57' S e entre as longitudes 42°25' W, ao Oceano Atlântico. Este canal é responsável pela renovação da água, pela piscosidade da Lagoa, além de ser um criadouro do camarão-rosa (*Penaeus spp*) que é o maior camarão marinho, pesando cerca de 150 gramas e com desova no mar em profundidades em torno de 40 metros. Após a eclosão dos ovos, as larvas migram para as águas costeiras e, quando atingem a fase *pós-larva*, penetram na lagoa de Araruama pelo Canal de Itajuru. (Consórcio Intermunicipal Lagos São João, 2007).

O Canal de Itajuru possui ancoradouro público, mercado de peixes, associações de iatismo e lazer e cais de traineiras. Em seu interior situa-se a Ilha do Japonês, além de algumas praias como a de São Bento. Apresenta águas turvas e calmas, com temperatura entre 20°C e 24°C, tornando o canal, uma área ideal para a prática de iatismo, wind-surf, esqui-aquático, passeios turísticos e a captura do camarão-rosa pela população nativa que o comercializa na Região dos Lagos, sem análise prévia da fiscalização sanitária. (GUIMARÃES *et al.* 2007)

As principais fontes de poluição do Canal de Itajuru estão ligadas à alta taxa de urbanização da região, e à falta de infra-estrutura sanitária, ressaltando-se a presença de vários aterros e lançamento direto ou indireto dos esgotos domésticos contendo nitratos e fosfatos que propiciam a floração do fitoplâncton no corpo d'água lagunar. (RIGUETTI *et al.*, 2007).

Consoante Watkins e Cabelli (1985), Bocanera *et al.* (1981), Vollenweider *et al.*, (1992) e Alam *et al.*, (2001), as maiores concentrações de nutrientes em águas poluídas por

efluentes domésticos resultam em uma bioestimulação de fitoplâncton que, de forma indireta, aumentam a população zooplânctônica.

Contudo, existem facetas importantes a serem consideradas, entre as quais estão os microrganismos que ocorrem naturalmente no ambiente aquático possuindo características oportunistas, ou sendo reconhecidamente patogênicos. Seu monitoramento representa um ponto extremamente relevante, visto que pode determinar prejuízo vultoso para o produtor ou ainda representar risco para os manipuladores ou consumidores.

As bactérias desempenham um importante papel na decomposição da matéria orgânica morta (fito e zooplâncton, bentos, sobras de ração e até camarões) presente nos criatórios. Portanto, elas são necessárias ao normal funcionamento dos ciclos biogeoquímicos dos criatórios de camarão.

Ocorre que, quando a concentração de matéria orgânica aumenta em demasia, ou quando os camarões são estocados em densidades muito elevadas, a concentração destes microrganismos também aumenta, a ponto de desencadear infecções fulminantes, que, dependendo da fase do cultivo, podem resultar em mortalidades de até 100% em menos de 48 horas. (ALDAY-SANZ, 1994)

Doenças bacterianas raramente se desencadeiam somente pela simples presença de bactérias patogênicas no meio aquático. Normalmente, essas bactérias são encontradas em viveiros de cultivo, sem que isso represente maiores problemas para os carcinicultores. Em termos gerais, admite-se que o manejo técnico adequado do ambiente de cultivo do camarão, evitando o seu estresse, constitui excelente medida para evitar ou minimizar as enfermidades. (AGUIRRE-GUZMAN *et al.*, 2004).

Os camarões infectados por *Vibrios* exibem sinais característicos quando estão em fase terminal. Estes sinais abrangem: (NUNES *et al.*, 2005)

- a. Fraqueza excessiva (camarões deitam no fundo do viveiro).
- b. Nado desorientado;
- c. Opacidade da musculatura abdominal;
- d. Aumento na pigmentação;
- e. Grampo na cauda;
- f. Lesões escuras ou amarronzadas na cutícula.

2.3. Família Vibrionaceae

O ambiente marinho tem seu equilíbrio estabelecido face a biota existente, onde espécies microscópicas de natureza autóctone perpetuam e mantêm a purificação do ecossistema. Entre os constituintes ubiqüitários, destaca-se o gênero *Vibrio* que além de residir habitualmente no ambiente marinho e estuarino, são encontrados em alguns nichos dulcícolas, dos quais são carregados através de correntes para o meio salino (GUIMARÃES *et al.*, 2007)

Sua presença nestes habitats está associada a diversos fatores, alguns intrínsecos, como a capacidade de digestão da quitina e celulose, que permite a colonização de diversos microambientes, como: o sedimento; o zooplâncton; os poríferos; os cnidários; os moluscos; os crustáceos; os equinodermas e as plantas aquáticas.

São reconhecidas mais de 175 espécies e, possivelmente, um número maior de subespécies. Doze espécies são reconhecidas como patógenos humanos (*Vibrio cholerae* O1, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cincinnatiensis*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. damsela*, *V. metschnikovii*, *V. furnissii* e *V. hollisae*) causando infecções intestinais ou ainda extra-intestinal e outras quatorze espécies estão envolvidas em processos de agressão a diferentes espécies marinhas (KEUSCH *et al.*, 2002).

Este gênero bacteriano vem sendo alvo de estudo desde o século passado face ao reconhecimento de que uma espécie, *V. cholerae* O1 representou desde a antiguidade um risco ao homem com elevados índices de mortalidade. Na atualidade esta condição pode ser relativamente elevada, no subcontinente indiano e africano. (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

O ciclo biológico dos vibriões pode ser mantido pela interação com determinados hospedeiros causais, visto que é mencionado seu isolamento a partir de diversas espécies animais oriundas deste ecossistema como, peixes (HOFER & SILVA, 1986, KIIYURIA *et al.*, 1992), caranguejos (THOMPSON & VANDERZANT, 1976), lagosta (MOLENDÁ *et al.*, 1974), mexilhão (ZEBRAL, 1985) e ostras (GOOCH *et al.* 2002), nas quais a presença de bactérias do gênero *Vibrio* está relacionada com a fisiologia e nutrição do animal, realizadas pela filtração da água.

Em crustáceos, historicamente a “vibriose” passou a ser reconhecida como um problema relevante em carcinicultura, quando de sua ocorrência na indústria mexicana, determinou grandes perdas para a indústria de camarão, tendo sido designada de “Síndrome das Gaiotas”. Tal fato representou um alerta no qual houve o reconhecimento de que se faz

necessário o controle em todas as etapas da produção para prevenir o elevado índice de mortalidade em cativeiro (CUNHA, 2005).

As doenças causadas por *Vibrio* são classificadas como infecções secundárias e oportunistas, atacando todos os estágios de vida do camarão (larval, pós-larval, juvenil e adulto). Entre as principais espécies do gênero que causam maiores prejuízos para a carcinicultura estão o *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio alginolyticus* seguidas por *V. damsela*, *V. fluviales*, *V. carchariae* e *V. splendidus*.

Surtos de vibrioses são normalmente causados por um desequilíbrio na população destas bactérias quando condições de estresse surgem no sistema de cultivo, tais como: queda na taxa de oxigênio dissolvido, superpovoamento, manuseio inapropriado do estoque, lesões na cutícula dos camarões, subalimentação e altas concentrações de compostos nitrogenados no ambiente de cultivo (LEÃO, 2005; PEREIRA *et al.*, 2007)

O impacto desta doença é variável, mas em alguns casos pode alcançar até 70% da população cultivada. Clinicamente, pode se apresentar com manifestação cuticular, entérica ou sistêmica. Quando localizada, apresenta lesões melanizadas na carapaça e abscessos no hepatopâncreas (autores).

O reconhecimento das várias espécies do gênero *Vibrio*, de ampla distribuição, é de relevante importância visto que, como habitantes naturais do meio aquático, podem se tornar em fatores de risco para o homem (HOFER, 1987; MAGALHÃES *et al.*, 1992).

Apesar de menos virulentos para camarões marinhos, *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio vulnificus* já foram correlacionados com inúmeros surtos de gastroenterite no homem, demonstrando importância como agentes de Doenças Transmitidas por Alimentos (BARBIERI & OSTRENSKY, 2002).

Além do *V. parahaemolyticus*, definido atualmente, como de grande interesse em Saúde Pública, nas últimas duas décadas, observou-se uma série de acontecimentos com a participação de outros membros do gênero *Vibrio*, especificados como *V. cholerae* não O1, *V. fluvialis*, *V. vulnificus* e outras espécies afins (WHO, 1980; LEE *et al.*, 1981; HOFER, 1987; MAGALHÃES *et al.*, 1992), provocando, com certa frequência, diferentes quadros patológicos na espécie humana. (HUGUES *et al.*, 1978; BLAKE *et al.*, 1980; HOFER, 1987; JANDA *et al.*, 1988; WEST, 1989; MAGALHÃES *et al.* 1992; WHO, 1993; KEUSCH, 2002).

Para o homem, a importância dada ao gênero *Vibrio*, é relatada desde o final do século passado, quando, somente uma infecção grave, a cólera, era mencionada, centralizando uma endemicidade no continente asiático.

Mais tarde foi descrita a ocorrência de uma infecção indiferenciável de forma clássica de cólera, oriunda do Extremo Oriente, e que alcançou gradativamente o Oriente Médio, o Continente Africano e algumas regiões da Europa. O responsável por esta infecção é um biótipo de *V.cholerae* denominado *el tor*, que se constitui em uma séria ameaça às populações, em virtude do grande volume de tráfego aéreo e marítimo proveniente dos focos de doença (WHO, 1980).

O *V. cholerae* é uma bactéria autóctone do ambiente aquático, livre ou em associação com o fitoplâncton, zooplâncton, crustáceos ou moluscos. Devido às mudanças ambientais, como alterações na temperatura, pH, salinidade e concentrações de nutrientes, o *V. cholerae* encontra-se em um estado denominado viável, mas não cultivável (VNC) onde dificilmente são recuperados através da metodologia convencional, sendo necessária a utilização de técnicas de biologia molecular e técnicas imunológicas para a sua detecção .

Esta espécie abrange um grande número de sorogrupos classificados conforme os determinantes antigênicos contidos na porção lipopolissacarídica dos antígenos O. Com base nesta característica, hoje se reconhecem cerca de 200 sorogrupos os quais são divididos entre os que aglutinam no anti-soro contra o antígeno do grupo O1 (*V. cholerae* O1) e os que não aglutinam (*V. cholerae* não O1).

V. cholerae sorogrupos O1 e não O1 têm merecido maior enfoque em Saúde Pública e na ecologia, considerando os inúmeros relatos de suas ocorrências em sistemas aquáticos (JAY, 2005; PEREIRA *et al.*, 2007).

Apesar de alguns sorogrupos de *V. cholerae* não O1 terem ocasionalmente causado surtos esporádicos de diarreia, o sorogrupo O1 foi até o aparecimento do sorogrupo O139, a causa exclusiva do cólera epidêmico. O *V. cholerae* O1 existe em dois biotipos, clássico e *el tor*, que são distinguidos com base em várias características como, suscetibilidade a fagos, produção de hemolisina e prova de *Voges-Proskauer*.

O *V. cholerae* produz uma neurotoxina letal “tetradotoxina” que provoca perda de sensibilidade nas extremidades, vômitos, colapso respiratório e morte, sendo a DL (dose letal) no homem, de 10 g/Kg. Considerada, inicialmente, uma toxina tipicamente marinha sendo encontrada em ovos de polvo, estrelas-do-mar, caranguejos, moluscos, peixes e anfíbios; a

descoberta de bactérias do gênero *Vibrio* produtoras de tetrodotoxina parece esclarecer, de vez, a origem microbiana desta substância.

Em contraste à amostra toxigênica *V. cholerae* O1, os outros microrganismos podem ter localização extra-intestinal, com base nas descrições de isolamentos a partir de sangue, líquido cefalorraquidiano, pele, apêndice, vesícula biliar, fluido peritoneal, assim como, casos de otites média e externa, que segundo Blake *et al.*, (1980), Florescu *et al.*, (1981), Morris *et al.*, (1982), Morris (1988), indicam sua capacidade invasiva. Os autores supramencionados assinalam que em alguns casos, os pacientes eram portadores de processos crônicos degenerativos como leucemia, doenças vasculares e cirrose hepática, funcionando como fatores primários debilitantes.

Outras espécies de *Vibrio*, como *V. alginolyticus*, *V. metschnikovii*, *V. furnisii*, *V. mimicus*, *V. damsela* e *V. hollisae* são citadas na literatura como possíveis agressores do trato entérico, assim como, apresentam localizações extra-intestinais (LEE *et al.*, 1981; MORRIS *et al.*, 1982; WEST, 1989; MAGALHÃES, 1992). As linhagens de *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis* e *V. mimicus* isolados do pescado e da água do mar apresentam enzimas relacionadas com o processo de infecção, tais como hemolisina, condroitinase, colagenase e elastase (RODRIGUES *et al.*, 1993).

O *Vibrio vulnificus*, embora represente apenas 4% das espécies do gênero *Vibrio* encontradas no meio aquático é a causa mais importante de infecções graves por *Vibrio* nos Estados Unidos (0,8 casos por 10⁵ habitantes em um estudo feito no Estado de Lousiana (COLWELL, 1996). Esta bactéria é autóctone de águas estuarinas com temperatura tropical, podendo causar septicemia e diversas infecções no homem (DALSGAARD, 1998). Esta espécie é muito invasiva em modelos animais possuindo vários atributos de virulência, como uma cápsula antifagocitária, hemolisina, colagenase, elastase, fosfolipases e sideróforos (RODRIGUES *et al.*, 1993).

O *Vibrio alginolyticus* foi reconhecido pela primeira vez como um patógeno humano em 1973, e atualmente sabe-se que causa infecções de feridas, dos olhos e otite. É o vibrião mais tolerante ao sal, estando apto a crescer em concentrações maiores que 10%.

Na maioria dos casos, os isolados clínicos vem de infecções superpostas de feridas, as quais presumivelmente tornam-se contaminadas na praia. As infecções variam em intensidade, mas em geral, não são graves e respondem bem ao tratamento com antibiótico ou drenagem. O tratamento com tetraciclina costuma ser curativo. O *V. alginolyticus* é uma causa rara de bacteriemia nos hospedeiros imunocomprometidos (KEUSCH *et al.*, 2002).

2.4. Família Aeromonadaceae

Aeromonas spp. são bastonetes gram-negativos, anaeróbios facultativos com capacidade de fermentar a glicose. São geralmente móveis utilizando-se de um flagelo polar monotríqueo, com exceção de *A. salmonicida* e *A. media*. São oxidase positivo e resistentes ao agente vibriostático O/129 (2,4 diamino 6,7 diisopropilpteridina). (MATTÉ, 1995).

As diversas espécies que compõem o genero apresentam bom crescimento em Ágar sangue de carneiro acrescido de 5 % de ampicilina ou Ágar GSP (Ágar Seletivo para *Pseudomonas*-*Aeromonas*), no qual crescem sob a forma de colônias amarelas circundadas por um halo de hidrólise do amido. Geralmente, esses microrganismos são sensíveis aos seguintes agentes antimicrobianos: cloranfenicol, colistina, gentamicina, tetraciclina e sulfametoxazol-trimetoprim. De um modo geral são resistentes a ampicilina, carbenicilina, cefazolim e ticarcilina. Essa resistência aos antibióticos tem interesse tanto para o controle de doenças em animais quanto em seres humanos, uma vez que o uso indiscriminado destas drogas tem incrementado a resistência dos microrganismos (BARBIERI, 2003).

Crescem numa ampla faixa de temperatura (0° a 45C°), permitindo que sejam isolados de várias fontes de alimentos, inclusive aqueles estocados sob refrigeração, e pH (5,5 a 9,0). São reconhecidos vários fatores de virulência, ressaltando-se as aerolisinas, hemolisinas, proteases, lipases e DNAses, os quais desempenham relevante papel no desenvolvimento da doença tanto em seres humanos quanto em animais. Em geral, apresentam sensibilidade à maioria dos desinfetantes inclusive o cloro (0,45 ppm/mL), entretanto, cabe salientar que em condições não propícias do meio a bactéria pode ficar sob sua forma “viável mas não cultivável” (VNC) (GRANUM *et al.*, 1988).

As *Aeromonas* são microrganismos predominantemente hídricos estando presentes em ambientes de água doce, marinho e estuarino, constituindo a microbiota das águas superficiais. Diferente de outros enteropatógenos, não necessita de um hospedeiro para sobreviver e/ou se multiplicar. O ciclo fecal-oral pode contribuir para o aumento do número de bactérias no ambiente, entretanto, este número é determinado muito mais por fatores ecológicos do que por contaminação humana (KING *et al.*, 1992).

Podem ser isoladas do pescado e produtos derivados, além de muitos outros alimentos. Na verdade, esta bactéria tem sido identificada como agente principal da deterioração de

carne sem cocção, incluindo salmão embalado a vácuo ou em atmosferas modificadas e de peixe oriundo de águas tropicais (GRAM *et al.*, 1990).

A frequência de isolamento, a exemplo dos vibrios, é mais elevada nos meses de verão, em especial nas zonas temperadas e tropicais. Geralmente, não são consideradas como habitante normal do trato gastrintestinal humano. Todavia, nas regiões de clima temperado, estima-se que o número de portadores no estado subclínico aproxime-se de 3%, enquanto em regiões tropicais esse percentual pode atingir 30 % ou mais (KELLY *et al.*, 1993).

Com base em evidências genéticas e moleculares, (COLWELL *et al.*, 1986) propuseram a criação de uma nova família denominada Aeromonadaceae a qual englobaria o gênero *Aeromonas* proposto em 1936 (KLUYVERA & VANNIEL, 1936). Durante muito tempo, as diversas espécies de *Aeromonas* foram consideradas oportunistas, mas estudos realizados em microbiologia de alimentos permitiram descobrir a relação desses microrganismos com infecções humanas após consumo de alimentos de origem aquática, sob a forma *in natura* ou insuficientemente cozidos (VIVEKANANDHAN *et al.*, 2002).

Entre as espécies do gênero, destacam-se *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii* biotipo *sobria* por sua importância clínica no homem. Algumas são consideradas patógenas em circunstâncias raras como: *A. jandaei* e *A. schubertii*. Existem ainda aquelas ocasionalmente isoladas de material clínico cujo significado permanece desconhecido tais como: *A. sobria*, *A. media*, *A. trota* e *A. salmonicida*, estas últimas adaptadas a pescado e responsáveis por epizootias (DAVIES *et al.*, 2001).

Aeromonas hydrophila é uma espécie que cresce a 37°C e possui mobilidade sendo devido a essas características, classificada no grupo das mesófilas juntamente com *A. caviae* e *A. sobria*. Por outro lado, existe o grupo das psicrófilas que inclui uma única espécie chamada *A. salmonicida*. Essa espécie não cresce bem a 37°C, é imóvel e sua importância está relacionada à patogenicidade em peixes podendo causar danos zootécnicos e econômicos (RADU, 2003).

Aeromonas sobria tem sido isolada de casos de diarreia aquosa apresentando uma toxina semelhante à cólera (toxina Asao). Geralmente, cerca de 20% dos pacientes estudados desenvolveram quadro de infecção intestinal com sintomas de disenteria similar às provocadas por espécies de *Shigella* e cepas de *Campylobacter jejuni* invasoras. (ARAÚJO, 2001).

Aeromonas schubertii possui importância clínica relacionada ao seu isolamento a partir de infecção de feridas subseqüentes à exposição à água, ao solo ou a alimentos

contaminados, com incidência máxima nas estações quentes do ano. Por sua vez, *A. veronii* foi descrita como produtora de bacteriemia, infecções de feridas e diarreia. *A. jandaei* foi isolada como agente de infecção em quatro pacientes. *A. trota* é um patógeno freqüente de pescado (truta), mas foi isolado também de amostra fecais humanas. (PETERSEN & DALSGAARD, 2003).

As espécies do gênero *Aeromonas* elaboram um vasto leque de toxinas tais como a enterotoxina citotóxica, hemolisinas e um inibidor do canal do sódio análogo à tetrodotoxina. Entretanto, o papel destas toxinas como fatores responsáveis por doenças no Homem não está esclarecido, contudo a temperatura parece exercer importante papel na expressão destes fatores, representando um provável mecanismo que permite demonstrar a presença em alimentos refrigerados de cepas com elevado arsenal de virulência. (HORWARD *et al.* 1996; LEÃO, 2005).

Vários estudos revelaram a resistência de bactérias do gênero *Aeromonas* ao processo de cloração da água, e que esses microrganismos podem se multiplicar nos reservatórios de água tratada com cloro (FALCÃO *et al.*, 1998). Algumas cepas de *Aeromonas* foram incluídas na relação de patógenos emergentes importantes para a saúde pública pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) por causarem doença no homem, através de veiculação por água e alimentos (FAO, 2006).

Ultimamente, tem sido apontada de uma maior importância no diagnóstico de doenças de crustáceos e peixes, muitas vezes aparecendo como agente primário causador de lesões ulcerativas e septicemia hemorrágica inclusive em peixes de água doce (GHENGHESH *et al.*, 2001; SAHA & PAL, 2002; SOUZA & SILVA-SOUZA, 2001), acarretando perdas na produção e na qualidade do pescado (RADU *et al.*, 2003; VIVEKANADHAN *et al.*, 2002).

2.5 Família Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae é uma família de bactérias Gram-negativas muito abundante, incluindo uma grande variedade de gêneros/espécies, algumas pertencentes a microbiota normal dos intestinos de seres humanos e animais como a *Escherichia coli*, outros como habitantes do solo ou da água, como *Plesiomonas shigelloides* e outros podem estar implicados em vários processos patogênicos, incluindo por exemplo os gêneros *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* (COSTA *et al.*, 2007).

2.5.1 *Salmonella*

As bactérias do gênero *Salmonella* são os principais agentes etiológicos de doenças transmitidas por alimentos no mundo, sendo um problema econômico e social. Seu habitat natural é o trato intestinal do homem e de animais, portanto, sua presença indica contaminação fecal direta ou indireta (TIETJEN, 2005).

Embora não seja isolada normalmente de pescado e bivalves capturados em mar aberto, pode ser isolada em produtos marinhos capturados em águas contaminadas. Em produtos crus que serão posteriormente cozidos, a *Salmonella* não apresenta perigo direto à saúde, uma vez que a cocção a destrói. Por outro lado, existe sempre a preocupação com produtos consumidos crus e com produtos prontos para o consumo que não tenham passado por processamento térmico. A *Salmonella* pode ainda ser carregada para outros alimentos através de contaminação cruzada (USERA, 2005).

2.5.2 *Escherichia coli*.

É a principal bactéria representante do grupo dos coliformes fecais, e considerada específica para indicar a contaminação fecal com presença de bactérias patogênicas. A *E. coli* não representa um bom indicador de poluição fecal para alimentos marinhos de águas frias, devido ao seu rápido declínio nas baixas temperaturas. O habitat da enterobactéria pode estar presente em vegetais e solo. Segundo Rodrigues *et al.* (2001) a presença de *E. coli* está associada à contaminação fecal da água do local de captura. A microbiota de ostras, mariscos, peixes e outras espécies aquáticas reflete a qualidade microbiológica da água em que foram capturadas (KONEMAN *et al.*, 1993).

Escherichia coli tem grande significado clínico para o homem, devido ao seu papel como patógeno oportunista causando infecções no sangue, feridas, trato urinário etc. (KONEMAN *et al.*, 1993). Essa bactéria é encontrada naturalmente nos intestinos de animais de sangue quente, incluindo o homem. Das bactérias presentes, 5-50% são *E. coli*, onde a partir da matéria fecal e por meio de vários veículos pode vir a contaminar água e alimentos (FUJIOKA *et al.*, 1981).

Por ser uma bactéria de origem fecal, *E. coli* é um dos patógenos de maior importância nos estudos onde se deseja constatar contaminação por esgotos. Todavia à semelhança das demais bactérias, ela necessita de condições favoráveis para se desenvolver. A água do mar,

devido a grande concentração de sais, pode funcionar como um fator limitante para sua multiplicação, aliado a outros fatores, tais como temperatura, radiação e competição com outros seres vivos (VIEIRA *et al.*, 2004).

Um outro membro da família Enterobacteriaceae, *Plesiomonas shigelloides*, tem como principal habitat o ambiente aquático, incluindo a água doce e do mar, comumente isolada de moluscos, crustáceos, sapos, rãs, tartarugas, lagartos, além de cães e gatos.. Em países tropicais e subtropicais do sul da Ásia como Japão e Tailândia, vários países da África, Taiti e Austrália é comumente encontrada no intestino de peixes (PASQUALE & KROVACEK, 2001; JANDA, 2005).

A maioria das cepas patogênicas parece ser de origem aquática e a infecção humana ocorre através do consumo de água não tratada e contaminada. As evidências utilizadas para considerar *P.shigelloides* como um enteropatógeno não são totalmente convincentes, bem como não estão totalmente esclarecidas. Embora sejam isoladas de pacientes com diarreia e em vários surtos epidêmicos envolvendo água e alimentos contaminados, não foi possível identificar em muitas amostras associadas com infecções gastrintestinais, um mecanismo de virulência definitivo (FALCÃO *et al.* 1988).

O homem também pode ser infectado após a ingestão de alimentos contaminados e não lavados. Existem relatos de diarreia associada ao microrganismo em epidemias e casos isolados descritos após ingestão de mariscos crus. A incidência de gastroenterites provocadas pelo microrganismo é maior na época do verão. (ROLSTON & HOPFER, 1984; SANYAL *et al.*, 1980)

Os sintomas da gastroenterite causada por *P. shigelloides* caracterizam-se por diarreia aquosa leve, sem presença de sangue e muco. Pode apresentar-se como uma colite grave ou síndrome similar à cólera, em particular em pacientes imunodeprimidos ou portadores de câncer localizados na região gastrointestinal. Os indivíduos mais susceptíveis são crianças e idosos e as apresentações extra-intestinais septicêmicas podem ocorrer em pessoas imunodeprimidas ou portadoras de doenças crônico-degenerativas, podendo levar ao óbito. A patogenicidade da espécie *Plesiomonas shigelloides* está provavelmente relacionada à produção de uma enterotoxina enteropatogênica (BRENDEN *et al.*, 1988). Não existe atualmente nenhuma maneira de diferenciar *Plesiomonas* sp. patogênicas de não patogênicas (HERRIGTON *et al.*, 1997).

A ingestão de *Plesiomonas shigelloides* nem sempre causa doença no animal hospedeiro, mas pode residir temporariamente como agente não infeccioso na flora intestinal.

A duração da doença em pessoas saudáveis pode ser de 1 a 7 dias. Presume-se que a dose infecciosa necessária seja bastante alta, no mínimo maior que 1 milhão de microrganismos (BRENDEN et al., 1988).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Estudo

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro.

3.2. Amostragem

A colheita dos camarões de vida livre (20 amostras) foi efetuada com rede de espera na profundidade média de três metros, no leito do Canal de Itajuru (Figura 1), que serve como divisa entre os municípios de Cabo Frio e São Pedro da Aldeia no Estado do Rio de Janeiro, sendo que os camarões de cativeiro (20 amostras) são oriundos de fazendas criatórias no Estado do Rio Grande do Norte, adquiridos no comércio local de Cabo Frio, no período de Janeiro a Agosto de 2007, totalizando 40 amostras.

As amostras de camarão de vida livre foram acondicionadas em recipientes com água coletada no local, e mantidas vivas com a utilização de bomba de ar comprimido até a chegada ao Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz.



Figura 1: O Canal de Itajuru liga a Lagoa de Araruama ao Oceano Atlântico, renovando suas águas, sendo responsável pela piscosidade da Lagoa



Fig. 02: Camarões capturados no Canal de Itajuru



Fig. 03: Seleção das amostras de camarão capturadas no Canal de Itajuru

3.3. Procedimentos Laboratoriais

3.3.1. Isolamento e identificação de patógenos das famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae

As amostras, pesando cada uma delas 25 gramas, foram homogeneizadas em Warning Blendor e pré-enriquecidas em água peptonada (pH 7.6) na proporção 1/10 seguido de incubação a 37°C por 18 a 24 horas. Em etapa subsequente uma alçada do crescimento em água peptonada foi semeada em Ágar Eosina-Azul de Metileno (EMB) para a pesquisa *Escherichia coli* e inoculação de 1 mL do caldo de pré-enriquecimento em tubos de ensaio

contendo 10 mL de Água Peptonada Alcalina (APA) acrescida de 1% de Cloreto de Sódio (NaCl), seguido de semeadura em placa de Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS-Difco) após incubação por 6 e 18 a 24 horas a 37°C, de acordo com as recomendações do FDA (2004) e em Agar GSP (Agar Seletivo para *Pseudomonas* - *Aeromonas* - Merck), para a pesquisa de *Vibrio* e *Aeromonas*, respectivamente. Simultaneamente, alíquotas de 1 mL e 0,1 mL foram retiradas da água peptonada e inoculadas em 10 mL de Caldo Tetrionato de Kauffmann (Oxoid) e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis - Oxoid (43°C/18 a 24h/), respectivamente. Os tubos foram incubados por 18 a 24 horas, a 37 e 43°C, respectivamente. A partir do crescimento microbiano em ambos os tubos, alíquotas de cada meio eram retiradas com o auxílio de uma alça de níquel-cromo e estriadas em duas placas de Petri contendo os meios seletivos indicadores Ágar Entérico Hektoen (Difco) e Agar Eosina - Azul de Metileno (Agar EMB - Oxoid) submetidos à incubação a 37°C por 18 a 24 horas.

3.3.2. Caracterização bioquímica presuntiva

Cinco a dez colônias suspeitas nos meios seletivos indicadores foram inoculadas em Agar Ferro – Dois Açúcares (Agar Kligler - Oxoid) e Agar Lisina Ferro (LIA – Oxoid) e em Agar Nutriente inclinado, acrescidos de 1 % de NaCl para a determinação da presença da enzima citocromo-oxidase. Amostras apresentando reações sugestivas nestes meios, foram submetidas à caracterização bioquímica complementar, seguindo-se as especificações de COSTA & HOFER (1972), EWING (1986), ELLIOT *et al.* (1995) e JANDA (2005).

3.3.3. Caracterização bioquímica complementar

Todas as amostras que apresentaram reações sugestivas nos meios de triagem, foram submetidas a testes bioquímicos complementares. Inicialmente procedeu-se à prova da citocromo - oxidase a partir do Ágar Nutriente, passando-se à caracterização bioquímica. Para a identificação de enteropatógenos pertencentes a família Enterobacteriaceae, foram realizadas as provas da fermentação de carboidratos e correlatos tais como: glicose, manitol, lactose, sacarose, descarboxilação da lisina e ornitina; dehidrolação da arginina, via de utilização da glicose, através da prova de *Voges Proskauer* (VP), Vermelho de Metila (VM), utilização do citrato como única fonte de carbono e pesquisa de beta - galactosidade - ONPG (ortofenitrofenil-beta-d-galactopiranosídeo).

Para as amostras citocromo-oxidase positivas, foram realizados os testes de fermentação da arabinose e manose além das provas descritas acima, capacidade de crescimento em diferentes concentrações de NaCl (0, 3, 6, 8 e 10%), segundo os critérios estabelecidos por HOFER (1974); RODRIGUES (1983) e NOGUEIRA (2002) e resistência ao agente vibriostático O/129 (2,4 diamino-6,7-di-isopropil - pteridine - Sigma) com a finalidade de diferenciar os membros do gêneros *Vibrio* e *Aeromonas*.

4 RESULTADOS

Foram identificadas um total de 88 cepas nas amostras de camarão de vida livre (47) e de cativeiro (41) sendo que 51,1% pertencentes ao gênero *Vibrio* spp., 28,5% ao gênero *Aeromonas* spp. e 20,4% a *Plesiomonas shigelloides* (Tabela 2). Não foram identificadas *Salmonella* e *E. coli*.

Tabela 2. Frequência de isolados de *Vibrio* spp, *Aeromonas* spp, e *P. shigelloides* em camarões de vida livre e de cativeiro.

Espécies	Vida Livre (RJ)	Cativeiro (RN)	Total n (%)
Bacterianas			
<i>V. alginolyticus</i>	9	0	9 (10,2)
<i>V. carchariae</i>	3	3	6 (7,0)
<i>V. cincinnatiensis</i>	2	2	4 (4,6)
<i>V.harveyi</i>	1	3	4 (4,6)
<i>V.aestuarinus</i>	0	3	3 (3,4)
<i>V. damsela</i>	3	0	3 (3,4)
<i>V. parahaemolyticus</i>	2	1	3 (3,4)
<i>V.mediterrani</i>	0	2	2 (2,2)
<i>V.costicola</i>	1	0	1 (1,1)
<i>V. furnissii</i>	1	0	1 (1,1)
<i>V. logei</i>	1	0	1 (1,1)
<i>V. marinus</i>	0	1	1 (1,1)
<i>V. proteolyticus</i>	1	0	1 (1,1)
<i>V.splendidus biog.2</i>	1	0	1 (1,1)
<i>Vibrio</i> spp.	4	1	5 (5,7)
Sub-total	29	16	45 (51,1)
<i>P.shigelloides</i>	15	3	18 (20,4)
Sub-total	15	3	18 (20,4)
<i>A.hydrophila</i>	0	6	6 (7,0)
<i>A.veronii biog.sobria</i>	0	6	6 (7,0)
<i>A.veronii biog.veronii</i>	0	2	2 (2,2)
<i>A.jandaei</i>	1	2	3 (3,4)
<i>A.schubertti</i>	0	3	3 (3,4)
<i>A. caviae</i>	1	0	1 (1,1)
<i>A. eucrenophila</i>	0	1	1 (1,1)
<i>A.media</i>	0	1	1 (1,1)
<i>Aeromonas</i> spp.	1	1	2 (2,2)
Sub-total	3	22	25 (28,5)
TOTAL	47	41	88 (100)

Entre as 45 cepas de *Vibrio*, 25 (55,5%) são potencialmente patogênicas para o homem, destes, 76,0% isolados de camarão de vida livre 24,0% de camarão de cativeiro (Tabela 3).

Tabela 3: Percentual de *Vibrio* potencialmente patogênicos para o homem, isolados do camarão de vida livre e de cativeiro.

Tipos de Camarão	<i>Vibrio</i> spp.	
	N	Potencialmente patogênicos
Camarão de Vida Livre	29 (64,4%)	19 (76,0 %)
Camarão de Cativeiro	16 (35,6%)	6 (24,0 %)
Total	45	25

Das espécies de *Vibrio* potencialmente patogênicas para o homem, isoladas a partir do camarão de vida livre, a maior frequência foi de *V. alginolyticus* com 45%, seguido pelo *V. carchariae* e *V. damsela* (15%), *V. cincinnatiensis* e *V. parahaemolyticus* (10%) e *V. furnissii* (5%). Em camarão de cativeiro foram identificadas três espécies destacando-se *V. carchariae* com 50%, seguido de *V. cincinnatiensis* (33,3%) e *V. parahaemolyticus* (16,7%) (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição das espécies de *Vibrio* isoladas de camarão, potencialmente patogênicas para o homem

Espécie	Vida livre	%	Cativeiro	%
<i>V. alginolyticus</i>	9	45	0	0
<i>V. carchariae</i>	3	15	3	50
<i>V. damsela</i>	3	15	0	0
<i>V. cincinnatiensis</i>	2	10	2	33,3
<i>V. parahaemolyticus</i>	2	10	1	16,7
<i>V. furnissii</i>	1	5	0	0
Total	20	100	6	100

Considerando aquelas potencialmente patogênicas para o camarão de vida livre destacou-se maior frequência de *V. alginolyticus* (47,3%), seguido de *V. carchariae* e *V. damsela* (15,7%), *V. parahaemolyticus* (10,5%), *V. harveyi* e *V. splendidus* biog. II (5,4%) enquanto entre os isolados de camarão de cativeiro, *V. carchariae* e *V. harveyi* corresponderam a 42,8% e *V. parahaemolyticus*, 14,4% (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição das espécies de *Vibrio* potencialmente patogênicas para o camarão

ESPÉCIE	Vida Livre	%	Cativeiro	%
<i>V. alginoliticus</i>	9	47,3	0	0
<i>V. carchariae</i>	3	15,7	3	42,8
<i>V. harveyi</i>	1	5,4	3	42,8
<i>V. parahaemolyticus</i>	2	10,5	1	14,4
<i>V. damsela</i>	3	15,7	0	0
<i>V. splendidus biog. 2</i>	1	5,4	0	0
Total	19	100	7	100

Entre as *Aeromonas* potencialmente patogênicas para o homem isoladas de camarão de cativeiro a maior frequência foi de *A. hydrophila* (30%) seguida por *A. veroni biog. sobria* (30%), *A. schubertii* (15%), *A. veroni biog. veroni* e *A. jandaei* (10%) e *A. media* (5%) enquanto em camarões de vida livre, apenas duas cepas foram identificadas, pertencentes às espécies *A. jandaei* e *A. caviae* (tabela 6).

Tabela 6. Distribuição das espécies de *Aeromonas* isoladas de camarão potencialmente patogênicas para o homem

ESPÉCIES	Vida Livre	%	Cativeiro	%
<i>A. hydrophila</i>	0	0	6	30
<i>A. schubertii</i>	0	0	3	15
<i>A. veroni biog. sobria</i>	0	0	6	30
<i>A. jandaei</i>	1	50	2	10
<i>A. veroni biog. veroni</i>	0	0	2	10
<i>A. caviae</i>	1	50	0	0
<i>A. media</i>	0	0	1	5
Total	2	100	20	100

Das espécies de *Aeromonas* potencialmente patogênicas para o camarão de vida livre, foi caracterizada apenas uma cepa de *A. caviae* e, de cativeiro, *A. hydrophila* (6 cepas, 67%), seguida por *A. schubertii* (33%) (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição das Espécies de *Aeromonas* Potencialmente Patogênicas para o Camarão

ESPÉCIES	Vida Livre	%	Cativeiro	%
<i>A. hydrophila</i>	0	0	6	67
<i>A. schuberti</i>	0	0	3	33
<i>A. caviae</i>	1	100	0	0
Total	1	100	9	100

A frequência dos isolados de *Plesiomonas shigelloides* em camarão de vida livre foi de 83,3% e de cativeiro 16,7% (Tabela 8).

Tabela 8. Frequência de isolados de *Plesiomonas shigelloides*

Tipos de Camarão	Quantidade	%
Camarão de Vida Livre	15	83
Camarão de Cativeiro	3	17
Total	18	100

Em relação à sazonalidade observou-se um maior número isolados de *Vibrio*, *Aeromonas* e *Plesiomonas shigelloides* nos meses mais quentes do ano (Janeiro - Fevereiro) comparando-se com os meses mais frios (Junho - Julho) (Tabela 9, Figura 4). Analisando a distribuição dos isolados (Figura 5), em relação a período de análise e fonte de isolamento, verificou-se que, com exceção de *P.shigelloides* cuja detecção concentrou-se no período de janeiro a abril, não foi observada uma tendência na distribuição dos demais gêneros/espécies bacterianas.

Tabela 9. Frequência e distribuição dos gêneros / espécies bacterianas isolados de camarões de vida livre e de cativeiro em relação à sazonalidade.

Mês	Gêneros / Espécies	Camarão	
		Vida Livre	
		n	%
Janeiro	<i>V. carchariae</i>	2	4,26%
	<i>P. shigelloides</i>	5	10,64%
	<i>V. alginolyticus</i>	2	4,26%
	<i>V. proteolyticus</i>	1	2,13%
	<i>V. parahaemolyticus</i>	1	2,13%

Mês	Gêneros / Espécies	Camarão	
		Vida Livre	
		n	%
	<i>Vibrio sp.</i>	1	2,13%
	<i>A. hydrophila</i>	0	
	Total	12	25,53%
Fevereiro	<i>A. veronii biog. sobria</i>	0	
	<i>V. aestuarinus</i>	0	
	<i>P. shigelloides</i>	7	14,89%
	<i>A. eucrenophila</i>	0	
	<i>A. jandaei</i>	2	4,26%
	<i>Vibrio sp.</i>	1	2,13%
	<i>V. marinus</i>	0	
	<i>A. hydrophila</i>	0	
	<i>V. costicola</i>	1	2,13%
	Total	11	23,40%
Março	<i>V. splendidus biog. 2</i>	1	2,13%
	<i>Aeromonas sp.</i>	1	2,13%
	<i>P. shigelloides</i>	2	4,26%
	<i>V. mediterrani</i>	0	
	<i>A. veronii. biog. sobria</i>	0	
	<i>A. jandaei</i>	0	
	Total	4	8,51%
Abril	<i>P. shigelloides</i>	1	2,13%
	<i>A. schubertii</i>	0	
	Total	1	2,13%
Mai	<i>V. furnissii</i>	1	2,13%
	<i>V. alginolyticus</i>	4	8,51%
	<i>V. harveyi</i>	0	
	<i>V. damsela</i>	1	2,13%
	<i>Vibrio sp.</i>	1	2,13%
	<i>A. hydrophila</i>	0	
	Total	7	14,89%
Junho	<i>V. harveyi</i>	1	2,13%
	<i>A. hydrophila</i>	0	
	<i>V. harveyi</i>	0	
	Total	1	2,13%
Julho	<i>V. carchariae</i>	1	2,13%
	<i>V. parahaemolyticus</i>	0	
	<i>A. caviae</i>	1	2,13%
	<i>V. logei</i>	1	2,13%
	<i>A. veronii biog. sobria</i>	0	
	<i>A. veronii biog. veronii</i>	0	

Mês	Gêneros / Espécies	Camarão	
		Vida Livre	
		n	%
	Total	3	6,38%
Agosto	<i>V. cincinnatiencis</i>	2	4,26%
	<i>Vibrio sp.</i>	0	
	<i>V. damsela</i>	2	4,26%
	<i>V. alginolitycus</i>	3	6,38%
	<i>A. jandaei</i>	0	
	<i>A. media</i>	0	
	<i>V. parahaemolyticus</i>	1	2,13%
	<i>Aeromonas sp.</i>	0	
	<i>V. carchariae</i>	0	
	<i>A. veronii biog. veronii</i>	0	
	Total	8	17,02%
TOTAL		47	100%

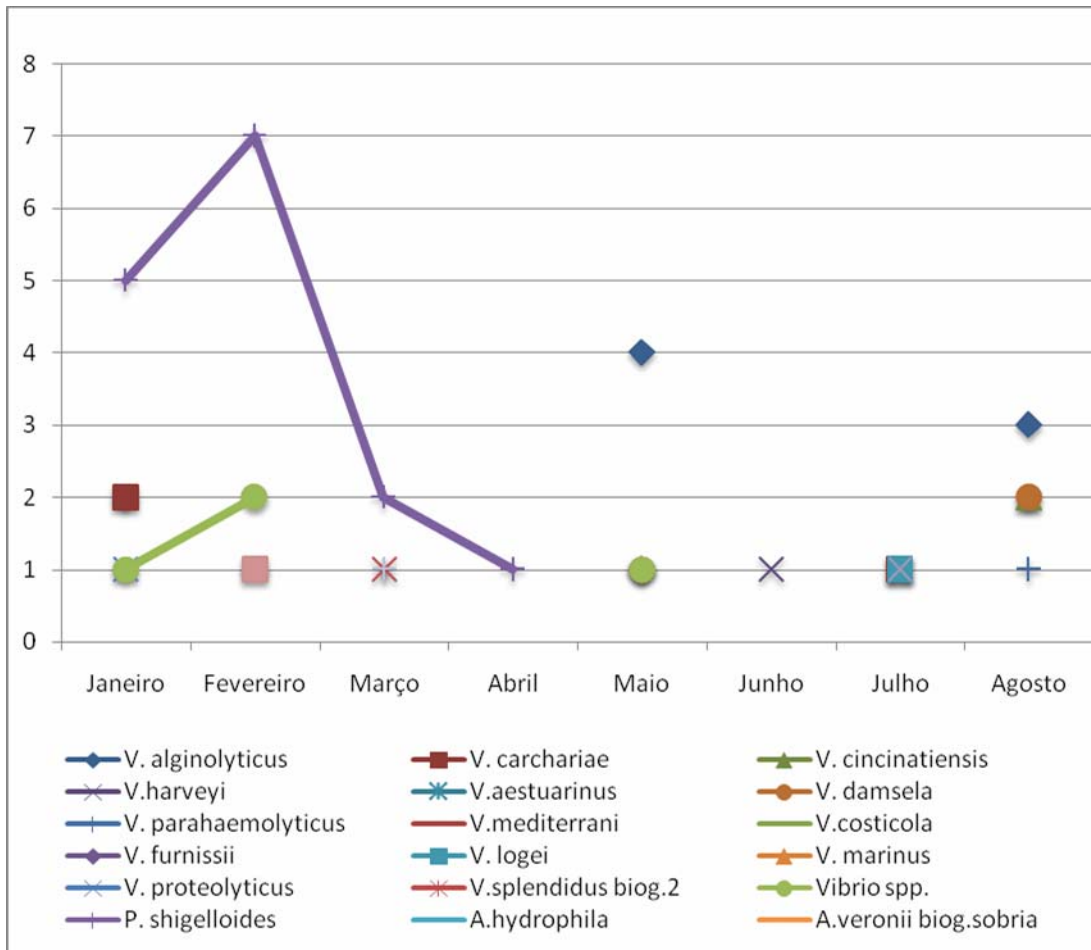


Figura 4. Frequência dos gêneros / espécies bacterianas isolados de camarões de vida livre em relação a sazonalidade.

4 DISCUSSÃO

O desenvolvimento da indústria da carcinicultura na última década foi marcado pelo surgimento de restrições na produção, entre as quais a mais relevante é a ocorrência de doenças infecciosas, sendo algumas espécies como *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* frequentemente associadas à letalidade na larvicultura e nos viveiros de engorda (COSTA, 2007).

No presente estudo, foram identificados *V. parahaemolyticus* e *V. harveyi*, entre outras, no camarão de vida livre e de cativeiro. A presença de *V. parahaemolyticus* na microbiota do camarão adulto deve ser considerada como um possível risco a saúde pública, uma vez que essa bactéria está associada a surtos de gastroenterite caracterizando-se por diarreia, náuseas, vômitos, dores abdominais, febre (DANIELS *et al.* 2000, HEITMANN *et al.* 2005). Cepas isoladas de casos clínicos de gastroenterite por *Vibrio parahaemolyticus* são hemolíticas em meio de Agar Wagatsuma (Fenômeno de Kanagawa), enquanto as provenientes de águas marinhas não apresentam esta característica.

De acordo com Vaseeharan & Ramasamy (2003), a presença de *V. parahaemolyticus* em corpos de água destinados a cultura de camarões é preocupante uma vez que algumas cepas podem provocar doenças nos peneídeos. Além, disso, a incidência dessa espécie de *Vibrio* na água pode contaminar a fauna e provocar doenças no homem quando do consumo de alimentos contaminados.

Os resultados deste estudo revelaram que 65,5% dos camarões de vida livre e 35,5% dos camarões de cativeiro são portadores de bactérias dos gêneros *Vibrio*, *Aeromonas* e da espécie *Plesiomonas shigelloides*, respectivamente.

Esta diferença, provavelmente deve-se ao fato do uso de antimicrobianos com finalidade profilática, na ração destes animais (BARBIERI & OSTRENSKY, 2003).

A escolha do local de coleta, Canal do Itajuru, no município de Cabo Frio teve como premissa o potencial turístico e pesqueiro da região, além da inexistência de quaisquer publicações científicas sobre o tema desta pesquisa neste local, conforme revisão de literatura.

Analisando a distribuição das espécies de vibrio em relação à profundidade (LEÃO, 2005) verificou-se que o *V. alginolyticus* é onipresente no sedimento até três metros, compatível com a profundidade média do Canal de Itajuru e os criatórios de camarão não

excedem a profundidade de dois metros, portanto sabendo-se que os camarões nutrem-se de detritos orgânicos presentes no sedimento, por consequência ocorrerá um alto índice destes patógenos contaminando estes animais. Entre as espécies de *Vibrio*, o *V. alginolyticus* apresentou o maior percentual de isolamento corroborando com os dados obtidos em outras pesquisas tendo sido isolado a partir do ambiente marinho e estuarino, sedimento e amostras clínicas de ferimentos (RIBEIRO, 2005; LEÃO, 2005, RODRIGUES, 2001).

Este estudo mostra que 55,5% das espécies de *Vibrio* identificadas em camarões de vida livre (76,0%) e camarões de cativeiro (24,0%) são potencialmente patogênicos.

Dentre os vibrios potencialmente patogênicos para o homem, isolados do camarão de vida livre, destacou-se *V.alginolyticus* com 45%, seguido pelo *V. carchariae* (15%), *V. damsela* (15%), *V. parahaemolyticus* (10%), *V. cincinnatiensis* (10%), *V. furnissii* (5%). Entre os isolados de camarão de cativeiro, foram identificadas apenas três espécies, *V. carchariae* (50%), *V. cincinnatiensis* (33,3%) e *V. parahaemolyticus* (16,7%). Entre as 12 cepas isoladas de camarão *L. vannamei* na fase adulta por Costa (2007), 4 (33,33%) foram de *V. parahaemolyticus*, 3 (25%) de *V. harveyi*, 2 (16,67%) de *Vibrio* sp, 2 (16,67%) de *V. damsela* e 1 (8,33%) de *V. carchariae*. Confrontando as espécies identificadas por Costa (2007) com aquelas obtidas no presente estudo em camarões da espécie *L. vannamei*, obteve-se 100% de similaridade.

Dentre as várias cepas bacterianas que afetam os camarões destacam-se na fase larval o *V. harveyi* e *V. splendidus*. Na fase de crescimento nas fazendas são normalmente infectados pelo *V. parahaemolyticus* e *V. penaeicida*, conforme citado por Ishimam *et al.* (1995). Neste trabalho evidenciamos a presença do *V. harveyi*, *V. splendidus* e *V. parahaemolyticus* no camarão de cativeiro e de vida livre respectivamente. Esses dados estão de acordo com os resultados obtidos por Alvarez *et al.* (2000), que obtiveram 79% de cepas pertencentes ao gênero *Vibrio* em estudo bacteriológico em camarões peneídeos na Venezuela. O *Vibrio harveyi* encontra-se amplamente distribuído em ambientes marinhos, estuarinos, em peixes e camarões marinhos silvestres e cultivados, sadios e/ ou enfermos, com potencial de provocar epizootias em populações de camarão cultivados ou em camarões silvestres submetidos a confinamento.

O isolamento de *V. harveyi* e *V. parahaemolyticus* neste estudo, a partir de camarão adulto de vida livre e de cativeiro corrobora os resultados descritos por Retamales (2002), que em estudo sobre a comunidade bacteriana da flora intestinal do *L. vannamei* cultivado no México confirmou a presença do gênero *Vibrio*, principalmente *V. harveyi* e *V.*

parahaemolyticus no período de 1998 a 1999. Oxley *et al.* (2002) isolaram *V. parahaemolyticus* da flora intestinal do camarão *Penaeus merguensis*.

A elevada incidência de *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* em amostras de água destinadas a aquicultura e em camarões cultivados pode ser indicativa de ameaça a viabilidade da carcinicultura.

A presença de espécies de *Vibrio* potencialmente patogênicas nesse estudo reveste-se de importância sob o ponto de vista de sanidade dos camarões, tornando-os mais suscetíveis se condições desfavoráveis venham a ser desenvolvidas nos viveiros de criação. Vandenberghe *et al.* (1999), em uma investigação bacteriológica em camarões *L. vannamei* no Equador e México, relataram a presença predominante de *V. alginolyticus* em todos os estágios larvais, estando associado com a saúde dos estágios náuplios e zoea. *V. harveyi* foi associado com doenças em pós-larvas e juvenis. As espécies *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* e *V. damsela* foram associadas com os estágios juvenil e adulto do *L. vannamei*. Esses dados corroboram os encontrados neste estudo, evidenciando a sua importância para a indústria da carcinicultura.

A presença de vibrios isolados a partir do camarão de cativeiro está de acordo com os dados de Karunasagar & Karunasagar (2001), que em estudo sobre a comunidade bacteriológica associada ao cultivo de *Penaeus monodon*, na Índia, relataram uma proporção de espécies de vibrios variando de 50 a 73% nos viveiros de criação.

Gopal *et al.* (2005) em estudo sobre a ocorrência de espécies de vibrios no cultivo de camarão na Índia revelaram dados semelhantes aos obtidos no presente trabalho no que concerne à diversidade de vibrios nos criatórios de camarão, confirmando a presença de 17 espécies isoladas de amostras de água. As espécies encontradas foram *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. fischeri*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. mimicus*, *V. diazotrophicus*, *V. aestuarinus*, *V. campbelli*, *V. splendidus*, *V. cincinnatiensis*, *V. nereis*, *V. anguillarum*, *V. proteolyticus* e *V. pelagicus*. Os autores alertaram para a qualidade bacteriológica do camarão de cativeiro em águas ricas em vibrios, principalmente *V. cholerae* e *V. parahaemolyticus*, causadores de gastroenterites.

Costa (2007) encontrou maior diversidade de espécies de vibrios nas amostras de água de captação (estuário do rio Coreaú - CE) totalizando 16 espécies em 62 cepas isoladas. Esse fato decorre, provavelmente, da ausência ou diminuição de processos de seleção de espécies em ambientes naturais quando comparado a ambientes de cultivo. O mesmo foi observado por Menezes (2005) que encontrou maior diversidade de espécies de vibrios em amostras de água

do Rio Choro (CE), que recebe influência de água oceânica, do que amostras de água de ambiente de cultivo de camarão.

À semelhança dos resultados obtidos por Costa (2007), o presente estudo e revelou maior percentual de isolados a partir das amostras de camarão de vida livre em relação ao camarão de cativeiro.

O Canal de Itajuru, objeto da presente investigação, recebe um fluxo diário de esgoto doméstico gerando condições para o estabelecimento desses microrganismos no sedimento marinho, e conseqüentemente contaminando os camarões que ali vivem. Em concordância com os resultados obtidos, Serra *et al.* (2003) citaram que a excessiva produção de biomassa primária, acúmulo de matéria orgânica no meio, pode favorecer ao desenvolvimento e a manutenção das espécies patogênicas de vibrios, além de outros microrganismos patogênicos.

Um aumento no número de *Vibrio* spp associado a uma significativa mudança na composição da comunidade de vibrios na água dos viveiros de engorda é suficiente para desencadear a ocorrência de vibrioses (SUNG *et al.*, 1999). Ainda que no ambiente de cultivo estejam presentes outros microrganismos que realizam a assimilação de rações excedentes, excrementos, metabólitos nitrogenados, restos de plâncton e outros dejetos (BOYD, 2004) e estes microrganismos sejam competidores dos vibrios, podem os mesmos ainda ser desfavorecidos quando os vibrios se encontram em número elevado.

Fatores estressantes que podem advir da própria água utilizada nas fazendas de criação oriunda de estuários poluídos, gerando alterações das propriedades físico-químicas, como temperatura, salinidade, pH, podem desencadear desequilíbrio ambiental, levando os camarões a uma maior vulnerabilidade a vibrioses (LIGHTER, 1993). Embora inúmeros casos de vibriose venham sendo amplamente reportados, o mecanismo de patogenicidade dos vibrios ainda é pouco compreendido, contudo, há relatos de que microrganismos deste gênero acometem os camarões em todos os estágios de seu desenvolvimento, levando a perdas econômicas significativas (AGUIRRE-GUZMÁN *et al.*, 2004).

Em relação ao gênero *Aeromonas*, o maior percentual de isolamento foi obtido a partir de camarões de cativeiro (88,0%). Tal fato pode estar relacionado com a presença destas bactérias em águas residuais oriundas de esgoto doméstico (PARODI & PESO, 1983) que são carregadas para o Canal de Itajuru. Hassani *et al.*, 1994 estudaram a incidência de *Aeromonas* no esgoto bruto e no efluente final após tratamento em lagoa de estabilização sendo que os resultados revelaram um alto percentual desses microrganismos no início do sistema de

tratamento e constataram o declínio ao longo das lagoas, contudo não houve remoção total com o tratamento por este processo.

No presente estudo foi demonstrada a presença de diferentes espécies do gênero *Aeromonas* que representam 28,5% do total de todos os isolados.

Devido ao despejo de esgoto *in natura*, na qual o material fecal proveniente do trato intestinal é parte fundamental, ressalta-se que a presença de espécies de *Aeromonas* nos invertebrados marinhos, é claramente esperada, devido ao alto teor de matéria orgânica (BAHLAOUI *et al.*, 1997).

No presente estudo envolvendo camarão de vida livre do Canal de Itajuru, as espécies *A. jandaei* e *A. caviae* contribuíram com 50% dos isolados, em contraposição, em camarões de cativeiro foram identificadas um maior número de espécies: *A. hydrophila*, *A. veroni* biog. *sobria*, ambas com 30 %, *A. schubertii* (15%), *A. jandaei* (10%), *A. veroni* biog. *veroni* (10%) e *A. media* (5%).

O isolamento de *A. schubertii*, *A. veroni* biog. *sobria*, *A. veroni* biog. *veroni* e *A. hydrophila* reveste-se de importância por serem espécies potencialmente patogênicas para o homem, ressaltando-se ainda *A. hydrophila* como principal patógeno do pescado (OUDERKIRK *et al.* 2004).

A presença de isolados de atípicos de *Aeromonas* (8%) que foram classificadas neste estudo como *Aeromonas* sp., revela a grande diversidade desses microrganismos, bem como a dificuldade em se determinar através de provas fenotípicas, a posição taxonômica de algumas cepas. Essa mesma dificuldade tem sido encontrada por diferentes pesquisadores ao estudarem isolados de *Aeromonas* de diferentes origens, até mesmo de amostras clínicas (HARF-MONTEIL *et al.*, 2004).

É válido salientar que as Bactérias do gênero *Aeromonas* estão amplamente distribuídas no meio aquático, e não necessitam estar parasitando o homem ou qualquer animal para se multiplicarem (MATTE, 1995).

Esta característica difere da *Escherichia coli*, que após, serem lançadas no ambiente sobrevivem por um período de tempo, sem se multiplicar (SMOOT & PEARSON, 1997). Em contraste, o gênero *Aeromonas*, que também pode alcançar as lagoas pelos sistemas de esgoto, são primariamente microrganismos autóctones do meio aquático, podendo multiplicar-se nesse ambiente, ou mesmo sofrer modificações na sua dinâmica, em consequência da flora competitiva ou da variação de fatores abióticos (BENCHOKROUN *et al.* 2003).

Alguns pesquisadores relatam que o gênero *Aeromonas* apresenta maior resistência ao processo de tratamento de esgoto quando comparado aos coliformes fecais, e também verificaram a correlação entre *Aeromonas* spp e presença de matéria orgânica (BOUSSAID *et al.*, 1994). Não há correlação significativa entre *Aeromonas* spp e Coliformes Fecais, evidenciando a hipótese de que altas concentrações de substâncias orgânicas favorecem a multiplicação de bactérias do gênero *Aeromonas* (ASHBOLT *et al.*, 1995).

A capacidade destas bactérias causarem doenças em diferentes espécies animais está registrada na literatura científica, contudo só recentemente um maior número de casos clínicos têm sido identificados como sendo deste gênero (CLARK & CHENOWETH, 2004) sendo na atualidade considerados patógenos emergentes (JOSEPH & CARNAHAN, 2000).

A pesquisa de *Aeromonas* nos diferentes tipos de ecossistemas aquáticos, em crustáceos, e em amostras clínicas realizada no Brasil, revelou que são escassas as publicações que mencionam este tema, evidenciando certo desconhecimento dessas bactérias em nosso país (BAUAB, 2000).

Por outro lado, é de se notar o aumento crescente do interesse da comunidade científica internacional sobre o tema, evidenciado pelo aumento de publicações envolvendo bactérias deste gênero (PIANETTI *et al.*, 2004).

A pesquisa de membros pertencentes a família Enterobacteriaceae resultou negativa para *E. coli* e *Salmonella*, porém revelou a presença de *Plesiomonas shigelloides* em 33,3% dos isolados, correspondendo a 83,0% de isolamento em camarão de vida livre e 17,0% de cativeiro. Esta enterobactéria está relacionada com gastroenterite, principalmente, em crianças e idosos, além de septicemia em pacientes imunodeprimidos ou com doenças crônico-degenerativas podendo ser letal (BRENDEN *et al.*, 1988).

No cômputo geral, 53,4% das amostras de camarão de vida livre e 46,6% de camarão de cativeiro revelaram uma ou mais diferentes espécies das famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae. O percentual de isolados a partir do camarão de vida livre nos meses mais quentes do ano (Janeiro e Fevereiro) foi de 48,5%, e nos meses mais frios (Junho e Julho), de 8,4%. Em relação à sazonalidade a predominância destes microrganismos durante os meses de verão foi relatada por outros pesquisadores (KANECO & COLWELL, 1975; MULLER, 1978,; BLAKE *et al.*, 1980) corroborando com os resultados deste estudo.

5 CONCLUSÕES

- 1- Evidenciou-se a presença de espécies potencialmente patogênicas dos gêneros *Vibrio*, *Aeromonas* e *P. shigelloides* em elevado percentual no camarão de vida livre capturado no Canal de Itajuru e no camarão adquirido no comercio local, oriundo de fazendas de criação no Rio Grande do Norte;
- 2- Aponta-se resultados negativos para *Salmonella* spp.e *E.coli*,
- 3- Destacam-se entre as espécies isoladas neste estudo, aquelas de maior importância para a saúde pública, dada sua patogenicidade para o homem, são *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii* biog. *sobria*, *A. schubertii*, *Plesiomonas shigelloides*, *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus*.
- 4- Embora de baixa patogenicidade para o homem, *V. aestuarinus*, *V. harveyi* e *Aeromonas media* são de grande importância econômica para a aquicultura por sua alta patogenicidade para o pescado.
- 5- O maior percentual de isolamento bacteriano foi obtido nos meses quentes do ano.
- 6- O escasso conhecimento sobre algumas espécies do gênero *Vibrio* e *Aeromonas* implica na necessidade premente de desenvolver novos estudos, com intuito de caracterizar efetivamente os fatores envolvidos em sua capacidade de agressão aos vários hospedeiros.

6 RECOMENDAÇÃO

Mediante os resultados obtidos com esta pesquisa versando sobre camarões de vida livre coletados no Canal de Itajuru, Município de Cabo Frio, que evidenciaram a presença de cepas potencialmente patogênicas ao homem, salientamos a possibilidade de transmissão de doenças por manipulação e/ou consumo do pescado sem a realização de um processo de cocção eficiente.

Enfatizamos que os camarões são capturados e comercializados no próprio local, sem, contudo serem previamente analisados pela fiscalização sanitária.

Sugerimos que a fiscalização sanitária se certifique de que o pescado deste local esteja em condições de comercialização, já que foram detectadas várias cepas potencialmente patogênicas, incluindo a espécie *Vibrio parahaemolyticus*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. Código de Conduta e de práticas de manejo para o desenvolvimento de uma carcinicultura ambiental e socialmente responsável. Recife, 2001.
- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. O agronegócio do camarão marinho cultivado. Revista da ABCC, Recife, 2002.
- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. A carcinicultura brasileira em 2003. Revista da ABCC, Recife, 2004.
- AGUIRRE-GÚZMAN, G.; RUÍZ, H. M. & ASCENCIO, F. 2004. A review of extracellular virulence product of *Vibrio* species important in diseases of cultivated shrimp. *Aquaculture Research*. **35** (15): 1395-1404.
- ALAM, M. J. *et al.* Analysis of scawaters for the recovery of culturable *Vibrio* parahaemolyticus and some other *Vibrios*. *Microbiol Immunol*. **45** (5): 393-397. 2001.
- ALDAY-SANZ, M. V. 1994. Studies on the pathogenesis of *Vibrio* spp. Infection in *Penaeus monodon* Fabricius. Ph. D. thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling. UK. 227pp.
- ALVAREZ, J. D.; AUSTIN, B.; ALVAREZ, A. M.; QUINTER, B. & REYES, H. Estudio bacteriológico en camarones peneidos silvestres y bajo cultivo en Venezuela. 2000.
- ARAÚJO, V. S. 2001. **Estudo de Marcadores de Virulência em Cepas de Aeromonas isoladas de alimentos**. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Universidade Estadual do Rio de Janeiro.
- AASHBOLT, N. J.; BALL, A.; DORSCH, M.; TURNER, C.; COX, P.; CHAPMAN, A. & KIROV, S. 1995. The identification and human health significance of environmental aeromonads. *Wat. Sci. Tech*. **31** (5-6): 263-269.
- BAHLAOU, M. A.; BALEUX, B. & TROUSSELLIER, M. 1997. Dynamics of pollution indicator and pathogenic bacteria in high-rate oxidation wastewater treatment ponds. *Wat. Res*. **31** (3): 630-638.
- BARBIERI JÚNIOR, R. C. & OSTRENSKY NETO, A. **Camarões Marinhos: engorda**. v. II. Viçosa: Aprenda Fácil. 2002.
- BARBIERI JÚNIOR, R. C. & OSTRENSKY NETO, A. **Cultivo de Camarões Marinhos**, Viçosa, MG. 2003.
- BAUAB, T. M. **Aeromonas spp. de origem humana e ambiental: características fenotípicas, sorotípicas, genotípicas e de virulência**. Rio Claro – SP. Tese de

doutorado. Instituto de Biociências de Rio Claro – Universidade Estadual Paulista. 2000.

- BENCHOKROUN, S.; IMZILN, B. & HASSANI, L. 2003. Solar inactivation of mesophilic *Aeromonas* by exogenous photooxidation in high-rate algal pond treating waste water. *J. Appl. Microbiol.* **94**: 531-539.
- BLAKE, P. A.; WEAVER, R. E. & HOLLIS, D. G. Disease of humans (other than cholera) caused by vibrios. *Ann. Rev. Microbiol.* **34**: 341-367. 1980.
- BOCANERA, F.A. *et al.* *Vibrio parahaemolyticus*: Presence em ambientes marinos y mixohalinos de La provincia de Tujillo, Peru. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **23**: 135-140. 1981.
- BOUSSAID, A.; BALEUX, B.; HASSANI, L. & LESNE, J. 1991. *Aeromonas* species in stabilization pond in the arid region of Marrakesh, Morocco and relation to fecal pollution and climatic factors. *Microb. Ecol.* **21**: 11-20.
- BRENDEN, R. A.; MILLER, M. A. & JANDA, J. M. 1988. Clinical disease spectrum and pathogenic factors associated with *Plesiomonas shigelloides* infections in humans. *Review of Infectious Diseases*, **10**: 303-316.
- CILSJ. Consórcio Internacional Lago São João. <http://www.lagossaojoao.com.br/la-biodiversidade.htm>. 2007.
- CLARK N. M. & CHENOWETH, C. E. 2003. *Aeromonas* infection of the hepatobiliary system: report of 15 cases and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* **37**: 506-513.
- COLWELL, R. R. Global climate and infectious diseases: The cholera paradigm *Science* **274**: 2025. 1996.
- COSTA, G. A. & HOFER, E. **Isolamento e identificação de enterobactérias**. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 120p. 1972.
- COSTA, R. A. **Pesquisa de *Vibrio* no cultivo de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. no Estado do Ceará**. Universidade Federal do Ceará, 2007.
- CUNHA, P. E. Caracterização dos meios de cultivo de viveiros de carcinicultura e da lagoa de disposição dos efluentes no Rio Grande do Norte, subsídios para proteção dos ecossistemas deste estado. Escola de Engenharia de São Paulo (EESC). 2005.
- DALSGAARD, A. The occurrence of human pathogenic *Vibrio* spp. and *Salmonella* in aquaculture. *International Journal of Food Science and Technology*, **33**: 127-138. 1998.
- DANIELS, N. A.; RAY, B.; EASTON, A.; MARANO, W.; KAHAN, E.; MCSHAN, A. L.; DEL ROSARIO, L.; BALDWIN, T.; KINGSLEY, M. A.; PUHN, N. D.; WELLS, J. G. & ANGULO, F. J. 2000. Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in

- raw oysters: a prevention quandary. *The Journal American Medical Association*, **284**: 1541-1545.
- DAVIES, A. R.; CAPELL, C.; JEHANNO, D.; NUCHAS, G. J. E. & KIRBY, R. M. 2001. Incidence of foodborne pathogens on European fish. *Food Control*. **12**: 67-71.
- ELLIOT, E. L.; KAYSNER, C. A.; JACKSON, L. & TAMPLIN, M. L. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: FDA Bacteriological Analytical Manual. AOAC International Gaithersburg M D, 901-927. 1995.
- EWING, W.H. 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier, New York.
- FAO/OIE/WHO. Antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance. Report of a Joint Seoul, Korea, 13-16/06/2006.
- FALCÃO, D. P.; LUSTRI, W. R. & BAUAB, T. M. 1998. Incidence of non-O1 *Vibrio cholerae* and *Aeromonas* spp in freshwater in Araraquara, Brazil. *Current Microbiol.* **37**: 28-31.
- FIGUEIREDO, M.C. B. 2006. Impactos ambientais da carcinicultura de águas interiores. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. **11** (3): 231-240.
- FLORESCU, D. P.; NĂCESCU, N. & CIUFECU, C. *Vibrio cholerae* non group O1, associated with middle ear infection. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.* **40**: 369-372. 1981.
- GAMÉZ, C. T.; GALAVIZ, J. R. G.; SILVA, L. G.; GARZA, Z. J. & VELARDE, M. S. T. Detección y prevalência de *Vibrio* spp. em cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* en Sonora durante o ciclo 2003. *Revista Salud Pública y Nutrición*. Edición especial. n. **6**. 2004.
- GHENGHESH, K. S.; EL-GHODBAN, A.; DKAKNI, R.; ABEID, S.; ALTOMI, A.; TAHRUNI, A.; MARIALIGETI, K. Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. **96** (2): 169-173. 2001.
- GOPAL, S.; OTTA, S. K.; KUMAR, S.; KARUNASAGAR, I.; NISHIBUCHI, M & KARUNASAGAR, I. 2005. The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*. **102** (2): 151-159.
- GRAM, L.; TROLLE, G. & HUSS, H. H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* **4**: 65-72. 1990.
- GRANUM, E; PINNAVAIA, S. M. & ELLAR, D. J. 1988. Comparison of the *in vivo* and *in vitro* activity of the delta-endotoxin of *B. thuringiensis* var *morrisoni* (HD-12) and two

of its constituent proteins after cloning and expression in *E. coli*. *Eur. J. Biochem.* **172**: 731-738.

- GUIMARÃES, R. L.; VILLAS-BOAS, D. F.; LÁZARO, N. S. & RODRIGUES, D. P. Patógenos das famílias Vibrionaceae, Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae isolados de camarão (*Penaeus* spp.) de vida livre e de cativeiro no Rio de Janeiro. In: Dia Mundial da Alimentação SBCTA, 2007, RJ. Anais da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. São Paulo, 2007.
- GOARANT, C.; Regnier, F.; Brizard, R. & Marteau, A. L. 1998. Acquisition of susceptibility to *Vibrio penaeicida* in *Penaeus stylirostris* postlarvae and juveniles. *Aquaculture*. **169** (3-4): 291-296.
- GOOCH, J. A.; DE PAOLA, A.; BOWERS, J. & MARSHALL, D. L. Growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus* in postharvest American oysters. *Journal of Food Protection* **65**: 970-974. 2002.
- HARF-MONTEIL, C.; FLECHE, A. L.; RIEGEL, P.; PRÉVOST, G.; BERMOND, D.; GRIMONT, P. A. D. & MONTEIL, H. 2004. *Aeromonas simiae* sp. nov., isolated from monkey faeces. *Int J Syst Evol Microbiol* **54**: 481-485
- HEITMANN, G. I.; JOFRÉ, M. L.; HORMÁZABAL, O. J. C.; OLEA, N. A.; VALLEBUONA, S. C. & VALDÉS, H. C. 2005. Revisión y recomendaciones para El manejo de diarreia por *Vibrio parahaemolyticus*. Review and guidelines for treatment of diarrhea caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Chil. Infect.* **22** (2): 131-140.
- HOFER, E. 1987. *Vibrio cholerae* não O1 associado à infecção entérica humana no estado da Bahia, Brasil. *Rev. Microbiol. São Paulo*. **18**: 1-4.
- HOFER, E. 1974. Métodos utilizados para isolamento e identificação de *Vibrio cholerae*. Informe de Patologia Clínica, 1:5-18.
- HOFER, E. & SILVA, C. H. D. Caracterização sorológica de amostras de *Vibrio parahaemolyticus* isoladas de peixes capturados no litoral brasileiro. *Rev. Microbiol. São Paulo*. **17**: 327-331. 1986.
- JANDA, J. M. Genus XXXVII. *Plesiomonas* Habs and Schubert 1962. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2nd .ed. New York. Springer-Verlag; vol. 2, Parte B. p.740-744. 2005
- JANDA, J. M; & ABBOTT, S. L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding Panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clinical. Infectious Diseases*. **27** (2): 332-344. 1988.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- JOSEPH S.W., CARNAHAN A.M. 2000. Update on the genus *Aeromonas*. *ASM News*, **66**: 218-223.

- KANEKO, T. & COLWELL, R. R. 1975. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Appl. Microbiol.* **30**: 251-257.
- KARUNASAGAR, O. & KARUNASAGAR. 2001. Bacteriological study of shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius, hatcheries in India. *Journal of Applied Ichthyology.* **17**: 59.
- KELLY, M. T. & DAN STROH, E. M. 1989. Occurrence of Vibrionaceae in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* **9**: 1-6.
- KELLY, K. A. KOEHLER, M. & ASHDOWN, L. R. 1993. Spectrum of extraintestinal disease due to *Aeromonas* species in tropical Queensland, Australia. *Clinical of Infectious Diseases.* **16**: 574-579.
- KEUSCH, G. T.; DERESIEWICZ, R. L.; WALDOR, M. K. Cóleras e outras vibrioses. In: HARRISON, **Medicina Interna**. Vol 1. Editora McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda. 2002.
- KIYUKIA, C.; NAKAJIMA, A.; NAKAI, T.; MUROGA, K.; KAWAKAMI, H. & HASHIMOTO, H. *Vibrio cholerae* non O1 isolated from estuaries of the United States West Coast. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 1349-1351. 1992.
- KONEMANN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWWEL, J. R. V. R. & SOMMERS, H. M. **Diagnóstico microbiológico – texto e atlas colorido**. 2.ed. São Paulo: Medicina Panamericana Editora do Brasil Ltda. 1993.
- LEÃO, R.; RODRIGUES, D. P.; ARAÚJO, F.V. Ocorrência de *Vibrio* sp. potencialmente patogênicos nas regiões de Cabo Frio e Arraial do Cabo, RJ. In: XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005, Santos – SP. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia São Paulo: Pólo Gráfica e Offset, 2005. p. 302-302.
- LEE, J. V; SHREAD, P. & FURNISS, A. L. Taxonomy and description of *Vibrio fluvialis* sp. nov., (Synonym Group F Vibrios, Group EF6). *J. Appl. Microbiol.* **50**: 719-721. 1981.
- LIGHTNER, D. V. 1993. Disease of culture penaeid shrimp. In: Handbook of Mariculture Crustacean Aquaculture, CRC Press, Boca Ratón. 1993.
- MAGALHÃES, M.; MAGALHÃES, V.; ANTAS, M. G. *et al.* Caracterização bacteriológica e sorológica de linhagens de *Vibrio parahaemolyticus* isoladas de humanos e de ostras no Recife, Brasil. *Rev. Microbiol, SP.* **22** (2): 83-88. 1991.
- MAGALHÃES, M.; MAGALHÃES, V.; ANTAS, M. G. & TATENO, S. *Vibrio cholerae* non O1 isolated from sporadic cases of diarrhea in Recife, Brazil. *Rev. Microbiol., São Paulo.* **23**: 1-4. 1992.
- MATTÉ, M. H. Pesquisa de *Aeromonas* spp. potencialmente patogênicas em alguns pontos da Represa do Guarapiranga destinados à recreação e captação para abastecimento público. Dissertação de Mestrado. São Paulo – SP. 1995.

- MENEZES, F. G. R. Diversidade de *Vibrio spp.* em estuários no estado do Ceará associada à atividade de carcinicultura. Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Ciências Marinhas Tropicais. Universidade Federal do Ceará. 2005.
- MOLEND, J. R.; JOHNSON, W. G.; FISHBEIN, M.; WENTZ, B. M.; MEHLMAN, I. J.; & DADISMAN, T. A. *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland: Laboratory Aspects. *Appl. Microbiol.* **24**: 444-448. 1974.
- MORRIS Jr. J. G. *Vibrio vulnificus* – a new monster of the deep? *Ann. Intern. Med.* **109** (4): 261-263. 1988.
- MORRIS Jr. J. G.; WILSON, R.; HOLLIS, D. G.; WEAVER, R. E.; MILLER, H. G.; TACKET, C. O.; HICKMAN, F. W. & BLAKE, P. A. Illness caused by *Vibrio damsela* and *Vibrio hollisae*. *Lancet* **8284**: 1294-1297. 1982.
- MÜLLER, H. E. 1978. Occurrence and ecology of NAG vibrios in surface waters. *Zbl. Bakt. Hyg., I Abt. Orig. B.* **167**: 272-284.
- NOGUEIRA, J. M. R.; RODRIGUES, D. P. & HOFER, E. 2002. Viabilidade de *Vibrio cholerae* O1 em diferentes tipos de água em condições experimentais. *Cadernos de Saúde Pública.* **18**: 1139-1145.
- NUNES, A. J. P. *et al.* Panorama de aquicultura, Julho / Agosto de 2002. Por Nunes, A. J. P. & MARTINS, P. C. (Cedecam / Labomar / UF Cedecam). Instituto de Ciências do Mar. Universidade Federal do Ceará. 2002.
- OUDEKIRK, J. P.; DAVID, B.; TURETT, G. S. & MURALI, R. 2003. *Aeromonas* Meningitis complicating Medicinal Leech Therapy. *Clin. Infect. Dis.* **38**: 36-37.
- OXLEY, A. P. A.; SHIPTON, W.; OWENS, L. & McKAY, D. 2002. Bacterial flora from the gut of the wild and cultured banana prawn, *Penaeus merguensis*. *Journal of Applied Microbiology.* **93** (2): 214-223.
- PARODI, S. G.; PESO, O. A. 1983. Investigación de *Aeromonas* (móviles) en líquido cloacal de la ciudad de Buenos Aires y agua del Rio de la Plata. *Rev. Argent. Microbiol.* **15** (1): 33-39.
- PASQUALE, V. & KROVACEK, K. 2001. Isolament di *Plesiomonas shigelloides* da ambienti marini costieri. *Biologi Ital.* **6**: 47-50
- PEREIRA, A. L. EMBRAPA Meio Norte. Relatório do Treinamento em Patologia de Camarões Marinhos. Instituto Tecnológico de Sonora, Obrerozon – México. 2005.
- PEREIRA, C. S.; AMORIM, S. D.; SANTOS, A. F. M.; SICILIANO, S.; MORENO, I. M. B.; OTT, P. H & RODRIGUES, D. P. *Vibrio spp.* Isolados de mamíferos marinhos capturados na região litorânea do sudeste ao sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* **27** (2): 81-83. 2007.

- PETERSEN, A. & DALSGAARD, A. 2003. Antimicrobial resistance of intestinal *Aeromonas* spp. and *Enterococcus* spp. in fish cultured in integrated broiler-fish farms in Thailand. *Aquaculture*. **219**: 71-82.
- PIANETTI, A.; SABATINI, L.; BRUSCOLINI, F.; CHIAVERINI, F. & CECCHETTI, G.; Faecal contamination indicators, *Salmonella*, *Vibrio* and *Aeromonas* in water used for the irrigation of agricultural products. *Epidemiol. Infect.* **132**: 231-238.
- RADU, S.; AHMAD, N.; LING, F. H.; REEZAL, A. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology* **81**: 261-266. 2003.
- RETAMALES, R. Bacterial community composition in a semi-intensive shrimp culture of *L. vannamei* during El Niño 1997-98 and La Niña 1999. *Investigaciones Marinas*. **30** (1). 2002.
- RIBEIRO, R. V.; ESPOSTO, E. M.; REIS, C. M. F.; SILVA, W. C. P.; REIS, E. M. F.; LÁZARO, N. S. & RODRIGUES, D. P. Potential health risks associated na aquaculture waste water system. *In: International Meeting on Microbial Epidemiological Markers*. 2005. Victoria. Proceedings on IMM7. Washington: ASM – ESCMID, 2005. p: 72-72.
- RIGUETTI, A. L, SOARES, F. de F. L.; RODRIGUES, L. F. T.; BOTELHO, D. A.; DOMINGOS, P. Monitoramento de Qualidade de Água Lagoa de Araruama. **FEEMA**. 2007.
- RODRIGUES, D. P. 1983. Ocorrência de bactérias potencialmente patogênicas no ecossistema água-ostra da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro – RJ. Tese de Mestrado – UFF. 83p.
- RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V., ALVES, R. M. & HOFER, E. Evaluation of virulence factors in environmental isolates of *Vibrio* species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, RJ*. **88**: 589-592. 1993.
- RODRIGUES, S. M. A.; GONÇALVES, E. G. R.; MELLO, D. M.; OLIVEIRA, E. G. & HOFER, E. 2001. Pesquisa de bactérias do gênero *Vibrio* em feridas cutâneas de pescadores do município de Raposa – MA. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **34** (5): 407-411.
- ROLSTON, K. V. I. & HOPFER, R. L. 1984. Diarrhea due to *Plesiomonas shigelloides* in cancer patients. *Journal of Clinical Microbiology*. **20**: 597-598.
- SAMPAIO, Y.; & COSTA, E. 2003. Geração de empregos direto e indiretos na cadeia produtiva do camarão cultivado. *Revista da ABCC*. **1**: 60-64.
- SAHA, D.; PAL, J. In vitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from EUS-affected fishes in India. *Letters in Applied Microbiology*, **34**: 311-316. 2002.
- SERRA, C. L. M.; CAVALCANTE, P. R.; ALVES, L. M. C.; NASCIMENTO, A. R. & DINIZ, S. C. C. S. 2003. Avaliação de parâmetros físico-químicos e pesquisa de

Vibrio parahaemolyticus em águas do estuário do rio Anil (São Luís, Estado do Maranhão). *Acta Scientiarum Biological Sciences*. **25** (2): 261-266.

SILVA, R. P. P. **Fatores interferentes na frequência da vibriose em camarão marinho.** Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2007.

SMOOT, L. M. & PEARSON, M. D. Indicator microorganisms and microbiological criteria. *In: Doyle, M. P.; Beuchatm L. R. & Montville, T. J. Food Microbiology, fundamentals and frontiers.* Washington: ASM Press. 66-80. 1997.

SOUSA, J. A.; SILVA-SOUZA, A. T. Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **44** (4): 373-381. 2001.

SUNG, H. H.; LI, H. C.; TSAI, F. M.; TING, Y. Y. & CHAO, W. L. 1999. Changes in the com of *Vibrio* communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultura in the hepatopancreas of healthy and diseased shrimp. *Journal of Experimental Marine a Ecology*. **236**: 261-271.

THOMPSON, C. A. & VANDERZANT, C. Relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters, water and sediment, and bacteriological and environmental indices. *J. Food. Sci.* **41**: 117-122. 1976.

TIETJEN, M & FUNG, D. Y. C. 2005. Salmonella and food safety. *Critical Reviews in Microbiology*, **21** (1): 53-83.

USERA, M. A., CANO, R., ECHEITA, A. 2005. Analysis of *Salmonella* sp. Serotypes isolated in Spain in 2000-2002. *Enferm Infec. Microbiol Clin.* **133**: 138-145.

VANDENBERGHE, J. *et al.* 1999. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock, and hatchery probionts. *App. and Envir. Microbiol.* **65**(6): 2592-2597.

VASEEHARAN, B. & RAMASAMY, P. 2003. Abundance of potentially pathogenic microorganisms in *Penaeus monodon* larvae rearing systems in India. *Microbiology Research*. **158**: 299-308.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado.** São Paulo, Livraria Varela, p. 299. 2004.

VIVEKANANDHAN, G.; SAVITHAMANI, K.; HATHA, A. A. M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. *International Journal of Food Microbiology*. **76**: 165-168. 2002.

VOLLENWEIDER, R. A. *et al.* Eutrophication, structure and dynamic of a marine coastal system: Results of Tem – year monitoring along the Emilia-Romagna Coast (Northwest Adriatic Sea). *Sci Total Environ.* 63-106. 1992.

- WATKINS, W. D.; CABELLI, V. J. Effect of fecal pollution on *Vibrio parahaemolyticus* densities in an estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **50**: 1490-1495. 1985.
- WEST, P. A. The human pathogenic vibrios – A public health update with environmental perspectives. *Epidemiol. Infect.* **103**: 1-34. 1989.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cholera and other *Vibrio* associated diarrhoeas. Report of a sub-group of the scientific working group on epidemiology and etiology. (Geneva, 24-27 September, 1979). 1980.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Epidemic diarrhoea due to *Vibrio cholerae* non O1. *W. E. R.* **68**: 141-142. 1993.
- ZEBRAL, A. A. Isolamento e caracterização de *Vibrio* lactose-positivo, de mexilhões da Baía da Guanabara, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Microbiol.* 16 (1): 46-48. 1985.

ANEXO I

MEIOS DE CULTURA E REAGENTES EMPREGADOS

Os meios de cultura foram, na sua maioria, os comercializados sob a forma desidratada. Por isso, nesta parte, serão descritas somente as fórmulas dos meios não industrializados.

Água Peptonada Alcalina

Cloreto de sódio	10g
Peptona	10g
Água destilada	1000mL

Ajustar o pH a 8,4 e a seguir esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Prova de Voges – Proskauer

Prova para identificação de enterobactérias e outros bacilos Gram-Negativo, método de *Barrit*.

Solução A:

Naftol	5,0 g
Álcool etílico absoluto	100mL

Solução B:

KOH	40g
Água	100mL

TCBS: (tiosulfato, citrato, sais biliares, sacarose) Ágar:

Fórmula:

Extrato de levedura	0,5g
Peptona	10g
Citrato de sódio	10g
Tiosulfato de sódio	10g
Cloreto de sódio	10g
Sais biliares	08g
Citrato férrico	0,1g
Sacarose	20g
Azul de bromotimol	0,04g. \Rightarrow pH = 8,6 \pm 0,2
Azul de timol	0,04g
Ágar	15g
Água destilada estéril	1000mL

Meio básico para fermentação de açúcares (COSTA & HOFER, 1972)

Bacto peptona (Difco)	10 g
Cloreto de sódio	10 g
Indicador de Andrade	10 mL
Água destilada	1000 mL

Ajustar o pH entre 7,0 a 7,2, distribuir em volumes de 3 a 5mL e esterilizar de acordo com as especificações abaixo:

Os carboidratos representados pela glicose, lactose, sacarose e manita foram incorporados na concentração de 1g% e arabinose e manose a 0,5g%.

Os meios contendo glicose e manitol foram esterilizados a 110°C por 15 minutos e os demais esterilizados por filtração em *Seitz*.

Meio básico para o reconhecimento de halotolerância (FISHBEIN & WENTZ, 1973)

Base:

Bacto triptona (Difco)	10g
Água destilada	100mL

Ajustar o pH a 7,0 e adicionar o cloreto de sódio, de acordo com a concentração desejada:

3g de NaCl / 100mL da base

6g de NaCl / 100mL da base

8g de NaCl / 100mL da base

10g de NaCl / 100mL da base

Esterilizar a 121° C por 15 minutos.

Meio para manutenção de cultura (COSTA & HOFER, 1972)

Trypticase (bbl)	1,0g
Cloreto de sódio	1,0g
Água destilada	100mL

Ajustar o pH a 7,6, esterilizar a 121°C durante 20 minutos, distribuir em tubos em posição discretamente inclinada a vedar com rolhas de silicone esterilizadas e parafinadas.

Meio Ágar Wagatsuma – Para teste de Kanagawa em cepas *V. parahaemolyticus* (ICMSF, 1978).

Meio basal

Extrato de levedura	5,0 g	0,5g
Peptona	10g	1,0g
Manitol	5,0g	0,5g
Cristal violeta 0,1% p/v. em álcool etílico	1,0mL	0,1mL
Bacto Ágar	15g	1,5g
Cloreto de Sódio	70g	7,0g
Água destilada estéril	1000mL	100mL
	40 placas	4 placas
		pH: 7.5 – 8.0

Adicionar somente após medir o pH e ajustar.

Não autoclavar o meio.

Mantê-lo a temperatura 50°C.

Adicionar:

100mL de sangue (20%) – para 1000mL ou 10mL de sangue (20%) para 100mL.

Manter o meio pronto em geladeira (4°C) por no máximo 4 dias.

Semear em *spot*, cepa crescida em BHI 1% de 24 horas (a partir de Ágar nutriente 1% - 24h).

Preparo da suspensão de eritrócitos:

Sangue humano tipo O coletado em Erlenmeyer contendo pérolas de vidro esterilizadas. A seguir, desfibrinar o sangue mediante suave agitação. Lavar os eritrócitos por três ou mais vezes com salina 0,85% estéril. Após a última centrifugação, desprezar o sobrenadante e suspender o precipitado na proporção de 1:4 de salina 0,85%. Em caso de usar anticoagulante recomenda-se o citrato de sódio 15%.

Ágar-lisina ferro (LIA)

Peptona	5,0g
Extrato de Levedura	3,0g
Glicose	1,0g
Citrato Férrico Amoniacal	0,5g
Tioissulfato de Sódio	0,04g
Púrpura de bromocresol	0,02g
Ágar	14,5g ⇒ pH 6,7 ± 0,2.
Água destilada estéril	1000mL

Ágar-nutriente

Extrato de carne	3,0g
Peptona	5,0g

Ágar	15,0g
Água destilada estéril	1000mL

Kliger Iron Ágar – Fab. Oxoid.

Extrato de levedura	3,0g
Peptona	20g
Cloreto de sódio	5,0g
Lactose	10,0g
Glicose	1,0g
Citrato de ferro	0,3g
Tiosulfato de sódio	0,3g
Vermelho de fenol	0,05g
Ágar	12g ⇒ pH 7,4 ± 0,2
Água destilada estéril	1000mL

Ágar Stock

Ágar nutriente	23 g
Cloreto de sódio	5,0g
Fosfato de sódio dibásico	20g
H ₂ O destilada	1000mL
Esterilizar	120°C / 15 min.

Ágar Amido

Triptona bacteriológica	5 g
Peptona bacteriológica	5g
Cloreto de sódio	5g
Vermelho de fenol	5 g
Amido	10g
Ágar	15g
Água destilada	1000mL

Ágar EMB (Eosina Azul de Metileno Segundo Levine)

Hidrolisado pancreático de gelatina, USP	10g
Lactose.	5 g
Sacarose.	5g
Fosfato di-potássico.	2 g
Eosina amarela.	0,4 g
Azul de metileno.	0,065 g
Ágar.	13,5 g

Ágar Para Enterobactérias de Hektoen

Proteose- peptona	12,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Extrato de Levedura	3,0 g
Lactose	12,0 g
Sacarose	12,0 g
Salicina	2 g
Tiosulfato de sódio	5,0 g
Citrato de Ferro e amônia	1,5 g
Sais Biliares	9,0 g
Azul de bromotimol	0,064 g
Fucsina ácida	0,04 g
Ágar	13,5 g

Caldo Rappaport-Vassiliadis

Peptona de soja	5,0g
Cloreto de sódio	8,0g
Fosfato monopotássico	1,6g
Cloreto de magnésio	40g
Verde malaquita	0,04g