



Ciência e Tecnologia de Alimentos

ISSN: 0101-2061

revista@sbcta.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência e
Tecnologia de Alimentos

Brasil

Tavares DIAS, Mariana; Rocha Ferreira SANTOS, Paulo César; Trindade OLIVEIRA, Luiz
Antônio; MARIN, Victor Augustus

Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (Perna
perna linnaeus, 1758) à antimicrobianos

Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 30, núm. 2, abril-junho, 2010, pp. 319-324

Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940100005>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna linnaeus*, 1758) à antimicrobianos

*Evaluation of antimicrobial sensitivity of *Escherichia coli* strains isolated from mussels (*Perna perna linnaeus* 1758)*

Mariana Tavares DIAS^{1*}, Paulo César Rocha Ferreira SANTOS²,
Luiz Antônio Trindade OLIVEIRA², Victor Augustus MARIN³

Resumo

Foram avaliadas 44 cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras cárneas de mexilhões capturados no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, quanto a sua sensibilidade a antimicrobianos. Vinte e quatro antimicrobianos foram testados e padrões variáveis de comportamento frente aos mesmos foram observados. Todas as cepas avaliadas apresentaram sensibilidade total a apenas 41,66% dos antimicrobianos (R, Ac, C, To, Fx, Cz, Ct, Nt, Cp, Ge) e resistência total a 4,16% dos antimicrobianos (Ca). A cepa número 18 apresentou sensibilidade a 95,83% dos antimicrobianos, enquanto que a cepa número 30 aduziu resistência a 41,66% dos antimicrobianos. Frente aos resultados obtidos é importante ponderarmos sobre o risco à Saúde Pública associado ao hábito de ingerir pescado cru ou insuficientemente cozido, especialmente bivalves filtradores contaminados por bactérias com comprovada resistência a diferentes antimicrobianos, alimentos potencialmente envolvidos em processos de reinfecção do homem, no qual desencadeiam quadros de gastroenterite.

Palavras-chave: *Escherichia coli; sensibilidade antimicrobiana; mexilhões.*

Abstract

Forty-four strains of *Escherichia coli* isolated from mussel samples collected in the city of Niterói, State of Rio de Janeiro, were evaluated in terms of antimicrobial sensitivity. Twenty-four antimicrobials were tested, and different standards of behavior could be observed. All strains evaluated presented total sensitivity to only 41.66% of the antimicrobials (R, Ac, C, To, Fx, Cz, Ct, NT, Cp, and GE) and total resistance to 4.16% of the antimicrobials (Ca). The strain number eighteen presented sensitivity to 95.83% of the antimicrobials, whereas the strain number thirty presented resistance to 41.66% of the antimicrobials. Based on the results obtained, it is important to consider the health risk posed by raw fish consumption, especially filter-feeding bivalves, contaminated by microorganisms resistant to different antimicrobials since they may be involved in processes of human reinfection causing gastroenteritis.

Keywords: *Escherichia coli; antimicrobial sensitivity; mussel.*

1 Introdução

Vários capítulos da história da microbiologia retratam o duelo que o homem vem travando com microrganismos que apresentam resistência a substâncias que lhes deviam ser nocivas.

Em 1935, Gerhard Domagk descobriu a substância Prontosil, que ingerida ou injetada eliminava o *Streptococcus* spp. em ratos. Essa informação levou à descoberta de substâncias similares, conhecidas como sulfanilamidas. Em 1928, Alexander Fleming descobriu a penicilina, que em 1942 viria a ser usada em seu paciente Harry Lambert, acometido por uma cepa de *Streptococcus* spp. resistente às sulfas (EXLEY, 1990).

Nos tempos modernos, uma das grandes preocupações da comunidade científica é a grande probabilidade de colonização da mucosa intestinal do homem, através da ingestão de alimentos

contaminados, por microrganismos extremamente resistentes à maioria dos antimicrobianos utilizados no tratamento de enfermidades.

O uso de antibióticos foi revolucionário no tratamento das infecções bacterianas e crucial para a redução da mortalidade (NATARO; KAPER, 1998). Entretanto, seu uso abusivo e indiscriminado, tanto em humanos (CHUC et al., 2002) quanto na medicina veterinária (COSTA et al., 2006), pode ter contribuído para o aumento da resistência antimicrobiana (CHUC et al., 2002). Essa resistência relaciona-se, ainda, à produção de enzimas (β -lactamases e β -lactamases de amplo espectro), que atuam sobre a estrutura das penicilinas, inativando-as, característica que constitui um mecanismo de defesa desses agentes. Emery e Weymouth (1997) constataram que a síntese dessas enzimas era codificada por genes presentes

Recebido para publicação em 20/4/2008

ACEito para publicação em 3/1/2009 (003314)

¹ Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz/MS, Av. Brasil, CEP 21040-900, CP 4365, Manguinhos - RJ, Brasil,

E-mail: marianatdias@click21.com.br

² Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense – UFF, Rua Vital Brasil Filho, 64, CEP 24320-340, Santa Rosa, Niterói - RJ, Brasil

³ Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz/MS, Av. Brasil, CEP 21040-900, CP 4365, Manguinhos - RJ, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

nos plasmídios e/ou cromossomos, portanto transmitidos para as gerações seguintes.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, mudanças na população microbiana podem levar à evolução de novos microrganismos patogênicos e ao desenvolvimento de novos fatores de virulência em patógenos antigos, como o desenvolvimento da resistência a antimicrobianos ou mudanças na habilidade de sobrevivência em condições ambientais adversas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003a).

Para estimar a extensão do problema da resistência antimicrobiana e acompanhar essa evolução, programas de vigilância têm sido estabelecidos em diversos países, entre eles, o National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS), nos Estados Unidos (TOLLEFSON et al., 2003), e o *Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance*, no Canadá (ANONYMOUS, 2004). A maioria desses programas dedica-se à vigilância dessa resistência em agentes determinantes de zoonoses e em indicadores bacterianos da microbiota normal dos animais (*Escherichia coli* e *Enterococcus* spp.). Esse procedimento representa um importante primeiro passo no esforço de entender e controlar a resistência aos antimicrobianos (SHAW et al., 1993; CHOPRA; ROBERTS, 2001; SKÖLD, 2001).

Muitas doenças são transmitidas por alimentos, entre elas podemos ressaltar as de origem bacteriana, com destaque para as causadas por *Escherichia coli*, microrganismo pertencente ao grupo dos coliformes (HOBBS; ROBERTS, 1998), bastonete GRAM negativo, mesófilo típico (crescimento a 37 °C), fermentador da lactose com produção de ácido e gás (BRASIL, 1981). De acordo com Scanlan (1991), *E. coli* de um modo geral é um comensal inofensivo pertencente à microbiota normal do intestino de animais de sangue quente, inclusive o homem, e quando presente nos alimentos indica contaminação de origem fecal. Entretanto, diversas amostras dessa espécie podem apresentar potencial patogênico e, de acordo com as manifestações clínicas que determinam e os fatores de virulência que possuem, são classificadas em ao menos cinco categorias: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroaggregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga ou *E. coli* enterohemorrágica (STEC/EHEC). A literatura cita ainda a cepa *E. coli* produtora de aderência difusa (DAEC), entretanto esta ainda não está claramente definida (NATARO; KAPER, 1998).

A maricultura é uma prática que vem ganhando importância, quer pelo seu valor econômico, quer pelo nutricional. De modo especial, a mitilicultura (cultivo de mexilhões) é uma das modalidades mais produtivas que se conhece. Além do baixo custo de produção e da facilidade de manejo, a carne de mexilhões (*Perna perna* Linnaeus, 1758) é um alimento de alto valor protéico, ideal para dieta saudável. Entretanto, é característico dos mexilhões e demais bivalves filtrar, concentrar e reter em seus tecidos microrganismos patogênicos causadores de toxinfecções alimentares (MARQUES; PEREIRA, 1988). Esta característica faz com que as autoridades sanitárias preocupem-se bastante com a origem deste pescado e com o seu estado de conservação. A presença de bactérias do grupo coliforme em moluscos filtradores é uma ocorrência mundial, visto que exatamente nas zonas costeiras, baías e

enseadas, locus ideais para a reprodução e crescimento dos bivalves, ocorrem escoamento de esgotos ou a desembocadura de rios que carreiam contaminantes biológicos e químicos, os quais interferem diretamente na qualidade dos moluscos (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA S.A., 1994). E este fato se torna ainda mais preocupante pelo hábito da população de consumir esse produto cru ou insuficientemente cozido, como ressalta Wood (1996).

Segundo Tommasi (1980), as duas formas mais generalizadas de poluição no litoral brasileiro são a poluição fecal e por material em suspensão. Dessa forma, é de extrema importância descobrir se os patógenos humanos que vêm contaminando o meio aquático são capazes de se multiplicar entre peixes e mariscos, e igualmente estimar sua importância epidemiológica. Pesquisas vêm demonstrando que espécies *Salmonella*, *Pasteurella*, *Vibrio*, *Leptospira* e outras podem se abrigar e se multiplicar nesses organismos, aumentando assim as fontes de reinfecção humana (FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION, 1994).

O presente trabalho objetivou promover um estudo da sensibilidade de 44 (quarenta e quatro) cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões crus, capturados no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, a antimicrobianos.

2 Material e métodos

Para o estudo das 44 cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* Linnaeus, 1758) capturados em áreas de extrativismo no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, quanto à sua sensibilidade a antimicrobianos, utilizou-se a técnica descrita no método Kirby-Bauer (BAUER; KIRB; SHERRIS, 1966). Vinte e quatro dos principais antimicrobianos mais frequentemente utilizados na clínica médica foram testados neste estudo. Inicialmente as cepas foram cultivadas em meio de enriquecimento, caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) (BRASIL, 1981), com a finalidade de obter células bacterianas jovens em 24 horas. A partir desse crescimento, as cepas foram repicadas em Agar Triptose Soja (DIFCO), obtendo assim UFCs (unidades formadoras de colônias) isoladas; dessas culturas foram feitas suspensões com 4 a 5 UFCs em 4 mL da água destilada esterilizada e padronizada a turvação com a solução padrão numero 1 da escala de Mc Farland, que corresponde a $3,8 \times 10^8$ microrganismos por mL. Uma alíquota da suspensão foi esgotada em meio Mueller-Hinton usando swab esterilizado, seguido da colocação do polidisco 24 da *Victor Lorian*® [Amicacina (Ac); Ampicilina (A); Carbenicilina (Ca); Cefalexina (Cn); Cefalotina (C); Cefotaxina (Ct); Cefoxitina (Cx); Ceftazidina (Cz); Ceftriaxona (R); Ciprofloxacina (Cp); Clindamicina (Ci); Cloranfenicol (Cl); Eritromicina (E); Gentamicina (Ge); Netilmicina (Nt); Nitrofurantoina (F); Norfloxacina (Fx); Oxacilina (O); Penicilina (P); Rifampicina (Ri); Tetraciclina (T); Tobramicina (To); Trimetoprin sulf (B); Vancomicina (V)] e incubação das placas a 35 °C durante 5 horas.

Feita a medição do tamanho da zona de inibição de crescimento bacteriano, com a utilização do halômetro, a cepa de *E. coli* foi classificada como sensível ou resistente de acordo com o padrão estabelecido para cada antimicrobiano.

3 Resultados e Discussão

Como pode ser verificado na Figura 1, foi observado no presente trabalho que as cepas avaliadas apresentaram sensibilidade total a apenas 41,66% dos antimicrobianos (R, Ac, C, To, Fx, Cz, Ct, Nt, Cp, Ge).

Quanto à resistência antimicrobiana, Figura 2, durante esse estudo observou-se que 50% das cepas apresentaram resistência a Penicilina (P), 2,27% a Ampicilina (A), 40,90% a Oxacilina (O) e 100% a Carbenicilina (Ca), este último, representando 4,16% dos antimicrobianos. Nenhuma das cepas isoladas neste estudo apresentou resistência aos antimicrobianos: R, Ac, To, C, Fx, Cz, Ct, Nt, Cp, Ge.

A cepa número 18 apresentou sensibilidade a 95,83% dos antimicrobianos (Cx, R, E, Cl, Ac, A, To, C, Fx, Cz, Ct, Ri, P, T, O, Nt, Cp, Ci, Ge, F, Cn, V, B) enquanto que a cepa número 30 aduziu resistência a 41,66% dos antimicrobianos (Cx, E, A, Ri, T, Ca, Ci, F, V, B).

Escherichia coli, assim como outras bactérias, são produtoras de β -lactamases, enzimas que rompem os anéis β -lactâmicos, inativando as penicilinas. Emery e Weymouth (1997) demonstraram a existência de *E. coli* produtoras de *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs). Estas enzimas, β -lactamases de amplo espectro, são capazes de hidrolisar drogas como ceftazidima (Cz) e Cefotaxima (Ct), fato não observado

durante nosso experimento, pois constatamos que a totalidade das cepas apresentaram sensibilidade a esses antimicrobianos.

Frequentes casos de cepas diarréicas de *E. coli* resistentes aos principais antimicrobianos utilizados têm sido relatados por diversos autores (van den BOGAARD et al., 2001; SCHROEDER et al., 2002; COSTA et al., 2006), e casos de cepas multirresistentes têm sido cada vez mais reportados (KRUMPERMAN et al., 1983; BACCARO et al., 2002; GUERRA et al., 2003; VELUSAMY et al., 2007), dados estes também confirmados por este estudo.

Foi observado que 50% das cepas estudadas nesse trabalho apresentaram resistência a Penicilina, 2,27%, a Ampicilina, 40,90%, a Oxacilina e 100%, a Carbenicilina. Esses dados concordam em parte com os estudos de Velusamy et al. (2007), que em seus trabalhos com cepas de *E. coli* observaram também resistência acentuada a penicilina (98,4%) e, assim como em nosso estudo, menos de 20% de resistência aos antimicrobianos amicacina, gentamicina, cefalotina, trimetropim, ceftriaxone, cefotaxima e cloranfenicol. Ambos os trabalhos concordam ainda em relação aos resultados apresentados pelos antimicrobianos norfloxacina, tobramicina e ciprofloxacina, nos quais 100% de sensibilidade foi observada. Entretanto, em relação à carbenicilina, esses autores relataram um percentual de resistência bastante pequeno, menos de 20%, enquanto nossos resultados demonstraram resistência total a esse antimicrobiano.

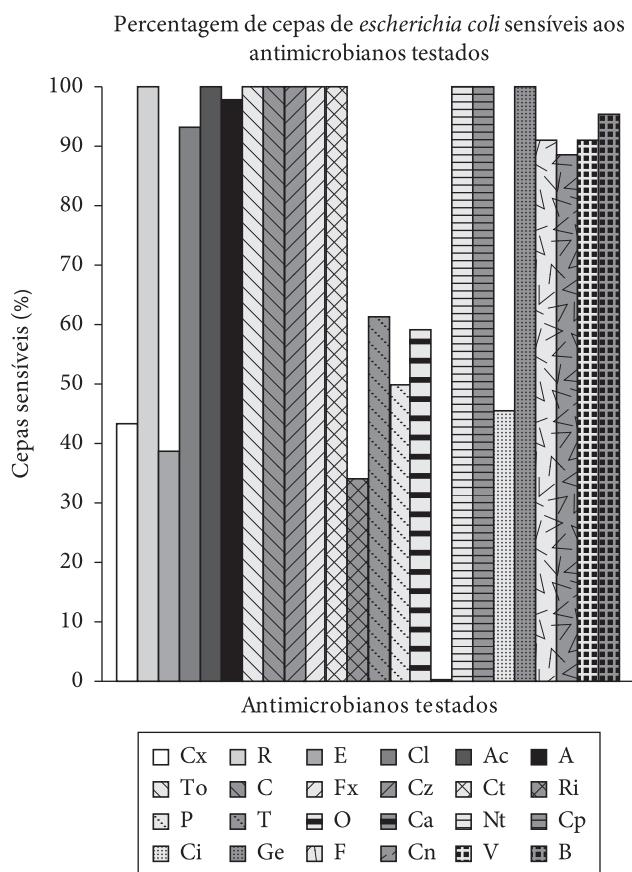


Figura 1. Porcentagem de cepas de *Escherichia coli* sensíveis aos antimicrobianos testados.

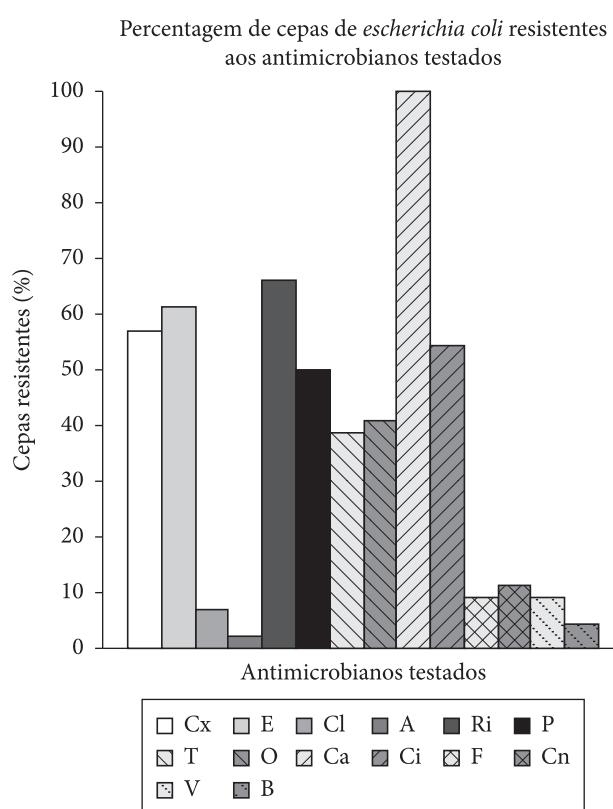


Figura 2. Porcentagem de cepas de *Escherichia coli* resistentes aos antimicrobianos testados.

Para Hirsch e Zee (1999), amostras de *E. coli* usualmente são sensíveis a gentamicina, amicacina, trimetoprim, sulfazotrim (sulfametoazol + trimeto-prim) e ceftiofur e resistentes a tetraciclina, estreptomicina, sulfonamidas, ampicilina e canamicina, dados em parte confirmados neste trabalho, uma vez que observamos sensibilidade total a, também, outros antimicrobianos, como demonstra a Figura 1. A maior resistência observada nesse estudo foi para carbenicilina (100%), seguida por rifampicina (65,9%) e eritromicina (61,36%), como observado na Figura 2.

O estudo de Baccaro et al. (2002) em amostras de *E. coli* isoladas no Estado de São Paulo revelou resistência de 87,4% das amostras a sulfazotrim, e 86,8% das amostras a ampicilina, dados bastante diversos dos observados nesta pesquisa, onde verificamos resistência de apenas 2,27% à ampicilina. Esses mesmos autores encontraram ainda resistência de 92% à norfloxacina, enquanto neste estudo foi observada 100% de sensibilidade a essa droga. Para Costa et al. (2006), as maiores resistências foram para tetraciclina, 88,6%, seguida por sulfazotrim, 73,5%, e por trimetoprim, com 66%, enquanto nesse estudo observamos resistência de 38,63% para tetraciclina e de apenas 4,54% para trimetoprim. De acordo com Blanco et al. (s.d.), as cepas de *E. coli* demonstram grande capacidade de aquisição de genes de resistência, seus estudos apontam proporção bastante significativa, de 40 a 90%, de cepas resistentes a ampicilina, estreptomicina, tetraciclinas e sulfamidas, e proporção de 15 a 30% de cepas resistentes a cefalosporinas de 1.^a geração, neomicina, canamicina, cloranfenicol, nitrofurantoína e quinolonas. Em relação às menores taxas de resistência, esses autores costataram-nas em relação a amoxicilina-ácido clavulânico, cefalosporinas de 2 e 3.^a geração, gentamicina, tobramicina, amicacina, colistina e polimixina B. A divergência observada pode ser atribuída à grande variabilidade das cepas e ao crescente aumento da resistência antimicrobiana entre as enterobactérias.

Valente (2004), em seu estudo com carne de mexilhão irradiada, relata que, apesar da irradiação, cepas de *E. coli* patogênicas e multirresistentes foram encontradas e que esse tratamento não diminuiu o risco potencial de ingerir cepas resistentes. Essas cepas haviam sido expostas à irradiação gama, pelo irradiador Co 60 modelo Gammacell Nordion – Canadá, com taxa de dose de 90 Gy/minuto. De acordo com o mesmo autor, que avaliou o comportamento de 23 cepas de *E. coli* patogênicas a alguns antimicrobianos, sendo 20 cepas não irradiadas, uma cepa irradiada a 3 kGy (kiloGray) e duas irradiadas a 5 kGy, o percentual de resistência foi bastante significativo para todos os grupos, sendo que para o primeiro a resistência variou de 40%, à Netilmicina, a 85%, à Cefalotina. A cepa de amostra irradiada a 3 kGy se mostrou 100% resistente a 11 dos 12 antimicrobianos testados e o terceiro grupo, irradiado a 5 kGy, apresentou 100% de resistência aos mesmos 12 antimicrobianos. Harewood, Rippey e Montesalvo (1994) estudaram os efeitos da radiação gama na vida útil e na carga microbiana e viral de mexilhões: com doses menores que 5 KGy, a taxa de mortalidade e inativação de células bacterianas vegetativas foi rápida, mas a população viral reduziu-se minimamente. Valente (2004), após submeter suas amostras a radiação de 7 KGy, não observou nenhum cultivo suspeito de *E. coli*.

Segundo o Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), a irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que tem por finalidade esterilizar ou preservar os alimentos através da destruição de microrganismos, parasitas, insetos e outras pragas. A CDTN relata, ainda, que pesquisas sobre irradiação de alimentos desenvolvidas juntamente com a FAO e a OMS concluíram que o processo é seguro e benéfico (CDTN, 1999). Adicionalmente, Loaharanu (1998) afirma que a irradiação apresenta-se como boa alternativa para garantir a segurança e a qualidade dos alimentos e para combater as doenças de origem alimentar. De acordo com Germano, M.I.S.; Germano, P.M.L. (2001), o uso da irradiação em pescado e mariscos vem sendo bastante estudado, visto que é grande o número de pessoas que tem como hábito a ingestão desses alimentos crus ou pouco cozidos. Esses autores relatam ainda que os peixes e frutos do mar irradiados com doses que podem variar de 1,0 a 7,0 KGy tem seu tempo de conservação duplicado ou até mesmo triplicado.

Apesar de a irradiação já ser bastante estudada neste tipo de alimento, a dose ideal para a destruição total de microrganismos patogênicos ainda não foi determinada. De acordo com a resolução RDC/ANVISA/MS n.^o 21, de 26 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), a dose mínima a ser absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento. Diversos autores vêm demonstrando a eficácia desse processo na conservação e na redução da carga microbiana em pescado (HAREWOOD; RIPPEY; MONTESALVO, 1994; SIQUEIRA, 2001; GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L., 2001). Dickson (1995) também afirma que a maioria das bactérias de interesse para Saúde Pública são sensíveis à irradiação. Entretanto, autores como Ordal (1970), Speck (1970) e Maxcy (1982) alertam para o perigo que representam para a Saúde Pública os microrganismos patogênicos que conseguem manter-se viáveis após a irradiação, como ocorrido nos estudos de Valente (2004), que observou a presença de cepas patogênicas de *E. coli* resistentes a diferentes antimicrobianos mesmo após exposição a irradiação de 3 ou 5 KGy.

Diversos estudos vêm apontando um aumento considerável no índice de resistência múltipla aos antimicrobianos, entretanto ações simples de higiene e manejo sanitário adequados são cada vez mais relatadas como formas simples e eficazes para prevenção de doenças e possível contribuição para a redução da resistência bacteriana.

4 Conclusões

Constatou-se múltipla resistência de cepas de *E. coli* a diferentes antimicrobianos, fato este que nos leva a concluir que o consumo de alimentos em geral e o de mexilhões, em particular, principalmente se crus ou pouco cozidos, contaminados por essa bactéria representa um risco à Saúde Pública e um agravo preocupante em relação ao estabelecimento de infecções alimentares ou colonização no trato intestinal do homem.

Segundo a Comissão Internacional para Especificações Microbiológicas dos Alimentos (ICMSF) da União Internacional das Sociedades de Microbiologia (IAMS) (1997), a comunidade depende dos órgãos oficiais de Vigilância Sanitária e Saúde Pública para proteger-se das doenças veiculadas pelos alimentos, e tal proteção depende da rápida detecção dos surtos e do completo conhecimento dos agentes e dos fatores responsáveis pela transmissão da doença.

Consideramos muito importante o monitoramento da questão da resistência antimicrobiana e de sua evolução, com estabelecimento de programas de vigilância dessa resistência em agentes determinantes de zoonoses e em indicadores bacterianos da microbiota normal dos animais.

Ressaltamos ainda, a importância do acompanhamento da conservação e origem desse pescado, com a devida monitorização das águas em que ocorrem o seu cultivo ou captura, que devem atender ao padrão microbiológico estabelecido pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 1986), uma vez que estas podem ser veículo de microrganismos patogênicos, entre os quais a *Escherichia coli*.

Referências bibliográficas

- HEALTH CANADA. *Canadian integrated program for antimicrobial resistance surveillance (CIPARS) 2002*. Ottawa, 2004.
- BACCARO, M. R. et al. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarréia. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69, n. 2, p. 15-18, 2002.
- BAUER, A.W. et al. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*: métodos microbiológicos. Brasília, 1981.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 20, 18 de junho de 1986. Estabelece a classificação das águas doces salobras e salinas do Território Nacional. *Diário Oficial*, Brasília, 1986.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 21, 26 de janeiro de 2001. Regulamento técnico para irradiação de alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 2001.
- BLANCO, J. et al. *Escherichia coli patógenos para seres humanos y animales*: laboratorio de referencia de *E. coli* (LREC). Disponível em: <www.lugo.USC.ES/ecoli/E.coli.html> (s.d.).
- CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA NUCLEAR - CDTN. O que é a irradiação. *Revista Brasil Nuclear*, ano 6, n. 19, p. 14, 1999.
- CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 65, n. 2, p. 232-260, 2001.
- CHUC, N. T. et al. Improving private pharmacy practice: a multi-intervention experiment in Hanoi, Vietnam. *Journal of Clinical Epidemiology*, v. 55, n. 11, p. 1148-1155, 2002.
- COMISSÃO INTERNACIONAL PARA ESPECIFICAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DOS ALIMENTOS - ICMSF. *Análise dos perigos e pontos críticos de controle para garantir a qualidade e a segurança microbiológica de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 1997.
- COSTA, M. M. et al. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 26, n. 1, p. 5-8, 2006.
- DIFCO LABORATORIES. *Manual de bacteriologia*. São Paulo: Círculo do Livro, 1985.
- EMERY, C. L.; WEYMOUTH, L. A. Detection and clinical significance of extended spectrum β -lactamases in Tertiary Care medical Center. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, n. 8, p. 2061-2067, 1997.
- EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA - EPAGRI. *Manual do cultivo do mexilhão Perna perna*. Florianópolis, 1994. 140 p.
- EXLEY, H. *Alexander fleming*. Watford: Exley Publications, 1990.
- FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. *Bases técnicas para la legislación referente a los alimentos irradiados*. Roma, 1994. (Informe de un Comité mixto FAO/OIEA/OMS de expertos).
- GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Irradiação de Alimentos. In: SPOLAORE, A. J. G. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela, 2001. p. 421-442.
- GUERRA, B. et al. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 52, n. 3, p. 489-492, 2003.
- HAREWOOD, P.; RIPPEY, S.; MONTESALVO, M. Effect of gamma irradiation on shelf life and bacterial and viral loads in Hard – Shelled Clams (*Mercenaria mercenaria*). *Applied and Environmental Microbiology*, v. 60, n. 7, p. 2666-2670, 1994.
- HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. *Toxinificações e controle higiênico-sanitário de alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 1998.
- LOAHARANU, P. Internatinal developments of food irradiation. In: Memórias - SEMINÁRIO NACIONAL DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, 1997, México. *Anais...* México: [s.n.], 1998. p. 1-8.
- MARQUES, H. L. A.; PEREIRA, R. T. L. *Mexilhões biología e criação*. São Paulo: Coordenadoria de Pesquisa Agropecuária, 1988. p. 32. Boletim Técnico, 12.
- MAXCY, R. B. Irradiation of food for public health protection. *Journal of food protection*, v. 45, n. 4, p. 363-366, 1982.
- NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.
- ORDAL, Z. J. Current development in detection of microrganisms in food. Influence of environmental factors in determination methods. *Journal of milk and food technology*, v. 33, p. 1, 1970.
- SCANLAN, C. M. *Introducción a la bacteriología veterinaria*. Zaragoza: Acribia, 1991. 555 p.
- SCHROEDER, C. M. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 2, p. 576-581, 2002.
- SHAW, K. J. et al. Molecular genetic of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* v. 57, n. 1, p. 138-163, 1993.
- SIQUEIRA, A. A. Z. C. *Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (Oreochromis niloticus)*. 2001. 137 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP.
- SKOLD, O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary Research*, v. 32, p. 261-273, 2001.
- SPECK, M. L. Selective culture of spoilage and indicator organisms. *Journal of milk and food technology*, v. 33, p. 163, 1970.

- TOLLEFSON, L.; FLYNN, W. T.; HEADRICK, M. L. Regulatory activities of the U.S. Food and Drug Administration designed to control antimicrobial resistance in foodborne pathogens. In: TORRENCE, M. E.; ISAACSON, R. E. (Eds.). **Microbial food safety in animal agriculture**. Ames: Iowa State Press, 2003. p. 57-63
- TOMMASI, L. R. Poluição marinha no Brasil, uma síntese. **Ciência e Cultura**, v. 34, n. 3, p. 325-332, 1980.
- VALENTE, A. M. **Efeito da irradiação sobre mexilhões [Perna perna (Linnaeus 1758)]**: Coliformes termotolerantes e Enterococcus; ação antimicrobiana e análise Sensorial das amostras. 2004. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói -RJ.
- van den BOGAARD, A. E. et al. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers.
- Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 47, n. 6, p. 763-771, 2001.
- VELUSAMY, S. et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. Veterinary Microbiology, v. 124, n. 3-4, p. 319-328, 2007.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Food safety and Foodborne Illness**. Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/en/fact237.html>>. Acesso em: 29 set. 2003.
- WOOD, P. C. **Manual de higiene de los mariscos**. Zaragoza: Acribia, 1996.