

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES NOS PESCADOS E  
NOS COMPARTIMENTOS DE ARMAZENAMENTO DE EMBARCAÇÕES

DIEGO ANTONIO VIANA GOMES  
(Licenciado em Biologia - ULBRA)

Dissertação apresentada como requisito  
para a obtenção do Grau de Mestre no  
Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia Agrícola e do Ambiente.  
Área: Microbiologia Ambiental  
Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula  
Guedes Frazzon

Porto Alegre - RS - BRASIL  
Março de 2009

Catálogo na Publicação

UFRGS/ICBS/Biblioteca

G633i Gomes, Diego Antonio Viana

Identificação de microorganismos presentes nos pescados e nos compartimentos de armazenamento de embarcações / Diego Antonio Viana Gomes – 2009.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

Orientação: Prof.<sup>a</sup> Ana Paula Guedes Frazzon

Co-orientação: Prof.<sup>a</sup> Sueli Teresinha van der Sand

1. Pescado 2. Microbiologia de alimentos 3. Higiene de alimentos 4. Bactérias 5. Contaminação I.Frazzon, Ana Paula Guedes, orient. II. Sand, Sueli Teresinha van der, co-orient. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pelos objetivos alcançados e por todas as bênçãos no caminho de minha vida.

As empresas de pesca na figura do presidente da Colônia de pescadores Z-18 Adriano Delfino Joaquim.

À Universidade Luterana do Brasil – Torres, representada pelo Professor Eraclides Lumertz Maggi e Professora Maria Aparecida Farias Feijó, e todos seus colaboradores, que auxiliaram, reconheceram e, principalmente, incentivaram-me no desenvolvimento do meu Trabalho.

A CAPES pela bolsa de mestrado.

Aos amigos, Taís Brahm, pelo apoio incondicional em minhas decisões, e a permanente disposição para ajudar, ao casal de amigos, Valmir e Graziela Machado, a Natalia Braum, a Fernanda Brocca, minha monitora irrestrita e incansável. Aos professores Daniel Bedinote da Rocha, Márcia de Vargas Kober, José Carlos Germani e Adriana Helena Lau, pela importância em minha vida acadêmica e oportunidades. A minha irmã Tieli Caroline Viana Gomes, amigos e familiares que torceram pela minha competência e vitória. A minha Namorada Bruna Rodrigues Freguglia, que no decorrer desses anos me apoiou e incentivou.

A minha Co-orientadora Sueli Terezinha Van Der Sand, pela grande oportunidade.

A Minha Orientadora Prof. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon, sempre disposta e acessível em todos os momentos no período do mestrado.

E os mais honrosos agradecimentos ao meu Pai, Gervasio Pereira Gomes, minha Mãe, Eva da Costa Viana e o Prof. Walter de Nisa e Castro Neto, que com seus incentivos e orientações possibilitaram o meu crescimento nos momentos decisivos de minha vida, tanto acadêmica, como particular.

Muito Obrigado!

# IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES NOS PESCADOS E NOS COMPARTIMENTOS DE ARMAZENAMENTO DE EMBARCAÇÕES

**Autor: Diego Antonio Viana Gomes<sup>1</sup>**

**Orientador: Ana Paula Guedes Frazzon**

**Co-orientador: Sueli Teresinha Van Der Sand**

## RESUMO

O pescado é um alimento de excelente valor nutritivo devido as suas proteínas, vitaminas e ácidos graxos insaturados. Entretanto, o pescado é muito perecível, necessitando de condições sanitárias adequadas, desde a sua captura até a comercialização. Diversos fatores determinam uma condição de risco ao consumidor, que vão desde a contaminação do ambiente onde é capturado, até a sua chegada ao comprador. Este trabalho teve como objetivo determinar a presença de populações bacterianas em pescados desde a captura até a sua entrega ao distribuidor. As coletas das amostras foram dimensionadas a duas etapas sazonais e foram coletadas em três pontos de amostragem: o convés, o pescado e o peixe no armazenamento para o desembarque. Posteriormente, as amostras foram semeadas nos meios de cultura ágar tripticaseína (TSA) e, TSA adicionado com 20% água marinha e caldo azida. A identificação dos isolados foi realizada utilizando as provas bioquímicas e por sequenciamento do 16S rDNA. As bactérias identificadas foram: *Aerococcus*, *Bacillus* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Corynebacterium aquaticum*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Marinococcus halotolerans*, *Micrococcus luteus*, *Psychrobacter luti*, *P. maritimus*, *P. nivimaris*, *P. marincola*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Salinicoccus alkaliphilus*, *S. roseus*, *Streptococcus iniae* e *Vagococcus fluvialis*. Os microrganismos isolados apontam para uma diversidade bacteriana ligada a influência de fatores de origem marinhas, humana e de contaminação ambiental, que podem ser distintas em decorrer da época do ano e o tipo de pescado relacionado.

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Microbiologia Ambiental, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (87 p.) Março, 2009

# IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS PRESENT IN FISH AND IN THE STORAGE COMPARTMENT

**Author: Diego Antonio Viana Gomes<sup>1</sup>**

**Adviser: Ana Paula Guedes Frazzon**

**Co- adviser: Sueli Teresinha Van Der Sand**

## ABSTRACT

Fish is a food with excellent nutritional value due their proteins, vitamins and unsaturated fatty acids. However, fish is a highly perishable product, requiring adequate sanitary conditions, since its capture until the commercialization. Several factors determine the risk condition to the fish, ranging from the environment contamination where it was caught, until their purchased by the consumer. The aim of this work was to determine the presence of bacterial populations in fish from capture to delivery. Samples collection were done into two seasonal periods of the year and the collection was carried out in three sampling points: deck the boat, the fish and fish stored on the boat. Afterwards the samples were inoculated tripticase soy agar medium (TSA), TSA with 20 % seawater and azide broth. Isolates identification was done using biochemical test and by 16S rDNA sequencing. The identification bacterial were: *Aerococcus*, *Bacillus* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Corynebacterium aquaticum*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Marinococcus halotolerans*, *Micrococcus luteus*, *Psychrobacter luti*, *P. maritimus*, *P. nivimaris*, *P. marincola*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Salinicoccus alkaliphilus*, *S. roseus*, *Streptococcus iniae* and *Vagococcus fluvialis* The microorganisms isolated show a variety of factors related to influence of marine origin, human and environmental contamination, which may be different in course of time of year and type of fish related.

<sup>1</sup>Master of Science dissertation in Agricultural Microbiology, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (87 p.) March 2009.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	iii
RESUMO .....	iv
ABSTRACT .....	v
RELAÇÃO DE FIGURAS .....	ix
RELAÇÃO DE TABELAS .....	xi
RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	xiii
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 OBJETIVO GERAL .....	3
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1. Pescado na alimentação .....	4
2.2 Qualidades dos pescados e a presença de microrganismos .....	7
2.3 Doenças transmitidas por alimentos .....	12
2.4 Comunidades de pescadores artesanais no sul do Brasil.....	13

3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
3.1. Área de Estudo .....	15
3.2. Escolha das Embarcações e da Pesca.....	16
3.3. Período de coleta das amostras.....	16
3.4. Local de Coleta das Amostras nas Embarcações e no Pescado.....	16
3.5. Amostragem .....	18
3.5.1. Meio de transporte.....	19
3.6. Processamento das Amostras .....	19
3.6.1. Seleção dos Isolados .....	19
3.6.2. Isolamento .....	20
3.6.3. Estocagem dos isolados.....	20
3.7. Identificação Bacteriana .....	20
3.7.1. Características de Morfologia Celular.....	20
3.7.2. Testes Bioquímicos e Fisiológicos .....	20
3.8. Análise genotípica dos isolados .....	21
3.9.1. Extração de ácidos nucleicos e amplificação da região 16S rRNA.....	21
3.9.2. Análises das sequências de DNA.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
4.1 Identificação bioquímica das bactérias presente no convés das embarcações... ..	24
4.2 Microrganismos isolados dos pescados antes da entrada no convés e imediatamente antes da saída das embarcações.....	25
4.3 Distribuições dos isolados identificados bioquimicamente nos diferentes pontos de coleta.....	25
4.4 Amplificação, purificação e sequenciamento do gene 16S rRNA.....	33
4.5 Microrganismos que não puderam ser identificados .....	39
4.6 Microrganismos que não resistiram ao processamento.....	39
5 CONCLUSÕES .....	41

6 REFERÊNCIAS.....	43
7 ANEXO A.....	59
8 ANEXO B.....	63
9 ANEXO C.....	75
10 VITA.....	79

## RELAÇÃO DE FIGURAS

- FIGURA 1** Imagem identificando a área de atuação da frota pesqueira e os dois pontos de coleta: Coleta 1 (CI) (29°15'45.46"S, 49°31'45.98"O), Coleta 2 (CII) (29°42'49.61"S, 49°53'45.61"O). Fonte: Google Earth 2009 ..... 19
- FIGURA 2** Barco deixando o porto do Passo de Torres (SC) e indo em direção a saída dos molhes para o Alto Mar. Crédito fotográfico: Diego Gomes. Novembro / 2007 ..... 21
- FIGURA 3** Rede de 9 Km sendo puxada. Crédito fotográfico: Diego Gomes. Novembro / 2007 ..... 21
- FIGURA 4** Barco entrando do Alto Mar para o rio Mampituba com o pescado armazenado no convés. Crédito fotográfico: Diego Gomes. Março / 2008 ..... 21
- FIGURA 5** Pescado no convés do barco misturado com detritos marinho. Crédito fotográfico: Diego Gomes. Março / 2008 ..... 21

**FIGURA 6** Pescado colocado no convés após desmalhe. Crédito fotográfico: Diego Gomes. Novembro / 2007..... 22

**FIGURA 7** Pescadores recolhendo a rede de pesca. (A) local no convés do barco onde os pescadores estão desmalhando o pescado e (B) pescado armazenado no convés do barco. Créditos fotográficos: Diego Gomes. Março/2008. .... 29

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> Relação do número de bactérias Gram-positivas identificadas de acordo com as coletas realizadas e os pontos de amostragem.....	27
<b>TABELA 2</b> Isolados identificados pelo sequenciamento de DNA da região 16S rRNA, em relação ao número de isolados e percentual de homologia com as cepas presentes no NCBI.....	35

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C – Graus Celsius

BHI – Infusão de cérebro e coração

bp – Pares de base

CI – Coleta 1

CII – Coleta 2

DNA – Ácido desoxirribonucléico

h – Hora

min – minuto

PCR – Reação em cadeia da polimerase

RNA – Ácido ribonucléico

TSA – Agar tripticaseína de soja

TSB – Caldo tripticaseína de soja

## 1. INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento de excelente valor nutritivo devido às suas proteínas, vitaminas e ácidos graxos insaturados. Em todo o mundo cresce o interesse em consumir proteína proveniente desse alimento.

O pescado é muito perecível, necessitando de condições sanitárias adequadas, desde a sua captura até a comercialização. Para a conservação dos pescados durante e após a captura é necessário gelo, porque este retarda o processo de decomposição do pescado que inicia rapidamente após a morte do peixe e mantém o pescado com características de “alimento fresco”. O período em que os pescados permanecem armazenados no porão do barco, em alto mar, é em média 20 dias. No momento da venda o valor agregado do pescado está diretamente relacionado com o tempo de armazenamento deste, pois quanto mais rápido ele for desembarcado e transportado, maiores são as chances de manter as características organolépticas e nutricionais do pescado.

O município do Passo de Torres (SC) é uma cidade que tem como fonte primária de arrecadação o pescado. Nesse município são mais de 900 pescadores cadastrados na associação de pescadores, que é representada

pela Colônia de Pescadores Z-18. A Colônia Z-18 é responsável pela captura de peixes de excelência e a pesca é realizada com pequenos barcos, que ficam de 1 a 12 dias no mar. Os pescados capturados são enviados para mercados dos grandes centros de consumos, como Rio de Janeiro e São Paulo.

Os dois gêneros de pescado de grande importância para os pescadores dessa região são o linguado (*Paralichthys* spp.) e a tainha (*Mugil* spp.). O linguado é o peixe de maior valor comercial e sua pesca é marinha e especializada, já a tainha, representa uma fonte importante de sustento envolvendo pescadores tanto marinhos quanto ribeirinhos.

A qualidade no pescado fresco, além do período armazenado no barco, está diretamente influenciada pela falta de higiene dos manipuladores, pelas superfícies contaminadas. O porão e o convés do barco de pesca normalmente estão ligados com uma limpeza precária, onde em muitos casos são utilizados apenas a água do rio sem nem um tipo de tratamento. Diversos fatores determinam uma condição de risco de contaminação do pescado, que vão desde a contaminação do ambiente onde é capturado, até a sua chegada ao consumidor, o que faz desse alimento uma potencial fonte de contaminação para o homem.

O pescado pode ser hospedeiro de um grande número de microrganismos patogênicos para o homem, sendo a maior parte deles oriundo da contaminação ambiental. O lançamento dos esgotos nas águas de reservatórios, lagos, rios e no próprio mar é a causa poluidora mais comum registrada no mundo inteiro. No caso particular da pesca marítima, a captura do

pescado em águas costeiras oferece maiores riscos do que a realizada em alto mar. Outra fonte de contaminação importante é o manejo do pescado, desde o momento da captura, ainda nos barcos pesqueiros, até sua destinação final.

Até o momento, existem poucos estudos que avaliam os microrganismos presentes em embarcações pesqueiras e no pescado, o que torna importante uma pesquisa detalhada da microbiota presente e a sua diversidade.

### **1.1 OBJETIVO GERAL**

Identificar as populações bacterianas presentes nos convés e no pescado no momento da captura até a entrega ao distribuidor.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar fenotipicamente por testes bioquímicos e fisiológicos as espécies bacterianas presentes nas embarcações no convés do barco pesqueiro no momento da saída do barco do Porto de Passo de Torres;
- Caracterizar fenotipicamente as espécies bacterianas presentes no pescado no momento de sua entrada no barco e durante o desembarque no porto após ter passado pelo menos 4h fora da água;
- Amplificar e sequenciar a região 16S rRNA dos isolados, para auxiliar na identificação dos mesmos;

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Pescados na alimentação**

Em muitos países, o pescado faz parte da cultura e dos costumes da população, podendo representar a fonte principal de proteína animal na dieta alimentar. Atualmente, é cada vez maior o número de pessoas que prefere consumir a carne de peixe como uma alternativa de alimentação saudável, em relação a outras carnes. O baixo teor em gordura de muitas espécies de peixe, denominados peixes magros e os efeitos dos ácidos graxos poli-insaturados, que se encontram nas espécies que são ricas em gordura, são aspectos importantes para aquelas pessoas que se preocupam com a sua saúde, em particular, nos países desenvolvidos onde a mortalidade por doença cardiovascular é elevada (LOSSONCZY et al., 1978).

O pescado difere dos outros tipos de produtos alimentares vivos, por diversas razões: primeiro porque o pescado é retirado de uma população “selvagem” e os pescadores são ditos como “caçadores” que não têm influência no manejo das suas presas antes de serem capturadas. Assim, não é possível imitar a situação dos animais de abate em cativeiro, de modo a

selecionar apenas os exemplares mais adequados para a captura, pois o peixe é capturado sem ser possível identificar o seu tamanho, massa corpórea ou suas condições de saúde (HUSS, 1997).

Segundo dados da “Food and Agriculture Organization” (FAO, 2001), a carne de pescado vem atingindo altos índices de consumo nos países da Europa e Ásia. Nesses países, o pescado é a proteína de origem animal mais consumido. Não existem dados oficiais de consumo de pescado no Brasil. O consumo médio mundial é de 19 kg/habitante/ano e no Brasil o consumo atualmente fica em torno de 6,3 kg/habitante/ano. De acordo com dados da indústria de pescado, o consumo per capita no Brasil é quase a metade do que sugerido pela FAO. A FAO estimou que em 2010, a produção mundial de pescado ficará entre 107 e 144 milhões de toneladas somando-se pesca em captura e aquicultura.

O teor protéico das diferentes espécies de peixes varia de 15% a 20%. De acordo com Lederer (1991), o valor calórico dos peixes como alimento depende do teor de gordura e assim classificam-se:

- Peixes magros (com menos de 1% de gordura), neste grupo estão o bacalhau (*Gadus* spp.), carpa (*Cyprinus carpio*), pescada (*Merluccius*), truta, (*Salmo* spp.), linguado (*Paralichthys patagonicus*, *P. brasiliensis*) entre outros;
- Peixes meio gordos (com 7% a 8% de gordura), como o salmão (*Oncorhynchus* spp.), arenque (*Clupea* spp.), cavala (*Scomber* spp.), congrio (*Conger* spp.) e outros;

- Peixes gordos (com mais de 15% de gordura) como, por exemplo, atum (*Thunnus* spp.), enguia (*Anguilla* spp.) e outros.

A ingestão de pescado é indicada para prevenir ateroma, que são placas compostas especialmente de lipídeos e tecido fibroso, que se formam na parede dos vasos, particularmente nos países onde as taxas de infarto do miocárdio são elevadas, devido à elevada ingestão de gordura animal procedente de mamíferos (FERRETTI et al., 1994). O pescado constitui, ainda, fonte importante de vitaminas A e D, principalmente a partir do óleo de fígado de bacalhau ou da ingestão da carne dos peixes gordos (LEDERER, 1991).

A pesca é fonte crucial de renda de muitas comunidades, tendo na negociação dessa a sua sobrevivência (DIEGUES, 1999). Entre as espécies de peixe, o linguado (*Paralichthys patagonicus*, *P. brasiliensis*) e a tainha (*Mugil* spp.), juntamente com o camarão (*Farfantepenaeus paulinensis*), o bagre (*Netuma barba*) e a corvina (*Micropogonias furnieri*) formam a principal garantia da sustentação econômica das populações pesqueiras artesanais na região Sul (GARCEZ & SANCHES-BOTERO, 2005). O linguado (*Paralichthys* spp.) e a tainha (*Mugil* spp.) foram os mais importantes recursos pesqueiros, no ano de 2005, no estado de Santa Catarina. O total de captura de linguado (*Paralichthys* spp.) e a tainha (*Mugil* spp.), no estado ficou em torno de 2891 toneladas e da tainha 10531 toneladas (UNIVALI - CCTMAR, 2007), demonstrando a fundamental importância da pesca para as comunidades.

## **2.2 Qualidades dos pescados e a presença de microrganismos**

A qualidade dos produtos alimentares é de grande importância para as indústrias de alimentos, bem como para as autoridades de saúde pública. As perdas econômicas resultantes da deterioração dos alimentos são raramente quantificadas, mas as estimativas apontam para valores superiores a 20% da produção do pescado (ABABOUCHE et al., 2005).

O pescado pode ser veiculador de um grande número de microrganismos patogênicos para o ser humano, estando relacionado ao crescimento de ações poluidoras e contaminadoras do ambiente, através da exposição e de lançamentos de esgotos, nos vários sistemas aquáticos disponíveis (LEWIS et al., 2001). No caso particular da pesca marítima, a captura em águas costeiras oferece maiores riscos do que a realizada em alto mar, devido à menor diluição das águas de rios e lagos que escoam no mar (LIMA, 1997). Outra fonte de contaminação importante é o manejo do pescado, desde o momento da captura, ainda nos barcos pesqueiros (ZICAN, 1994), até sua destinação final; após passar por inúmeras fases de processamento e transporte (ALBUQUERQUE et al., 2006).

A contaminação microbiológica de alimentos é uma preocupação em muitos países, especialmente devido aos elevados índices de doenças veiculadas por alimentos crus, mal preparados e conservados (ANVISA, 2001). Um local de armazenamento de alimento, quando contaminado por bactérias patogênicas, pode acarretar em uma fonte de contaminação cruzada. As enterobactérias são um dos grupos mais bem definidos e estudados (ANVISA, 2004). Este grupo é responsável por infecções urinárias e gastroenterite, e

podem ser encontrado na natureza ou na microbiota normal dos animais de sangue quente.

A ingestão de peixe *in natura* tem sido apontada, como causa de gastroenterite. Entre os microrganismos que merecem destaque estão às bactérias do gênero *Salmonella* (HATHA & LAKSHMANAPERUMALSAMY, 1997), tanto as de origem humana (*S. typhi* e *S. paratyphi*) quanto às de origem animal, bem como as bactérias do gênero *Shigella* que são encontradas em águas poluídas por esgotos ou por excretas de animais (GERMANO et al., 1993). *Shigella* e *Salmonella* são bactérias que invadem o intestino, causando lesões as células subjacentes e pequenas ulcerações que permitem perda considerável de líquido que contém proteínas, eletrólitos e água (ROBBINS et al., 2000).

Os alimentos também podem ser contaminados pela manipulação dos mesmos, e como consequência direta da manipulação inadequada do pescado estão apontados os *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e os *Micrococcus* spp. (GERMANO et al., 1993; ADAMS et al., 1994; CARDONHA et al., 1994), todos de origem humana, encontrados nas mucosas e superfície da pele de mamíferos (ALBUQUERQUE et al., 2006; MICHEL et al., 2007).

O gênero *Streptococcus* é facilmente encontrado em vários locais do corpo humano, representando parte importante da microbiota oral (HARDIE & WHILEY, 2006). Esse gênero é grande e complexo, existindo espécies que são clinicamente responsáveis por uma variedade de infecções tanto no homem quanto nos outros animais (HASLAM & GEME, 2008; QUASEM et al., 2008). Além das espécies consideradas patogênicas, há uma série de espécies deste

gênero que são consideradas inofensivas, contudo, nos últimos anos, devido ao aumento dos indivíduos imunodeprimidos e em raros casos, estes microrganismos são isolados de infecções que causam óbito (PRASAD et al., 2006). Esses organismos, também podem estar associados ao ambiente, sendo responsáveis por infecções invasivas em gado e meningite em pescados de aquicultura (MAJTHEWS et al., 1994; GOH et al., 1998).

Muitos organismos pertencentes ao gênero *Micrococcus* fazem parte da microbiota normal da pele humana (KLOOS & MUSSELWHITE, 1975; KOCUR et al., 2006), podendo também ser encontrado no ambiente. O *M. luteus* é um microrganismo que já foi isolado em água, animais e em sedimentos marinho (BULTEL-PONCE et al., 1998). Esse microrganismo é causador de infecções crônicas em peixes de aquicultura responsáveis por grandes perdas de produtividade (AYDIN et al., 2005). Em ambientes aquáticos de água doce foi isolado formando biofilme (BUSWELL et al., 1997; RICKARD et al., 2002).

Outros grupos de microrganismos que já foram isolados de doenças em pescados, pertencem ao gênero *Corynebacterium* (BAYA et al., 1992). Essas bactérias são parasitas obrigatórios das mucosas e pele de mamíferos, sendo ocasionalmente encontradas em outras fontes; algumas são patogênicas para mamíferos, possuindo diversas espécies que vivem em vários habitat (GRAEVENITZ & BERNARD, 2006).

*Proteus morgagnii* é outro microrganismo importante para o pescado e integra 0,1% a 1% de toda a microbiota superficial de alguns peixes (GERMANO et al., 1993). A contaminação por esta bactéria pode levar à

formação de histamina, por descarboxilação do aminoácido histidina em peixes de carne vermelha, como o atum (*Thunnus albacares*), cavalinha (*Scomber japonicus*) e arenque (*Clupea harengus*). A ingestão de pescado nestas condições pode resultar em intoxicação com sintomas nervosos devido a estimulação vagal, a partir da ingestão de 100mg de histamina/ 100g de peixe (GERMANO et al., 1993; ABABOUCHE et al. 1996).

Um importante decompositor de carnes é o *Brochothrix* (CUTTER & SIRAGUSA, 1997; KIRBY et al., 2001), este microrganismo cresce em diferentes atmosferas e apresenta a capacidade de crescerem em temperaturas abaixo de 0°C (PIN et al., 2002). Microrganismos com essa capacidade de crescimento em baixas temperaturas são denominados psicrófilos e psicrotolerantes, dependendo das faixas de temperatura (SCHERER & NEUHAUS, 2006). Existem gêneros ambientais com essas características, como as bactérias do gênero *Psychrobacter* (JUNI & HEYM, 1986). As espécies desse gênero são predominantemente isoladas de ambientes marinhos em mares gelados, geleiras e “iceberg” (ROMANENKO et al., 2002; 2004; YOON et al., 2005).

O *Clostridium perfringens* tipo C pode causar enterite necrótica. Clostrídios sulfito redutores, *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Flavobacterium* sp. e *Enterococcus* sp. podem ser encontrados nos peixes frescos ou congelados, nos frutos do mar e nos produtos industrializados (MATCHES et al., 1974; AYULO et al., 1994; ROMALDE et al., 1996; HSU et al., 2009). A maioria destes microrganismos está relacionada

com a qualidade da água, principalmente do gelo utilizado na conservação, e/ou com os procedimentos pós-captura.

A água de alto-mar tem em média, uma concentração de 3,5% de sal, conseqüentemente as bactérias marinhas de alto-mar são halofílicas, desenvolvendo-se bem em meio de cultivo com 2 a 3% de sal. Entretanto, nem todas as bactérias que estão no mar são halofílicas, pois a microbiota marinha sofre influência de bactérias terrestres transportadas pelos rios. Particularmente, a água costeira mostra uma quantidade maior de bactérias, comparando-se com águas profundas e de alto-mar (JORGENSEN et al., 1988). Bactérias ambientais, como as do gênero *Marinococcus* estão relacionadas a locais de ambiente marinho. Indivíduos desse gênero tem a capacidade de crescerem a concentrações maiores do que 20% NaCl (ZHANG et al., 2002). Microrganismos halófilos do gênero *Salinicoccus*, também já foram isolados de lagos salgados e são descritos com tendo uma grande capacidade de suportar variações de temperaturas, pH e salinidade (CHEN, 2008).

Os gêneros *Vagococcus* e *Aerococcus* são amplamente distribuídos na natureza, incluindo ambientes marinhos, estando associado a uma série de patologias nos pescados. O *Aerococcus viridans* é principalmente associado a crustáceos, sendo conhecido por causar uma doença fatal em lagostas (*Palinurus* spp.) chamada “gaffkemia” (LAUBIER & LAUBIER, 1993; STEWART et al., 2004). A bactéria *V. salmoninarum* é isolada frequentemente de salmão do atlântico e de varias outras espécies de peixe (SCHMIDTKE & CARSON, 1994).

Inúmeras espécies de *Actinomicetos* e *Nocardia* são isolados do oceano sendo importantes recicladores no ambiente. Membros do gênero *Rhodococcus* (SERRANO et al., 1972) são descritos como um efetivo agente biorremediador de óleo bruto em água marinha (GENTILI et al., 2006) tendo a capacidade de degradar uma variedade de substratos (TENIOLA et al., 2005) e reciclar um grande número de polímeros (PAN et al., 2009). Também o gênero *Exiguobacterium* é de importância ecológica e em estudos recentes, com *E. aurantiacum* verificou-se sua capacidade de degradar óleo diesel (MOHANTY & MUKHERJI, 2008) e agrotóxicos (LÓPES, et al., 2005). Esses microrganismos são de origem ambiental, em geral, são bactérias que raramente causam alguma enfermidade, mas tem uma grande importância ecológica nos ciclos dos elementos na natureza (MOHANTY, & MUKHERJI, 2008).

### **2.3 Doenças transmitidas por alimentos**

A verdadeira incidência das doenças transmitidas por produtos alimentares não é conhecida (FORSYTHE, 2002). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007) A incidência de patologias relacionadas com alimentos no mundo, apenas em 2005, foi de 1,8 milhões de casos de óbito.

Em 2002, no estado de São Paulo, estimou-se que cerca de 1,5 milhão de pessoas apresentaram alguma patologia transmitida por alimentos. Entretanto, foram registrados apenas 3950 casos, segundo dados do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVE, 2003)

Em um período de dois anos (1980-1981), 8,7% da totalidade dos surtos na Holanda foi de origem alimentar. Contudo, frequentemente, não são

identificados alimentos específicos. Porém, nos casos em que houve registro o pescado representou menos de 3% da totalidade dos incidentes.

Em estudos da FAO (1997), foi verificado que o peixe era a fonte mais comum associada com doenças envolvidas com pescados, seguidos pelos moluscos bivalves e os crustáceos.

Durante 1980-1994 em Nova Iorque, 339 surtos de doenças associados ao pescado foram notificados, resultando em 3959 casos de doenças, 76 internações e quatro óbitos. Durante este período, os surtos associados ao pescado representaram 19% de todos os alimentos notificados (WALLACE, 1999).

#### **2.4 Comunidades de pescadores artesanais no sul do Brasil**

A pescaria artesanal é atuante em toda a costa brasileira, sendo praticadas por pescadores autônomos, exercendo sua atividade laboral individual ou em parcerias com outros pescadores (DIEGUES, 1999). A pesca artesanal destina-se ao consumo próprio ou familiar podendo ser destinada ao comércio, esta pescaria emprega equipamentos simples e o produto é comercializado, normalmente, através de atravessadores. No estado do Rio Grande do Sul existem cerca de 12000 pescadores artesanais atuantes, sendo o quarto maior estado em captura de pescado (GARCEZ & SÁNCHEZ-BOTERO, 2005).

A Colônia de Pescadores Z-18 está localizada no Passo de Torres (SC) e é um município que tem como fonte primária de arrecadação o pescado, sustentando diretamente aproximadamente 1500 famílias. Esta colônia de pescadores é responsável pela captura de pescados de excelência, pois tem

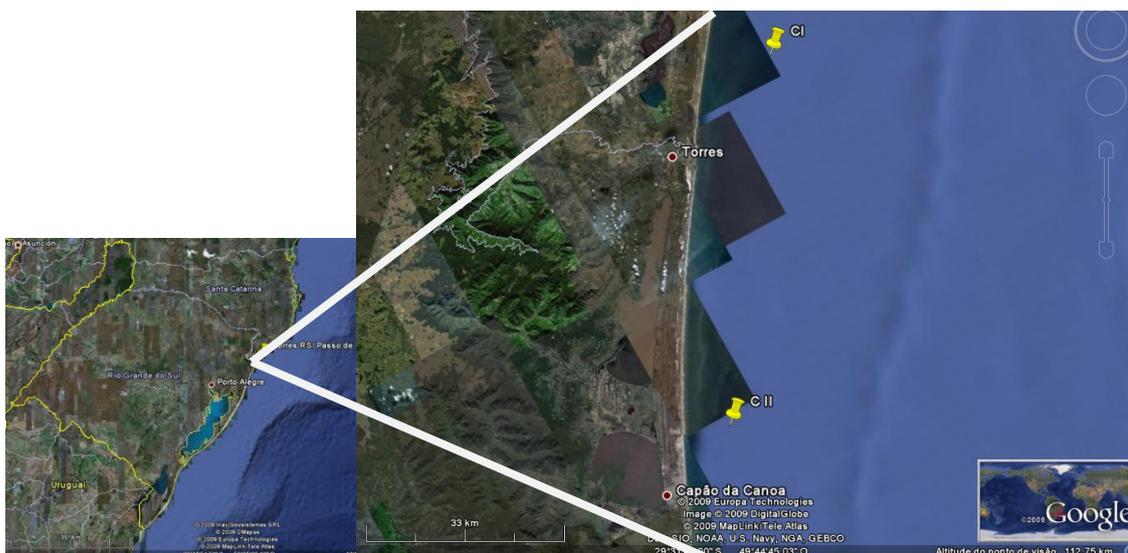
em sua comunidade a pesca com pequenos barcos que ficam de 1 a 12 dias no mar atuando na costa do Rio Grande do Sul e parte de Santa Catarina.

Os pescados capturados pelos pescadores registrados na Colônia de Pescadores Z-18 são enviados para os mercados dos grandes centros de consumos, como Rio de Janeiro e São Paulo. Inúmeras pessoas estão envolvidas na cadeia econômica do pescado, apenas na Z-18 o número de pescadores registrados e atuantes ultrapassa 900 pescadores dependentes diretos da pesca, o número de embarcações é de 58 em cinco empresas, gerando renda direta para mais de 3500 pessoas nesse município.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Área de Estudo

A área de estudo ficou compreendida onde ocorre a atuação da frota pesqueira dos pescadores da Colônia Z-18, que se estende a cerca de 80km ao norte e a 120km ao sul do município de Passo de Torres (SC) e a aproximadamente 15km da costa (FIGURA 1).



**FIGURA 1.** Imagem identificando a área de atuação da frota pesqueira e os dois pontos de coleta: Coleta 1 (CI) (29°15'45.46"S, 49°31'45.98"O) e Coleta 2 (CII) (29°42'49.61"S, 49°53'45.61"O). Fonte: Google Earth 2009.

### **3.2. Escolha das Embarcações e da Pesca**

As embarcações foram selecionadas levando em consideração o tipo de pesca exercida e a espécie-alvo. As amostragens foram realizadas em dois períodos sazonais em um barco por estação. Essas embarcações tinham praticamente as mesmas dimensões, número de tripulantes, mas de estratégias e petrechos de pesca (redes e demais equipamentos) diferentes.

As dimensões das embarcações foram de 13m de comprimento e capacidade de armazenagem de 8 toneladas de pescado. Na primeira embarcação, a espécie-alvo foi o linguado (*Paralichthys* spp.), que foi capturado por rede de fundo, com uma extensão de cerca de 9km. A segunda embarcação foi direcionada à pesca da tainha (*Mugil cephalus* ou *M. curema*), que utilizou a rede de meia-água e com dimensão de cerca de 10km.

### **3.3. Período de coleta**

As amostras foram coletadas em dois períodos, delimitadas pela estação do ano (primavera e verão) nos meses de novembro (CI) e março (CII), respectivamente. A escolha destes períodos está relacionado às diferenças existentes nas correntes marinhas, que alteram a constituição dos nutrientes, temperatura e salinidade da água (STRAMMA & PETERSON 1990; ORSI et al., 1995).

### **3.4. Local de Coleta das Amostras nas Embarcações e no Pescado**

As coletas foram realizadas em três pontos, o primeiro ponto de coleta (Ponto A) localizado no convés do barco pesqueiro e realizado no momento da saída do Porto do Passo de Torres (FIGURA 2). O segundo ponto

(Ponto B) foi a amostra retirada do pescado no momento da entrada no barco, ainda emalhado na rede, sem ter havido contato com o convés ou com a tripulação (FIGURA 3). O terceiro ponto de coleta (Ponto C) foi realizado no pescado armazenado no convés antes de ser descarregado no porto, estando este pelo menos 4h fora da água armazenado exposto ao sol no convés na viagem do fim da pescaria a entrega do pescado no porto (FIGURA 4 e 5).



**FIGURA 2:** Barco deixando o porto do Passo de Torres (SC) e indo em direção a saída dos molhes para o Alto Mar. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Novembro / 2007.



**FIGURA 3:** Rede de 9 km sendo puxada. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Novembro / 2007.



**FIGURA 4:** Barco entrando do Alto Mar para o rio Mampituba com o pescado armazenado no convés. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Março / 2008.



**FIGURA 5:** Pescado no convés do barco misturado com detritos marinho. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Março / 2008.

### 3.5. Amostragem

As amostras foram coletadas com “swabs” esterilizados nos três pontos de coleta (A, B e C). No convés foi delimitada uma área de aproximadamente 25cm<sup>2</sup> (BROWN et al., 2007). No pescado, foram coletadas amostras de cinco peixes com o mesmo “swab”, para aumentar à abrangência na diversidade de microrganismos coletados, e no convés as coletas seguiram a ordem aleatória dos pescados no armazenamento (FIGURA 6), perfazendo um total de três amostras por coleta, totalizando seis amostras.



**FIGURA 6:** Pescado colocado no convés após desmalhe. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Novembro / 2007.

### **3.5.1. Meio de transporte**

As amostras foram armazenadas em tubos de ensaio estéreis contendo meio Trypticaseína de soja (TSB) semi-sólido acrescido de 20% de água marinha (sendo este o meio de transporte que apresentou a melhor conservação no estudo piloto que antecedeu o experimento), acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo para serem transportadas até o laboratório.

A água marinha utilizada no preparo dos meios de cultura foi coletada do mar, filtrada e esterilizada em autoclave (SCHUT et al., 1993).

### **3.6. Processamento das Amostras**

Após o desembarque, as amostras foram levadas para o laboratório de Microbiologia da ULBRA-Torres, onde os “swabs” que estavam acondicionados no semi-sólido foram colocados em tubos contendo 10ml ( $10^{-1}$ ) água peptonada e agitados por um período de 10min. para homogeneização. Após o processo de homogeneização, 1ml do preparado foi inoculado em 9ml ( $10^{-2}$ ) de água peptonada e novamente homogeneizado. Após, 100 $\mu$ l das diluições foram semeados em nove placas de Petri sendo três placas de agar tripticase soja (TSA), três placas de TSA acrescido de 20% de água marinha e três placas de agar de infusão de cérebro e coração (BHI) acrescidos de azida (0,002%) e 6,5% de NaCl. As placas foram incubadas a 30°C por 24-48h.

#### **3.6.1. Seleção dos Isolados**

Após o período de incubação, as colônias foram selecionadas randomicamente, levando em consideração um mapa de placa contendo quatro cavidades de 1cm<sup>2</sup> (STRAUCH, 1988; OLIVEIRA et al., 2006). Para cada placa

foram selecionadas em média 15 colônias, perfazendo um total de 125 isolados por coleta.

### **3.6.2. Isolamento**

As colônias foram isoladas em seu próprio meio inicial, pela técnica de esgotamento em estrias e selecionadas aquelas que cresceram em até 48h a 30°C (SEELEY et al., 1991).

### **3.6.3. Estocagem dos isolados**

Após o esgotamento, as bactérias foram inoculadas em um caldo BHI com 20% de água marinha e incubadas a 30°C por 24h. Uma alíquota de 850µl foi retirada e depositada em microtubos com 150µl de glicerol, sendo homogeneizada e estocada em “freezer” a -20°C, segundo Rabelo-Gonçalves et al. (2005) com modificações. Outra alíquota foi retirada e inoculada em tubo de TSA inclinado e incubado novamente 24-48h a 30°C perfazendo uma amostragem de trabalho.

## **3.7. Identificação Bacteriana**

### **3.7.1. Características de Morfologia Celular**

Os isolados foram crescidos em caldo BHI e a partir deste cultivo de 24h a 30°C foi realizada a coloração de Gram, o que permitiu a separação dos isolados em diferentes grupos de acordo com suas características morfológicas celulares (SEELEY et al., 1991).

### **3.7.2. Testes Bioquímicos e Fisiológicos**

Os isolados foram submetidos aos seguintes testes bioquímicos e fisiológicos convencionais: teste de catalase, teste de oxidase, presença de enzimas extracelulares pela hidrólise da gelatina, amido e esculina.

Fermentação de frutose, glicerina, glicose, lactose, manitol, sacarose e xilose. Teste da bile esculina, oxidação e/ou fermentação da glicose (O/F), capacidade de crescimento nas concentrações de 3%, 5%, 6,5%, 8%, 10%, 12%, 15% e 20% de NaCl. Teste de motilidade, prova de produção de ácido sulfídrico e indol, teste do fator de aglutinação, utilização de citrato, hidrólise da uréia, prova de formação de hemólise, prova vermelho de metila e Vogues Proskauer, seguindo os modelos metodológicos de MacFaddin (2000) e ANVISA (2004) (Anexo A).

### **3.8. Análise genotípica dos isolados**

#### **3.8.1. Extração de ácidos nucleicos e amplificação da região 16S**

##### **rRNA**

Os genes da região 16S do rRNA foram amplificados a partir do DNA genômico dos isolados, pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os oligonucleotídeos iniciadores FC27 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e R530 (5'-CCGCGGCTGC TGGCACGTA-3'), descritos por Gotang et al. (2007).

O DNA genômico foi extraído pelo método de lise térmica de acordo com o protocolo de Hagen, et al. (2002). A PCR foi realizada no Thermal cycler (MJ 65. Research, Inc.PTC-100). Cada 25µl da reação da PCR continha 25ng DNA, 0.2µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2mM dNTPs, 10mM Tris-HCl (pH 9,0) e 1U of *Taq* DNA polimerase (Cenbiot<sup>Enzimas</sup>/UFRGS). As condições de amplificação foram: 5min à 94°C, 30 ciclos de 94°C por 1min, 53°C por 1min e 72°C por 1min seguido por um passo final a 72°C por 5min. O

produto da amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio e visualizado Kodak Digital Science™ DC120.

O fragmento de DNA de 330 bp foi purificado do gel e submetido ao seqüenciador automático (BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit - Applied Biosystems) no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

### **3.8.2 Análises das sequências de DNA**

Todas as sequências nucleotídicas obtidas foram analisadas e editadas utilizando o software CHRONOS “performing DNA sequence analysis” e comparadas com sequências de DNA existentes na base de dados do “National Center for Biotechnology Information - Basic Local Alignment Search Tool “ (NCBI-BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em novembro de 2007 e março de 2008 foram realizadas as coletas CI e CII, respectivamente. Estas foram direcionadas, com o objetivo de isolar bactérias do convés das embarcações, do pescado antes de entrar no barco e do pescado armazenado no convés (FIGURA 7). No convés do barco, os pescadores desenvolvem suas atividades e é onde o pescado é colocado após a captura permitindo o contato direto do pescado, no momento do desmalhe, com diversos outros organismos que são carregados com o arrastamento da rede pelo fundo do oceano (SEVERINO-RODRIGUES et al., 2007).

Das amostras processadas, 122 cepas foram identificadas e caracterizadas. Esses microrganismos identificados foram divididos em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo que o grupo das Gram-positivas foi distribuído em 10 gêneros e as Gram-negativas em um gênero.



**FIGURA 7.** Pescadores recolhendo a rede de pesca. (A) local no convés do barco onde os pescadores estão desmalhando o pescado e (B) pescado armazenado no convés do barco. Crédito fotográfico: Diego Antonio Viana Gomes. Março/2008.

#### **4.1 Identificação bioquímica das bactérias presente no convés das embarcações**

No convés dos barcos (ponto A), antes da entrada do pescado, foram identificados 19 isolados (15,6%) Gram-positivos distribuídos em três gêneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Brochothrix*. Duas espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram identificadas sendo nove (7,4%) *Staphylococcus aureus* e sete (5,8%) *Staphylococcus epidermidis*. Ainda, foram identificados três (2,6%) isolados como *Corynebacterium aquaticum* e um (0,8%) como *Brochothrix thermosphacta*.

#### **4.2 Microrganismos isolados dos pescados antes da entrada no convés e imediatamente antes da saída das embarcações**

As bactérias Gram-positivas encontradas no pescado antes destes entrarem em contato com a tripulação e com o convés do barco (ponto B) foram identificadas como: *Vagococcus fluvialis* cinco (4%) isolados, *Rhodococcus corynebacterioides* oito (6,6%), *Salinicoccus alkaliphilus* cinco (4%) isolados, *Salinicoccus roseus* quatro (3,3%), *Bacillus* sp. três (2,5%), *Marinococcus halotolerans*. seis (4,9%) isolados, *Micrococcus luteus* cinco (4%) isolados. Como Gram-negativas foram identificadas: *Psychrobacter marincola* sete (5,7%) isolados, *P. nivimaris*, seis (4,9%), *P. maritimus* seis (4,9%) isolados e *P. luti* seis (4,9%) isolados perfazendo um total de 61 isolados (50%).

No pescado estocado pronto para ser desembarcado (ponto C), 42 (34,4%) isolados bacterianos foram identificados como: *Aerococcus viridans* (3,3%), *Brochothrix thermosphacta* (2,5%), *Corynebacterium aquaticum* (4,8%), *Exiguobacterium aurantiacum* (7,4%), *Psychrobacter luti* (1,6%), *Salinicoccus alkaliphilus* (0,8%), *Staphylococcus aureus* (2,5%), *Staphylococcus epidermidis* (6,6%), *Streptococcus iniae* (1,6%), e *Vagococcus fluvialis* (3,3%).

#### **4.3. Distribuição dos isolados identificados bioquimicamente nos diferentes pontos de coleta**

Setenta e oito isolados (78) dos cento e vinte dois (122) foram identificadas utilizando provas bioquímicas. Destes, 45 isolados foram da primeira coleta (CI) e 33 da segunda coleta (CII). Diferentes gêneros e espécies foram identificados (TABELA 1).

**TABELA 1.** Relação do número de bactérias Gram-positivas identificadas de acordo com as coletas realizadas e os pontos de amostragem.

ISOLADO	COLETA I			COLETA II		
	PONTO A	PONTO B	PONTO C	PONTO A	PONTO B	PONTO C
<i>Aerococcus viridans</i>			1			3
<i>Bacillus</i>		3				
<i>Brochothrix thermosphacta</i>			1	1		2
<i>Corynebacterium aquaticum</i>			3	2		3
<i>Marinococcus halotolerans</i>		6				
<i>Micrococcus luteus</i>		5				
<i>Salinicoccus alkaliphilus</i>		5	1			
<i>Salinicoccus roseus</i>		4				
<i>Staphylococcus aureus</i>	2		1	7		2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2		4	5		4
<i>Streptococcus iniae</i>			2			
<i>Vagococcus fluvialis</i>		3	2		2	2
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>16</b>

**Legenda:** Pontos de Coleta: (A) isolado do convés antes do pescado entrar no barco, (B) pescado antes de entrar em contato com o barco, (C) pescado saindo do barco e entregue para a venda. I – Coleta ocorrida no mês de novembro de 2007 II – Coleta ocorrida em março de 2008.

Em relação os gêneros de bactérias Gram-positivas identificadas, os gêneros *Staphylococcus* e *Vagococcus* foram os que apresentaram a maior distribuição dos isolados, nos diferentes pontos de amostragem. Dentre os isolados, 12 foram identificados como *Staphylococcus aureus*, todos isolados no convés (ponto A) e no peixe já estocado (ponto C). As características fisiológicas e bioquímicas apresentadas pelos 12 isolados estão listadas no Anexo B (B1). A manipulação dos pescadores e o contato com os locais de convívio humano são a possível forma de contaminação desse pescado por

essa bactéria (ALBUQUERQUE et al., 2006). Por terem uma resistência notável a concentrações de sal, *S. aureus* foi isolado do convés do barco pesqueiro nas duas coletas. O reservatório natural do *S. aureus* é a pele humana, o cabelo e as membranas mucosas superficiais, não fazendo parte da microbiota normal do pescado ou dos produtos da pesca. Um pequeno número destes microrganismos é aceitável em todos os produtos alimentares em que houve manipulação pelo homem. A intoxicação alimentar causada por *S. aureus*, também pode ser considerada, pois se a estocagem ou o transporte do mesmo não acontecer em condições adequadas, poderá ocasionar o desenvolvimento e a produção enterotoxinas que não são destruídas pelo cozimento (SCHLIEVERT et al., 2000; RAPINI et al., 2005). O *S. aureus* já havia sido isolado de pescado, ligado à contaminação cruzada, em locais de armazenamento, peixarias e em um mercado público em Fortaleza (VIEIRA et al., 2001; VARGAS & QUINTAES, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2006).

O *Staphylococcus epidermidis* foi encontrado no convés e nos pescados já embarcados. As características fisiológicas e bioquímicas apresentadas pelos 15 isolados identificados estão listadas no Anexo B (B2).

Esses isolados já se encontravam no convés antes da captura do pescado e não foram detectados nos pescados antes destes entrarem no barco. Entretanto, isolados de *S. epidermidis* foram isolados nos pescados após a estocagem no convés, demonstrando a possibilidade de ter ocorrido contaminação cruzada do convés para os pescados. Uma das possibilidades é que o convés já apresente um biofilme com a agregação de vários microrganismos, entre eles o *S. epidermidis* que é um organismo que pode

formar biofilmes em superfície de biomateriais (CHRISTENSEN et al., 1982; GOTTENBOS et al., 1999). O isolamento de *Staphylococcus* no convés do barco ratifica a presença desse gênero ao ambiente, demonstrando que a contaminação desse produto por contato humano e/ou superfícies contaminadas (convés) pode ocorrer.

Dois isolados caracterizados como *Streptococcus iniae* foram isolados na CI, a partir das escamas do linguado (*Paralichthys* spp.) que estava armazenado no convés do barco. Ao detectar esse patógeno associado ao pescado deve se considerar já uma ameaça para o consumo humano, pois *S. iniae* é responsável por surtos de infecções invasivas na pele de pescados e de humanos (WEINSTEIN et al., 1997). Na Ásia, vários casos foram relatados a partir de pacientes que tiveram sepses por *S. iniae* (WEINSTEIN et al., 1997). No Brasil, o consumo de pescado cru (*Sushi*) não faz parte das tradições, e o pescado que é preparado cozido, diminuindo significativamente as chances de causar doenças. No ambiente, esse microrganismo é o agente causador de doenças em peixes e responsável por surto em aquicultura (AUSTIN & AUSTIN, 1999; MICHEL et al., 2007).

O *Vagococcus fluvialis* foi encontrado tanto no linguado (*Paralichthys* spp.) quanto na tainha (*Mugil* spp.) com cinco e quatro isolados respectivamente presentes no convés de armazenamento. Esses isolados foram caracterizados como *V. fluvialis* conforme os testes bioquímicos e fisiológicos (TEIXEIRA et al., 1997) (Anexo B, B4). O *V. fluvialis* é descrito como isolado de água e animais mamíferos (MICHEL et al., 2007). Os casos reportados de doenças causadas por esse microrganismo são raros (TEIXEIRA

et al., 1997; AL-AHMAD, 2008), essa bactéria é encontrada no ambiente e existe um pequeno grau de patogenicidade ligado a essa espécie, seu isolamento ligado ao pescado nas duas coletas reforça a presença desse microrganismo nos pescados do sul do Brasil, podendo fazer parte de sua microbiota.

Outro importante isolado identificado no pescado no convés do barco foi *Aerococcus viridans*, coco Gram-positivo retirado no linguado (*Paralichthys* spp.) armazenado no convés na CI e na tainha na CII. O isolamento desse microrganismo no convés não representa um perigo em potencial, pois essas bactérias são reportadas como patógenos oportunistas raros (ÇETIN et al., 2007). *A. viridans* foi isolado em ambiente hospitalar (MILDRED et al., 1968), em pacientes com bacteremia portadores de HIV (RAZEQ et al., 1999), em casos de endocardite (AUGUSTINE et al., 1994) e infecção generalizada (UH et al., 2002). *A. viridans* é encontrado naturalmente no ambiente, desses, o marinho, principalmente associados a crustáceos (LAUBIER & LAUBIER, 1993; STEWART et al., 2004).

Um bacilo Gram-positivo encontrado na CI e na CII foi o *Corynebacterium aquaticum* sinonima *Leifsonia aquaticum* (SUZUKI et al., 1999), sendo cinco isolados no convés e no pescado armazenado na CI e três no pescado armazenado na CII. Os testes bioquímicos e fisiológicos estão apresentados no Anexo B (B.6). Essa bactéria é um patógeno oportunista, que foi isolada e descrita pela primeira vez por Liefson em 1962, a partir de água destilada. Moore & Norton (1995) reportam que cepas dessa espécie podem causar várias doenças em pessoas com o sistema imune debilitado como

peritonites (CORONA et al., 2008), endocardites e meningites em crianças (BECKWITH et al., 1986). Em alimentos, já foram isolados de peixe e leite de búfalo (OLIVEIRA et al., 2005). Bactérias do gênero *Corynebacterium* são amplamente difundidas nos solos e nas águas, além da pele e mucosas em humanos e animais. Esses microrganismos foram encontrados no convés e no pescado após entrar em contato com o barco, um dos fatores que pode estar relacionado com a presença dessa bactéria é o processo de lavagem após a pesca quando chega de cada viagem com a água proveniente do rio Mampituba, sendo que a água não recebe nenhum um tipo de tratamento para o seu uso.

Duas espécies do gênero *Salinicoccus* foram isoladas dos linguados antes de entrarem no barco e dos linguados armazenado no convés do barco pronto para descarregar no porto. Cinco isolados foram identificados como *Salinicoccus alkaliphilus* (ZHANG et al., 2002) isolados dos linguados (*Paralichthys* spp.) antes de entrarem em contato com o barco, e somente um foi isolado no pescado armazenado no convés após 4h de captura. As características fisiológicas e bioquímicas apresentadas pelas cepas de *Salinicoccus* estão listadas no Anexo B (B.7). Esse microrganismo já havia sido isolado de lagos salgados e é descrito com tendo uma grande capacidade de suportar variações de temperaturas, pH e salinidade (CHEN, 2008). Essas bactérias, ainda não foram descritas em superfície de animais marinhos ou, principalmente, fazendo parte da microbiota do linguado e de outros animais de fundo oceânico. Testes moleculares poderão confirmar esses isolamentos posteriormente. A presença de *Salinicoccus* foi observada antes e após o

armazenamento no convés, demonstrando a permanência desse microrganismo na superfície desse peixe mesmo após 4h de estocagem no convés da embarcação. Pela sua grande capacidade de tolerar as variações de salinidade e temperatura, característicos da espécie, esses organismos mantiveram-se presentes aderidos ao pescado mesmo com a troca de condições ambientais do mar/convés/estocagem. Foram isolados também quatro isolados de *S. roseus* identificadas conforme Chen et al. (2008). Os isolados foram encontrados somente nos linguados antes de entrarem em contato com o convés do barco. Esses microrganismos já foram isolados de esponjas marinhas (*Echinodictyum* sp., *Spongia* sp., *Sigmatocia fibulatus* e *Mycale mannarensis*) no sul da Índia (ANAND et al, 2006) demonstrando uma associação com o Oceano. Os isolamentos dessas cepas reforçam sua presença no linguado (*Paralichthys* spp.) no mar, e a confirmação de sua detecção no Sudoeste do oceano Atlântico.

Anderson (1962) foi um dos precursores em isolar do ambiente marinho, organismos do gênero *Micrococcus*. Estudos caracterizaram a presença deste gênero em diversas regiões como o mar do Norte, o mar Báltico e o oceano Atlântico setentrional (HEINÄNEN & KUPARINEN, 1991; CABAJ et al., 2006). Essa bactéria é, predominantemente, encontrada em animais mamíferos, mas pode ser isolada no ambiente (KOCUR et al., 2006). *Micrococcus luteus* foi isolado da superfície das escamas do linguado antes de entrar na embarcação, na primeira coleta. A presença dessa espécie no litoral norte do Rio Grande do Sul corrobora com a preferência de ambiente para este grupo em águas temperadas a frias.

Seis isolados de *Marinococcus halotolerans* foram isolados na CI. Esses isolados são procedentes do linguado (*Paralichthys* spp.), antes de entrar em contato com a tripulação ou com o barco, e foram caracterizados através de testes bioquímicos conforme Li et al., (2005) (Anexo B, (B.8)). A bactéria *M. halotolerans* foi descrita recentemente e, portanto seus habitats e sua dispersão no ambiente ainda permanecem uma incógnita. O isolamento desta bactéria, do linguado (*Paralichthys* spp.) demonstra a relação entre o *M. halotolerans* e os hábitos de vida do linguado na fase adulta. Pereira et al. (2004) constataram a influência do ambiente na microbiota de mexilhões (*Perna perna*) relacionado-os com as bactérias de seu habitat.

Um importante isolado identificado no pescado e no convés do barco foi o *Brochothrix thermosphacta*. Um isolado foi retirado do linguado armazenado no convés na CI, um no convés do barco antes da entrada dos pescados na CII e dois isolados das tainhas (*Mugil* spp.) armazenadas no convés do barco na CII. Este gênero apresenta mudança nos padrões morfológicos, de acordo com o tempo de crescimento, variando de bastonetes longos a cocos e cocobacilos. Os resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos estão apresentados no Anexo B (B.10). Stackebrandt & Jones (2006) descreveram *B. thermosphacta* como uma bactéria que decompõe as carnes em baixas temperaturas (1°C a 4°C). Por essa característica é um importante organismo na decomposição dos alimentos, pois consegue crescer em temperatura de geladeira, e caso o pescado não seja armazenado em condições adequadas, pode sofrer a deterioração da carne, e como

consequência produzir uma série de metabolitos finais, liberados no decorrer da decomposição havendo perda de qualidade do produto (PIN et al., 2002).

#### **4.4 Amplificação, purificação e sequenciamento do gene 16S rRNA**

Foram selecionados seis grupos com perfil fenotipicamente idênticos em relação aos testes fisiológicos e bioquímicos, e desses selecionado um representante para os testes moleculares. Estas cepas não puderam ser identificadas apenas pelas características fenotípicas e foram analisadas genotipicamente pela amplificação por PCR seguido de sequenciamento da região 16S do rRNA como descrito por Gontang et al., 2007. Após o sequenciamento, o DNA das cepas foi comparado com sequências existentes do banco de dados do “National Center for Biotechnology Information” NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) usando o programa “Basic Local Alignment Search Tool” (BLAST). O resultado do alinhamento das sequências permitiu identificar os microrganismos como: *Rhodococcus corynebacterioides*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Psychrobacter nivimaris*, *Psychrobacter marincola*, *Psychrobacter luti* e *Psychrobacter maritimus*, indicados com seus isolados (TABELA 2).

**TABELA 2.** Isolados identificados pelo sequenciamento de DNA da região 16S rRNA, em relação ao número de isolados e percentual de homologia com as cepas presentes no NCBI.

Isolados identificados	n	Local	Coleta	Homologia das Sequências	Cepas do NCBI
<i>Exiguobacterium</i> sp.	9	C	I, II	99,9%	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>
<i>Psychrobacter luti</i>	8	B,C	I, II	94,0%	<i>Psychrobacter luti</i> cepa LMG 21276
<i>Psychrobacter marincola</i>	7	B	I	98,7%	<i>Psychrobacter marincola</i>
<i>Psychrobacter</i> sp.	6	B	I	100,0%	<i>Psychrobacter maritimus</i>
<i>Psychrobacter nivimaris</i>	6	B	I	92,0%	<i>Psychrobacter nivimaris</i> cepa P24a
<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	8	B	I	96,0%	<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>

**Legenda: 4**– Pontos de Coleta: (B) pescado antes de entrar em contato com o barco, (C) pescado saindo do barco e entregue para a venda. I – Coleta ocorrida no mês de novembro de 2007 II – Coleta ocorrida em março de 2008 n= Número de amostras

O isolamento de bactérias do gênero *Psychrobacter* (JUNI & HEYM, 1986), em pescados como o linguado (*Paralichthys* spp.) e a tainha (*Mugil* spp.) capturados no litoral sul do Brasil representa o primeiro registro deste gênero em águas mais quentes (mar temperado) na região sul do oceano Atlântico.

Oito isolados foram agrupados em um mesmo grupo fenotipicamente idêntico em relação aos testes fisiológicos e bioquímicos. Desse grupo de bactérias foi escolhido o isolado 003 para ser submetido ao sequenciamento do DNA da região 16S rRNA (Anexo C, C.1), no qual obteve-se similaridade de 94% com a espécie *P. luti* cepa LMG 21276, confirmando assim com os testes bioquímicos e fisiológicos para essa bactéria conforme descrito por Bozal (2003) (Anexo B, B.11). Esta é a primeira descrição de isolamento dessa espécie associado a peixe no Oceano, assim como fora do círculo polar de

isolamento marinho. Esta bactéria foi isolada das escamas, tanto do linguado quanto da tainha. Esse microrganismo foi isolado do linguado antes de entrar no barco e no pescado armazenado no convés. Em relação à tainha, *P. luti* foi isolado somente do pescado presente no convés. O *P. luti* já havia sido descrito anteriormente como contaminante de ração para pescado e no intestino de pescados que consumiram essa ração em cativeiro (RINGO et al., 2006), mas nunca isolado do ambiente fora do círculo antártico.

O *Psychrobacter nivimaris* foi outra espécie encontrada no linguado. Onde foram isoladas seis cepas com as mesmas características fenotípicas apresentadas (Anexo B, (B11)). Desse grupo de bactérias foi escolhido a cepa 203 para o sequenciamento DNA da região 16S rRNA (Anexo C, C.2). Após o alinhamento das sequências obteve-se uma similaridade de 92% com a espécie *Psychrobacter nivimaris* cepa P24a. Essa espécie já havia sido relatada em amostras de neve na região sul do Oceano Atlântico e também em algas marrons no mar da Coreia (LEE et al., 2006), demonstrando a grande dispersão desse microrganismo no Oceano. Entretanto, não há descrição de patologias associadas a essa espécie. Ao encontrar esse microrganismo fazendo parte da microbiota do linguado demonstra a importância das correntes oceânicas no transporte desses organismos nos mares.

Sete isolados identificados como *Psychrobacter maritimus* foram isolados na CI (Anexo B, B.11). Desse grupo foi escolhido um isolado 006 para o sequenciamento de DNA da região 16S rRNA. O alinhamento das sequências demonstrou que esse isolado apresentava uma homologia de 100% com o gênero *Psychrobacter* spp. cepa YDC-6. Testes bioquímicos e

fisiológicos colocaram esse isolado como *P. maritimus*. Esse microrganismo é um psicrotrófico encontrado em diversas regiões oceânicas (SCHERER & NEUHAUS, 2006), isolado de esponjas marinhas (*Stelletta tenui*, *Halichondria rugosa* e *Dysidea avara*) na China (LI et al., 2007), água e sedimentos (ROMANENKO et al., 2004). O linguado (*Paralichthys* spp.) por ser um peixe bentônico é encontrado em contato com o sedimento e pode ter contribuído para que o *P. maritimus* se agregasse as suas escamas. Esse microrganismo pode estar associado no processo de decomposição do pescado no armazenamento, por suas características de crescimento em baixa temperatura e a grande tolerância a sais (ROMANENKO et al., 2004).

A cepa 12 foi selecionada de sete isolados caracterizados em um mesmo grupo fenotípico para o sequenciamento de DNA da região 16S rRNA (Anexo C, C.3), no qual obteve-se similaridade de 88% com o gênero *Psychrobacter* spp. Confirmando os resultados das provas bioquímicas e fisiológicas como *Psychrobacter marincola* caracterizadas conforme Romanenko, et al. (2004) (Anexo B, B.11). Essa espécie foi primeiramente isolada associada a um tunicado (*Polysyncraton* sp.) no Grande Golfo Australiano (ROMANENKO et al. 2002). O Golfo Australiano recebe interações de correntes polares semelhante ao sul do Brasil (KWOK & COMISO, 2002), essa similaridade é provavelmente a responsável pelo transporte desses microrganismos para fora do círculo polar, tanto na Austrália quanto para o sul do Brasil.

Todas essas cepas do gênero *Psychrobacter* sofreram a influência e a dinâmica das correntes oceânicas no sul do Brasil e sua dispersão sofre

diversas influências de diferentes correntes em relação à época do ano. Durante o período de inverno até o início do mês de dezembro, no qual foram realizadas as coletas das amostras da CI observou-se uma maior diversidade de *Psychrobacter*. Isto ocorre porque durante este período há a entrada das águas de origem sub-antártica que transportam uma ramificação costeira da corrente das Malvinas (STRAMMA & PETERSON 1990; ORSI et al., 1995). As águas frias e de baixa salinidade, se misturam, com as águas quentes e salinas de origem tropical transportadas pela corrente do Brasil. Criando-se assim, uma associação de águas de diferentes regiões oceânicas podendo tanto carregar nutrientes como microrganismos (SCHMID et al., 2000). Essas bactérias, possivelmente, vieram dispersas por esses corredores polares nos meses do inverno e outono, e permanecem em menor quantidade conforme a temperatura das águas sobe e as características físico-químicas mudam.

Ao encontrar microrganismos do gênero *Psychrobacter* no linguado e na tainha ressalta a importância das correntes marinhas e a associação com outros organismos para a dispersão.

Do linguado (*Paralichthys* spp.) foram isoladas oito cepas de *Rhodococcus corynebacterioides*. A identificação desses microrganismos foi baseada no sequenciamento de DNA da região 16S rRNA do isolado 249 que teve uma similaridade de 96% para a espécie *Rhodococcus corynebacterioides* (Anexo C, C.4). A análise dos testes fisiológicos e bioquímicos confirmaram essas cepas como *R. corynebacterioides* (Anexo B, B.12). A espécie *R. corynebacterioides* sofreu alteração taxonômica, pois pertencia ao gênero *Nocardia*, e várias sequências do 16 S rRNA foram depositadas no Genbank

como *Nocardia corynebacterioides*. Essa bactéria já tinha sido isolada de solos costeiros em um estudo realizado na Argentina (BARENGO et al., 2002), e é descrita como um efetivo agente biorremediador de óleo bruto em água marinha (GENTILI et al., 2006). O *R. corynebacterioides* tem a capacidade de degradar uma variedade de substratos que vão desde degradação de aflotoxinas (TENIOLA et al., 2005) a recicladores de polímeros (PAN et al., 2009). Esse é um microrganismo importante ecologicamente nos ciclos dos elementos e seu isolamento nas escamas do linguado (*Paralichthys* spp.) é importante, pois essa bactéria nunca tinha sido citada habitando a superfície de animais marinhos. Um dos pontos relevantes é a verificação em estudos posteriores da influencia desse organismo na decomposição dos pescados.

Foram também identificadas nove bactérias como *Exiguobacterium aurantiacum*, sendo isoladas na CI somente do pescado antes de entrarem em contato com o convés do barco. Desse grupo de bactérias foi escolhido o isolado 201 para o sequenciamento de DNA da região 16S rRNA (Anexo C, C.5). O alinhamento da sequência de DNA obteve similaridade de 92% com o gênero *Exiguobacterium* cepa CNJ771. Os testes bioquímicos e fisiológicos estão apresentados no Anexo B (B.12). Esse microrganismo é de origem ambiental, e raramente causa alguma patologia (PITT et al., 2007). Na Índia, estudos recentes com *E. aurantiacum* verificaram sua capacidade de degradar óleo diesel (MOHANTY & MUKHERJI, 2008) e agrotóxicos (LÓPES, et al., 2005). Em ambiente marinho, esses microrganismos nunca tinham sido isolados em pescado na América do Sul.

#### **4.5 Microrganismos que não puderam ser identificados**

Das 250 cepas de bactérias isoladas na CI e na CII apenas 179 permaneceram ativas para os testes bioquímicos e fisiológicos e 14 cepas não puderam ser identificadas, pois as provas bioquímicas e fisiológicas não se mostravam capazes de classificá-las em grupos de acordo com a literatura atual. Os microrganismos marinhos são estimados entre as maiores diversidades de procariotos do planeta (CURTIS et al., 2002), e o litoral do sul da América, conforme Cirano et al (2006), sofre interferência constante de diferentes correntes marinhas formada de associação de vários pontos do oceano, essa característica afirma a grande diversidade microbiológica dessa região.

#### **4.6 Microrganismos que não resistiram ao processamento**

Dos 250 isolados na CI e CII, 71 não conseguiram ser repicados após 3 cultivos. Esses microrganismos não desenvolveram colônias visíveis em meios de cultivo. Uma explicação para este fato é que muitos microrganismos dependem de oligonutrientes, e muitas vezes só sobrevivem em simbiose com outras bactérias e organismos (JENSEN & FENICAL, 1994; KELECOM, 2002).

O linguado por ser um peixe bentônico (que habita o sedimento marinho), pode ter carregado microrganismos típicos de sedimento marinho como os *Bacillus* spp., isolado na amostra CI. Muitas espécies de *Bacillus* são descritas em ambiente marinho em grande diversidade, mas a manutenção desses isolados é de difícil conservação em laboratório (OGUNTOYINBO, 2007).

No processamento das amostras também foram isoladas oito colônias em meio agar de infusão de cérebro e coração (BHI) acrescidos de azida (0,002%) e 6,5% de NaCl, mas no decorrer do processamento estas acabaram perdendo viabilidade. Bactérias ambientais isoladas nos oceanos são de difícil manejo em laboratório, pois os meios de cultivo e as condições químicas físicas e biológicas não são reproduzidos para subsidiar o metabolismo básico dessas bactérias ambientais (EILERS et al., 2000).

## 5. CONCLUSÕES

Foram identificadas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium aquaticum* e *Brochothrix thermosphacta* presentes nas embarcações no convés do barco pesqueiro antes do pescado entrar na embarcação.

As bactérias identificadas como *Vagococcus fluvialis*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Salinicoccus alkaliphilus*, *S. roseus*, *Bacillus* sp., *Marinococcus halotolerans*, *Micrococcus luteus*, *Psychrobacter nivimaris*, *P. marincola*, *P. luti* e *P. maritimus* foram isoladas dos pescados antes de sua entrada no barco e as espécies *Aerococcus viridans*, *Brochothrix thermosphacta*, *Corynebacterium aquaticum*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *P. luti*, *Salinicoccus alkaliphilus*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus iniae* e *Vagococcus fluvialis* no pescado durante o desembarque no Porto.

A amplificação e seqüenciamento da região 16S do rDNA auxiliou na identificação dos *Rhodococcus corynebacterioides*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Psychrobacter nivimaris*, *P. maricola*, *P. luti* e *P. maritimus*.

A influência de fatores abióticos causados pelas correntes marinhas, pode ter influenciado o surgimento de alguns gêneros isolados somente em um dos períodos das coletas.

## 6 REFERÊNCIAS

ABABOUC, L. A.; GANDINI, G.; RYDER, J. Causes of detentions and rejections in international fish trade. **FAO Fisheries Technical Paper**, p.110, 2005.

ABABOUC, L. H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL, M.; BUSTA, F. F. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. **Food Microbiology**, v. 13, p. 123–132, 1996.

ADAMS, A. M., LEJA, L. L.; JINNEMAN, K., BEEH, J., YUEN, G.A., WEKELL, M. M. *Anisakid parasites, Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in sushi and sashimi form Seattle area restaurants. **Jounal of Food Protection**, v. 57 n. 4, p. 311-317, 1994.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, de 10 de janeiro de 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA, Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica, 2004.

AL-AHMAD, A.; PELZ, K.; SCHIRRMEISTER, J. F.; HELLWIG, E.; PUKALL, R. Characterization of the First Oral *Vagococcus* Isolate from a Root-Filled Tooth with Periradicular Lesions. **Current Microbiology**, p. 235–238, 2008.

ALBUQUERQUE, L.; TIAGO, I.; RAINEY, F. A.; TABORDA, M.; M. F.; NOBRE, VERÍSSIMO, A.; COSTA, M. S. *Salirhabdus euzebiyi* gen. nov., sp. nov., a

Gram-positive, halotolerant bacterium isolated from a sea salt evaporation pond. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p 1566–1571, 2007.

ALBUQUERQUE, W. F.; VIEIRA, R. H. S. F.; VIEIRA, G. H. F. Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.3, p.299-303, 2006.

ALDERMAN, D. J.; HASTINGS, T. S. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potencial for consumer health risks. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 33, p. 139-155, 1998.

ANAND, T. P.; BHATA, A. W.; SHOUCHEB, Y. S.; ROYB, U.; SIDDHARTH, J.; SARMA, S. P. Antimicrobial activity of marine bacteria associated with sponges from the waters off the coast of South East India **Microbiological Research**, v. 161, p. 252—262, 2006.

ANDERSON, J. I. W. Studies On Micrococci Isolated From The North Sea. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 25, p. 362-368, 1962.

ANDRADE, S. F.; GIUFFRIDA, R.; RIBEIRO, M. G. Quimioterápicos, Antimicrobianos e Antibióticos. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**, 2ªed. São Paulo: Editora Roca, p.14-58, 2002.

AUGUSTINE T.; THIRUNAVUKKARASU, B.; VISHNU, B. B.; BHATIA, D. *Aerococcus Viridans* Endocarditis. **Indian Pediatrics** v. 31 , p. 599-601, 1994.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish. **Praxis Publishing**. P. 41 – 42, 2007

AYDIN, S.; CILTAS, A.; YETIM, H.; AKYURT, I. Clinical, Pathologic and Haematological Effect of *Micrococcus luteus*, infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) **Journal of Animal and Veterinary Advances**. p. 167-174, 2005.

AYULO, A. M. R.; MACHADO, R. A.; SCUSSEL, V. M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. **International Journal Food Microbiological**, v.14, p. 687-695, 1994.

BARENGO, N.G.; CUBITTO, M.A.; SENERIZ, F.; CHIARELLO, N.M.; *Rhodococcus corynebacterioides* strain QBTo isolated from soils polluted with crude oil refinery sludge. **NCBI Genbank**. 2002.

BAYA, A.M.; LUPIANI, B.; BANDIN, I.; HETRICK, F. M.; FIGUERAS, A.; CARNAHAN, A.; MAY, E. M.; TORANZO, A. E. Phenotypic and pathobiological properties of *Corynebacterium aquaticum* isolated from diseased striped bass. **Diseases of Aquatic Organisms**. v. 14, no. 2, p. 115-126. 1992.

BECKWITH, D. G.; JAHRE, J. A.; HAGGERTY, S. Isolation of *Corynebacterium aquaticum* from Spinal Fluid of an Infant with Meningitis. **Journal Of Clinical Microbiology**. V. 23 p. 375-376, 1986.

BISSONNETTE, G. K.; JEZESKI, J. J.; McFETERS, G. A.; STUART. D. G. Influence of Environmental Stress on Enumeration of Indicator Bacteria from Natural Waters. **Applied Micromology**, v. 29p, p. 186-194, 1975.

BIZET, C.; BARREAU, C.; HARMANT, C.; NOWAKOWSKI, M.; PIETFROID, A. Identification of *Rhodococcus*, *Gordona* and *Dietzia* species using carbon source utilization tests ("Biotype-100" strips). **Institut Pasteurlesevier**. v. 148, p. 799-809, 1997.

BLAHOVÁ, J.; KRÁLIKOVÁ, K.; KRČMÉRY, V. BARTONÍKOVÁ, N. HIGH-FREQUENCY Transduction of Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by a Wild-Type Bacteriophage with Restricted Specificity for Recipient Strains. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 18, p. 152-154, 1999.

BOZAL, N.; MONTES, M. J.; TUDELA, E.; GUINEA, J. Characterization of several *Psychrobacter* strains isolated from Antarctic environments and description of *Psychrobacter luti* sp. nov. and *Psychrobacter fozii* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** v. 53, p. 1093–1100, 2003.

BROWN G. S.; BETTY, R. G.; BROCKMANN, J. E.; LUCERO, D. A.; SOUZA, S. A.; WALSH, K. S.; BOUCHER, R. M. Evaluation of rayon swab surface sample collection method for *Bacillus* spores from nonporous surfaces. **Journal of Applied Microbiology**. v. 103, p. 1074–1080, 2007.

BULTEL-PONCE, V.; DEBITUS, C.; BERGE, J.; CERCEAU, C.; GUYOT, M. Metabolites from the sponge-associated bacterium *Micrococcus luteus* **Journal of Marine Biotechnology**. v. 6: p. 233–236, 1998.

BUSWELL, C.M.; HERLIHY, Y. M.; MARSH, P. D.; KEEVIL, C.W.; LEACH, S.A. Coaggregation amongst aquatic biofilm bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p. 477–484, 1997.

CABAJ, A.; PALIŃSKA, K.; KOSAKOWSKA, A.; KURLEND, J. Heterotrophic bacteria from brackish water of the southern Baltic Sea: biochemical and

molecular identification and characterization. **Oceanologia**, v. 48, p. 525–543, 2006.

CARDONHA, A.M.S.; CASIMIRO, A.R.S.; VIEIRA, R.H.S.F. Identificação de bactérias psicotróficas em caudas de lagosta, durante processo industrial com tripolifosfato de sódio. **Higiene Alimentar**, v. 8 n. 31, p. 29-34, 1994.

CARVALHO, J. S.; TAMAYO, J. O. C.; ROMERO, G. A. S. Febre crônica associada a abscesso esplênico causado por *Staphylococcus epidermidis* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v 40 p. 588-590, 2007.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. Manual de Vigilância Epidemiológica da cólera. DDTHA/CVE-SES/SP, São Paulo, 2003. URL: <[http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/dta\\_manualcolera.pdf](http://www.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/dta_manualcolera.pdf)> Acesso em: 12/01/2009.

ÇETIN, M.; OCAK, S.; ERTUNÇ, D. An Unusual Case Of Urinary Tract Infection Caused By *Aerococcus viridians*. **ANKEM**;21(1):65-67, 2007.

CHEN, Y.; CUI, X.; LI, W. J.; XU, L. H.; WEN, M. L.; PENG, Q.; JIANG, C. L. *Salinicoccus salitudinis* sp. nov., a new moderately halophilic bacterium isolated from a saline soil sample. **Extremophiles**. v. 12:p. 197–203, 2008

CHRISTENSEN G. D.; SIMPSON W. A.; BISNO A. L.; BEACHEY E. H. Adherence of Slime-Producing Strains of *Staphylococcus epidermidis* to Smooth Surfaces. **Infection And Immunity**. v. 37 p. 318-326, 1982.

CIRANO, M.; MATA, M. M.; CAMPOS, E. J. D.; DEIRÓ, N. F. R. A circulação oceânica de larga-escala na região oeste do Atlântico Sul com base no modelo de circulação Global OCCAM **Revista Brasileira de Geofísica**. v.24, p. 209-230, 2006.

CORONA, A.; CASTELLI, A.; BALLONE, E.; RECH, R.; COLOMBO, FERRARIS, R, S.; DELA PORTA, D.; RAIMUNDI, F. A case of Septic Shock secondary to *Corynebacterium aquaticum* bacteremia occurring in an HIV-infected patient attending a promiscuous thermal SPA. **Minerva Anestesiol journal articles**. v. 74: p. 213-5, 2008.

COSTA, G. H. F.; VIEIRA, G. C.; SILVA, R. H.; VIEIRA, S. F. SAKER S. S. Susceptibilidade “in vitro” a antimicrobianos de estirpes de *Vibrio* spp isoladas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) e de água de criação destes animais provenientes de uma fazenda de camarões no Ceará – Nota prévia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 6, p. 458-462, 2008.

CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T.; SCANNELL, J. W. Estimating prokaryotic diversity and its limits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 99, p. 10494–10499, 2002.

CUTTER, C. N.; SIRAGUSA, G. R. Growth of *Brochothrix thermosphacta* in ground beef following treatments with nisin in calcium alginate gels. **Food Microbiology**, v. 14, p. 425–430, 1997.

DEMPLE, B. Regulation Of Bacterial Oxidative Stress Genes. **Annual Review Genetic** v. 25, p.315-3, 1991.

DIEGUES, A. C.; A Sócio-Antropologia Das Comunidades De Pescadores Marítimos No Brasil. **Etnográfica**, v. 3, p. 361-375, 1999.

EILERS, H.; PERNTHALER, J.; GLOCKNER, F. O.;D. Culturability and In Situ Abundance of Pelagic Bacteria from the North Sea **Applied And Environmental Microbiology**, v. 66, p. 3044–3051, 2000.

FAO Food and Agricultural Organization. World fisheries production, by capture and aquaculture, by country. p. 24-26, 2005

FAO. Food and Agricultural Organization. **Fisheries Index**. Rome, 1992

FAO. Food and Agricultural Organization. **Fisheries Index**. Rome, 2001.

FAO. Food and Agricultural Organization. **Projecto FAO/DANIDA** Rome, 1997.

FERRETTI, R.; DUARTE, R. A.; TERRA, N. L.; MORIGUCHI, Y. Aterosclerose e ácidos graxos “omega-3. **Acta Medica Misericordiae**. Porto Alegre, v. 15, p. 557-574, 1994.

FITZGERALD, J. R.; STURDEVANT, D. E.;CMACKIE, S. M.; GILL, S. R.;MUSSEY, J. M. Evolutionary genomics of *Staphylococcus aureus*: Insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. V 98 p 8821–8826, 2001.

FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Tradução Maria Carolina Minardi Guimarães; Cristina Leonhardt, Porto Alegre, Artmed. 2002.

GARCEZ, D. A.; SANCHES-BOTERO, J. I. Comunidades De Pescadores Artesanais No Estado Do Rio Grande Do Sul, Brasil. **Atlântica**, v. 27, p. 17-29, 2005.

GENTILI, A. R.; CUBITTO, M. A.; FERRERO, F.; RODRIGUÉZ, M. S. Bioremediation of crude oil polluted seawater by a hydrocarbondegrading

bacterial strain immobilized on chitin and chitosan flakes **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 57, p. 222–228, 2006.

GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M.I.S.O. pescado como causa de toxinfecções bacterianas. **Higiene Alimentar**, v. 7, p. 40-5, 1993.

GOH, S.; DRIEDGER, D.; GILLET, S.; LOW, D.; HEMMINGSEN, S. N.; AMOS, M.; CHAN, D.; LOVGREN, J.M.; WILLEY, B. M.; SHAW, C.; SMITH, J. A. *Streptococcus iniae*, a Human and Animal Pathogen: Specific Identification by the Chaperonin 60 Gene Identification Method. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 36, n. 7, p. 2164–2166, 1998.

GONÇALVES, E. G.; MELLO, D. M.; OLIVEIRA, E. G.; HOFER, E. Pesquisa de Bactérias do Gênero *Vibrio* em Feridas Cutâneas de Pescadores do Município de Raposa – MA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34 n.5, p. 407-411, 2001.

GOÑI-URRIZA, M.; CAPDEPUY, M.; ARPIN, C.; RAYMOND, N.; CAUMETTE, P.; QUENTIN, C. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 125-132, Jan. 2000.

GONTANG, E. A.; FENICAL, W.; JENSEN, P. R. Phylogenetic Diversity of Gram-Positive Bacteria Cultured from Marine Sediments. **Applied And Environmental Microbiology**. V.73 p. 3272–3282, 2007.

GOTTENBOS, B., H. C.; MEI, V. D.; BUSSCHER, H. J. Models for studying initial adhesion and surface growth in biofilm formation on surfaces. **Methods Enzymology** 310: p. 523- 534. 1999.

GOUNOT, A. M. Bacterial life at low temperature : physiological aspects and biotechnological implications. **Journal of Applied Bacteriology**. v. 71, p. 386-397, 1991.

GRAEVENITZ, A. V.; BERNARD, K. The Genus *Corynebacterium*—Medical. **Prokaryotes** v. 3, p. 819–842, 2006.

HARDIE, J. M.; WHILEY, R. A. The Genus *Streptococcus*—Oral. **Prokaryotes**. v. p. 4:76–107, 2006

HASLAM, D. B.; GEME, J. W. S. Long: Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. Virtual Books, 2008; Disponível em: <<http://www.mdconsult.com/about/book/churchill.html>> Acesso em: 6/2/2009.

HATHA, A. A. M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India. **Food Microbiology**. v. 14, p. 111–116, 1997.

HENRIQUES I.; MOURA, A.; ALVES, A.; SAAVEDRA, M. J., CORREIA, A.. Analysing diversity among b-lactamase encoding genes in aquatic environments. **FEMS Microbiology Ecology** v. 56 p.418- 429, 2006.

HEUCHERT, A.; GLÖCKNER, F.; AMANN, R.; FISCHER, U. *Psychrobacter nivimaris* sp. nov.\*, a Heterotrophic Bacterium Attached to Organic Particles Isolated from the South Atlantic (Antarctica) **Systematic Applied Microbiology**. V. 27, p. 399–406, 2004.

HSU, H. H.; CHUANG, T.; LIN, H.; HUANG, Y.; LIN, C. Histamine content and histamine-forming bacteria in dried milkfish (*Chanos chanos*) products. **Food Chemistry**. v. 114, p. 933–938, 2009.

HUANG, S-H.; CHEN, W.-C.; SHEI, M.-C.; LIAO, I-C.; CHEN, S.-N. Studies on Epizootiology and Pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* in Tilapia (*Oreochromis* spp.) Cultured in Taiwan. **Zoological Studies** v. 38(2): p. 178-188, 1999.

HUSS, H. H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca. Virtual Books, 1997. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/003/T1768P/T1768P00.htm>> Acesso em: 10/10/2008.

IVANOVA, E. P.; VYSOTSKII, M. V.; SVETASHEV, V. I.; NEDASHKOVSKAYA, O.; GORSHKOVA, N. M.; MIKHAILOV, V. V.; YUMOTO, N.; SHIGERI, Y.; YOSHIKAWA, S. Characterization of *Bacillus* strains of marine origin. **International Microbiology**. v.2 p. 267–271. 2002.

JENSEN, P. R.; FENICAL, W. Strategies For The Discovery Of Secondary Metabolites From Marine Bacteria: Ecological Perspectives **Annual Review of Microbiology**. v. 48 p. 559-84, 1994.

JORGENSEN, J. H. REDDING, L. A., RAMIREZ, P. E. Salt-supplemented medium for testing methicillin-resistant staphylococci with newer beta-lactams. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 26, p. 1675-1678, 1988.

JUNI, E.; HEYM, G. A. *Psychrobacter irrnobilis* gen. nov. sp. nov.: Genospecies Composed of Gram-Negative, Aerobic, Oxidase-Positive Coccobacilli **International Journal of Systematic Bacteriology**. v. 36, p. 388-391, 1986.

KELCH, W. J. LEE, J. S. Antibiotic Resistance Patterns of Gram-Negative Bacteria Isolated from Environmental Sources. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 36, p. 450-456, 1978.

KELECOM, A. Secondary metabolites from marine microorganisms. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 74, p. 151–170, 2002.

KIRBY, R.; SILVA, M.; CAPELL, C.; VAZ-PIRES, P.; GIBBS, P.; DAVIES, A.; JEHANNO, D.; THUAULT, D.; NYCHAS, G.; LUTEN, J. Note. Reaction of Bacteria Associated with Fish Spoilage to Chemical and Physical Stress. **Food Science and Technology International**. v. 7, n. 5, p. 405–409, 2001.

KLOOS, W. E.; MUSSELWHITE, M. S. Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. **Journal of Applied Microbiology**. v. 30, p. 381–395, 1975.

KOCUR, M.; KLOOS, W. E.; SCHLEIFER, K. H. The Genus *Micrococcus*. **Prokaryotes**. v. 3, p. :961–971, 2006.

KWOK, R.; COMISO, J. C. Spatial patterns of variability in Antarctic surface temperature: Connections to the Southern Hemisphere Annular Mode and the Southern Oscillation. **Geophysical Research Letters**, v. 29, p. 30-31, 2002.

KWON, K. K.; LEE, H. S.; JUNG, S.; YIM, J.; LEE, J.; LEE, H. K. Isolation and Identification of Biofilm-Forming Marine Bacteria on Glass Surfaces in Dae-Ho Dike, Korea. **The Journal of Microbiology**, v. 40, p. 260-266, 2002.

LACEY R. W. Genetic basis, epidemiology and future significance of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **A review. Journal of Clinical Pathology**. v. 26, p. 899-913, 1973.

LAUBIER, A.; LAUBIER, L. Marine crustacean farming present status and perspectives. **Aquatic Living Resources**, v. 6, p. 319-329, 1993.

LEDERER, J. Enciclopédia moderna de higiene alimentar. **Tecnologia e higiene alimentar**. São Paulo, 1991.

LEE, Y. K.; JUNG, H. J.; LEE, H. K. Marine Bacteria Associated with the Korean Brown Alga, *Undaria pinnatifida*. **The Journal of Microbiology**, v. 44, p. 694-698, 2006.

LEE, Y. K.; KWON, K. K.; CHO, K. H.; PARK, J. H.; LEE, H. K. Isolation and Identification of Bacteria from Marine Biofilms. **Key Engineering Materials**. v. 277, p 612-617, 2005.

LEIFSON, E. The bacterial flora of distilled and stored water. III. New species of the genera *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Spirillum*, and *Pseudomonas*. **International Bull Bacteriology Nomenclature Taxonomic**, v. 12, p. 161–170, 1962.

LEWIS, G. D.; ANDERSON, S. A.; TURNER, S. J. Detection of Enterococci in Freshwater and Seawater (16S and 23S rRNA Enterococcus Oligonucleotide Probes). **Gene Probes: Principles and Protocols**. v. 179, p. 159-169, 2001.

LI, W.; SCHUMANN, ZHANG, Y.; CHEN, G.; TIAN, X.; XU, L.; STACKEBRANDT, E.; JIANG, C. *Marinococcus halotolerans* sp. nov., isolated from Qinghai, north-west China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** v. 55, p. 1801–1804, 2005.

LI, Z.; HU, Y.; LIU, Y.; HUANG, Y.; HE, L.; MIAO, X. 16S rDNA clone library-based bacterial phylogenetic diversity associated with three South China Sea sponges. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 1265–1272, 2007.

LIMA, F.C. Víbrios marinhos: 1. *Vibrio parahaemolyticus*. **Higiene Alimentar**, v. 11, p. 14-22, 1997.

LIMA, R. M. S.; FIGUEIREDO, H. C. P.; FARIA, F.; PICOLLI, R. H.; FILHO, J. S. B.; LOGATO, P. V. R.. Resistência a Antimicrobianos De Bactérias Oriundas De Ambiente De Criação E Filés De Tilápias Do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Agrotecnologia**. v. 30, n. 1, p. 126-132, jan./fev., 2006.

LINTON, A. H. Plasmids in the environment. **Schriften Ver Wasser Boden Lufthyg**, v.78, p.197-224, 1988.

LÓPEZ, L.; POZO, C.; RODELAS, B.; CALVO, C.; JUA´ REZ, B.; MARTI´NEZ-TOLEDO, M. V.; LO´ PEZ, J. G. Identification of Bacteria Isolated from an Oligotrophic Lake with Pesticide Removal Capacities. **Ecotoxicology**. V. 14, p. 299–312, 2005.

LOSSONCZY, T., O.; RUITER, A.; BRONGEEST-SCHOUTE H. C.; GENT, C. M.; HERMUS, R. J. J. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**. p. 1340-1346, 1978.

MACFADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore : Lippincot Williams & Wilkins, 2000. 912p.

MAJTHEWS, K. R.; ALMEIDA, R. A.; OLIVER, S. P.. Bovine Mammary Epithelial Cell Invasion by *Streptococcus uberis*. **Infection And Immuntiy**. v. 62, p. 5641-5646 1994.

MATCHES J. R.; LISTON, J. CURRAN, D. *Clostridium perfringens* in the Environment' **Journal of Applied Microbiology**. v. 28, p. 655-660, 1974.

MEAD P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.;MCCAIG, L. F.; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food-Related Illness and Death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**. v. 5, p. 607-625, 1999.

MICHEL, C.; PELLETIER, C.; BOUSSAHA, M.; DOUET, D. LAUTRAITE, A.; TAILLIEZ, P. Diversity of Lactic Acid Bacteria Associated with Fish and the Fish Farm Environment, Established by Amplified rRNA Gene Restriction Analysis. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 73, p. 2947–2955, 2007.

MILDRED A. K.; EVANS, J. B. *Aerococcus viridans* in the Hospital. environment appued microbiology. **American Society for Microbiology**. v. 16, p. 519-523 1968.

MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepción Bay, Chile. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 42, p. 1096-1102, 2001.

MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 212, p. 31-47, 2002.

MOHANTY, M.; MUKHERJI, S. Biodegradation rate of diesel range n-alkanes by bacterial cultures *Exiguobacterium aurantiacum* and *Burkholderia cepacia*. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 61, p. 240–250, 2008.

MOLITORIS, E.; JOSEPH, S. W.; KRICHEVSKY, M. I.; SINDHUHARDJA, W.; COLWELL, R. R. Characterization and distribution of *Vibrio alginolyticus* and *V. parahaemolyticus* isolated in Indonesia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 50, n. 6, p. 1388- 1394, 1985.

MOORE, C.; NORTON, R. *Corynebacterium aquaticum* septicaemia in a neutropenic patient. **Journal of Clinical Pathology**. v. 48 p. 971-972, 1995.

MORITA, R. Y. Psychrophilic Bacteria. **Bacteriological Rewievs**, p. 144-167, 1975.

NATAL, S., Emergência da resistência às drogas. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v.10, n. 2, p. 57-70, 2002.

National Center for Biotechnology Information. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em: 4/9/2008.

National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS, Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição. v. 23 n. 1, 2003.

NICHOLS, C. A. M.; GUEZENEC, J.; BOWMAN, J. P. BACTERIAL Exopolysaccharides from Extreme Marine Environments with Special Consideration of the Southern Ocean, Sea Ice, and Deep-Sea Hydrothermal Vents: A Review. **Marine Biotechnology**. v. 7, p. 253-271, 2005.

OGUNTOYINBO, F. A. Monitoring of marine *Bacillus* diversity among the bacteria community of sea water. **African Journal of Biotechnology**. v. 6, p. 163-166, 2007.

OLIVEIRA, A. A. F.; ROCHA, N. S.; LOPES, C. A. M.; SÁ, M. E. P. Isolamento de *Corynebacterium aquaticum* em leite bubalino. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** v. 42, p. 259-261, 2005.

OLIVEIRA, M.F.O., PILZ, E.B., BELINCATA, G.S., LIMBEIRGER, N.; MACEDO, N.T.; CORÇÃO, G.; GERMANI, J.C.; VAN DER SAND, S.T. avaliação da eficácia do tratamento de esgotos de um sistema de lagoas de estabilização através da identificação da população bacteriana. **Acta Scientiarum Veterinaria**, 34, 31-37, 2006.

Organização Mundial da Saúde. Food safety and foodborne illness OMS 2007. URL: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>> Acesso em: 10/10/2008.

ORSI, A. H.; WHITWORTH, I. T.; NOWLIN, W. D. Jr. On the meridional extent and fronts of the Antarctic Circumpolar Current. **Deep-Sea Research**. v. 42, p. 664-673, 1995.

PAN, L.; GU, J.; YIN, B.; CHENG, S. Contribution to deterioration of polymeric materials by a slow-growing bacterium *Nocardia corynebacterioides* **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 63, p. 24–29, 2009.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* Isoladas a Partir De Mexilhões (*Perna perna*) In Natura E Pré-Cozidos No Rio De Janeiro, RJ. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24 p. 562-566, 2004.

PIN, C.; FERNANDO, G. D. G.; ORDONÊS, J. A. Effect of Modified Atmosphere Composition on the Metabolism of Glucose by *Brochothrix thermosphacta*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, 2002.

PITT, T. L.; MALNICK, H.; SHAH, J.; CHATTAWAY, M. A.; KEYS, C. J.; COOKE, F. J.; SHAH, H. N. Characterisation of *Exiguobacterium aurantiacum* isolates from blood cultures of six patients. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, p. 937–948, 2007.

PRASAD, K. N.; MISHRA, A. M.; GUPTA, D.; HUSAIN, N.; HUSAIN, M.; GUPTA, R. K. Analysis of microbial etiology and mortality in patients with brain abscess. **Journal of Infection**, v. 53, 221-227, 2006.

PUYT, J.D. Antibiothérapie. **Encyclopédie Vétérinaire**. v. 26, p. 1-15, 2000.

QUASEM, J. A.; SAMEER, A.; SALWA, A.; SAMEE, A.; AHMED, A.; FAISAL, A. Molecular Investigation of *Streptococcus agalactiae* Isolates from Environmental Sample and Fish Specimes During a Massive fish kill in Kuwait Bay. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. v. 11 n. 21, p. 2500-2504, 2008.

RABELO-GONCALVES, Elizabeth M A; NISHIMURA, Nancy F; MURILO R ZEITUNE, José. Development of a BALB/c mouse model of *Helicobacter pylori* infection with fresh and frozen bacteria. **Biological Research**, Santiago, v. 38, n. 1, 2005

RAPINI, L. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO L. S.; VERAS J. F.; SOUZA M. R. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n.6, p.825-829, 2005.

RAPINI, L. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO L. S.; VERAS J. F.; SOUZA M. R. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n. 1, p.130-133, 2004.

RAZEQ, J. H.; THOMAS, G. M.; L ALEXANDER, D. The First Reported Case of *Aerococcus* Bacteremia in a Patient with HIV Infection. **Emerging Infectious Diseases** V. 5, p. 838-839, November–December 1999.

RIBEIRO, D. G. M.; SILVA, R. P.; RODRIGUES SOBRINHO, C. R. M.; ANDRADE, P. J. M.; RIBEIRO, M. V. V.; MOTA, R. M. S.; TORRES, J. M. S. Endocardite infecciosa valvar submetida a tratamento cirúrgico: análise de 64 casos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 20 p. 75-80, 2005.

RICKARD, A. H.; LEACH, S. A.; HALL, L. S.; BUSWELL, B. C.; HIGH, N. J.; HANDLEY, P. S. Phylogenetic Relationships and Coaggregation Ability of Freshwater Biofilm Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68. p. 3644–3650, 2002.

RINGØ, E.; SPERSTAD, S.; MYKLEBUST, R.; REFSTIE, S.; KROGDAHL, A. Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) The effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. **Aquaculture**, v. 261, p. 829–841, 2006.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; COLLINS, T. Patologia Estrutural e Funcional – Robbins. **Guanabara**. p.1275, 2000.

ROMALDE, J. L.; MAGARIÑOS, B.; NUÑEZ, S.; BARJA, J. L.; TORANZO, A. E. Host Range Susceptibility of *Enterococcus* sp. Strains Isolated from Diseased Turbot: Possible Routes of Infection. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 607–611, 1996.

ROMANENKO, L. A.; LYSENKO, A. M.; ROHDE, M.; MIKHAILOV, V. V.; STACKEBRANDT, E. *Psychrobacter maritimus* sp. nov. and *Psychrobacter arenosus* sp. nov., isolated from coastal sea ice and sediments of the Sea of Japan. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, p. 1741–1745, 2004.

ROMANENKO, L. A.; SCHUMANN, P.; ROHDE, M.; ANATOLY, M.; MIKHAILOV, V. V.; STACKEBRANDT, E. *Psychrobacter submarinus* sp. nov. and *Psychrobacter marincola* sp. nov., psychrophilic halophiles from marine environments. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p. 1291–1297, 2002.

SCHERER, S.; NEUHAUS, K. Life at Low Temperatures. **Prokaryotes**, v.2 p. 210–262, 2006.

SCHLIEVERT, P. M.; JABLONSKI, L. M.; ROGGIANI, R.; SADLER, I.; CALLANTINE, S.; MITCHELL, D. T.; OHLENDORF, D. H.; BOHACH, G. A. Pyrogenic Toxin Superantigen Site Specificity in Toxic Shock Syndrome and Food Poisoning in Animals. **Infection and Immunity**, p. 3630–3634, 2000.

SCHMID, C.; SIEDLER, G.; ZENK, W. Dynamics of Intermediate Water Circulation in the Subtropical South Atlantic. **Journal of Physical Oceanography**, v. 30, p. 3191–3211, 2000.

SCHMIDTKE, L. M; CARSON, J. Characteristics of *Vagococcus salmoninarum* isolated from diseased salmonid fish. **Journal of Applied Microbiology**, v. 77, p. 229-236, 1994.

SCHUT F.; SCHUT, L.; EGBERT, J.; DE VRIES, J. C.; GOTITSCHAL, B. R. Isolation of Typical Marine Bacteria by Dilution Culture: Growth, Maintenance, and Characteristics of Isolates under Laboratory Conditions. **Applied and Environmental Microbiology**. P. 2150-2160, 1993.

SEELEY, HARRY, W., Jr., Poul J. Vandemark, John J. Lee. Microbes in Action, A Laboratory Manual of Microbiology. 4<sup>o</sup> edição. **W.H. Freeman and Company**. 1991

SERRANO, J. A.; TABLANTE, R. V.; SERRANO, A. A.; DE SAN BLAS, G. C.; IMAEDA, T. Physiological, chemical and ultrastructural characteristics of *Corynebacterium rubrum*. **Journal of General Microbiology**, v. 70,p. 339–349, 1972.

SEVERINO-RODRIGUES E.; HEBLING, N. J.; GRAÇA-LOPES, R. Biodiversidade no produto da pesca DE ARASTO-DE-FUNDO dirigida ao lagostim, *Metanephrops rubellus* (Moreira, 1903), desembarcado no litoral do estado de são Paulo, Brasil. **Instituto de Pesca**, São Paulo, 33(2): 171-182, 2007.

SKOVGAARD, N. Industrial Biofouling. Detection, Prevention and Control. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 167-168, 2001.

STACKEBRANDT, S.; JONES, D. The Genus *Brochothrix*. **Prokaryotes**, v. 4 p. 477–491, 2006.

STEWART, J. E.; CORNICK, J. W.; ZWICKER, B. M.; ARIE, B. Studies on the virulence of *Aerococcus viridians* (var.) *homari*, the causative agent of gaffkemia, a fatal disease of homarid lobsters. **Diseases of Aquatic Organisms Dis Aquat Organism**, v. 60, p. 149–155, 2004.

STRAMMA, T.; PETERSON, R. G. The South Atlantic Corrent. **Journal of physical oceanography**. v. 20, p 846-849, 1990.

STRAUCH,D. Diseases agents in feces and the epidemiologic significance. **Tierarztlich Praxix sipplemnte**, v. 3, p. 21-27, 1988.

SUZUKI, K.; SUZUKI, M.; SASAKI, J.; PARK, Y.; KOMAGATA, K. *Leifsonia* gen. nov., a genus for 2,4-diaminobutyric acid-containing actinomycetes to accommodate "*Corynebacterium aquaticum*" Leifson 1962 and *Clavibacter xyli* subsp. *Cynodontis* Davis et al. 1984. **The Journal of General and Applied Microbiology**, V. 45, p. 253–262, 1999.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 281-301, 2000.

TEIXEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G.; MERQUIOR, V. L. C.; STEIGERWALT, A. G.; BRENNER, D. J.; FACKLAM, R. R. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Vagococcus fluvialis*, Including Strains Isolated from Human Sources. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 11, p. 2778–2781, 1997.

TENDENCIA, E. A.; DELA PEÑA, L. D. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 195, p. 193-204, 2001.

TENIOLA, O. D.; ADDO, P. A.; BROST, I. M.; FARBER, P.; JANY, K.-D.; ALBERTS J. F.; ZYL, W. H.; STEYN, P. S.; HOLZAPFEL, W.H. Degradation of aflatoxin B1 by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov. DSM44556T. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, p. 111 – 117, 2005.

THORNSBERRY, C.; CARUTHERS, J. Q.; BAKER, C. N. Influence of Environmental Stress on Enumeration of Indicator Bacteria from Natural Waters **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Sept. 1973, p. 263-269, 1973.

UH, Y.; SON, J. S.; JANG, I. H.; YOON, K. J.; HONG, S. K. Penicillin-resistant *Aerococcus viridans* Bacteremia Associated with Granulocytopenia. **Journal Korean Medicine Science**, v. 17 p. 113-5, 2002.

Universidade do Vale do Itajaí. Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, *Boletim estatístico da pesca industrial de Santa Catarina – ano 2005 e panorama 2001/2005: programa de apoio técnico e científico ao desenvolvimento da pesca no Sudeste e Sul do Brasil \ Universidade do Vale do Itajaí , Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar. – Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2007.*

VARGAS, D. S. T.; & QUINTAES, K. D. Potencial Perigo Microbiológico Resultante de uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescado em São Paulo. **Ciências e tecnologia de alimentos**, v. 23 (3): 517, 2003.

VICENTE, A. C. T.; DIAS, J. C. A. R.; HOFER, E. Coliformes fecais em água de esgoto. II Transferência de marcadores presença de plasmídeos. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz** v. 83, p. 29-35, 1988.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; GONÇALVES, F. A.; MENEZES, F. G. R.; ARAGÃO, J. S. ; SOUSA, O. V. - Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. And *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, p. 145-148, 2001.

WALLACE, B. J.; GUZEWICH, J. J.; CAMBRIDGE, M.; ALTEKRUSE, S.; MORSE, D. L. Seafood-Associated Disease Outbreaks in New York, 1980–1994. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 17 n. 1 p. 48–54, 1999.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida. **Organização Pan- Americana da Saúde**, v.1, p. 1-6, 2004.

WEINSTEIN M. R.; MARGARET, M. D.; LITT, M. H.; KERTESZ, D. A.; WYPER, P.; DAVIDROSE, R. N., MARKCOULTER, A. R. T.; ALLISONMCGEER, R.; CAROLAOSTACH, B.; WILLEY, A.; ANDDONALDE. L. Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*. **Massachusetts Medical Society**, v. 337 n. 9, 1997.

YOON, J. H.; YEO, S. H.; OH, T.; PARK, Y. *Psychrobacter alimentarius* sp. nov., isolated from squid jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 55, p. 171–176, 2005.

ZHANG, W.; XUE, Y. MA, Y.; ZHOU, P.; VENTOSA, A.; GRANT, W. D. *Salinicoccus alkaliphilus* sp. nov., a novel alkaliphile and moderate halophile from Baer Soda Lake in Inner Mongolia Autonomous Region, China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 52, p. 789–793, 2002.

ZICAN, C.A. O Ministério da Agricultura iniciou o controle sanitário através do sistema de pontos críticos. O pescado é o carro chefe desse sistema. **Higiene Alimentar**, v. 8, p. 9-10, 1994. Apresentado no 1º Seminário de Vigilância Sanitária Pesqueira: Qualidade dos Pescados, 1994.

ZIJNGE, V.; HARMSSEN, H. J. M.; KLEINFELDER, J.W.; VAN DER REST, M. E.; DEGENER, J. E.; WELLING, G. W. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis to study bacterial community structure in pockets of periodontitis patients. **Oral Microbiology Immunology**, v.18: p. 59–65, 2003.

## **ANEXO A**

### **1. Meio Base para Carboidratos**

Foi utilizado o padrão base de meios para carboidratos ao qual foi acrescido de 1% do carboidrato a ser testado, tendo como indicador de pH púrpura de bromocresol conforme MacFaddin (2000). Após inoculados os tubos com as amostras estes foram incubados a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ), por até 15 dias. As amostras eram consideradas positivas ou negativas após a alteração do pH do meio. Os açúcares testados foram: frutose, glicerina, glicose, lactose, manitol, sacarose, xilose.

### **2. Teste de Catalase**

Para o teste de catalase foi utilizado a peróxido de hidrogênio a 3% nas culturas de 24h de crescimentos. Para a inoculação foi depositada uma gota de peróxido de hidrogênio sobre uma lâmina, e com o auxílio de um fio

bacteriológico foi acrescido à colônia em estudo na gota de peróxido de hidrogênio.

Foram consideradas positivas as amostras que obtiveram a presença de bolhas “efervescência”, com a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Foram consideradas negativas para os testes as que não apresentaram bolhas (ANVISA, 2004).

### **3. Teste de Oxidase**

Para o teste de oxidase foram utilizadas tiras reagentes de oxidase, e, empregadas as culturas de 24h de crescimentos incubadas a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). As colônias testadas foram inoculadas com palitos de madeira esterilizados acrescidos as tiras. As amostras consideradas positivas foram as que provocaram nas tiras a reação de enegrecimento em no máximo 1min (ANVISA, 2004).

### **4. Hidrólise da gelatina**

O meio para teste de liquefação da gelatina foi realizado conforme descrito por MacFaddin (2000). Tubos de ensaio contendo 5 ml de meio de cultura foram inoculados com um fio bacteriológico e posteriormente incubados a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por um período de 15 dias. As amostras foram observadas diariamente. Para avaliar os resultados e confirmar a capacidade de hidrólise do isolado, as amostras foram colocadas a uma temperatura de 5°C por 30min. Amostras positivas o meio de cultura permanecia liquefeito.

## **5. Hidrólise do amido**

O prova de hidrólise do amido testa a capacidade da bactéria de produzir a amilase. Esse teste foi realizado conforme descrito por MacFaddin (2000). As amostras foram inoculadas por estria na superfície do Agar amido e incubadas a 30° ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por 48 h. A hidrólise foi verificada pela formação de halos em volta do crescimento celular, revelados pela adição de uma solução de Lugol sobre o meio.

## **6. Hidrólise da esculina**

Foi verificada a capacidade das bactérias em hidrolisar a esculina, utilizando-se o meio de cultura com a seguinte composição: TSA 4 g, citrato férrico 0,05 g, esculina 0,1 g, água destilada 100 ml.

A inoculação foi realizada com colônias de crescimento recente (18-36 h), picando a base do meio e semeando na superfície do Agar com o auxílio de um fio bacteriológico. Os tubos foram incubados a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por um período de até 15 dias. Os resultados foram considerados positivos quando a cor do meio passou para marrom escuro ou preto. Foi considerado negativo quando o meio ficou inalterado após ser incubado até 15 dias (ANVISA, 2004).

## **7. Bile esculina**

Para o teste de hidrolise da esculina na presença de 4% de sais biliares foi utilizado o meio comercial agar bile-esculina e preparado conforme a descrição do fabricante em tubos de ensaio. As amostras foram inoculadas com uma estria na superfície do Agar e incubadas a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por até 15

dias. Os resultados foram considerados positivos quando a cor do meio passou para marrom escuro ou preto. Foi considerado negativo quando o meio ficou inalterado (palha) após ser incubado até 15 dias. A verificação do crescimento nesse meio caracterizou o positivo a tolerância de 4% de sais biliares (ANVISA, 2004).

### **8. Oxidação/Fermentação (OF)**

As bactérias foram testadas quanto às vias metabólicas utilizadas para degradar carboidrato através do meio OF.

O meio OF foi pesado e hidratado conforme o fabricante, adicionado 1% de glicose ao total do meio, distribuindo 2ml em tubos com tampa, e esterilizado em vapor fluente por 20min (ANVISA 2004). A inoculação por picada foi realizada em dois tubos contendo meio de cultura para cada isolado. Posteriormente, um tubo foi selado com óleo mineral estéril e os dois tubos incubados a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). As amostras eram consideradas positivas ou negativas quando no período de 15 dias havia modificação do pH sendo indicado pelo indicador de pH do meio.

## ANEXO B

**B.1. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Staphylococcus aureus*.**

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>																									
Isolado	Cor da colônia	Arranjo das células	Catalase	Oxidase	Fator de aglutinação	Hemólise	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	Motilidade	Uréia	Amido	Gelatina
AT3% 2	A	CE	+	-	+	+	+	+	NT	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	NT	NT	NT
AT3% 7	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	NT	-
DT 17	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	NT	-
129	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
134	A	CE	+	-	+	NT	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	NT
138	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	NT
151	A	CD	+	-	+	-	+	+	+	NT	-	+	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	-	+	-	-
193	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	NT	+	+	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	-	NT	-	-
196	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	NT	-	+	-	-	+	NT	+	+	+	+	-	-	+	-	+
198	C	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
321	A	CE	+	-	+	+	NT	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
501	A	CE	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	NT	-	+

**Legenda:** (+) Teste positivo, (-) Testes negativo. (NT) Não testado, (A) Cor da colônia amarela, (C) Cor da colônia creme, (CE) Cocos em arranjo de estafilococcus, (CD) Cocos em diplococos.

**B.2. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Staphylococcus epidermidis*.**

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE <i>Staphylococcus epidermidis</i>																									
Isolado	Cor da colônia	Arranjo das células	Catalase	Oxidase	Fator de aglutinação	Hemólise	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	Motilidade	Ureia	Amido	Gelatina
100	B	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
106	B	DC	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	NT
112	B	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	NT
128	C	DC	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	NT
133	B	CT	+	-	-	+	+	+/-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	NT
141	B	DC	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	-
193	B	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	-	-	-	-	-	NT	-	NT
322	B	CT	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	+
AT 13	C	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	-	-	-	-	NT	-	NT
CT3% 008	B	CT	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	-	-	-	-	NT	-	NT
DT 22	C	CT	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	-	-	-	-	NT	-	-
DT10	B	CT	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
DT111	B	DC	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	-
DT3% 17	B	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
DT3% 3	B	CT	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	NT	NT	+	+	+	-	-	-	NT	-	-

**Legenda:** (B) Cor branca da colônia, (C) Cor creme da colônia, (CT) Cocos em tetrade, (DC) Cocos em pares, (+/-) Teste Positivo mas fraco: (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado.

**B.3. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Streptococcus iniae*.**

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE <i>Streptococcus iniae</i>																					
Isolado	Arranjo das células	Catalase	Oxidase	Hemólise	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	Motilidade	Amido	Gelatina	Cor da colônia
DT3% 18,	Cocos em cadeia	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	TR
DT3% 33	Cocos em cadeia	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	TR

**Legenda:** (+) Teste positivo, (-) Testes negativo. (TR) Incolor "Translúcido".

**B.4. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Vagococcus fluvialis*.**

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE *Vagococcus fluvialis*

Isolados	Catalase	Oxidase	Citrato	Glicose	Lactose	Manitol	Glicerol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Amido	Gelatina	Oxidação	Fermentação	Morfologia celular	
219	-	-	NT	+	NT	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	CB	
221	-	-	NT	+	NT	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	CC	
239	-	-	NT	+	NT	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	C	
246	-	-	NT	+	NT	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	C	
BT002	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NT	-	+	C
BT3% 24	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NT	-	+	CB
BT3% 28	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NT	-	+	CB
BT3% 43	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	CB
BTP3% 8	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	NT	-	+	CB

**Legenda:** (+) Teste positivo, (-) Testes negativo. (NT) Não testado. (CB) cocobacilo, (C) cocos, (CC) cocos em cadeias.

**B.5.** Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Aerococcus viridans*, Crescimento variando de 48 a 72h.

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE *Aerococcus viridans*

Isolados	Catalase	Oxidase	Glicose	Lactose	Manitol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Ureia	Amido	Gelatina	VM	VP	Oxidação	Fermentação	Cor da colônia	Morfologia do arranjo
DT3% 1	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B	CD
139	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	C	CD
188	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B	CD
191	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B	CT

**Legenda.** (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (B) Cor da colônia Branca, (C) Cor da colônia creme, (CE) Cocos em tétrede, (CD) Cocos em diplococos.

**B.6. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Corynebacterium aquaticum*.**

**TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE  
*Corynebacterium aquaticum***

Isolado	Catalase	Oxidase	Citrato	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Glicerol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	6.5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Uréia	Amido	Gelatina	VM	VP	Oxidação	Fermentação
324	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	N	-	-	-	-	-	-	+	-	NT	-	+	-	+	-	-
87	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	NT	-	+	-	+	-	-
92	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	N	-	-	-	-	-	-	+	-	NT	-	+	-	+	-	-
C37	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+ <sup>1</sup>	-	-	-	+	-	+	-	-
CT3% 3	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+ <sup>1</sup>	-	-	-	+	-	+	-	-
DT3% 15	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+ <sup>1</sup>	-	-	-	+	-	+	-	-
DT3% 43	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-
LAC	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-

**Legenda.** (1) Testado a 22°C e 30°C, (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado.

**B.7. Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Salinicoccus* sp.**

**TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE *Salinicoccus* sp.**

Isolado	Catalase	Oxidase	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Glicerol	Sacarose	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Uréia	Amido	Gelatina	VM	VP	Cor da colônia	Morfologia das células	
<i>S. alkaliphilus</i>																											
BT 1 P	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	NT	-	-	RO	CT	
BT 13	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	RO	CT	
BT3% 11	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	RO	CT	
BE03	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	RO	CT	
BT 33	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	NT	-	-	RO	CT	
CT 02	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	NT	-	-	RO	CT	
<i>S. roseus</i>																											
BT	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	NT	NT	VE	CD	
BT123	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	VE	CT	
BTCC	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	VE	CT	
BT3%0003	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	VE	CT	

**Legenda :** (RO) Cor rosa da colônia, (VE) cor da colônia vermelha, (CD) Cocos em diplococos(CT) Cocos em tétrede, (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado, (1) fraco positivo.

**B.8. Testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Micrococcus luteus***

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE *Micrococcus luteus*

Isolado	Catalase	Oxidase	Citrato	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Glicerol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	Motilidade	Uréia	Amido	Gelatina	VM	VP	Oxidação	Fermentação	Morfologia celular	Cor da colônia
BT 19,	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	CT	CA
BT 26	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	CT	CA
BT3% 31	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	CT	CA
BTB 15	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	CT	CA
BTB 16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NT	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	CT	CA

**Legenda:** (CT) Células em Tétrade, (CA) colônia amarela. (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado.

**B.9.** Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Marinococcus halotolerans*.

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE *Marinococcus halotolerans*

Isolado	Catalase	Oxidase	Glicose	Frutose	Xilose	3% NaCl	5% NaCl	6.5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Amido	Gelatina	VM	VP	Cor da colônia	
BT 2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL
BTB 4	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL
BTB 8	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL
BTB 17	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL
BT3% 21	+	-	+	+	+	+	+	+	NT	NT	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL
BTB 35	+	-	+	+	+	+	+	+	NT	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	CL

**Legenda:** (CL) colônia laranja, (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado.

**B.10.** Resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas identificadas como *Brochothrix thermosphacta*.

TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS DAS CEPAS DE  
*Brochothrix thermosphacta*

Isolados	Catalase	Oxidase	Citrato	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Glicerol	Sacarose	Esculina	Bile 4%	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8%NaCl	10% NaCl	12% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Uréia	Amido	Gelatina	VM	VP	Oxidação	Fermentação
CT3% 17	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
195	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
348	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
376	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+

Legenda: (+) Teste positivo, (-) Testes negativo

### B.11. Resultado dos testes bioquímicos e fisiológicos das cepas de *Psychrobacter* spp.

		TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS																															
Espécies de <i>Psychrobacter</i> spp.	Isolado	Necessidade de H <sub>2</sub> O	Catalase	Oxidase	Citrato	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Sacarose	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl	12% NaCl	15% NaCl	20% NaCl	H <sub>2</sub> S	Motilidade	Indol	Uréia	Amido	Gelatina	Crescimento a 25°C	Crescimento a 30°C	Crescimento a 37°C	Oxidação	Fermentação	Morfologia Celular		
		<i>P. nivimaris</i>	BT3% 201	-	+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB
203	-		+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB	
BT3% 26	-		+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB	
BTB 13	-		+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB	
BTB 17	-		+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB	
BT3% 28	-		+	+	-	-	-	-	NT	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CB	
<i>P. luti</i>	003	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	148	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	211	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	222	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	BT 44	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	CTE5	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	BT124	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	CT3% 16	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
<i>P. maritimus</i>	006	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB	
	043	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB	
	438	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB	
	522	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB
	BTB31	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB
	BT4d	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	CB
<i>P. marincola</i>	12	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	B06	+	+	+	-	-	-	-	-	NT	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	+	-	-	-	-	CC	
	BT0	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	
	BT3% 125	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC
	BTB7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC
	i29	+	+	+	-	-	-	-	-	-	NT	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	+	-	-	-	CC	
	iQM	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	CC	

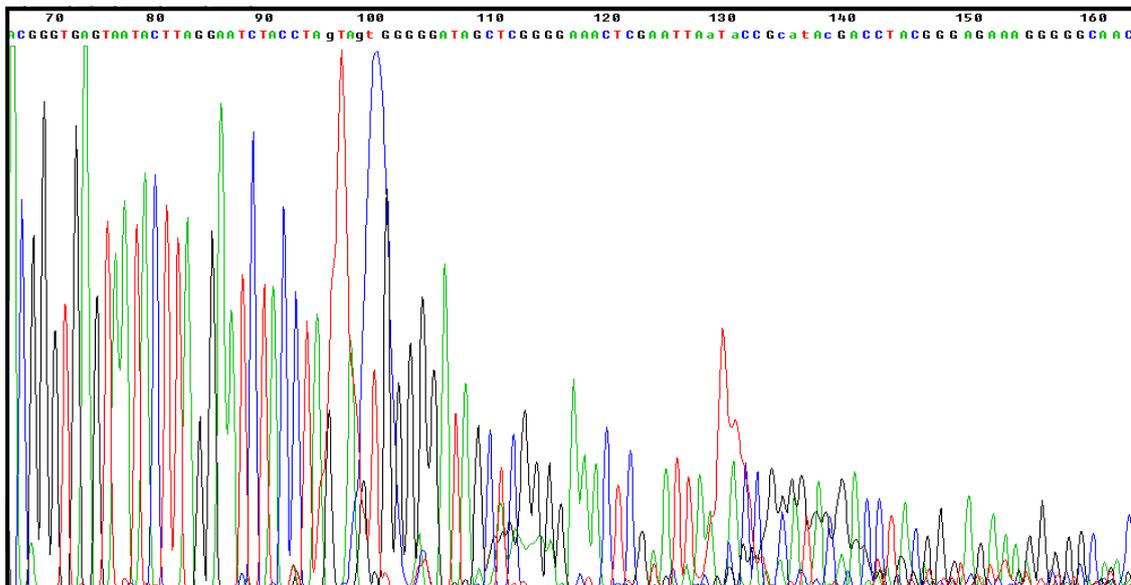
Legenda: (CC) Cocos ,(CB) Cocobacilo, (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado.

**B.12. Testes bioquímicos e fisiológicos das cepas de *Exiguobacterium aurantiacum* e *Rhodococcus corynebacterioides*.**

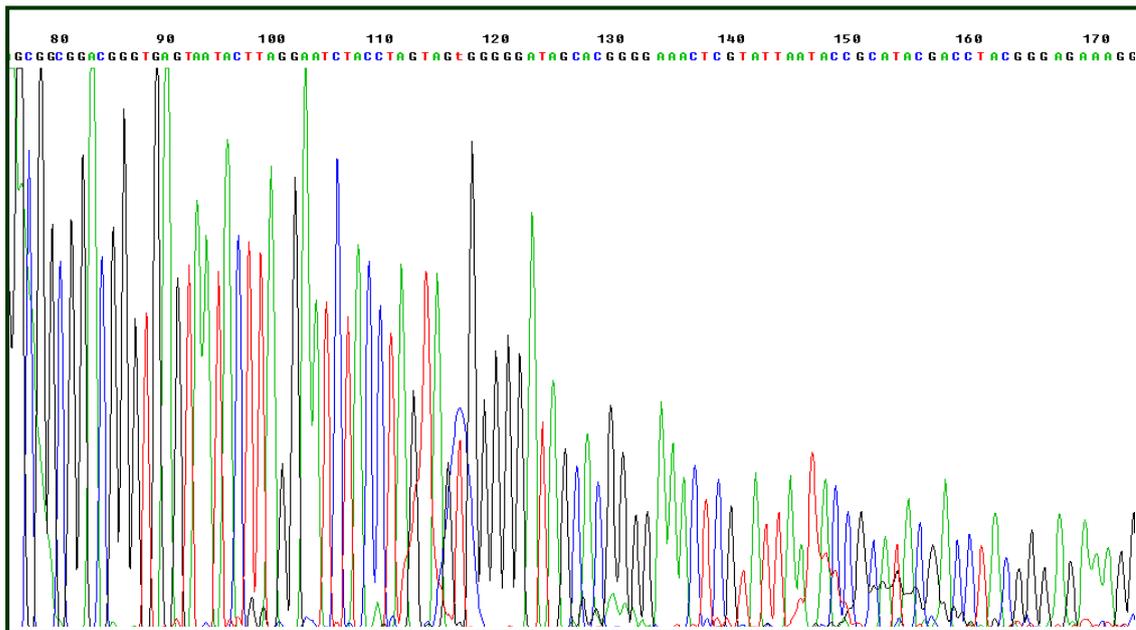
		TESTES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS																													
Isolado	Necessidade de H <sub>2</sub> O	Catalase	Oxidase	Esculina	Citrato	Glicose	Lactose	Frutose	Xilose	Manitol	Sacarose	3% NaCl	5% NaCl	6,5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl	12% NaCl	15% NaCl	20% NaCl	Motilidade	Uréia	Gelatina	Crescimento a 25°C	Crescimento a 30°C	Crescimento a 37°C	Oxidação	Fermentação	Morfologia Celular	Cor da colônia		
<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	42	-	+	-	NT	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	CC	CV	
	i31	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	CC	CV	
	i28	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	CC	CV	
	249	-	+	-	NT	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	CC	CV	
	BT42	-	+	-	NT	+	+	NT	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	CC	CV	
	BTB19	-	+	-	-	+	+	NT	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	+	+	-	-	CC	CV
	BT3% 31	-	+	-	NT	+	+	NT	+	-	+	+	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	+	+	-	-	CC	CV
	BT3% 26	-	+	-	NT	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NT	-	+	+	+	-	-	CC	CV
	BT3% 42	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	NT	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL
<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	BT3% 16	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	
	BTB10	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	
	201	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	
	i39	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	NT	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	
	163	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	CB	CL	
	i27,	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	
	i67	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	CB	CL	
	240	-	+	-	+	+	-	NT	-	NT	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	CB	CL	

**Legenda:** (CC) Cocos ,(CB) Cocobacilo, (+) Teste positivo, (-) Testes negativo, (NT) Não testado, (1) Fraco positivo, (CV) cor da colônia vermelha, (CL) cor da colônia laranja.

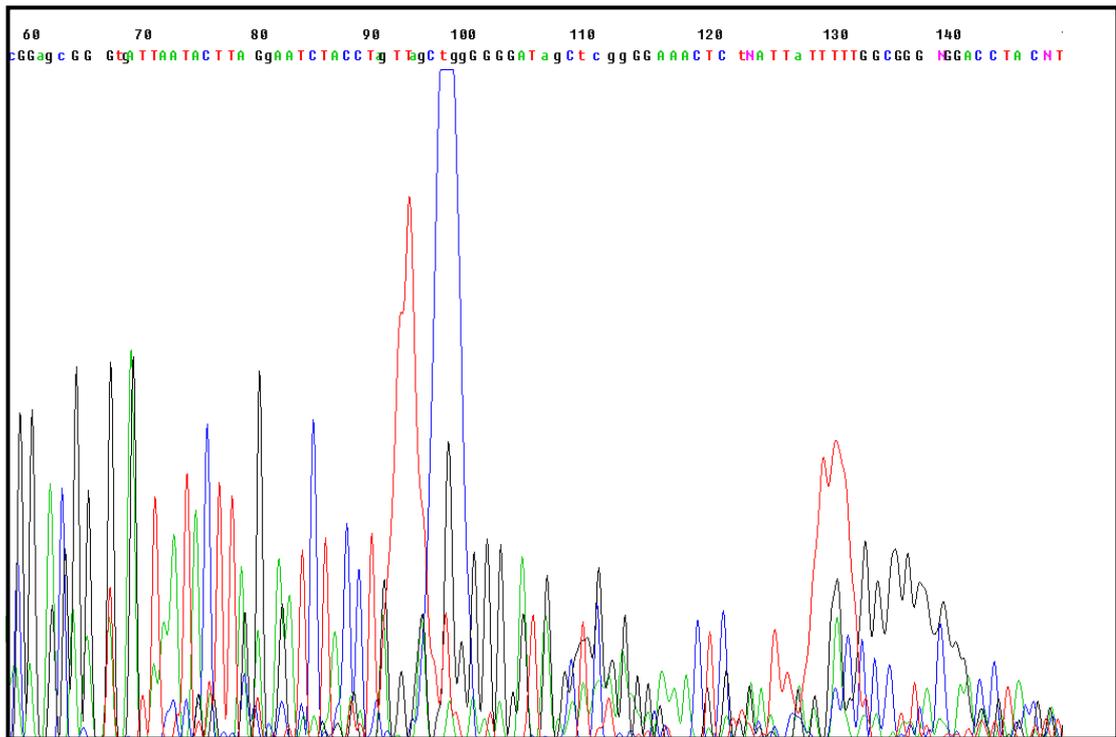
## ANEXO C



C.1.: Eletroferograma da sequência de DNA da região 16S rRNA da bactéria 003.

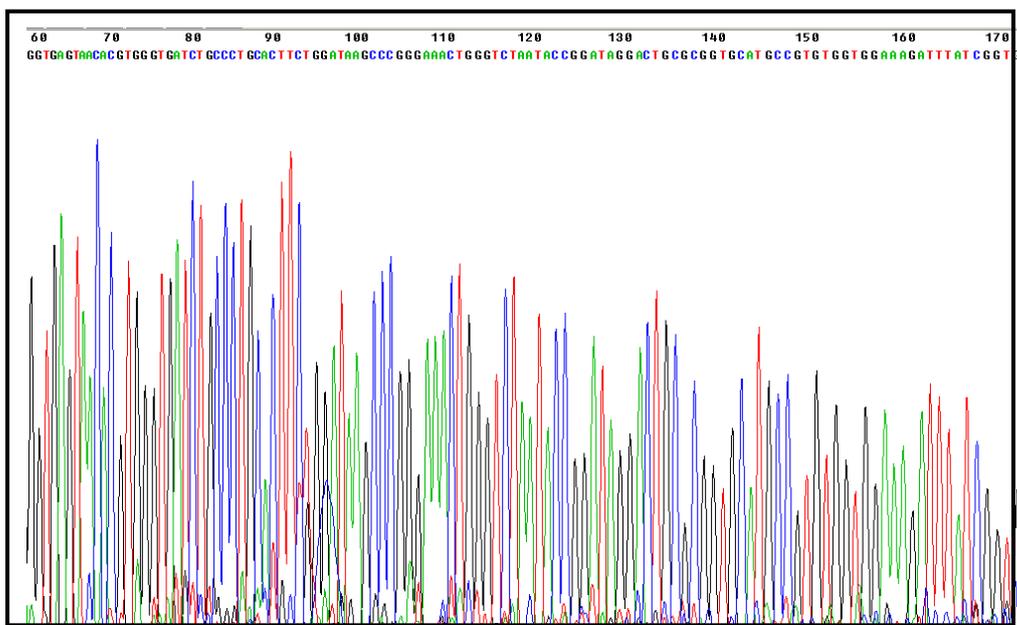


**C.2.:** Eletroferograma da sequência de DNA da região 16S rRNA da bactéria 203.

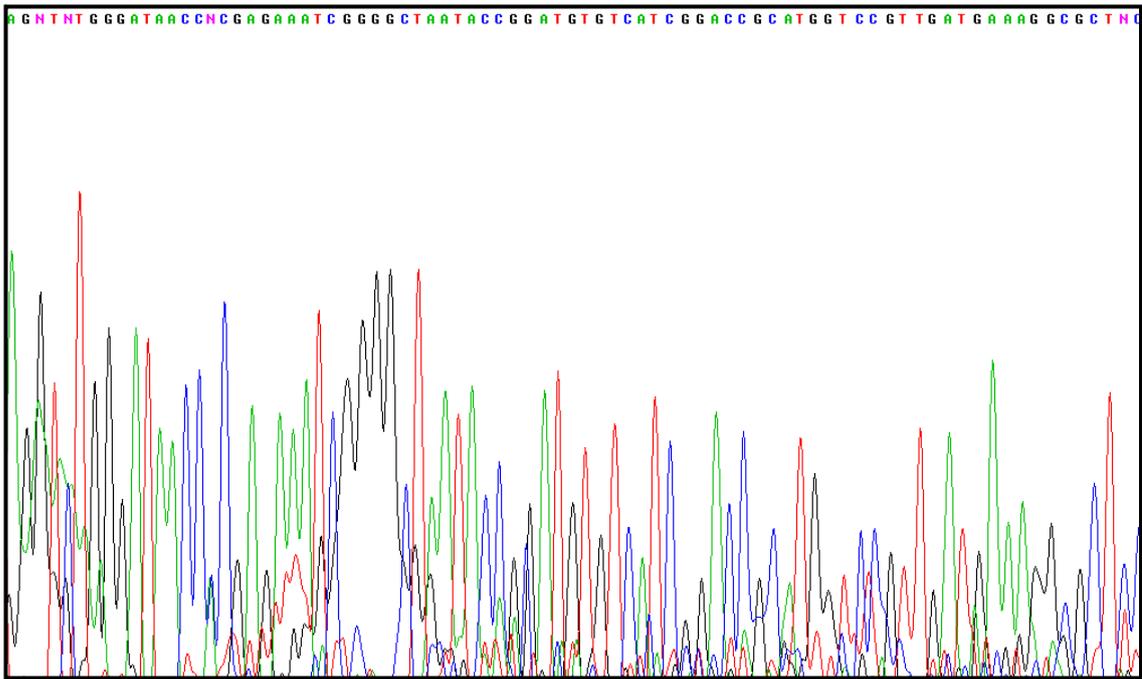


**C.3.:** Eletroferograma da sequência de DNA da região 16S rRNA da bactéria

12.



**C.4.:** Eletroferograma da sequência de DNA da região 16S rRNA da bactéria 249.



**C.5.:** Eletroferograma da sequência de DNA da região 16S rRNA da bactéria 201.

## 10. VITA

Ingressei em março de 2002 no curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da Universidade Luterana do Brasil - Torres. Durante o período da universidade trabalhei em 12 projetos, participei como monitor nas disciplinas de Microbiologia e Imunologia, Estudos em Morfologia Humana, Estudos em Patologia Humana, Estudos em Fisiologia Humana, Cariologia, Biologia Geral e Histologia, perfazendo um total de 2800h. Fui o primeiro bolsista remunerado do laboratório de microbiologia da universidade e premiado em duas edições da Iniciação Científica. Participei da organização do museu Marinho e trabalhos relacionados com educação, saúde e pesquisa na Colônia de Pescadores Z-18 de (SC).

Em janeiro de 2007 finalizei o Curso de Ciências Biológicas e em março de 2007 iniciei o mestrado no programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Atualmente sou professor e pesquisador da Universidade Luterana do Brasil - Torres. Tendo experiência na área de Educação, Bioquímica e Microbiologia, com ênfase em Microbiologia Ambiental.