

Avaliação de parâmetros físicos e químicos e pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* em águas do estuário do rio Anil (São Luís, Estado do Maranhão)

Carmen Lucia Martins Serra^{1*}, Paulo Roberto Saraiva Cavalcante², Lúcia Maria Coêlho Alves³, Adenilde Ribeiro Nascimento⁴ e Sílvia Cristina Costa de Santana de Diniz²

¹Mestrado Saúde em Ambiente, Universidade Federal do Maranhão. ²Departamento de Limnologia e Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão. ³Departamento de Patologia, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão. ⁴Departamento de Tecnologia Química, Universidade Federal do Maranhão. *Autor para correspondência. Rua Nova, 70, Anil, São Luís, Maranhão, Brasil. e-mail: calms@zipmail.com.br ou calmserra@hotmail.com.br

RESUMO. Avaliação dos parâmetros físico-químicos e isolamento de *Vibrio parahaemolyticus* em águas do estuário do rio Anil (São Luís-MA, Brasil), em bancos naturais de moluscos. Foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP) com enriquecimento e subsequente isolamento em agar tiossulfato-citrato-sacarose-sais-biliares (TCBS). Adicionalmente, foram monitorados "in situ" alguns parâmetros físico-químicos. As determinações para o pH variaram (7,25 a 7,90), O₂ (0,20 a 1,2mg/L), T°C (29 a 32°C), S‰ (5 a 28,0 UPS), NH₄⁺ (0,04 a 3,41mg/L), NO₂⁻ (0,10 a 1,91mg/L), PO₄³⁻ (0,03 a 4,88mg/L). Em 56,1% na estação I e 55,4% na estação II, apresentaram positividade, para *V. parahaemolyticus*, com níveis entre 1,1x10 e > 1,1x10⁵NMP/mL. Os resultados exigem uma atenção especial por parte dos órgãos de Controle Ambiental e de Saúde Pública locais, uma vez que os recursos vivos deste ecossistema são sistematicamente explorados pelas comunidades ribeirinhas para fins de consumo e comercialização.

Palavras-chave: parâmetros físicos e químicos, *Vibrio parahaemolyticus*, estuário, nutrientes, análises de água.

ABSTRACT. Evaluation of physical and chemical parameters and research on *Vibrio parahaemolyticus* in water samples from Anil river estuary (São Luis, state of Maranhão, Brazil). Study of physical and chemical parameters and isolation of *Vibrio parahaemolyticus* in some water samples from Anil river estuary (São Luis, state of Maranhão, Brazil) at natural banks of mollusks. The technique of the most probable number (MPN) with enrichment and a subsequent isolation was used in Thiosulphate citrate bile salt agar (TCBS). In addition, some physical and chemical parameters were monitored "in situ". The determinations for pH varied (7.25 to 7.90), O₂ (0.20 to 1.2mg/L), T°C (29 to 32°C), S‰, (5 to 28.0 UPS), NH₄⁺ (0.04 to 3.41mg/L), NO₂⁻ (0.10 to 1.91mg/L), PO₄³⁻ (0.03 to 4.88mg/L). The presence of *V. parahaemolyticus* was detected in 56.1% of station I and 55.4% of station II with levels from 1.1x10 to 1.1x10⁵MPN/mL). The results require some special attention from the environmental control and Public Health organizations as soon as possible because the riverain communities are exploring the alive resources from that ecosystem as their own feeding and commerce.

Key words: physical and chemical parameters *Vibrio parahaemolyticus*, estuary, nutrients, water analysis.

Introdução

A infecção intestinal provocada pela bactéria *Vibrio parahaemolyticus* foi reconhecida inicialmente no Japão, quando ocorreu o primeiro surto de gastroenterite aguda naquele país. Foi considerado veículo da enfermidade uma espécie de sardinha jovem, com parcial desidratação, conhecida

popularmente no Japão por "shirasu", na qual foi isolado o microrganismo (Fujino *et al.*, 1951).

Os vibrios patogênicos, principalmente aqueles com características halofílicas, são encontrados com maior frequência em águas que apresentam uma ampla faixa de salinidade, semelhante àquela encontrada em estuários e áreas costeiras (Kelly e Stroh, 1988; Colwell, 1996).

V. parahaemolyticus tem ocorrência comum em ambientes onde a temperatura da água encontra-se acima de 15°C (Icmsf, 1996; Roitman et al., 1998), sendo mais frequentemente isolado em meios com temperaturas situadas entre 30°C e 37°C (Beuchat, 1982). Além de temperaturas elevadas, a multiplicação do *V. parahaemolyticus* geralmente ocorre sob condições de abundância de nutrientes inorgânicos, devido ao aproveitamento destes compostos na sua nutrição (Christovão, 1967) em ambientes ligeiramente alcalinos, com pH na faixa de 7,5 a 8,6 (Beuchat, 1982), muito embora a presença da bactéria possa ocorrer acima e abaixo desses valores (Adams e Moss, 2002).

A virulência das cepas patogênicas do *V. parahaemolyticus* se distingue das não patogênicas pela produção de uma hemolisina termoestável - *Thermostable direct Hemolysin* (TDH), que está, de alguma forma, associada à gastroenterite causada pelo microrganismo. Das cepas isoladas de pacientes com infecção intestinal causada por *V. parahaemolyticus*, 95% produzem hemolisina e são designadas por Kanagawa positiva, enquanto que das cepas isoladas de amostras ambientais 99%, são Kanagawa negativa (Icmsf, 1996).

A bactéria tem sido isolada em água de estuários (Watkins e Cabelli, 1985), ostras (De Paola et al., 1990; Ellison et al., 2001), algas (Kumazawa et al., 1990) e em amostras clínicas (Pan et al., 1997; Daniels et al., 2000). No Brasil, tem-se verificado sua ocorrência em moluscos (Leitão e Arina, 1976; Gelli et al., 1979; Zebreal, 1988; Sousa, 1989; Archer e Moretto, 1994; Lira et al., 2001; Pereira, 2001), caranguejo e água (Sousa, 1989), fezes (Hofer, 1983; Magalhães et al., 1991), lagostas (Vieira e Iaria, 1993) e feridas cutâneas (Rodrigues, 2001).

Assim, o intuito deste trabalho é considerar os riscos de *V. parahaemolyticus* para a saúde pública, devido à precariedade do saneamento básico da área em estudo e, além disso, considerar também a possibilidade de utilização dessa bactéria e das características de certos parâmetros físicos e químicos das águas como indicadores da qualidade ambiental dos ecossistemas aquáticos.

Material e métodos

Foram obtidas amostras de água para isolamento de *V. parahaemolyticus* durante a baixa-mar, em áreas correspondentes a bancos naturais de ocorrência de moluscos (*Mytella falcata* e *Anomalocardia brasiliiana*) no estuário do rio Anil, localizado a noroeste da Ilha do Maranhão. Estes organismos são sistematicamente extraídos pela população de baixa renda para fins de subsistência e comercialização.

A amostragem foi realizada com frequência mensal, durante o período compreendido entre setembro de 2001 e agosto de 2002, em dois pontos distintos do estuário: a estação I, situada sob a ponte Bandeira Tribuzzi, encontra-se numa área de maior influência das águas salinas da baía de São Marcos, enquanto que a estação II localiza-se mais a montante da foz do rio (Figura 1).

As coletas foram efetuadas manualmente com auxílio de frascos de polietileno, previamente descontaminados com uma solução de ácido clorídrico a 10%. Em seguida, as amostras foram transportadas em caixa isotérmica para o laboratório, onde foram realizadas análises de oxigênio dissolvido (método analítico), fósforo inorgânico, nitrito e amônia, utilizando espectrofotômetro para determinação das concentrações, conforme metodologias preconizadas por Aminot e Chaussepied (1983). Durante a amostragem, foram medidos "in situ" alguns parâmetros físicos e químicos da água, como pH (potenciômetro Hanna-HI9025C), temperatura e salinidade (termosalinômetro YSI Modelo 33).

Para as análises microbiológicas, foram obtidas 20 amostras em frascos de vidro estéril de boca larga. Em seguida, as amostras foram transportadas em uma caixa isotérmica para o laboratório. O tempo entre a coleta e início das análises não ultrapassou o período de três horas.

A metodologia adotada para isolamento, identificação e quantificação pela técnica do Número Mais Provável (NMP) do *V. parahaemolyticus* seguiu as recomendações técnicas adotadas por Barros e Vianni (1980) com algumas modificações descritas a seguir.

Para o enriquecimento foi utilizada água peptonada a 1% com NaCl a 3%, seguindo a metodologia de Elliot et al. (2001) ao invés de glucose salt teepol broth (GSTB). Foram preparadas diluições variando de 10^{-1} a 10^{-6} em água peptonada alcalina que ficaram em repouso. Após 6 horas, foi realizado o plaqueamento em meio seletivo Agar tiosulfato-citrato-sacarose-sais-biliares (TCBS), do qual foram isoladas colônias verde-azuladas pequenas em meio TSA, a partir das quais foram realizadas as provas bioquímicas: TSI, oxidase, halofilismo (0%, 6%, 8% e 10%), oxidação/fermentação da glicose, fermentação da sacarose, frutose, manitol, lactose, arabinose, descarboxilação da lisina/ornitina e hidrólise da arginina, Voges Proskauer, crescimento a 42°C, indol, uréia, citrato, ONPG e como teste complementar o teste API 20E (Overman e Overley (1986) para confirmação da bactéria. A quantificação da espécie, por amostra, foi realizada pela técnica do Número Mais Provável (NMP), após isolamento e identificação das cepas

positivas de *V. parahaemolyticus*, levando em conta o número de alíquotas positivas referentes às diversas diluições utilizadas.

- Os dados foram analisados estatisticamente (teste de correlação de Pearson) por meio da correlação entre o Número Mais Provável de *V. parahaemolyticus* e dos parâmetros físico-químicos e nutrientes da água do estuário.

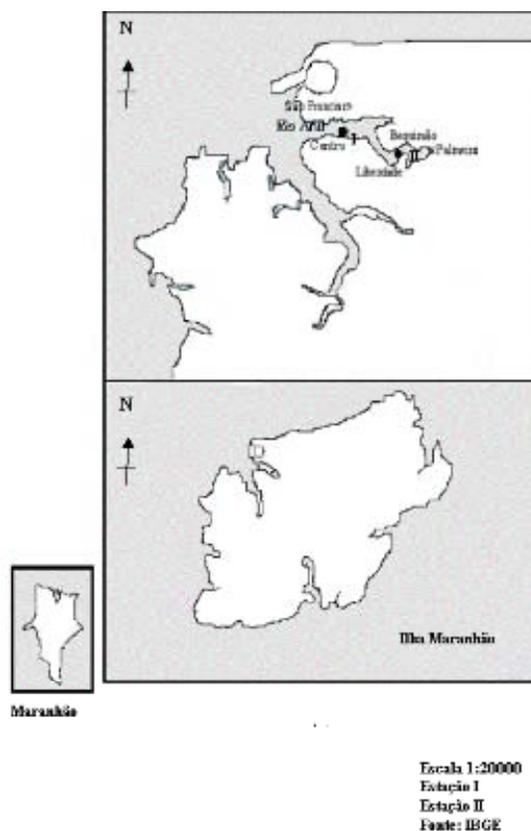


Figura 1. Localização da área de estudo e dos pontos de coleta.

Resultados e discussão

Os resultados referentes ao comportamento da temperatura não evidenciaram variações significativas deste parâmetro nas duas estações durante o período amostrado, com valores oscilando entre 29°C e 31°C na estação I, e entre 30°C e 32°C na estação II. Para ambas as estações, verificou-se uma variação máxima de apenas 2°C durante o ano, que é típica para a região. Os valores da temperatura se situaram dentro da faixa considerada ótima (29°C a 32°C) para o crescimento de espécies patogênicas, tais como o *V. parahaemolyticus* (Williams e La Rock, 1985; Adams e Moss, 2002).

Com relação à salinidade da água (Tabela 1) observou-se uma ampla variação deste parâmetro,

com valores entre 5,0 e 28,0 UPS na estação I e de 8,9 a 22,5 UPS na estação II, variações estas situadas dentro da faixa de maior frequência de isolamento de vibrios patogênicos em águas estuarinas e costeiras, cuja gama de salinidade pode variar de 5 a 30 UPS (Kelly e Stroh, 1988; Colwell, 1996). Alguns estudos relatam, igualmente, casos de isolamento de *V. parahaemolyticus* em baixas concentrações salinas da ordem de 2,74 a 4,16 UPS (Lira *et al.*, 2001).

Tabela 1. Valores das salinidades (UPS) das águas do estuário do Rio Anil entre setembro de 2001 e agosto de 2002, nas estações I e II (São Luís – MA, Brasil).

Meses	Estação I	Estação II
Set/01	28,0	22,5
Out/01	22,0	13,0
Nov/01	19,5	20,0
Dez/01	15,0	18,5
Jan/02	13,0	5,0
Fev/02	14,0	14,0
Mar/02	13,0	14,5
Abr/02	10,0	9,0
Mai/02	11,0	9,5
Jun/02	14,5	14,0
Jul/02	14,5	14,0
Ago/02	10,0	8,9

As maiores salinidades da água registradas nesse estudo ocorreram durante os meses de setembro e dezembro, período caracterizado pela ausência de chuvas e intensa evaporação, enquanto que as mais baixas foram verificadas nos meses de janeiro e julho, nas duas estações, devido ao efeito de diluição produzido pelas águas pluviais, que são abundantes nesta época do ano.

O pH mostrou-se pouco variável, com valores ligeiramente alcalinos, oscilando na estação I entre 7,30 e 7,92 e na estação II, entre 7,25 e 7,90 durante o período amostrado. Estes valores são comuns em corpos d'água onde existem misturas de água doce com água salgada.

O oxigênio dissolvido é um parâmetro muito importante na determinação da qualidade dos ecossistemas aquáticos, tendo como principais fontes a atmosfera e a fotossíntese. As perdas da água ocorrem devido à respiração ou por consumo, quando há decomposição de matéria orgânica, além de processos de oxidação química (Esteves, 1988). No estuário do rio Anil, as concentrações de oxigênio foram muito baixas, na ordem de 0,25 a 1,2mg/L na estação I e 0,20 a 1,0mg/L na estação II. Os baixos níveis de oxigenação das águas ocorreram, provavelmente, devido à grande quantidade de material orgânico de origem natural e antrópica (esgotos), e à elevada turbidez das águas locais, o que diminui a solubilidade deste gás.

Os resultados para os nutrientes mostraram valores de fosfato variando de 0,11 a 3,26mg/L;

nitrito de 0,10mg/L a 1,91mg/L e amônia de 0,14 a 3,41mg/L, na estação I; enquanto que na estação II, o fosfato oscilou entre 0,06 e 4,88mg/L, nitrito entre 0,22 e 1,69mg/L e amônia entre 0,06 e 2,95mg/L. Constatou-se que as maiores concentrações de nutrientes ocorreram nos meses de novembro e dezembro, nas duas estações, período este caracterizado pela ausência de chuvas. As mais baixas foram verificadas nos meses de janeiro a julho, também nas duas estações.

De acordo com Watkins e Cabelli (1985), as maiores concentrações de nutrientes em águas poluídas por efluentes domésticos resultam em uma bioestimulação de fitoplâncton que, de forma indireta, aumenta a população zooplânctônica e, por extensão, a de *V. parahaemolyticus*.

Segundo Bocanegra et al. (1981), Vollenweider et al. (1992) e Alam et al. (2001), o suprimento excessivo de nutrientes inorgânicos (eutrofização) pode levar à uma excessiva produção da biomassa primária (acúmulo de matéria orgânica no meio), situação que é compatível com a realidade do estuário do rio Anil. Este fato pode favorecer ao desenvolvimento e manutenção de espécies patogênicas de vibrio, além de outros microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, gerar problemas de saúde pública.

Os resultados do isolamento do *V. parahaemolyticus* e seus respectivos percentuais de positividade, nas diferentes estações de coleta, estão expressos na Tabela 2. Do total de 92 amostras de água positivas para o microrganismo, 46 (56,1%) na estação I e 46 (55,4%) na estação II, indicando que as águas do estuário encontram-se com uma alta incidência da bactéria. Estes resultados são similares aos encontrados por Lira et al. (2001), que confirmaram a presença do *V. parahaemolyticus* em 53,3% das amostras de águas estuarinas, moderadamente poluídas por esgotos domésticos do Canal de Santa Cruz em Itapissuma (PE), e ligeiramente menores do que os encontrados por Barros e Vianni (1980) nas águas poluídas da Baía da Guanabara, onde 61,6% das amostras analisadas foram positivas para a bactéria e menores ainda do que os resultados verificados por Leitão and Arina (1976) que obtiveram índices elevados de positividade em 100% das amostras de água do litoral de São Paulo.

O Número Mais Provável de bactéria indicou variações entre $1,1 \times 10^1$ e $> 1,1 \times 10^5$ mL, com registros muito semelhantes entre as estações amostrais (Tabela 3), provavelmente, devido ao fato de que tanto a estação I quanto a estação II

(montante) estarem localizadas em zonas receptoras de efluentes domésticos “in natura”.

Tabela 2. Número de cepas confirmadas de *Vibrio parahaemolyticus* isoladas das águas do estuário do Rio Anil entre setembro de 2001 e agosto de 2002, nas estações I e II (São Luís, Maranhão, Brasil)

Pontos de coleta	Número de amostras	Número de cepas isoladas	Cepas Positivas	%
Estação I	10	82	46	56,1
Estação II	10	83	46	55,4
Total	20	165	92	-

Tabela 3. O Número Mais Provável de *Vibrio parahaemolyticus* nas águas do estuário do rio Anil entre setembro de 2001 e agosto de 2002, nas estações I e II (São Luís, Maranhão, Brasil).

Período de coleta	Número mais provável (NMP)/mL	
	Estação I	Estação II
Set/01	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Out/01	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Nov/01	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Dez/01	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Jan/02	$1,1 \times 10^1$	$2,7 \times 10^1$
Fev/02	$3,6 \times 10^1$	$3,0 \times 10^1$
Mar/02	$1,1 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$
Abr/02	$> 1,1 \times 10^5$	$> 1,1 \times 10^5$
Mai/02	$1,5 \times 10^2$	$6,1 \times 10^2$
Jun/02	$1,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$
Jul/02	$2,7 \times 10^2$	$7,4 \times 10^2$
Ago/02	$2,0 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$

As correlações entre os índices do *Vibrio parahaemolyticus* e as variáveis amostradas não mostraram significância para as duas estações (Tabela 4). As pobres correlações entre as concentrações da bactéria e o pH, oxigênio dissolvido, temperatura e nutrientes talvez decorram do fato destas variáveis terem apresentado baixas amplitudes durante o período de amostragem, além de que outros parâmetros, não monitorados neste estudo, poderiam estar influenciando na incidência da bactéria. Quanto a salinidade, embora esta variável tenha oscilado amplamente, a ausência de correlações com o *Vibrio parahaemolyticus* decorre, provavelmente, da amplitude desta variável encontrar-se dentro da faixa de maior frequência do microrganismo.

Tabela 4. Correlação entre as concentrações de *Vibrio parahaemolyticus* e os parâmetros físico - químicos nas estações I e II do estuário do rio Anil (São Luís, Maranhão, Brasil).

Parâmetros	ESTAÇÃO I		ESTAÇÃO II	
	r ¹	p*	r ¹	p*
Temperatura	-0.48	0.15	-0.56	0.09
Salinidade	-0.11	0.75	-0.09	0.79
Oxigênio	0.03	0.92	0.03	0.92
pH	-0.05	0.87	-0.04	0.91
Amônia	0.36	0.30	-0.12	0.72
Nitrito	0.28	0.43	0.42	0.22
Fosfato	0.30	0.38	0.14	0.69

* não significativo para $p \geq 0.05$
1. coeficiente de correlação de Pearson

O comportamento da temperatura difere daquele verificado em outros estudos realizados na Índia (Nair *et al.*, 1980), Baía de Guanabara (Barros e Vianni, 1980), Costa dos Estados Unidos (De Paola *et al.*, 1990; Daniels *et al.*, 2000) e Taiwan (Pan *et al.*, 1997), onde a bactéria está presente em grande número durante o verão, período no qual tem sido registrado caso de infecção relacionado ao *Vibrio*. A ausência de correlação com a temperatura pode ser explicada pela baixa amplitude desta variável ao longo do período de estudo (2°C), típicas de regiões situadas próximas ao equador, embora este seja um fator condicionante do desenvolvimento e multiplicação do microrganismo, notadamente nas regiões temperadas, onde são mais notáveis as amplitudes deste parâmetro.

Os índices encontrados neste trabalho foram superiores aos registrados por Watkins e Cabelli (1985) que obtiveram índices variando entre < 1 a $6,1 \times 10$ NMP/mL em águas da Baía Narragansett (EUA), mas na mesma ordem de grandeza daqueles determinados por Barros e Vianni (1980), em águas da baía da Guanabara, cujos valores foram de $0,12 \times 10^4$ a $1,68 \times 10^4$ NMP/mL.

Os elevados índices de *V. parahaemolyticus* verificados nas água do rio Anil representam um risco de contaminação para a fauna aquática, em especial para os moluscos, já que estes são bioacumuladores de microrganismos, podendo desencadear uma toxínose alimentar pela ingestão dos mesmos.

O crítico quadro ambiental e sanitário do estuário do rio Anil exige avaliações microbiológicas e ambientais mais detalhadas, com amostragens mais frequentes e sob diferentes fases de marés, de modo a melhor definir suas flutuações. Há também necessidade de uma atenção especial por parte dos órgãos de Controle Ambiental e de Saúde Pública locais, uma vez que na área ocorrem bancos naturais de moluscos (*Mytella falcata* e *Anomalocardia brasiliana*), que são sistematicamente explorados pelas comunidades ribeirinhas.

Referências

- ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. *Food Microbiology*. Guildford: Ed. R. S. C., 2002.
- ALAM, M.J. *et al.* Analysis of seawaters for the recovery of culturable *Vibrio parahaemolyticus* and some other Vibrios. *Microbiol. Immunol.*, Tokyo, v. 45, n. 5, p. 393-397, 2001.
- AMINOT, A.; CHAUSSEPIED, M. *Manual des Analyses Chimiques en Milieux Marin*. CNEXO. Brest/France. 1983. 395p.
- ARCHER, R.M.B.; MORETTO, E. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em Mexilhões (*Perna perna*, Linnaeus) de banco natural do litoral do município de Palhoça, Santa Catarina-Brasil. *Cad. Saude Publ.*, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 388-378, 1994.
- BARROS, G.C.; VIANNI, M.C.E. *Vibrio parahaemolyticus*: isolamento e identificação em águas da Baía de Guanabara. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, Mexico, v. 22, p. 163-169, 1980.
- BEUCHAT, L.R. *Vibrio parahaemolyticus*: public health significance. *Food Technol.*, Chicago, p. 80-84, 1982.
- BOCANEGRA, F.A. *et al.* *Vibrio parahaemolyticus*: Presence em ambientes marinos y mixohalinos de la provincia de Tujillo, Peru. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, Mexico, v. 23, p. 135-140, 1981.
- COLWELL, R.R. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. *Science.*, Washington, DC, v. 274, p. 2025-2031, 1996.
- CHRISTOVÃO, D.A. Relatividade do significado do índice coliforme e preposição de índice corrigido. *Arq. Fac.*, São Paulo, v. 11, p. 89-96, 1967.
- DANIELS, N.A. *et al.* *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. *J. Jp. Infect. Dis.*, Tokyo, v. 181, p. 1661-1666. 2000.
- DE PAOLA, A. *et al.* Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in U. S. coastal waters and oysters. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, DC, v. 56, n. 8, p. 2299-2302, 1990.
- ELLIOT, E.L. *et al.* *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other Vibrio. *Bacteriological Analytical Manual*, cap. 9, 1998. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html>>. Acesso em 06 de maio de 2001.
- ELLISON, R. K. *et al.* Populations of *Vibrio parahaemolyticus* in retail oysters from Florida using two methods. *J. Jp. Food Prot.*, Desmoires, v. 64, n. 5, p. 682-686, 2001.
- ESTEVEZ, A. F. *Fundamentos de Limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência: Finep, 1988.
- FUJINO, T. *et al.* On the bacteriological examination of shirasu food poisoning. *J. Jp. Infect. Dis.*, Tokyo, v. 25, p. 11-16, 1951.
- GELLI, D. *et al.* Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* e bactérias mesófilas em ostras. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 61-66, 1979.
- HOFER, E. Primeiro isolamento e identificação de *Vibrio parahaemolyticus* no Brasil de infecção gastrointestinal humana. *Rev. Microbiol.*, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 174-175, 1983.
- ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microbiologia de los alimentos*: Características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Acribia, 1996.
- KELLY, M.T.; STROH, E.M. D. Temporal relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in patients and the environment. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, DC, v. 26, n. 9, p. 1754-1756, 1988.
- KUMAZAWA, H.N.H. *et al.* Attachment of *Vibrio parahaemolyticus* strains to estuarine algae. *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v. 53, n. 2, p. 201-20. 1990.
- LEITÃO, M.F.F.; ARINA, H.K. *Vibrio parahaemolyticus* no ambiente marinho do Estado de São Paulo. II-Incidência

- em peixes, moluscos e crustáceos. *Colet. do Inst. de Tecn. de Alimen.*, v. 7, p. 82-190, 1976.
- LIRA, A. et al. *Vibrio Parahaemolyticus* em bivalves comercializados no Grande Recife, PE. *Higiene Alimentar*, Recife, v. 15, n. 90/91, 2001.
- MAGALHÃES, M. et al. Isolation of urease-positive *Vibrio parahaemolyticus* from diarrheal patients in northeast Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 263-265, 1991.
- NAIR, B.G. et al. Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in finfish harvested from Porto Novo (S. Índia) environs: a seasonal study. *Can. J. Microbiol.* v. 26, p. 1264-1269, 1980.
- OVERMAN, T.L.; OVERLEY, J.K. Feasibility of same-day identification of members of the family Vibrionaceae by the API 20E system. *J. Clin Microbiol.*, Washington, DC, v. 23, n. 4, p. 715-717, 1986.
- PAN, T.M. et al. Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, DC, v. 35, n. 5, p. 1260-1262, 1997.
- PEREIRA, C.S. et al. *Enumeração e isolamento de Vibrio parahaemolyticus em ostras consumidas "In Natura" nos restaurantes do Rio de Janeiro*. Disponível em: <www.ufsc. Br/cbc/PDF/G.S. PDF>. Acesso em 18 de julho de 2001.
- RODRIGUES, S.M.A. Pesquisa de bactérias do gênero *Vibrio* em feridas cutâneas de pescadores do município de Raposa, Ma. In: XX CONGRESSO. BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 10., Salvador. *Anais...* Salvador: 2001. p. 74. MH-094.
- ROITMAM, I. et al. *Tratado de Microbiologia*. v.1. Manole Ltda, 1998.
- SOUSA, C.P. *Incidência de Vibrio parahaemolyticus em águas marinhas costeiras, carne de caranguejo (Callinectes sp) e Ostras (Crassostrea sp) em João Pessoa-PB*. 1989. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1989.
- WATKINS, W.D.; CABELLI, V.J. Effect of fecal pollution on *Vibrio parahaemolyticus* densities in an estuarine environment. *Appl. Environ Microbiol.*, Washington, DC, v. 49, n. 5, p. 1307-1313, 1985.
- WILLIAMS, L.A.; LA ROCK, P.A. Temporal occurrence of *Vibrio* species and *Aeromonas hydrophila* in estuarine sediments. *Appl. Environ Microbiol.*, Washington, DC, v. 50, p. 1490-1495, 1985.
- VIEIRA, R.H.S.F.; IARIA, T.S. *Vibrio parahaemolyticus* in Lobster *Panulirus laeviscauda* (latreille). *Rev. Microbiol.*, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 16-21, 1993.
- 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*. Amsterdam, 1992. p. 63-106.
- ZEBRAL, A.A. Isolamento e caracterização de *Vibrio parahaemolyticus*, outros vibriões e bactérias afins, de mexilhões da Baía da Guanabara. *Cienc. Med.*, Niterói, v. 7, n. 1/2, p. 21-27, 1988.

Received on April 11, 2003.

Accepted on Septemberr 03, 2003.