

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

**PESQUISA DE *Vibrio* NO CULTIVO DO CAMARÃO MARINHO  
*Litopenaeus vannamei* NO ESTADO DO CEARÁ.**

**RENATA ALBUQUERQUE COSTA**

Orientador – Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira, D.Sc.

Fortaleza, Ceará  
2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR – LABOMAR  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

**PESQUISA DE *Vibrio* NO CULTIVO DO CAMARÃO MARINHO  
*Litopenaeus vannamei* NO ESTADO DO CEARÁ.**

**RENATA ALBUQUERQUE COSTA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE.

Orientador – Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira, D.Sc.

Fortaleza, Ceará  
2006

Após a finalização dos trabalhos da defesa de Dissertação de Mestrado da aluna **Renata Albuquerque Costa**, intitulada “**Pesquisa de *Vibrio* no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, no Estado do Ceará**”, a Banca Examinadora considerando o conteúdo do trabalho e a apresentação realizada considera a **DISSERTAÇÃO APROVADA**.

Prof. Dr. Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira \_\_\_\_\_  
(orientador)

Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira \_\_\_\_\_  
(membro interno)

Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio \_\_\_\_\_  
(membro interno)

Fortaleza, 08 de março de 2006

Aos meus pais e irmãos

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP pelo apoio financeiro a pesquisa através da concessão de bolsa de estudo.

Ao Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR.

Ao Ricardo, pela gentileza em permitir a realização da pesquisa em sua fazenda.

Aos funcionários da fazenda, pela contribuição na realização das coletas.

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA) na pessoa do prof. Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira.

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do LABOMAR na pessoa da professora Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira.

Ao Núcleo de Nutrição e Produção de Alimentos da UVA nas pessoas de Luís e Lúcia.

À Silvana Saker Sampaio, pela contribuição no tratamento estatístico dos dados.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia da UVA: Gisele, Jackson e Lucélia.

Aos colegas de Mestrado: Cristiane, Gardenny, Janisi, Manuel, Rafael, Aline, Danielle, Cleyton e Graça.

As colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do LABOMAR: Gleire, Anahy e Karla.

À Faustina, Lúcia e Marília, pela gentileza, amizade e apoio.

Ao Marcos, pela contribuição valiosa no trabalho e amizade.

Às amigas Miqueline e Fátima Virgínia, pela atenção e incentivo.

A minha família, meus pais Francisco José e Maria Viana, e irmãos Bruno e Andréa, pelo apoio, incentivo e amizade.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu professor Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira pela amizade, ensino, incentivo e, sobretudo paciência, a quem devo grande influência na minha vida profissional e tenho uma admiração que desafia o tempo.

A professora Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, pela paciência, apoio e valiosa contribuição que tornou possível a realização de toda a pesquisa.

## ÍNDICE

	<b>LISTA DE TABELAS</b>	09
	<b>LISTA DE FIGURAS</b>	10
	<b>RESUMO</b>	11
	<b>ABSTRACT</b>	12
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	15
2.1	Cultivo do <i>Litopenaeus vannamei</i>	15
2.2	<i>Vibrio</i> spp	18
2.2.1	<i>Vibrio cholerae</i>	19
2.2.2	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	20
2.2.3	<i>Vibrio vulnificus</i>	21
2.3	Contaminação Provocada por <i>Vibrio</i> spp e suas Implicações	22
2.3.1	Em Camarão	22
2.3.2	Em Humanos	25
2.4	Variáveis Ambientais que Influenciam o Crescimento de <i>Vibrio</i>	28
2.4.1	Temperatura	28
2.4.2	pH	28
2.4.3	Salinidade	28
2.5	Suscetibilidade de <i>Vibrio</i> spp a Agentes Antimicrobianos	29
2.6	Legislação Vigente	30
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	33
3.1	Área de Estudo	33
3.2	Amostragem	35
3.3	Preparação de Salina, Reagentes e Meios de Cultura	35
3.4	Preparação das Amostras	35
3.4.1	Água	35
3.4.2	Camarão	36

3.5	Análise Bacteriológica	36
3.5.1	Determinação do Número Mais Provável (NMP) de <i>Vibrio</i>	36
3.5.2	Contagem de Colônias Sacarose Positivas e Sacarose Negativas	38
3.5.3	Identificação Morfológica e Bioquímica das Espécies de <i>Vibrio</i> spp	38
3.5.3.1	Coloração de Gram	38
3.5.3.2	Motilidade	40
3.5.3.3	Identificação Bioquímica de Cepas de <i>Vibrio</i> spp	40
3.5.3.3.1	Prova de Produção de Citocromo Oxidase	40
3.5.3.3.2	Produção do Indol	40
3.5.3.3.3	Fermentação de Carboidratos	41
3.5.3.3.4	Hidrólise da Arginina e Descarboxilação da Lisina e Ornitina	41
3.5.3.3.5	Prova do ONPG (o-nitrofenil $\beta$ -D-galactopiranosídeo)	41
3.5.3.3.6	Tolerância ao NaCl	42
3.5.3.3.7	Prova do Vogues Proskauer	42
3.6	Teste de Suscetibilidade das Cepas de <i>Vibrio</i> spp a Antimicrobianos	43
3.7	Determinação das Variáveis Ambientais	43
3.7.1	Temperatura, pH e Salinidade	43
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>71</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>72</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>91</b>

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Doenças associadas com espécies de *Vibrio* em humanos.
- Tabela 2** – Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio* em amostras de água e de camarão nos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Tabela 3** – Contagem de colônias sacarose positivas e negativas, expressa em Unidade Formadora de Colônia (UFC), de *Vibrio* em amostras de água e camarão nos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no rio Coreaú (CE).
- Tabela 4** – Variáveis ambientais pH, temperatura (°C) e salinidade (‰) das amostras de água dos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Tabela 5** – Identificação das 116 cepas de *Vibrio* isoladas de amostras de água de captação, de viveiro e de camarão do ciclo 1 do cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, realizado em uma fazenda de camarão marinho situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Tabela 6** – Identificação das 89 cepas de *Vibrio* isoladas de amostras de água de captação, de viveiro e de camarão do ciclo 2 do cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, realizada em uma fazenda de camarão marinho situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Tabela 7** – Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de 39 cepas de *Vibrio* isoladas de água e de camarão provenientes de uma fazenda de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Berçário 2.
- Figura 2** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Berçário 1.
- Figura 3** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Captação de Água do Viveiro 7.
- Figura 4** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Captação de Água do Viveiro 5.
- Figura 5** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Viveiro 7.
- Figura 6** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Viveiro 5.
- Figura 7** – Distribuição em porcentagem dos 36 isolados de *Vibrio* das amostras de água de captação do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Figura 8** – Distribuição em porcentagem dos 26 isolados de *Vibrio* das amostras de água de captação do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Figura 9** – Distribuição em porcentagem dos 39 isolados de *Vibrio* das amostras de água do viveiro 7 do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Figura 10** – Distribuição em porcentagem dos 28 isolados de *Vibrio* das amostras de água do viveiro 5 do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Figura 11** – Distribuição em porcentagem dos 41 isolados de *Vibrio* das amostras de camarão do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).
- Figura 12** – Distribuição em porcentagem dos 35 isolados de *Vibrio* das amostras de camarão do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

## RESUMO

As bactérias pertencentes ao gênero *Vibrio* têm sido apontadas como um dos grandes problemas no cultivo de camarão. Autóctones de ambiente marinho e estuarino, algumas espécies de víbrios são capazes de provocar doenças, representando perdas econômicas para a indústria e perigo potencial para saúde pública quando veiculadas ao produto final destinado ao mercado. O presente estudo teve por objetivo pesquisar as espécies de *Vibrio* presentes no cultivo do *Litopenaeus vannamei* e do meio onde é cultivado. Foram acompanhados dois ciclos de cultivo do *L. vannamei* em uma fazenda de camarão marinho situada no estuário do rio Coreaú (CE) no período de maio a novembro de 2005, sendo analisadas 24 amostras de água de captação, 24 de água do viveiro e 24 de camarão nos estágios de pós-larva, juvenil e adulto. As análises foram concernentes à determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio*, contagem de colônias sacarose positivas e negativas, identificação das espécies e testes de suscetibilidade das cepas a antibióticos. Os resultados mostraram que o índice de víbrio foi maior nas amostras de água do viveiro e de camarão nos dois ciclos quando comparadas às amostras de água de captação. Das 76 cepas isoladas de camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento foram obtidas 14 espécies, com predominância das espécies de *V. harveyi* e *V. cholerae* nas pós-larvas; *V. cholerae*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus* e *V. harveyi* nos juvenis; e *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* e *V. anguillarum* nos adultos. A espécie que apresentou maior grau de resistência aos antimicrobianos foi *V. cholerae*, onde 33,33% das 12 cepas testadas mostraram-se resistentes a sulfazotrim, 25% a ampicilina e 33,33% a ceftriaxona. A elevada incidência de víbrios nas amostras de água e camarão pode ser indicativa de risco para a atividade, se condições ambientais desfavoráveis forem estabelecidas no ambiente de cultivo. Além disso, o isolamento feito de cepas patogênicas da microbiota acompanhante dos camarões pode representar risco para a saúde pública.

**Palavras-chave:** *Vibrio*, *Litopenaeus vannamei*, resistência bacteriana.

## ABSTRACT

Infections with bacteria of the genus *Vibrio* represent a major challenge to shrimp farmers today. Some species of vibrios, autochthonous of marine and estuarine environments, can cause severe infection in livestock, leading to economic loss and, when communicated to marketed foods, public health hazards. The objective of the present study was to identify and determine the incidence of vibrios present in a marine shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture in Northeastern Brazil. The study covered two culture cycles of *L. vannamei*, from May to November 2005, on a shrimp farm located in the estuary of Rio Coreaú (Ceará). Analyses were based on 24 samples of inflow water, 24 samples of pond water, and 24 samples of postlarval, juvenile and adult shrimp. The outcome measures included most probable number (MPN) of vibrios, number of sucrose-positive and negative strains, species identification and susceptibility to antibiotics. *Vibrio* concentrations were higher in pond water and shrimp samples than in inflow water samples. Out of 76 strains isolated from samples of shrimp at different development stages 14 species were identified, the most prevalent of which were *V. harveyi* and *V. cholerae* (in postlarvae), *V. cholerae*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus* and *V. harveyi* (in juveniles), and *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* and *V. anguillarum* (in adults). The hardiest species was *V. cholerae* of which one third out of 12 strains tested were resistant to sulfazotrim, one fourth to ampicillin, and one third to ceftriaxone. Depending on culture conditions, a high incidence of vibrios, as observed in the present study, may lead to substantial losses for the shrimp farming industry. In addition, the possibility of communicating pathogenic strains to marketed foods represents a major concern to public health.

**Key words:** *Vibrio*, *Litopenaeus vannamei*, bacterial resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

O cultivo de camarão foi iniciado no Brasil na primeira metade dos anos setenta, adquirindo caráter empresarial no final da década de oitenta. Entretanto, só a partir dos anos noventa, com a introdução da espécie *Litopenaeus vannamei*, o desenvolvimento processou-se em bases mais sólidas dada a rápida adaptação dessa espécie às condições dos estuários brasileiros, e em ritmo comercial acelerado, após 1996 devido às condições favoráveis do mercado (ABCC, 2002). Segundo Maia & Nunes (2003), nos últimos anos o *L. vannamei* tem tido um papel fundamental no excelente desempenho da produção de camarão no Brasil, permitindo que o país se destaque entre os principais exportadores deste crustáceo.

Para a indústria brasileira de camarão marinho em 2005, estimou-se uma produção de 157.000 toneladas e obtenção de divisas na ordem de 450 milhões de dólares. No primeiro semestre de 2005, 46,2% das exportações totais de produtos pesqueiros corresponderam ao camarão cultivado, e do total de camarões exportados, considerando os provenientes da pesca e aqüicultura, 90,55% foram oriundos da carcinicultura (Madrid, 2005).

Confirmando o desenvolvimento acentuado da carcinicultura marinha no Estado do Ceará, garantido, entre outros motivos, pelas benéncias locacionais, o censo realizado pela ABCC (2004a) mostra o Ceará como segundo produtor nacional responsável por 25,6% da produção nacional, com 191 produtores e 3.804ha destinados a essa atividade, produzindo 19.405 toneladas com uma taxa de produtividade de 5.101kg/ha/ano.

Nas décadas de oitenta e noventa, as doenças infecciosas tiveram um efeito devastador no cultivo de camarão marinho, causando colapso na produção de grandes países produtores e desencadeando grandes perdas à indústria. A partir de então, as enfermidades passaram a ser vistas como um obstáculo econômico e uma ameaça à viabilidade da atividade. Apesar de algumas destas doenças ocorrerem habitualmente em fazendas de cultivo no Brasil, seu impacto econômico não é considerado expressivo quando comparado a outros países. Contudo, estas infecções afetam o desempenho dos cultivos e causam alterações na aparência física dos camarões, comprometendo a qualidade do produto final (Nunes & Martins, 2002).

A carcinicultura mundial vem experimentando perdas significantes na produção provocadas por patógenos bacterianos do gênero *Vibrio*, especialmente na larvicultura e na engorda de camarões na fase de juvenil (Aguirre-Guzmán *et al.*, 2004).

Em todo o mundo, o desenvolvimento da indústria camaroneira está sendo submetido a um permanente estado de alerta sanitário e tem encontrado um grande número de obstáculos que entram o processo produtivo especialmente os relacionados com as enfermidades de natureza infecciosa e não infecciosa (Álvarez *et al.*, 2003). Escobedo-Bonilla (1999) afirma que o comportamento da indústria de camarão nos últimos anos foi influenciado por uma série de fatores, com destaque aos impactos das enfermidades infecciosas provocadas principalmente por patógenos virais e bacterianos gram-negativos (*Vibrio* spp).

De acordo com Aguirre-Guzmán *et al.* (2001), a rápida expansão do cultivo de camarões peneídeos está sendo ameaçada por doenças provocadas por bactérias do gênero *Vibrio*, que afetam a sua sobrevivência e crescimento. Estes microrganismos oportunistas fazem parte da microbiota normal dos peneídeos, provocando doenças quando condições ambientais desfavoráveis se estabelecem nos sistemas de cultivo.

*Vibrio vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. splendidus*, *V. damsela*, *V. parahemolyticus* e *V. harveyi* têm sido reportadas como as principais espécies do gênero *Vibrio* que representam risco para o cultivo dos peneídeos (Lightner, 1996).

Os víbrios fazem parte da microbiota indígena de camarões podendo representar risco ao cultivo quando da instalação de condições ambientais adversas, sendo considerados os principais patógenos bacterianos dessa atividade. Se veiculados ao produto destinado ao consumo, podem provocar gastroenterites e quadros de septicemia em humanos.

Panicker *et al.* (2004) afirmam que dentre as várias espécies pertencentes ao gênero *Vibrio*, autóctones de ambientes marinhos e estuarinos, *V. vulnificus*, *V. parahemolyticus* e *V. cholerae* são as principais causadoras de gastroenterite e em alguns casos, septicemia. Hayat *et al.* (2006) alertam para o risco que o consumo de alimentos de origem marinha pode representar para saúde pública, uma vez que cepas de *V. parahemolyticus* toxigênicas (O3:K6) têm sido isoladas dessas fontes, apresentando potencial para provocar pandemias.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo a pesquisa do gênero *Vibrio* no cultivo do camarão marinho *L. vannamei* durante o seu ciclo de desenvolvimento, através da enumeração de *Vibrio* e contagem de colônias sacarose positivas e negativas nos estágios pós-larval, juvenil e adulto e na água de captação e viveiro; isolamento e identificação das cepas que ocorrem em cada período de desenvolvimento do camarão e nas amostras de água; e verificação da sensibilidade das espécies identificadas a antibióticos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultivo do *Litopenaeus vannamei*

Os crustáceos destacam-se na categoria dos produtos aquáticos pelo alto valor nutritivo e por constituírem em iguarias finas, de consumo cada vez mais elevado, principalmente entre os povos dos países mais desenvolvidos. Dentre esses, os camarões, pela própria limitação dos estoques naturais, que não suportam mais qualquer aumento da atividade extrativa, têm merecido a atenção dos cientistas, pela possibilidade extraordinária que oferecem de aumentar a produção através da atividade de cultivo (Cavalcanti *et al.*, 1986).

De acordo com a ABCC (2004b), no Brasil, o *L. vannamei* é a espécie comercialmente cultivada, que foi introduzida para fins de cultivo em 1983. Entretanto, somente a partir do início dos anos 90, quando alguns laboratórios de larviculturas privados viabilizaram a disponibilidade de pós-larvas dessa espécie é que as validações tecnológicas realizadas pelas fazendas de camarão nos Estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Paraíba demonstraram a supremacia do *L. vannamei* em relação às espécies nativas.

O camarão *L. vannamei* é uma espécie encontrada naturalmente desde a parte leste do Oceano Pacífico, a altura de Sonora, no México, até a altura de Thumbes, norte do Peru. É uma espécie marinha, com preferência por fundo de lama, que é encontrada desde a região do infralitoral, até profundidades de 72 metros e na natureza pode chegar a 23cm de comprimento. É a espécie comercial mais explorada no sul do México, Guatemala e El Salvador e a mais cultivada no hemisfério ocidental (Barbieri Júnior & Ostrensky Neto, 2002).

O *L. vannamei* é um crustáceo decápodo, pertencente à família Penaeidae (Huner & Brown, 1985). Segundo Dall *et al.* (1999), os membros da família Penaeidae apresentam um ciclo de vida semelhante com desenvolvimento dos estágios: larva (náuplio), protozoea, mysis, pós-larva, juvenil e adulto. As diferenças estão relacionadas com a preferência das pós-larvas, juvenis e adultos por determinadas áreas durante seu ciclo de desenvolvimento.

Quando o náuplio, larva típica dos crustáceos decápodos, depois de sucessivas mudas, desenvolve oito pares de apêndices é chamada de zoea. Com a aquisição de todos os apêndices abdominais, o animal é denominado de pós-larva. Entre esses dois estágios ocorrem numerosas mudas (10 a 30). A pós-larva é geralmente muito parecida com o adulto em sua

forma e apêndices. O esquema básico: náuplio, zoea e pós-larva se vê, frequentemente, modificado segundo as espécies, podendo chegar a ser suprimido totalmente. Entretanto, entre o náuplio, que emerge do ovo, e a pós-larva podem haver várias formas intermediárias que recebem nomes como metanáuplios, protozoa, megalopas, misis, etc. (Morales, 1982). Todos os peneídeos possuem três estágios larvais: náuplios, protozoa e misis e estágios pós-larvais. Nos peneídeos há diferenças quanto ao número de subestágios de náuplios e misis.

Nas suas fases iniciais de desenvolvimento, o camarão branco habita regiões com águas de característica oceânica, mas refugia-se em ambientes próximos ao litoral na medida em que cresce. Estuários ou outros *habitats* costeiros servem de berçários naturais para pós-larvas (PLs) e camarões juvenis. Estes ecossistemas são frequentemente expostos a repentinas mudanças na salinidade da água, como resultado da influência de marés e rios, da evaporação ou de chuvas. Ainda no estágio juvenil, o *L. vannamei* migra para o alto mar a procura de águas com profundidade de até 70 m. No ambiente natural a mudança de *habitats* tem uma finalidade única, incrementar as chances de sobrevivência da prole (Nunes, 2001).

De acordo com Valença & Mendes (2003), o *L. vannamei* é conhecido como potente osmorregulador, podendo habitar desde águas com salinidades superiores a 40‰ até águas com salinidades muito próximas a zero. Essa tolerância está relacionada com o ciclo de vida migratório destes camarões, onde a reprodução ocorre no oceano, sendo as larvas levadas pelas correntes marinhas para dentro dos estuários e das baías. Durante a migração, as larvas passam por mudanças morfológicas e fisiológicas necessárias à sua adaptação aos estuários. Nesse ambiente, o camarão se encontra na fase de pós-larva diferenciando-se da fase juvenil apenas pelo número de dentes rostrais e proporções do corpo.

A maioria das fazendas de camarão marinho no Brasil utiliza pós-larvas (PLs) produzidas em laboratórios especializados, que são aclimatadas à salinidade, temperatura e pH idênticos ao da água para onde serão transferidas. Segundo Barbieri Júnior & Ostrensky Neto (2002), dentre os sistemas de cultivos adotados atualmente pelos produtores no país, há uma preferência pelo sistema bifásico, que é constituído por berçários ou pré-berçários de pequeno porte, empregados na recepção e no cultivo inicial das PLs, e por viveiros de engorda de grande porte, destinados ao crescimento e à engorda dos camarões.

Há três principais sistemas para o cultivo de camarões classificados de acordo com a densidade de cultivo; natureza do alimento usado e proporção de troca de água entre o viveiro

e o oceano. No sistema extensivo a densidade não ultrapassa a cinco camarões por metro quadrado e não há emprego de rações, são utilizados fertilizantes que estimulam o crescimento de algas. Nos sistemas intensivo e semi-intensivo há utilização de ração de origem animal e vegetal diariamente. A densidade de camarões no sistema intensivo é superior a vinte indivíduos por metro quadrado (Boyd & Clay, 1998).

O *L. vannamei* tem uma excelente performance em cultivo se desenvolvendo muito bem em uma salinidade entre 15 e 30‰, com temperatura entre 23 e 30°C. O requerimento alimentar para o cultivo em confinamento, em termos de ração peletizada contempla uma carga de proteínas que pode variar entre 22 e 40%, em dependência da intensificação do cultivo nos viveiros; da capacidade de tolerância em alta densidade de estocagem; do baixo requerimento protéico da sua dieta alimentar; e da produtividade natural das águas em uso. A escolha da espécie para cultivo em viveiros segue, portanto, os critérios de seu desempenho em outros empreendimentos dentro das mesmas características físicas na região e ainda na disponibilidade de pós-larvas. Quanto à aceitação comercial da espécie, que garante o custeio de todo o ciclo produtivo, o *L. vannamei* é significativamente preferido entre as demais espécies no mercado nacional e internacional, com forte demanda compradora (Sá, 2003).

De acordo com Rocha *et al. apud* Morais (2002), a capacidade de adaptação às mais variadas condições de cultivo ajudou a levar o *L. vannamei* à posição de principal espécie da carcinicultura brasileira. Entretanto, por se tratar de um animal exótico, foi necessária uma produção auto-suficiente de pós-larvas e oferta de rações de boa qualidade.

Para diminuir possíveis introduções de enfermidades graves e garantir a sustentabilidade da indústria camaroneira do Brasil, o Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa 39 de 04 de novembro de 1999 proibiu a importação de crustáceos em todas as suas formas. Dessa forma, o país adota um ciclo fechado de produção. Camarões são selecionados e transferidos para a maturação para servirem de reprodutores, onde são submetidos a uma manipulação ambiental, nutricional e hormonal. Após a desova, os ovos eclodem e se inicia o ciclo na larvicultura onde passam aproximadamente 2 a 4 semanas, após esse período. Ao atingir PL10-11 são transferidas para berçários onde permanecem de 10 a 20 dias, atingindo PL20-31. Finalmente com 0,25-0,5g os animais estabelecem-se em viveiros de engorda por 90 a 300 dias até atingir seu peso comercial de 30g.

## 2.2 *Vibrio* spp

As espécies que constituem o gênero *Vibrio* são anaeróbicas facultativas, Gram-negativas, bastonetes curvos ou retos, medem entre 0,5 a 0,8µm de diâmetro e 1,4 a 2,4µm de comprimento. A maioria das espécies patogênicas é móvel, possuindo flagelo único e polar. Fermentam glicose sem produção de gás. Todos os víbrios patogênicos produzem oxidase e reduzem nitrato com exceção da espécie *V. metschnikovii*. São halófitos restritos, necessitando de sódio para seu crescimento (Murray *et al.*, 1999).

De acordo com Bier (1994), as bactérias do gênero *Vibrio* pertencem a família Vibrionaceae, fermentam carboidratos sem produção de gás, não produzem H<sub>2</sub>S, apresentam positividade nas provas de manitol, oxidase e lisina-descarboxilase.

Todas as espécies pertencentes ao gênero *Vibrio* são típicas de ambientes marinhos e estuarinos, com necessidade de NaCl (2 a 3%) para o crescimento. Como o ambiente marinho é seu nicho natural, os víbrios são facilmente isolados de peixes e crustáceos. A maioria das espécies é mesófila com tendência a proliferação em épocas mais quentes. Fatores como temperatura, salinidade e densidade algal influenciam a presença de víbrios no ambiente, não havendo correlação entre patógenos entéricos humanos ou indicadores de poluição fecal. O gênero compreende 34 espécies, destas, 13 podem causar doenças em humanos, incluindo infecções em feridas, septicemia e gastroenterites (Huss *et al.*, 2004).

Para Thompson *et al.* (2004a), o gênero compreende 74 espécies distribuídas em quatro famílias: Enterovibrionaceae, Photobacteriaceae, Salinivibrionaceae, e Vibrionaceae. Dois novos gêneros *Enterovibrio norvegicus* e *Grimontia hollisae*, e vinte novas espécies *Enterovibrio coralii*, *Photobacterium eurosensbergii*, *V. brasiliensis*, *V. chagasii*, *V. corallilyticus*, *V. crassostreae*, *V. fortis*, *V. gallicus*, *V. hepatarius*, *V. hispanicus*, *V. kanaloaei*, *V. neonatus*, *V. neptunius*, *V. pomeroyi*, *V. pacinii*, *V. rotiferianus*, *V. superstes*, *V. tasmaniensis*, *V. ezurae* e *V. xuii*, foram descritas nos últimos anos.

O gênero *Vibrio* compreende várias espécies. A mais importante é o *V. cholerae*, uma vez que ele é o responsável pela cólera, uma doença endêmica em extensas áreas do globo terrestre. Outra espécie que deve ser destacada é *V. parahaemolyticus*, cujo papel na etiologia das toxinfecções alimentares vem sendo reconhecido de maneira crescente, nos últimos anos. As demais espécies são encontradas mais raramente em associações com diarreia e outras

infecções. Essas espécies compreendem: *Vibrio hollisae*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. vulnificus*, *V. damsela*, *V. alginolyticus*, *V. metschnikovii* e *V. mimicus* (Trabulsi *et al.*, 1999).

Segundo Lima (1997), os vibrios são capazes de se multiplicar sem hospedeiro em águas marinhas e, têm nutrição saprófita, ocorrem tanto na coluna d'água como na fauna e dependem diretamente da temperatura do meio. A presença de vibrios halófilos é elevada em amostras de água e sedimento marinho (Wong *et al.*, 1992).

### 2.2.1 *Vibrio cholerae*

A espécie *V. cholerae* possui mais de 130 sorogrupos. Entretanto, apenas os sorogrupos O1 e O139 são associados a epidemias e pandemias de cólera (Kaysner, 2000).

*V. cholerae* O1 é o agente etiológico da cólera epidêmica. Esse microrganismo foi descrito por Pacini em 1854, o mesmo ano em que John Snow identificou a relação existente entre a água utilizada para consumo humano e a cólera em Soho, Londres (Blake, 1994).

As cepas de *Vibrio* que aglutinam o antisoro O1 e produzem a toxina colérica (CT) são denominadas *V. cholerae* O1, as que não aglutinam quando expostas ao antisoro do sorogrupo O1 são denominadas *V. cholerae* não-O1. O sorogrupo O1 do *V. cholerae* inclui os biotipos “clássico” e El Tor, sendo este último responsável pela sétima pandemia de cólera. Estes dois biotipos incluem, por sua vez, os sorotipos Inaba, Ogawa e Hikojima (Borroto, 1997).

Em 1992 um novo sorogrupo chamado *V. cholerae* O139 Bengal foi responsável pela epidemia de cólera que atingiu a Índia. De acordo com Bik *et al.* (1995), esse novo sorotipo produz CT e possui várias características do *V. cholerae* O1 biotipo El Tor, de quem provavelmente foi originado por recombinação genética.

Segundo Campos (2005), *V. cholerae* é capaz de produzir vários fatores de virulência que contribuem para sua patogenicidade, os quais podem ser divididos em dois grandes grupos: toxinas e fatores de colonização. Entretanto, a capacidade de causar cólera depende, primariamente, da expressão da CT do pilus TCP.

A CT é uma proteína formada por uma subunidade A e cinco subunidades B. As subunidades B se unem ao gangliosídeo GM<sub>1</sub>, o receptor específico situado nas membranas das células epiteliais do intestino. A subunidade A ativa a adenilciclase, resultando no acúmulo de AMP cíclico e, na hipersecreção de água e eletrólitos. O acúmulo dessas

substâncias no lúmen do intestino é eliminado sob a forma de diarreia, provocando uma desidratação grave, quadro clínico típico da cólera (Bennish, 1994; Kaper *et al.*, 1995).

### 2.2.2 *Vibrio parahaemolyticus*

*V. parahaemolyticus* foi isolado pela primeira vez em 1951 no Japão, a partir de um surto de gastroenterite ocasionado pela ingestão de “shirasu” (sardinhas novas) não submetidas à cocção. Atualmente, esse microrganismo é reconhecido como importante patógeno capaz de determinar manifestações gastrentéricas após o consumo de pescado e moluscos bivalves sem cocção ou insuficientemente cozidos (Daniels *et al.*, 2000; Sousa *et al. apud* Pereira *et al.*, 2004b).

O mecanismo exato de virulência dessa espécie de vibrio ainda não está perfeitamente elucidado. Entretanto, quatro componentes hemolíticos são produzidos, sendo dois destes: o TDH (Thermostable Direct Hemolysin) e TRH (TDH-related Hemolysin) correlacionados com a virulência da espécie. As cepas TDH positivas induzem a reação de beta hemólise nas hemácias humanas, fenômeno conhecido como reação Kanagawa. Algumas cepas TDH-negativas mas TRH positivas têm sido associadas a casos de gastroenterites (EC, 2001).

De acordo com Wong *et al.* (1999), a virulência das espécies de *V. parahaemolyticus* está associada com a produção da enzima hemolítica denominada Hemolisina Direta Termostável (TDH). A detecção de TDH é realizada pelo teste Kanagawa, as cepas que produzirem esta enzima são denominadas Kanagawa positivas (KP).

As cepas oriundas de ambientes marinhos, em sua maioria, não são patogênicas e não produzem TDH, sendo consideradas Kanagawa negativas (KN). As cepas KP são frequentemente isoladas de amostras clínicas, conseqüentemente, a produção de TDH é usada com freqüência como indicador de virulência (Lake *et al.*, 2003). Entretanto, essa associação não é mantida em alguns casos, algumas cepas KN são isoladas de casos clínicos e cepas KP isoladas de amostras de ambiente. De acordo com Honda *et al.* (1991), algumas cepas KN são capazes de provocar infecção gastroentérica em humanos, indicando a possibilidade da existência de mais de um fator de virulência incriminado no desencadeamento da infecção.

Outros fatores de virulência foram identificados, tais como, produção de enterotoxina e a capacidade de hidrolisar uréia (CCFH, 2002). Suthienkul *et al.* (1996) relataram a existência

de relação entre a produção de urease e o gene que codifica para TRH, indicando que a produção dessa enzima pode ser utilizada como indicador de virulência.

### 2.2.3 *Vibrio vulnificus*

A espécie *V. vulnificus* possui elevada similaridade fenotípica com *V. parahaemolyticus*, diferenciando-se pela capacidade de fermentar lactose, o que concorreu para inicialmente ser classificada como “víbrio lactose positivo”. De acordo com Elliot *et al.* (1995), as cepas de *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* podem ser diferenciadas por uma série de provas bioquímicas, incluindo a produção da enzima  $\beta$ -galactosidase. Horré *et al.* (1996) afirmam que, somente em 1979 a bactéria foi denominada de *V. vulnificus*.

Investigações clínicas e epidemiológicas têm demonstrado que *V. vulnificus* é agente causador de septicemia e morte, por meio da ingestão de alimentos marinhos contaminados (atingem a corrente sanguínea através do trato gastrointestinal) ou da contaminação de ferimentos no ambiente marinho (Silva *et al. apud* Almeida Filho, 2004).

*V. vulnificus* ocorre naturalmente em águas estuarinas e representa uma ameaça significativa para humanos imunodeprimidos. A contaminação ocorre por duas vias principais: infecção de feridas e consumo de alimentos de origem marinha (principalmente ostras) contaminados pelo patógeno. As infecções frequentemente evoluem para septicemia, provocando morte de indivíduos suscetíveis. A ocorrência de *V. vulnificus* em água e na fauna marinha não está relacionada a indicadores bacteriológicos de origem fecal, por essa razão, a detecção e enumeração dessa bactéria no ambiente tem sido prioridade das agências responsáveis pela garantia sanitária dos produtos marinhos (Harwood *et al.*, 2004).

De acordo com Huss *et al.* (2004), *V. vulnificus* produz citotoxina extracelular e uma bateria de enzimas hidrolíticas, responsáveis pela rápida degradação do tecido muscular durante a infecção. A presença da cápsula de polissacarídeo é essencial para provocar o processo infeccioso. Três diferentes biotipos de *V. vulnificus* foram identificados. Aproximadamente 85% das cepas isoladas de amostras clínicas pertencem ao biotipo 1, enquanto o biotipo 2 provoca infecções em enguias. O biotipo 3 foi identificado recentemente e está associado com bacteremia veiculada a alimentos de origem marinha.

## 2.3 Contaminação provocada por *Vibrio* spp e suas Implicações

### 2.3.1 Em Camarão

As doenças são um dos principais fatores limitantes na carcinicultura e têm causado prejuízos ao redor do mundo. Como ocorre em outros animais, as doenças do camarão resultam do desequilíbrio entre o organismo, o ambiente e o patógeno. Quando ocorrem mudanças bruscas no meio ambiente, o sistema de defesa do organismo fica debilitado, devido ao gasto energético extra empregado na sua adaptação às novas condições; dessa forma, ele se torna mais vulnerável ao ataque de um patógeno presente no meio (Pereira *et al.*, 2004a).

De acordo com Ligther (1996), os diversos tipos de tratamento de água, a alta densidade de camarões nos viveiros e o aumento da oferta de matéria orgânica (ração, camarões mortos) podem alterar a microbiota do cultivo, facilitando a proliferação de bactérias oportunistas. Diferentes espécies de patógenos oportunistas têm sido reportadas como causa de grandes prejuízos na indústria camaroneira, provocando mortalidade, lesões nos tecidos (necrose), alterações morfológicas e retardo no crescimento.

Lightner (1993) relata que um dos grandes problemas em cultivo de camarão é a ação patogênica de espécies do gênero *Vibrio*. Estas bactérias são comuns ao ambiente marinho, podendo ainda ser encontradas no estômago, brânquias e cutícula de camarões selvagens e de cultivo, sendo que as doenças resultantes estão associadas a fatores estressantes.

A vibriose, também conhecida como “síndrome da gaiivota” foi causa de grandes perdas para a indústria de camarão no México, talvez por desconhecimento das técnicas de diagnóstico e do tratamento adequado a esse problema. As espécies mais comuns associadas a essa doença são *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus*. Apresentam-se ocasionalmente: *V. damsela*, *V. fluvialis* e *V. splendidus* (Pereira & Santos, 2003).

As espécies de *Vibrio* associadas com enfermidades em animais aquáticos marinhos, incluem *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. carchariae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. ordalii*, *V. parahaemolyticus*, *V. salmonicida*, *V. splendidus* e *V. vulnificus* (Alvarez *et al.*, 1995).

De acordo com Aguirre-Guzmán *et al.* (2002), os víbrios fazem parte da flora autóctone dos organismos e do meio ambiente marinhos, representando, portanto, uma fonte constante de possíveis infecções para o camarão. Essas bactérias geram efeitos específicos nos

peneídeos, incluindo mortalidade, lesões nos tecidos ou necrose, retardo no crescimento, degradação de tecidos, comprometimento das metamorfoses larvais, entre outros. As principais espécies que têm sido reportadas como causadoras de infecções nos camarões de cultivo (larvas e juvenis) são: *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. penaeicida*, *V. splendidus*, *V. damsela* e *V. harveyi*.

Problemas com vibriose ocorrem quando condições de estresse surgem no cultivo, tais como: queda de oxigênio; densidade de estocagem excessiva; manuseio impróprio do estoque; lesões na cutícula dos camarões; subalimentação; e altas concentrações de compostos nitrogenados no ambiente de cultivo. O processo de infecção da vibriose pode ser cuticular, entérico (intestinal) e sistêmico (envolvendo vários órgãos). Quando localizada, apresenta lesões melanizadas na carapaça e/ou abscessos pontuais no hepatopâncreas. O impacto da vibriose é variável, mas em alguns casos pode alcançar até 70% da população cultivada. Na vibriose crônica, camarões mortos ou moribundos podem sofrer canibalismo rapidamente contaminando outros indivíduos na população (Nunes & Martins, 2002).

Mendes *et al.* (2005) afirmam que nas vibrioses, também conhecidas como “síndrome da gaivota” e enterite séptica hemocítica, na fase de engorda os camarões podem apresentar desorientação (natação lenta); hemolinfa turva com tempo de coagulação alterado; aglomeração nas margens do viveiro atraindo aves; opacidade na musculatura; coloração avermelhada dos apêndices; flexão do terceiro apêndice abdominal; brânquias, cutículas e apêndices melanizados; anorexia e apatia. Quando na larvicultura, observam-se: alimentação reduzida; ausência de filamentos fecais; atraso da muda; colonização bacteriana da cutícula, dos apêndices, da região oral, do hepatopâncreas e do intestino; infecção entérica ou sistêmica; destruição das células epiteliais do hepatopâncreas e intestino médio; e conseqüentemente, aumento no tempo da larvicultura e redução da sobrevivência.

As vibrioses são associadas com outros problemas e, é possível afirmar que qualquer animal morto do meio marinho está comprometido por alguma vibriose. É relativamente fácil de ser detectada a sua presença, todavia, difícil é determinar a sua significância no problema de saúde. Por exemplo, em alguns casos os vibrios podem não ser a causa primária da mortalidade do camarão, estando presentes, oportunisticamente. Em outros casos podem ser mais patogênicos e ser uma significativa causa de mortalidade (Chanratchakool *et al.*, 1995).

Algumas espécies e cepas de *Vibrio* causam o fenômeno de luminescência nos camarões e mortalidade, que varia de insignificante até 100% do cultivo de peneídeos, principalmente nas fases de pós-larva e juvenil (Aguirre-Guzmán & Valle, 2000). De acordo com Gámez et al. (2004), as espécies do gênero *Vibrio* associadas a infecções de camarão têm a propriedade de afetar todos os seus estágios de desenvolvimento, provocando mortalidade de até 100% depois de 24 horas do aparecimento da infecção.

O desequilíbrio ambiental associado à proliferação de espécies de víbrio dotadas de mecanismos de virulência tem sido a causa de grandes epizootias registradas nas últimas décadas na carcinicultura mundial. Prayitno & Latchford (1995) relatam uma epizootia provocada por *Vibrio* no ano de 1991 em Java, que provocou uma perda estimada de mais de 85 milhões de dólares para a indústria.

A qualidade da água de cultivo do camarão deve ser considerada em todos os aspectos para garantia sanitária do produto. Vários estudos reportam a associação de proliferação de espécies de *Vibrio* em ambientes comprometidos. Yeh *et al.* (2004) investigaram a suscetibilidade a *V. alginolyticus* na espécie *L. vannamei* e encontraram resultados positivos quando da contaminação da água por  $\text{Cu}^{2+}$  em concentração de  $5\text{mgL}^{-1}$ .

Para prevenção de enfermidades, a manutenção adequada dos viveiros de engorda de camarão também deve ser considerada no que tange a qualidade do solo. De acordo com Malpartida *et al.* (2004), os teores elevados de matéria orgânica no solo podem propiciar e acentuar a proliferação de enfermidades devido às condições inadequadas em que os camarões são cultivados. Deve haver um cuidado na preparação do viveiro (desinfecção, secagem, revolvimento e calagem) objetivando a eliminação de organismos potencialmente patogênicos.

No camarão, as reações de resistência aos patógenos estão baseadas no número de hemócitos circulantes na hemolinfa (Le Moullac *et al. apud* Maldonato *et al.*, 2004). Os crustáceos não possuem um sistema imunológico verdadeiro, como consequência, os camarões dependem de reações imunológicas inatas. O processo de coagulação é um exemplo, que tem como característica sua rapidez e eficiência, esse processo ocorre no plasma e nas células sanguíneas. Um outro processo de defesa imunológica inata dos camarões é o denominado “system proPO”, conhecido como sistema profenoloxidase. Este é um sistema que abrange fatores humorais e celulares que permitem integrar os mecanismos de reconhecimento com as atividades celulares (Soderhall, 1998; Vargas *apud* Hernández, 2000).

### 2.3.2 Em Humanos

Doenças veiculadas por alimentos compreendem várias síndromes que resultam da ingestão dos alimentos. Podem ser classificadas em intoxicações causadas pela ingestão de alimentos que contêm substâncias químicas tóxicas e de toxinas produzidas por microrganismo; infecções causadas por microrganismos que produzem enterotoxinas (toxinas que afetam a transferência de água, glicose e eletrólitos) durante a colonização e multiplicação no trato intestinal; e infecções causadas por microrganismos que invadem e multiplicam-se na mucosa intestinal ou outro tecido. As manifestações variam de um desconforto leve a reações severas e até mesmo a morte (APPC, 1997).

Muitos alimentos têm sido relacionados como causas das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) e infecções, no entanto, as pesquisas normalmente restringem-se a constatar a presença daquelas bactérias patogênicas clássicas, como *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*. Nos últimos anos, têm acontecido alguns surtos de infecções relacionados a bactérias, que anteriormente não eram conhecidas. Dentre essas bactérias, agora classificadas no rol das possíveis causadoras de infecções alimentares, figuram algumas espécies do gênero *Vibrio* (Vieira, 2004).

Alimentos de origem marinha têm sido apontados como fontes potenciais de contaminação por vibrio. De acordo com Desmarchelier (2003), devido à natureza halofílica, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* podem ser encontrados naturalmente em pescados frescos, sendo os principais responsáveis por infecções adquiridas pelo consumo desses produtos.

Maugeri *et al.* (2000) destacam que o isolamento de espécies de vibrio patogênicas de áreas de cultivo de mexilhão representa um risco para saúde de consumidores de pescados crus, sendo necessário a instalação de programas de monitoramento e pesquisa dos patógenos.

Tantillo *et al.* (2004) afirmam que na última década houve surtos de víbrios causadores de enfermidades que merecem destaque, e que apesar da menor severidade dos casos quando comparados à cólera, essas espécies são capazes de produzir importantes surtos epidemiológicos, como o *V. parahaemolyticus*.

No gênero *Vibrio*, pertencente à família Vibrionaceae, estão agrupadas bactérias patogênicas para o homem, causando desde gastroenterites autolimitantes até quadros graves de septicemia, podendo levar os pacientes ao óbito (Germano & Germano, 2001).

Os membros da família Vibrionaceae são habitantes naturais de ambientes marinhos e estuarinos e muitos podem causar infecções em humanos que comumente apresentam quadros clínicos como diarreia, septicemia, otites, infecções de pele e tecidos moles. As infecções são, geralmente, adquiridas por consumo de alimento e água contaminados ou mais raramente, por contaminação direta de feridas cutâneas ocorrida durante o contato com a água do mar ou estuarinas (West *et al. apud* Rodrigues *et al.*, 2001).

As espécies de vibrio veiculadas a doenças em seres humanos estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1 – Doenças associadas com espécies de *Vibrio* em humanos.**

<b>Espécies</b>	<b>Doença</b>	<b>Frequência</b>	<b>Principais Fontes</b>
<i>V. cholerae</i> O1	Cólera	+	Fezes
<i>V. cholerae</i> O139	Cólera	0	Fezes
<i>V. cholerae</i> não-O1	Gastroenterites	+++	Fezes, sangue
<i>V. parahaemolyticus</i>	Gastroenterites	+++	Fezes, feridas
<i>V. vulnificus</i>	Septicemia, infecções em feridas	+++	Sangue, feridas
<i>V. hollisae</i>	Gastroenterites	++	Fezes
<i>V. alginolyticus</i>	Infecções em feridas	++	Feridas
<i>V. mimificus</i>	Gastroenterites	++	Fezes
<i>V. damsela</i>	Infecções em feridas	+	Feridas
<i>V. fluvialis</i>	Gastroenterites	++	Fezes
<i>V. metschnikovii</i>	Gastroenterites	+	Fezes

**Dados: Manual of Clinical Microbiology, 1999. As frequências são relativas a dados colhidos nos Estados Unidos; +++ comum, ++ ocasional, + raro, 0 não ocorrido.**

A cólera ainda permanece como um grave problema de saúde pública, apesar de serem conhecidos os mecanismos básicos e as circunstâncias epidemiológicas envolvidas na sua disseminação, com o pioneiro trabalho de Jonh Snow (1855). Estudos epidemiológicos mais recentes têm ampliado o conhecimento sobre a transmissão da doença (Gonçalves *et al.*,

1998). Foi demonstrado que são necessárias doses entre  $10^6$  e  $10^8$ /mL de bactérias vivas para causar infecção, uma vez que o pH ácido do estômago pode neutralizar muitos dos organismos, antes que esses alcancem o intestino (OPS, 1993). De acordo com Hung *et al.* (2006), *V. cholerae* vem desenvolvendo resistência aos mecanismos de defesa do trato digestivo, tais como a ação de ácidos no estômago e os efeitos tóxicos da bile no duodeno.

A cólera asiática, ou simplesmente cólera, é uma infecção intestinal caracterizada, nos casos típicos por incubação de 1-4 dias (48h em média) e início abrupto, com náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia profusa de fezes riziformes (aspecto de água de arroz). A perda rápida de água e de sais conduz a um estado de profunda desidratação, acompanhado de hipotermia, queda de pressão arterial, anúria e colapso circulatório (Bier, 1994).

De acordo com Trabulsi & Alterthum (2004), uma das espécies do gênero *Vibrio* mais importantes é *V. parahaemolyticus*, sendo encontrado na água do mar e em animais marinhos. Nos últimos anos, tem sido reconhecido como importante causa de toxinfecções alimentares, particularmente no Japão. Na maioria das vezes, a infecção é veiculada através de peixes consumidos *in natura* ou após cocção insuficiente. A patogênese da enterocolite não está perfeitamente elucidada, mas existem evidências de que está relacionada com a produção de uma toxina e a invasão da mucosa do cólon intestinal pela bactéria.

Mais de 12 diferentes sorotipos de *V. parahaemolyticus* têm sido associados a surtos de gastroenterites em diferentes países, estes incluem: O3:K6, O4:K12, O4:K8, O4:K68, O4:K10, O4:K11, O4:K4, O3:K29, O1:K56, O4:K55, O5:K17, O1:K32, O5:K15, O2:K28. Desde 1996, os sorotipos O3:K6 e O4:K8 têm sido isolados no Japão. Recentemente, infecções provocadas pelo sorotipo O4:K68 estão sendo observadas no sudeste da Ásia, Índia e Japão (Codex Committee on Food Hygiene, FAO 2005).

*Vibrio vulnificus* é autóctone de ambiente estuarino, podendo provocar infecções em feridas e septicemia com elevados índices de mortalidade. A transmissão pode ser feita através do consumo de alimentos marinhos crus (Wong *et al.*, 2005).

De acordo com Elliot *et al.* (1998), outros víbrios, incluindo *V. fluvialis*, *V. hollisae*, *V. alginolyticus*, *V. furnissii* e *V. metschnikovii*, têm sido associados a casos de gastroenterites e isolados de ambientes estuarinos. As espécies *V. cincinnatiensis*, *V. damsela* e *V. carchariae* apesar de não serem consideradas agentes etiológicos de gastroenterites, em casos raros representam risco à saúde humana.

## 2.4 Variáveis Ambientais que Influenciam o Crescimento de *Vibrio* spp

### 2.4.1 Temperatura

De acordo com Alterthum (2005), cada bactéria possui um ótimo de temperatura para absorção de nutrientes que está intimamente relacionado ao crescimento e desenvolvimento das culturas. Assim, as bactérias psicrófilas crescem e absorvem melhor entre as temperaturas de 0 e 18°C; mesófilas entre 25 e 40°C e as termófilas entre 50 e 80°C.

Os víbrios são bactérias mesófilas e tendem a se proliferar em águas costeiras tropicais. A temperatura ótima para o seu desenvolvimento está entre 20 e 30°C. Abaixo de 20°C a densidade é diminuída e a 10°C ocorre o seu desaparecimento da coluna d'água. Entretanto, as bactérias são mantidas no sedimento de onde proliferam quando condições favoráveis se estabelecem (Hervio-Heath *et al.*, 2002).

Rubin & Tilton *apud* Cervino *et al.* (2004) afirmam que o crescimento dos víbrios é favorecido numa faixa de temperatura que varia de 17 a 35°C.

### 2.4.2 pH

Segundo U.S. Food & Drug Administration - FDA (2001) os valores mínimos e máximos de pH limitantes do crescimento dos três principais patógenos do gênero *Vibrio* correspondem a 5 e 10 para o *V. cholerae* e *V. vulnificus*; e 4,8 e 11 para o *V. parahaemolyticus*. De acordo com Lake *et al.* (2003), o pH ótimo para o crescimento situa-se na faixa de 7,8 a 8,6 e o crescimento pode ser inibido na presença de 0,1% de ácido acético.

### 2.4.3 Salinidade

De acordo com Huss *et al.* (2004), todas as espécies pertencentes ao gênero *Vibrio* são típicas de ambientes marinhos e estuarinos, com necessidade de 2 a 3% de NaCl para o seu crescimento. Entretanto, Nogueira *et al.* (2002) afirmam que o *V. cholerae* sorotipo O1 é capaz de se manter em águas com salinidade abaixo de 0,5‰ e em diferentes temperaturas por período suficiente para sua disseminação através de corpos d'água.

O requerimento de NaCl é específico para cada espécie de vibrio, sendo o crescimento da maioria limitado nas concentrações de 10%. Kaspar & Tamplin (1993) obtiveram um decréscimo de 58, 88 e 83% de uma população de *V. vulnificus* quando a mesma foi submetida a salinidades de 30, 35 e 38‰, respectivamente.

## 2.5 Suscetibilidade de *Vibrio* spp a Agentes Antimicrobianos

Os antibióticos antibacterianos geralmente atuam em vias biossintéticas, inibindo-as e tornando, assim, o microrganismo inviável e sem condições de multiplicar-se. A base da seletividade de ação dos antimicrobianos reside em algumas de suas características: o alvo da sua ação inibitória está presente apenas na célula microbiana, de modo que as células do hospedeiro não são atingidas; quando atuam também na célula hospedeira, os antibióticos concentram-se na célula microbiana garantindo o efeito seletivo (Barbosa & Torres, 1998).

Segundo Chythanya *et al. apud* Vieira *et al.* (2000), os antibióticos têm desempenhado um importante papel no combate de doenças humanas e de animais aquáticos cultivados, no entanto, o uso indiscriminado dessa importante arma na aquicultura, pode causar uma série de problemas futuros. Isto inclui toxicidade de alguns deles a manuseadores dos animais, modificação da microbiota dos consumidores e transferência da resistência à droga a patógenos humanos o que pode dificultar o tratamento das doenças no homem.

Abraham (2004) relata a resistência múltipla de *V. harveyi*, isolado do cultivo de larvas de peneídeo, a cloranfenicol, eritromicina, neomicina, estreptomicina, sulfaziadina, trimetopim e afirma que o uso do composto antimicrobiano isolado de *Alteromonas* sp. suprime a atividade do *V. harveyi* e reduz a mortalidade das larvas do *Penaeus monodon*. Em todo o mundo, o uso de antibióticos mostra-se limitado devido a sua relativa eficácia e possível desenvolvimento de cepas resistentes, alterando a microbiota das áreas afetadas.

Hofer *et al.* (1999) afirmam que a resistência múltipla aos antimicrobianos em *V. cholerae* não é um fato inusitado. Em estudo sobre a resistência múltipla a antimicrobianos em *V. cholerae* isolados de pacientes com gastroenterite no Ceará - Brasil, os mesmos autores encontraram em 7.058 isolados de pacientes com suspeita de síndrome coleriforme, no período de 1991 a 1993, duas cepas com características de múltipla resistência aos antimicrobianos tetraciclina, ampicilina, eritromicina e sulfametoxazol-trimetoprima.

## 2.6 Legislação Vigente

No Brasil, os padrões microbiológicos do pescado e de produtos derivados de pescado são definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na Resolução N°12 de 02 de janeiro de 2001. No que concerne a *Vibrio*, esta resolução no item 22, estabelece um limite de  $10^3$  de *V. parahaemolyticus*/g para pratos prontos para o consumo a base de pescado.

A qualidade bacteriológica das águas destinadas à aquicultura é regulamentada pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) através da Resolução N° 357 de 17 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. De acordo com esta resolução, as águas salinas destinadas ao cultivo ou criação de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente no meio aquático (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana estão incluídas na Classe 1 e devem obedecer aos seguintes critérios: para o consumo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes (CT), de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder a 43 por 100 mililitros, e o percentual 90% não deverá exceder a 88 CT por 100mL. Estes índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 CT por 100mL em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A *Escherichia coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro CT de acordo com os limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Apesar da quase inexistência de padrões legais para a concentração de *Vibrio* em pescado e da inexistência de padrões para água, a incidência desses microrganismos é relatada por vários autores no âmbito da Saúde Pública e na produção de camarão marinho nacional e internacional, podendo representar risco à saúde humana e comprometer a indústria camaroneira (Gonçalves *et al.*, 1998; Murray *et al.*, 1999; Vandenberghe *et al.*, 1999; Vieira *et al.*, 2000; Aguirre-Guzmán & Valle, 2000; Rodrigues *et al.*, 2001).

O Brasil exporta grandes volumes de produtos de pescado para a América do Norte, tendo os Estados Unidos como principal comprador e para países da Europa, sendo indispensável uma qualidade sanitária de acordo com os padrões dos países importadores.

De acordo com Vieira (2004), cada país importador tem seus próprios padrões microbiológicos e cada empresa importadora tem também seus critérios de avaliação, geralmente de caráter sigiloso. No Brasil, os produtos alimentares, antes de serem comercializados, são fiscalizados pelo Ministério da Agricultura. Saindo da indústria, a responsabilidade de fiscalização passa para o Ministério da Saúde e, nos Estados, estes se fazem representar por suas respectivas Secretarias. Todo controle do alimento e fiscalização envolve Leis, Decretos-Leis, Resoluções e Normas Técnicas, arcabouço legislativo que, em nível federal, é regulamentado por Portarias.

O CONAMA, através da Resolução N° 312, de 10 de outubro de 2002, dispõe sobre o licenciamento ambiental dos empreendimentos de carcinicultura na zona costeira. E de acordo com essa resolução, os projetos de carcinicultura, a critério do órgão licenciador, deverão observar, dentre outras medidas de tratamento e controle dos efluentes, a utilização das bacias de sedimentação como etapas intermediárias entre a circulação ou o deságue das áreas servidas ou, quando necessário, a utilização da água em regime de recirculação.

No Estado do Ceará a atividade de carcinicultura é regulamentada pelo Conselho Estadual do Meio Ambiente (COEMA) na Resolução 02, de 27 de março de 2002. De acordo com esta resolução, todos os empreendimentos com lançamento das águas de despesca em corpos hídricos de qualquer classe, deverão atender aos padrões definidos nas legislações vigentes. A Superintendência Estadual do Meio Ambiente do Ceará (SEMACE) após análise do projeto e do meio onde se insere determinará as medidas de tratamento e controle desses lançamentos, através da emissão de termo de referência.

A fim de minimizar os impactos nos ecossistemas adjacentes às fazendas de camarão, deve ser efetuada a implementação de um manejo apropriado para os resíduos derivados dessa atividade. Neste sentido, faz-se necessária a formulação e operacionalização de um sistema de manejo responsável dos diversos resíduos resultantes da exploração comercial das fazendas para proteger os usuários dos recursos costeiros, inclusive do próprio cultivo de camarão.

Segundo Tobey *et al.* (1998), a aqüicultura sustentável de camarão é definida como desenvolvimento de práticas operacionais que asseguram uma indústria economicamente viável, ecologicamente adequada e socialmente responsável. A sustentabilidade da indústria de camarão só pode ser alcançada se os efeitos de curto e médio prazo sobre o meio ambiente e a comunidade forem reconhecidos e mitigados adequadamente; se houver manutenção da

viabilidade econômica e biológica a longo prazo; e se os recursos costeiros da qual ela depende forem protegidos. A viabilidade econômica é diretamente influenciada pela sustentabilidade. As práticas ecologicamente inadequadas concorrem em longo prazo para o fracasso da atividade camaroneira local e regional.

De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Camarão – ABCC (2001), a fim de proteger os mananciais e garantir sustentabilidade à indústria brasileira, devem ser aplicadas as seguintes medidas para realização de um manejo adequado dos efluentes, a saber:

- Os canais e diques devem ser mantidos em boas condições de funcionalidade para reduzir a erosão das águas superficiais;
- A renovação de água deverá ser a menor possível e de conformidade com as condições locais da fazenda;
- Devem ser utilizadas práticas de fertilização e alimentação eficientes para promover a produtividade primária natural e minimizar a eutrofização;
- Os efluentes dos viveiros devem ser dirigidos às florestas de manguezais ou bacias de sedimentação;
- Os viveiros devem ser drenados de tal maneira que minimizem a suspensão dos sedimentos e evitem a velocidade excessiva da água nos canais e nas comportas de saída;
- Os combustíveis, alimentos, produtos terapêuticos e outras substâncias devem ser armazenadas de maneira responsável para evitar riscos de contaminação ambiental;
- A fazenda deve contar com instalações sanitárias apropriadas para eliminação de excrementos humanos;
- O lixo e outros resíduos devem ser eliminados por meio de métodos ambientalmente aceitáveis;
- As regulamentações governamentais sobre efluentes e outros resíduos devem ser respeitadas;
- Para atender as necessidades do centro de processamento na fazenda, deve ser instalado um sistema de tratamento de efluentes compatível com a capacidade instalada;
- Os procedimentos de manejo de resíduos da fazenda deverão ser periodicamente melhorados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

As coletas foram realizadas em uma fazenda de cultivo do camarão marinho *L. vannamei* localizada no estuário do rio Coreau, litoral oeste do Estado do Ceará. A fazenda de médio porte está situada na rodovia Granja/Camocim CE-085 km 3 e possui em 50 hectares, 4 berçários para o acondicionamento de pós-larvas e 11 viveiros para engorda.

Foram acompanhados dois ciclos de cultivo completos nos berçários B1 e B2, e viveiros V5 e V7 durante o período de seis meses (Figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6).



**Figura 1** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Berçário 2.



**Figura 2** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Berçário 1.



**Figura 3** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Captação de Água do Viveiro 7.



**Figura 4** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Captação de Água do Viveiro 5.



**Figura 5** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 1 – Viveiro 7.



**Figura 6** - Localização da área de estudo e ponto de coleta do Ciclo 2 – Viveiro 5.

### 3.2 Amostragem

As amostras foram constituídas de camarão (*L. vannamei*) nos estágios pós-larval, juvenil e adulto, de água de captação e água do viveiro, coletadas durante dois ciclos completos de cultivo, no período de 22 de maio a 30 de outubro de 2005 (ciclo 1) e 26 de junho a 13 de novembro de 2005 (ciclo 2).

As amostragens foram realizadas com frequência bimensal, perfazendo um total de 12 coletas em cada ciclo. Cada coleta foi constituída de seis amostras (água de captação 1, água do viveiro 1, água de captação 2, água do viveiro 2, camarão 1 e camarão 2), sendo obtidas um total de 48 amostras de água e 24 amostras de camarão.

Cada amostra de água do viveiro correspondeu a quatro subamostras obtidas em quatro diferentes pontos de cada viveiro. As análises foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Curso de Biologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA).

Os camarões foram acondicionados em erlenmeyer esterilizado com volume de 250mL. As amostras de água foram coletadas em vidros escuros previamente esterilizados com capacidade para um litro. Todas as amostras foram transportadas ao laboratório em recipiente isotérmico. O tempo entre a coleta e o início das análises no laboratório não excedeu a 3 horas.

### 3.3 Preparação de Salina, Reagentes e Meios de Cultura

Segue em anexo (Anexo A).

### 3.4 Preparação das Amostras

#### 3.4.1 Água

As amostras de água foram diluídas em solução salina a 0,85%. A primeira diluição de  $10^{-1}$  foi obtida a partir da homogeneização de 1mL da amostra em 9mL de salina a 0,85%. A segunda diluição de  $10^{-2}$  foi obtida da homogeneização de 1mL da diluição de  $10^{-1}$  em 9mL de salina a 0,85%, e assim sucessivamente até a diluição de  $10^{-12}$ .

### 3.4.2 Camarão

As amostras de camarão nos estágios pós-larval, juvenil e adulto foram diluídas em solução salina a 0,85% na proporção de 1:9. A diluição de  $10^{-1}$  das fases de juvenil e adulto foi obtida a partir da homogeneização de 25g da amostra em 225mL de salina a 0,85%. A segunda diluição de  $10^{-2}$  foi obtida a partir da homogeneização de 1mL da diluição de  $10^{-1}$  em 9mL de salina a 0,85%, e assim sucessivamente até a diluição de  $10^{-12}$ .

## 3.5 Análise Bacteriológica

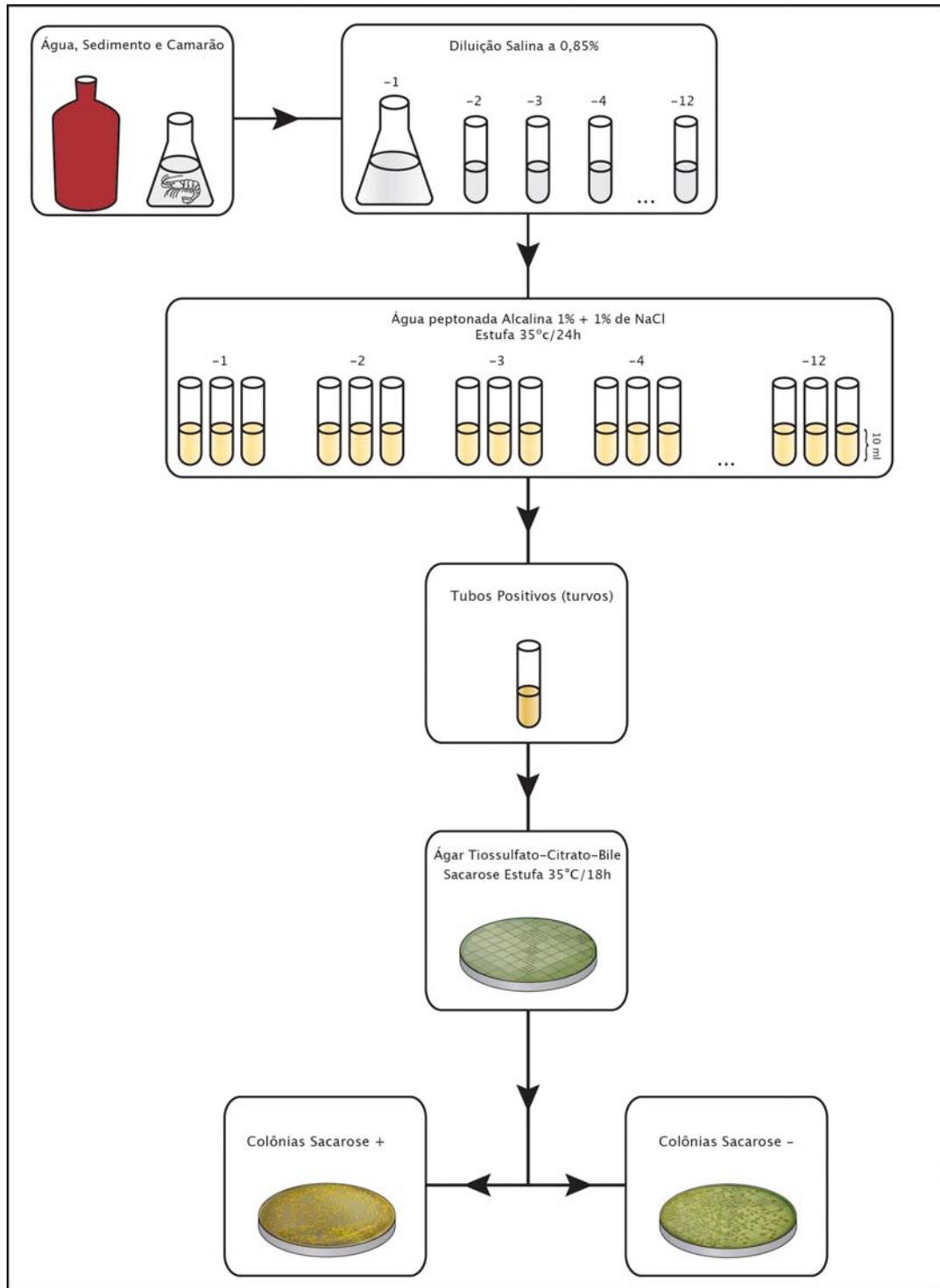
### 3.5.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio* spp.

A determinação do NMP de *Vibrio* foi realizada de acordo com a técnica dos tubos múltiplos segundo Elliot et al. (2001) e compreendeu duas etapas: Prova Presuntiva e Prova Confirmatória (Fluxograma 1). Na Prova Presuntiva foi inoculado 1mL de cada diluição ( $10^{-1}$  a  $10^{-12}$ ), em triplicata, nos tubos contendo água peptonada alcalina (APA) 1% contendo 1% de NaCl (pH 8,5). Os tubos foram incubados em estufa a 35°C por 24 horas. Transcorrido o tempo de incubação foi realizada a leitura dos tubos positivos. Foram considerados positivos aqueles tubos que apresentaram turvação do meio de cultura.

A Prova Confirmatória consistiu na semeadura de alíquotas dos tubos positivos na Prova Presuntiva em placas de Agar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS). As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 18 horas. Após o período de incubação, os resultados foram observados a partir do crescimento de colônias sacarose positivas (amarelas) e negativas (verdes). As placas que apresentaram crescimento de colônias sacarose positivas e/ou negativas foram consideradas positivas quanto à presença de *Vibrio*, confirmando a positividade dos tubos de APA.

Para o cálculo do NMP de *Vibrio* foram tomados os tubos positivos na primeira etapa e confirmados na segunda etapa. A combinação dos tubos positivos (série crítica) foi lida na tabela (Anexo B) para três tubos do “Bacteriological Analytical Manual”, citado por Gartright (2001). O resultado encontrado foi multiplicado pela diluição equidistante da primeira e última diluição e expresso em NMP/100mL e NMP/100g.

**Fluxograma 1 – Determinação do Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio* spp em amostras de água e camarão a partir da técnica dos tubos múltiplos.**



### 3.5.2 Contagem de Colônias Sacarose Positivas e Sacarose Negativas

Foi tomado 0,1mL de cultura dos tubos positivos na Prova Presuntiva e semeado por “spread plate” com utilização da alça de Drigalski em placas de TCBS, com incubação a 35°C por 18 horas. Para a contagem de colônias sacarose positivas e negativas foram escolhidas as placas que possuíam as diluições com crescimento de colônias entre os limites de 25 a 250 Unidades Formadoras de Colônias – UFC (Downes & Ito, 2001). O procedimento foi realizado em triplicata. O cálculo foi obtido a partir da multiplicação do número de UFC (colônias viáveis) e do valor da diluição correspondente da placa, sendo expresso em UFC/100mL e UFC/g.

### 3.5.3 Identificação Morfológica e Bioquímica das Espécies de *Vibrio* spp

As colônias sacarose negativas e positivas foram isoladas em Ágar Triptona Soja (TSA) contendo 1% de NaCl, com incubação em estufa a 35°C por 24 horas, para identificação das espécies de víbrios (Fluxograma 2).

As colônias puras isoladas foram submetidas à coloração de Gram e aos testes de motilidade, oxidase, produção de indol, Vogues-Proskauer, tolerância ao NaCl 0%, 3%, 6%, 8% e 10% em água peptonada a 1%, fermentação de carboidratos (lactose, sacarose, glicose, arabinose e manose), descarboxilação de aminoácidos (lisina, ornitina e arginina), produção de gás a partir de glicose e ONPG, conforme detalhamento em Elliot et al. (2001).

#### 3.5.3.1 Coloração de Gram

Do crescimento no meio de TSA com 1% de NaCl foi feito esfregaço em lâminas, seguindo-se sua fixação por calor e coloração de Gram de acordo com Soares et al. (1991). A coloração consistiu nas seguintes etapas: adição de cristal violeta por 1 minuto; adição de lugol por 1 minuto; lavagem com álcool etílico; lavagem com água destilada corrente; adição de safranina por 30 segundos; lavagem com água destilada corrente; e secagem. As lâminas adicionadas de uma gota de óleo mineral foram examinadas em microscópio ótico.



### 3.5.3.2 Motilidade

Do crescimento em TSA contendo 1% de NaCl foram retirados inóculos e semeados com agulha de níquel-cromo no agar Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM), com incubação a 35°C por 48 horas. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos tubos, sendo considerados positivos aqueles que apresentaram crescimento com migração da linha da picada (linha de inoculação) e difusão para todo o meio, causando sua turvação.

### 3.5.3.3 Identificação Bioquímica de Cepas de *Vibrio* spp

A metodologia seguida para realização das provas está de acordo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (Downes & Ito, 2001); Vieira (2004); Kaysner & DePaola (2004).

#### 3.5.3.3.1 Prova de Produção de Citocromo-Oxidase

Do crescimento das cepas em TSA inclinado contendo 1% de NaCl, foi retirada uma alíquota com emprego de palitos de madeira esterilizados. Foram feitos esfregaços em discos de papel previamente embebidos com solução aquosa de cloridrato de tetrametil-p-fenilenodiamina a 1% (recém-preparada).

O teste foi considerado positivo quando do aparecimento de uma coloração azul arroxeadado em 10 segundos. Essa prova é considerada positiva para os todos os membros da família Vibrionaceae, a exceção do *V. metschnikovii*.

#### 3.5.3.3.2 Produção de Indol

Do crescimento das cepas no meio de TSA contendo 1% de NaCl, foi retirada uma alíquota com agulha de níquel-cromo e semeada em agar SIM com 1% de NaCl. Incubação em estufa a 35°C por 48 horas. Transcorrido o período de incubação, foi adicionado à cultura 1mL de reativo de Kovacs (p-dimetilaminobenzaldeído).

A prova foi considerada positiva quando do aparecimento de um anel vermelho no meio de cultura, indicando a produção de indol a partir da degradação do aminoácido triptofano pela enzima bacteriana triptofanase.

#### **3.5.3.3.3 Fermentação de Carboidratos**

As cepas em identificação no TSA contendo 1% de NaCl foram inoculadas com alça de níquel-cromo nos tubos contendo caldo púrpura de bromocresol (meio basal) e os carboidratos a serem testados, com incubação a 35°C por 5 dias. Foram preparadas 5 baterias de tubos. A primeira com 0,5% de lactose, a segunda com 0,5% de sacarose, a terceira com 0,5% de manose, a quarta com 0,5% de arabinose e a quinta com 0,5% de glicose. Aos tubos contendo o meio basal e 0,5% de glicose foram acrescentados tubos de Dühran invertidos, a fim de se determinar a produção de gás.

Foram realizadas observações diárias para verificação da mudança de coloração do meio da cor púrpura para amarelo, o que indica prova positiva.

#### **3.5.3.3.4 Hidrólise da Arginina e Descarboxilação de Lisina e Ornitina**

As cepas em identificação no TSA contendo 1% de NaCl foram inoculadas com alça de níquel-cromo nos tubos contendo caldo púrpura de bromocresol (meio basal), glicose e os aminoácidos a serem testados, com incubação a 35°C por 7 dias. Foram preparadas 3 baterias. A primeira com 0,125% de arginina, a segunda com 0,125% de ornitina e a terceira com 0,125% de lisina. Todas as cepas foram inoculadas nas três baterias e no controle (meio sem aminoácido). Foram realizadas observações diárias para verificação da mudança do meio teste da cor púrpura para amarelo, e novamente para a cor púrpura, o que indica a positividade.

#### **3.5.3.3.5 Prova do ONPG (o-nitrofenil $\beta$ -D-galactopiranosídeo)**

Do crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) contendo 1% de NaCl, foi retirada uma alíquota com agulha de níquel-cromo e semeada em tubos contendo 0,25mL de solução salina fisiológica estéril. Foi adicionada 1 gota de tolueno em cada tubo com posterior

agitação. Os tubos ficaram em repouso por 5 minutos a temperatura de 35 a 37°C. Em seguida, foi adicionada uma solução tamponada de ONPG 13,3mM na quantidade de 0,25mL. Os tubos foram incubados em banho-maria a 37°C.

Foram realizadas observações após 30 minutos, 1 hora e 24 horas de incubação. A positividade da prova foi dada pela mudança de coloração do meio, de incolor para amarelo, indicando a hidrólise do ONPG pela enzima  $\beta$ -D-galactosidase.

#### **3.5.3.3.6 Tolerância ao NaCl**

A partir do crescimento em Água Peptonada Alcalina (APA) contendo 1% de NaCl, foram retiradas alíquotas com alça de níquel-cromo e semeadas em tubos contendo APA a 1% com 5 concentrações diferentes de NaCl. A primeira bateria foi a 0% de NaCl, a segunda a 3% de NaCl, a terceira a 6% NaCl, a quarta a 8% NaCl e a quinta a 10% de NaCl. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas.

Foi realizada observação após o período de incubação, e os resultados foram considerados positivos quando do crescimento com turvação do meio de cultura.

#### **3.5.3.3.7 Prova do Vogues-Proskauer**

Do crescimento em TSA contendo 1% de NaCl foram retiradas alíquotas com alça de níquel-cromo e semeadas em Caldo MRVP, com incubação a 35°C por 96 horas. Após o período de incubação, foram adicionados para cada mililitro de cultura 0,6mL de Barrit 1 (solução de alfa-naftol a 5%) e 0,2mL de Barrit 2 (hidróxido de potássio a 40%).

A prova foi considerada positiva quando do aparecimento de anel vermelho no meio de cultura, indicando a presença do acetil-metil-carbinol (acetoína), que na presença do hidróxido de potássio e do oxigênio atmosférico é convertida em diacetila, sendo convertida em complexo vermelho sob a ação catalítica do alfa-naftol.

### 3.6 Teste de Suscetibilidade das Cepas de *Vibrio* spp a Antimicrobianos

As cepas identificadas e isoladas em TSA contendo 1% de NaCl foram inoculadas em tubos contendo solução salina a 0,85% de modo que a solução final fosse comparativamente semelhante à solução de McFarland 0,5. Os tubos ajustados tiveram uma concentração de  $1,5 \times 10^6$  células por mililitro.

Das soluções ajustadas, foram retirados inóculos com emprego de “swab” e semeados no meio de Muller-Hinton com 1% de NaCl. Os testes de sensibilidade foram realizados de acordo com a técnica da difusão em ágar conforme detalhamento em NCCLS (1988), sendo testados os discos (Cecon) impregnados com os seguintes antibióticos: Ácido Nalidíxico (NA) 30µg, Tetraciclina (TET) 30µg, Cloranfenicol (CLO) 30µg, Imipenem (IPM) 10µg, Cefoxetina (CFO) 30µg, Gentamicina (GEN) 10µg, Ciprofloxacina (CIP) 5µg, Nitrofurantoína (NIT) 300µg, Ceftriaxona (CRO) 30µg, Ampicilina (AMP) 30µg e Sulfazotrim (SUT) 25µg .

### 3.7 Determinação das Variáveis Ambientais

#### 3.7.1 Temperatura, pH e Salinidade

Foram analisados os parâmetros físico-químicos pH, temperatura (*in situ*) e salinidade nas amostras de água de captação e água do viveiro.

A determinação do pH e temperatura foi realizada com emprego de potenciômetro portátil. A salinidade foi mensurada com emprego de salinômetro.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio* das amostras de água de captação, água do viveiro 7 e camarão do ciclo 1 encontram-se descritos na tabela 2. O NMP da água de captação experimentou variação de  $430 \times 10^3$  a  $110 \times 10^8/100\text{mL}$ , na água do viveiro a variação foi de  $110 \times 10^5$  a  $110 \times 10^{12}/100\text{mL}$ , nas amostras de camarão o índice variou de  $110 \times 10^5$  a  $110 \times 10^{12}/\text{g}$ .

Os dados do NMP de *Vibrio* das amostras de água de captação, água do viveiro 5 e camarão do ciclo 2 estão detalhados na tabela 2. Os índices oscilaram de  $230 \times 10^3$  a  $240 \times 10^{11}/100\text{mL}$ ;  $230 \times 10^8$  a  $110 \times 10^{12}/100\text{mL}$ ; e  $740 \times 10^7$  a  $110 \times 10^{12}/\text{g}$ , nas amostras de água de captação, água do viveiro 5 e camarão, respectivamente. C s

Foi utilizado como análise estatística o teste t de Student para dados independentes, com nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%. De acordo com o teste, água de captação NMP/100mL no ciclo 1 não difere significativamente do obtido no ciclo 2 para  $\alpha = 5\%$  ( $p \geq 0,05$ ). Água do viveiro NMP/100mL no ciclo 1 não difere significativamente do obtido no ciclo 2 para  $\alpha = 5\%$  ( $p \geq 0,05$ ).

Nos ciclos 1 e 2, o NMP/100mL da água de captação difere significativamente do NMP/100mL do viveiro, para  $\alpha = 5\%$  ( $p < 0,05$ ), sendo que o NMP no viveiro foi maior do que o NMP na captação.

Quando comparado os valores de NMP de *Vibrio/g* do camarão no ciclo 1 com os valores de NMP de *Vibrio/g* do camarão no ciclo 2, não houve diferença estatisticamente significativa para  $\alpha = 5\%$  ( $p \geq 0,05$ ).

O CONAMA (2005), na Resolução 375, estabelece as diretrizes ambientais para o enquadramento dos tipos de água, não contempla limite para vibrios em águas salobras e salinas destinadas à aquicultura. Desse modo, os resultados da presente pesquisa no que concerne à quantificação de vibrio não podem ser comparados a um padrão legal vigente, impossibilitando a classificação dos valores obtidos em baixos ou elevados.

**Tabela 2** – Número Mais Provável (NMP) de *Vibrio* em amostras de água e de camarão nos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Amostras	Água de captação (NMP/100mL)		Água do Viveiro (NMP/100mL)		Camarão/g (NMP/g)	
	Absoluto	log	Absoluto	log	Absoluto	log
<b>CICLO 1</b>						
1	430 x 10 <sup>3</sup>	4,63	110 x 10 <sup>5</sup>	7,04	110 x 10 <sup>5</sup>	7,04
2	230 x 10 <sup>4</sup>	5,36	110 x 10 <sup>8</sup>	10,04	110 x 10 <sup>8</sup>	10,04
3	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04	2.30 x 10 <sup>9</sup>	11,36
4	110 x 10 <sup>8</sup>	10,04	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04
5	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	360 x 10 <sup>9</sup>	11,55	3.60 x 10 <sup>9</sup>	11,55
6	160 x 10 <sup>5</sup>	7,20	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	740 x 10 <sup>9</sup>	11,86
7	230 x 10 <sup>4</sup>	6,36	230 x 10 <sup>6</sup>	8,36	920 x 10 <sup>8</sup>	10,96
8	430 x 10 <sup>6</sup>	8,63	240 x 10 <sup>11</sup>	13,38	230 x 10 <sup>10</sup>	12,36
9	360 x 10 <sup>5</sup>	7,55	920 x 10 <sup>9</sup>	11,96	920 x 10 <sup>8</sup>	10,96
10	930 x 10 <sup>4</sup>	6,96	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36	430 x 10 <sup>8</sup>	10,63
11	360 x 10 <sup>4</sup>	6,55	280 x 10 <sup>10</sup>	12,44	920 x 10 <sup>7</sup>	9,96
12	290 x 10 <sup>6</sup>	8,46	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36
<b>CICLO 2</b>						
1	150 x 10 <sup>6</sup>	8,17	920 x 10 <sup>9</sup>	11,96	460 x 10 <sup>8</sup>	10,66
2	460 x 10 <sup>7</sup>	9,66	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04	240 x 10 <sup>11</sup>	13,38
3	930 x 10 <sup>6</sup>	8,96	230 x 10 <sup>10</sup>	12,36	460 x 10 <sup>11</sup>	13,66
4	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	110 x 10 <sup>10</sup>	12,04	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36
5	230 x 10 <sup>4</sup>	6,36	230 x 10 <sup>8</sup>	10,36	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36
6	230 x 10 <sup>3</sup>	5,36	230 x 10 <sup>10</sup>	12,36	920 x 10 <sup>9</sup>	11,96
7	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36	280 x 10 <sup>10</sup>	12,44
8	430 x 10 <sup>4</sup>	6,63	920 x 10 <sup>8</sup>	10,96	740 x 10 <sup>7</sup>	9,86
9	920 x 10 <sup>4</sup>	6,96	940 x 10 <sup>9</sup>	11,97	230 x 10 <sup>9</sup>	11,36
10	300 x 10 <sup>5</sup>	7,47	920 x 10 <sup>9</sup>	11,96	360 x 10 <sup>8</sup>	10,55
11	240 x 10 <sup>7</sup>	9,38	750 x 10 <sup>10</sup>	12,87	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04
12	240 x 10 <sup>11</sup>	13,38	460 x 10 <sup>11</sup>	13,66	110 x 10 <sup>12</sup>	14,04

No cultivo de peneídeos, a pesquisa de *Vibrio* pode avaliar a carga bacteriana do ambiente e do camarão, indicar as espécies que ocorrem e, conseqüentemente, o risco que essa atividade aquícola pode apresentar quando de uma possível instalação de vibriose no sistema. De acordo com Esteve & Herrera (2000), a vibriose é uma das infecções mais prevalentes na carcinicultura e provoca elevadas taxas de mortalidade na larvicultura e na produção de camarão. Além de representar um entrave à carcinicultura, a incidência elevada de víbrios no camarão pode provocar risco à saúde humana, se estiver associada ao produto destinado ao consumo.

Quando comparados, os valores de NMP das amostras de águas de captação e água do viveiro nos dois ciclos, pode-se observar que os índices apresentados pelas amostras de água do viveiro foram mais elevados do que os valores da água captação. Isto pode ser explicado pelo maior aporte de matéria orgânica no viveiro, devido à oferta de rações e fertilizantes e, conseqüentemente, ao aumento de detritos, plâncton e microbiota. Soma-se a isso uma densidade alta de organismos e condições ambientais favoráveis, o que concorre para a proliferação e manutenção de espécies de víbrio. Segundo Alam *et al.* (2001), o suprimento de nutrientes pode levar a uma excessiva produção da biomassa primária, podendo favorecer ao desenvolvimento de víbrios. Riquelme & Avendaño-Herrera (2003) afirmam que um dos fatores mais importantes que afeta o crescimento dos componentes bacterianos em ecossistemas aquáticos é a produção primária, uma vez que os produtos extracelulares do fitoplâncton estimulam a proliferação de bactérias. De acordo com Moriarty (1997), os dois principais fatores para controlar o crescimento das bactérias nos viveiros são a concentração de substratos orgânicos e a temperatura. Entretanto, o principal caminho para se estimar a resposta das comunidades bacterianas é pelo exame das mudanças no número, tamanho ou biomassa; taxa de crescimento e produtividade.

A variação dos índices de NMP entre as amostras de água dos viveiros 7 e 5 não foi significativa, indicando que os valores obtidos na quantificação bacteriana nos dois viveiros mantiveram-se muito próximos, provavelmente, devido ao fato de que as coletas foram realizadas no mesmo período, estando os viveiros sob as mesmas condições ambientais e de manejo. O mesmo foi observado na população bacteriana das águas de captação e nas amostras de camarão dos dois viveiros, não ocorrendo variação de NMP significativa.

Os resultados obtidos na presente pesquisa para as amostras de água de captação da fazenda, localizada no estuário do rio Coreaú (CE), podem ser considerados elevados

quando comparados aos obtidos por Serra *et al.* (2003), que encontraram uma variação de  $1,1 \times 10^4$  a  $>1,1 \times 10^5$  no NMP/mL de *V. parahaemolyticus* em amostras de água do estuário do rio Anil (São Luís- Maranhão). Menezes (2005) em pesquisa de *Vibrio* spp em amostras de água de captação e descarga de uma fazenda de camarão localizada no estuário do rio Jaguaribe (CE), obteve uma carga bacteriana de  $1,5 \times 10^5$  NMP/mL no canal de captação.

A amostras de água dos viveiros 7 e 5 do presente estudo apresentaram um índice de NMP de *Vibrio*/100mL com uma ordem de grandeza superior aos resultados determinados por Téllez *et al.* (1999), que em estudo sobre a qualidade da água e de ostras cultivadas no México detectaram ausência de *Vibrio* na água destinada ao cultivo.

Elevados índices de *Vibrio* em águas destinadas a cultura de organismos marinhos podem representar risco de contaminação para a fauna aquática. Segundo a FAO (2001), o camarão cultivado nos países em desenvolvimento pode apresentar risco de contaminação por *V. cholerae* toxigênico através da água onde é cultivado ou por manipulação de portadores assintomáticos, sendo necessária uma investigação da qualidade bacteriológica dos ambientes de cultivo do camarão com destinação aos mercados interno e externo.

As 24 amostras (100%) de camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento analisadas na presente pesquisa e oriundas dos dois ciclos de cultivo apresentaram uma carga bacteriana de *Vibrio* NMP/g superior a  $11 \times 10^5$ . O número elevado de vírios nos sistemas de cultivo pode representar risco à atividade quando da instalação de condições ambientais desfavoráveis nos viveiros, provocando situações de estresse nos camarões. Goarant *et al.* (1999) afirmam que os vírios são patógenos oportunistas responsáveis pela principal patologia bacteriana no cultivo de peneídeos, provocando altos índices de mortalidade e perdas econômicas significativas nos países produtores.

De acordo com Castro-Rosas & Escartin (2002), a habilidade de cepas de *V. cholerae* O1 de aderir e colonizar exoesqueletos de crustáceos comestíveis representa um meio de sobrevivência em ambientes aquáticos. Os autores alertam que as concentrações de vírio em carapaça de camarão podem representar problema para a saúde pública

No Japão, onde os alimentos de origem marinha são consumidos principalmente crus ou insuficientemente cozidos, a contaminação desse tipo de alimento representa 22% das doenças provocadas pela ingestão de alimentos contaminados. A FAO estima que na União Européia os índices apresentados pelos países para os surtos provocados pela ingestão de alimentos marinhos contaminados no período de 1983 a 1992 variaram de 4,1%

no Reino Unido a 16,1% na Finlândia do total de surtos registrados. O mesmo estudo aponta uma lista de países exportadores que receberam alerta da União Européia para qualidade sanitária dos produtos, a Índia lidera essa listagem (Zakariah, 2003).

Os resultados concernentes à contagem de colônias de *Vibrio* sacarose positivas e negativas das amostras de água de captação, água do viveiro e camarão nos dois ciclos estão expostos na tabela 3. No ciclo 1, a variação bacteriana foi de  $230 \times 10^2$  a  $260 \times 10^6$  UFC/100mL;  $230 \times 10^4$  a  $232 \times 10^{11}$  UFC/100mL; e  $250 \times 10^4$  a  $250 \times 10^{11}$  UFC/g, nas amostras de água de captação, água do viveiro e camarão, respectivamente.

No ciclo 2, as amostras de água de captação experimentaram variação de  $137 \times 10^3$  a  $233 \times 10^7$  UFC/100mL; no viveiro ocorreu oscilação de  $230 \times 10^7$  a  $112 \times 10^{11}$  UFC/100mL; e nas amostras de camarão a variação foi de  $31 \times 10^8$  a  $250 \times 10^{10}$  UFC/g.

De acordo com Guimarães *et al.* (2004), para a aqüicultura se aceita um máximo de 10.000 UFC para bactérias e 1.000 UFC para víbrios. Os mesmos autores em estudo sobre a qualidade da água de afluentes e efluentes de 17 fazendas implantadas nos 6 principais pólos de produção de camarão do Estado do Rio Grande do Norte encontraram variação com ordem de grandeza inferior aos dados obtidos na presente pesquisa, oscilando de 0 a 208 UFC/ml e com uma média de 53,57UFC/mL.

Lima *et al.* (2004) em estudo sobre *Vibrio* spp, em amostras de água de captação, viveiro e camarão de 14 fazendas nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, revelaram um índice bacteriano com variação de  $1,4 \times 10^3$  a  $4,69 \times 10^3$  a UFC/mL nas amostras de água de captação;  $1,7 \times 10^3$  a  $1,3 \times 10^4$  nas amostras de água do viveiro; e  $1,5 \times 10^4$  a  $4,3 \times 10^6$  UFC/g nas amostras de hepatopâncreas do camarão.

Gopal *et al.* (2005) obtiveram resultados inferiores aos da presente pesquisa quando da enumeração de víbrios no cultivo de camarão na costa leste e oeste da Índia. Os autores revelaram índices que variaram de  $5,48 \times 10^2$  a  $4,73 \times 10^4$  UFC/mL nas amostras de água e  $1,52 \times 10^3$  a  $4,36 \times 10^4$  UFC/mL nas amostras de hemolinfa do camarão.

As variáveis ambientais analisadas na presente pesquisa (tabela 4) mostraram-se favoráveis à elevada incidência de víbrios no ambiente de cultivo e nas amostras de camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento analisados. De acordo com Jiang & Fu (2001), as populações de *Vibrio* em ambientes costeiros são influenciadas principalmente pela temperatura e salinidade do meio.

**Tabela 3** – Contagem de colônias sacarose positivas e negativas, expressa em Unidade Formadora de Colônia (UFC), de *Vibrio* em amostras de água e camarão nos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Amostras	Água de captação (UFC/100mL)		Água do Viveiro (UFC/100mL)		Camarão/g (UFC/g)	
	Absoluto	log	Absoluto	log	Absoluto	log
<b>CICLO 1</b>						
1	230 x 10 <sup>2</sup>	4,36	230 x 10 <sup>4</sup>	6,36	250 x 10 <sup>4</sup>	6,39
2	210 x 10 <sup>3</sup>	5,32	230 x 10 <sup>7</sup>	9,36	250 x 10 <sup>7</sup>	9,39
3	200 x 10 <sup>4</sup>	6,30	227 x 10 <sup>11</sup>	13,35	210 x 10 <sup>9</sup>	11,32
4	230 x 10 <sup>4</sup>	6,32	232 x 10 <sup>11</sup>	13,36	250 x 10 <sup>11</sup>	13,39
5	212 x 10 <sup>5</sup>	7,32	230 x 10 <sup>8</sup>	10,36	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39
6	233 x 10 <sup>4</sup>	6,36	250 x 10 <sup>4</sup>	6,39	270 x 10 <sup>9</sup>	11,43
7	230 x 10 <sup>4</sup>	6,36	203 x 10 <sup>5</sup>	7,30	222 x 10 <sup>8</sup>	10,34
8	247 x 10 <sup>6</sup>	8,39	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39
9	228 x 10 <sup>5</sup>	7,35	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39
10	221 x 10 <sup>4</sup>	6,34	230 x 10 <sup>8</sup>	10,36	204 x 10 <sup>8</sup>	10,30
11	250 x 10 <sup>3</sup>	5,39	242 x 10 <sup>10</sup>	12,38	250 x 10 <sup>4</sup>	6,39
12	250 x 10 <sup>6</sup>	8,39	230 x 10 <sup>8</sup>	10,36	223 x 10 <sup>8</sup>	10,34
<b>CICLO 2</b>						
1	230 x 10 <sup>5</sup>	7,36	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39
2	233 x 10 <sup>7</sup>	9,36	112 x 10 <sup>11</sup>	13,04	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39
3	390 x 10 <sup>6</sup>	8,59	211 x 10 <sup>10</sup>	12,32	68 x 10 <sup>11</sup>	12,83
4	480 x 10 <sup>4</sup>	6,68	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39	232 x 10 <sup>8</sup>	10,36
5	122 x 10 <sup>4</sup>	6,08	230 x 10 <sup>7</sup>	9,36	244 x 10 <sup>8</sup>	10,38
6	137 x 10 <sup>3</sup>	5,13	235 x 10 <sup>9</sup>	11,37	248 x 10 <sup>9</sup>	11,39
7	130 x 10 <sup>5</sup>	7,11	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39
8	101 x 10 <sup>4</sup>	6,00	209 x 10 <sup>8</sup>	10,32	310 x 10 <sup>7</sup>	9,49
9	250 x 10 <sup>4</sup>	6,39	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39
10	250 x 10 <sup>4</sup>	6,39	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39	235 x 10 <sup>8</sup>	10,39
11	250 x 10 <sup>6</sup>	8,39	250 x 10 <sup>9</sup>	11,39	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39
12	250 x 10 <sup>8</sup>	10,39	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39	250 x 10 <sup>10</sup>	12,39

**Tabela 4** – Variáveis ambientais pH, temperatura (°C) e salinidade (‰) das amostras de água dos ciclos 1 e 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Amostras	Coletas	Água de Captação			Água do Viveiro		
		pH	Temp.	Salin.	pH	Temp.	Salin.
<b>CICLO 1</b>							
1	22.05.05	6,53	31,3	0	6,94	30,3	1
2	05.06.05	7,58	28,7	0	7,49	28,1	0,5
3	26.06.05	7,70	29,5	1	8,47	29,9	1
4	03.07.05	7,57	29,4	1	8,63	29,7	1
5	19.07.05	8,18	30,03	9	9,59	30,4	1
6	04.08.05	7,45	31,0	13	9,41	30,8	4
7	22.08.05	7,77	31,0	25	8,56	30,5	11
8	04.09.05	8,22	29,9	24	8,40	29,8	16
9	18.09.05	7,73	28,8	34	8,02	28,8	20
10	02.10.05	7,79	30,3	30	8,07	30,5	20
11	16.10.05	7,83	29,2	36	7,95	29,1	25
12	30.10.05	7,74	29,7	33	8,16	30,1	27
<b>CICLO 2</b>							
1	26.06.05	7,85	29,5	1	8,16	29,1	0,5
2	03.07.05	7,83	30,2	1	8,73	30,3	1
3	19.07.05	8,10	29,3	5	10,13	29,8	1
4	04.08.05	7,28	31,4	14	9,18	30,9	9
5	22.08.05	7,78	31,0	25	9,02	30,4	11
6	04.09.05	8,19	30,5	24	9,00	30,2	14
7	18.09.05	7,71	28,4	32	8,03	28,3	24
8	02.10.05	7,72	30,4	30	8,03	30,1	23
9	16.10.05	7,83	29,8	36	8,21	29,4	29
10	30.10.05	7,76	29,3	30	8,30	29,9	32
11	06.11.05	7,90	29,0	43	7,93	29,7	35
12	13.11.05	7,66	29,6	34	7,90	29,9	39

O pH nas amostras de água de captação variou de 6,53 a 8,22, no ciclo 1, enquanto no ciclo 2 variou de 7,66 a 8,19. Nas águas de viveiro o pH variou de 6,94 a 9,59, no ciclo 1, e de 7,90 a 10,13, no ciclo 2. Das 24 amostras de água oriundas da captação somente uma apresentou pH abaixo da faixa alcalina, o mesmo acontecendo para as águas do viveiro. A temperatura, nas águas de captação, variou de 28,7 a 31,6°C, no ciclo 1, e de 29,0 a 31,4°C, no ciclo 2. Nas águas do viveiro a oscilação da temperatura foi de 28,1 a 30,5°C, no viveiro 1, sendo de 29,1 a 30,9°C, no viveiro 2. Considerando todos os valores de temperatura, sua variação máxima não superou a 3,3°C. A salinidade apresentou uma ampla variação nas amostras de água de ambos os ciclos. Nas águas de captação variou de 0 a 36‰, no ciclo 1, e de 1 a 43‰, no ciclo 2. Nas águas do viveiro a variação foi de 0,5 a 27‰, no viveiro 1, e de 0,5 a 39‰, no viveiro 2.

Pelo teste estatístico t de Student para dados independentes ao nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%, não houve variação nos valores de pH nas amostras de água de captação nos dois ciclos, o mesmo ocorrendo nas amostras de água dos viveiros. Entretanto, quando comparados os valores de pH das amostras de água de captação com aqueles de água dos viveiros, estes apresentaram valores significativamente mais elevados. Isto pode ser explicado pelo fato de que o viveiro é uma área confinada e recebe diariamente maior aporte de nutrientes como rações e fertilizantes.

Segundo o CONAMA na Resolução 357 de 2005, as águas salinas destinadas à aquicultura devem exibir pH na faixa de 6,5 a 8,5. Das 48 amostras de água analisadas, 7 (14,6%) apresentaram valores acima de 8,5. No que tange a proliferação de vibrios, as amostras apresentaram-se dentro dos limites alcalinos que influenciam o seu crescimento.

Os valores de pH registrados na presente pesquisa podem favorecer a incidência e isolamento dos vibrios. Gopal *et al.* (2005) obtiveram bons resultados para enumeração e isolamento de vibrios, na Índia, em amostras de água de viveiro com variação do pH de 7,8 a 8,4. Gonçalves *et al.* (2004) obtiveram correlação significativa entre o pH com variação de 6,2 a 9,8 de amostras de águas estuárias da Baía de São Marcos (São Luís - MA) e isolamento de *V. cholerae*. Os vibrios são sensíveis a pH ácido. Koo *et al.* (2000) em estudo sobre o impacto de ácidos na sobrevivência de *V. vulnificus* observaram que a sensibilidade dessa bactéria a valores de pH abaixo de 3,0 foi muito elevada.

Os valores de temperatura quando analisados estatisticamente pelo teste t de Student com nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%, não mostraram qualquer diferença nas amostras de

água de qualquer procedência. Esse parâmetro ambiental, pelos valores apresentados, não pode, por conseguinte, ter qualquer influência nos dados microbiológicos obtidos.

As amostras analisadas apresentaram temperaturas com características tropicais compatíveis à presença e proliferação de vírios, variando de 28,1 a 31,6°C. Os resultados obtidos corroboram com os dados de Thompson *et al.* (2004), que em pesquisa sobre a diversidade e dinâmica de comunidade de vírio na costa do Atlântico Norte afirmam que a temperatura foi um fator fundamental para ocorrência de vírios na água. Os autores detectaram que a população de vírio aumentou no verão onde as temperaturas alcançaram 30°C. Randa *et al.* (2004) observaram uma correlação positiva entre a população de *V. vulnificus* e a temperatura da água na Baía de Barnegat nos Estados Unidos, sugerindo que a maior incidência dessa espécie ocorreu nos meses com temperaturas mais elevadas.

Em relação à salinidade, os menores valores foram observados nos meses de maio a julho, período que está sob influência dos índices de pluviosidade, ocorrendo diluição pelas águas pluviais. Os meses de agosto a novembro apresentaram os maiores valores de salinidade, essa época do ano é caracterizada pela ausência de chuvas e, conseqüentemente, intensa evaporação, o que concorre para o aumento deste parâmetro. As amostras de água do viveiro apresentaram menores salinidades quando comparadas às amostras de água de captação, isto ocorreu devido à baixa renovação diária de água nos viveiros, que foi de apenas 5% do volume total do viveiro por dia.

Das 48 amostras de água analisadas, 46 (95,8%) apresentaram salinidade variando de 0,5 a 43‰. Essa variação mostrou-se compatível com a presença de vírios nas amostras de água de captação e viveiro. Segundo Murakami *et al.* (1998), as espécies de *Vibrio* podem ser encontradas em ambientes aquáticos com ampla variação de salinidade e representam o componente dominante das comunidades microbianas marinhas cultiváveis.

Na tabela 5 encontra-se a distribuição das 116 cepas de *Vibrio* isoladas de água e de camarão durante o ciclo 1 do cultivo. Destas cepas 36 (31,03%) foram oriundas das amostras de água de captação, 39 (33,62%) de água do viveiro, 12 (10,34%) do camarão no estágio de pós-larva, 17 (14,66%) do camarão juvenil e 12 (10,34%) do camarão adulto.

**Tabela 5** – Identificação das 116 cepas de *Vibrio* isoladas de amostras de água de captação, de viveiro e de camarão do ciclo 1 do cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, realizado em uma fazenda de camarão marinho situada no estuário do rio Coreau (CE).

Espécies	Origem				
	Água de captação n= 36	Água do viveiro n= 39	Pós-larva n= 12	Camarão Juvenil n= 17	Camarão Adulto n= 12
<i>Vibrio</i> spp	5	3	1	2	2
<i>V. cholerae</i> não tipado	6	9	2	3	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	8	6	1	-	4
<i>V. mimicus</i>	1	1	1	-	-
<i>V. hollisae</i>	1	-	-	-	-
<i>V. damsela</i>	3	2	-	-	2
<i>V. splendidus</i>	3	-	-	-	-
<i>V. fluvialis</i>	3	3	-	1	-
<i>V. carchariae</i>	1	1	-	-	1
<i>V. alginolyticus</i>	5	1	-	1	-
<i>V. harveyi</i>	-	6	4	7	3
<i>V. furnissi</i>	-	1	-	-	-
<i>V. anguillarum</i>	-	1	1	3	-
<i>V. ordalli</i>	-	2	-	-	-
<i>V. costicola</i>	-	2	1	-	-
<i>V. cincinnatiensis</i>	-	1	-	-	-
<i>V. fisheri</i>	-	-	1	-	-

\*n= número de cepas

A frequência das 36 cepas isoladas das amostras de água de captação do ciclo 1 apresentou o seguinte comportamento: 8 cepas (22,22%) de *V. parahaemolyticus*, 6 (16,67%) de *V. cholerae*, 5 (13,89%) de *Vibrio* spp, 5 (13,89%) de *V. alginolyticus*, 3 (8,33%) de *V. fluvialis*, 3 (8,33%) de *V. splendidus*, 3 (8,33%) de *V. damsela*, 1 (2,78%) de *V. carchariae*, 1 (2,78%) de *V. hollisae* e 1 (2,78%) de *V. mimicus*.

Das 39 colônias isoladas do viveiro foram identificadas 9 cepas (23,08%) de *V. cholerae*, 6 (15,38%) de *V. parahaemolyticus*, 6 (15,38%) de *V. harveyi*, 3 (7,69%) de *Vibrio* spp, 3 (7,69%) de *V. fluvialis*, 2 (5,13%) de *V. damsela*, 2 (5,13%) de *V. ordalli*, 2 (5,13%) de *V. costicola*, 1 (2,56%) de *V. cincinnatiensis*, 1 (2,56%) de *V. anguillarum*, 1 (2,56%) de *V. furnissi*, 1 (2,56%) de *V. alginolyticus*, 1 (2,56%) de *V. carchariae* e 1 (2,56%) de *V. mimicus*.

Foram isoladas 12 colônias das amostras de camarão no estágio de pós-larva, sendo 4 cepas (33,33%) de *V. harveyi*, 2 (16,67%) de *V. cholerae*, 1 (8,33%) de *V. parahaemolyticus*, 1 (8,33%) de *Vibrio* spp, 1 (8,33%) de *V. mimicus*, 1 (8,33%) de *V. anguillarum*, 1 (8,33%) de *V. costicola* e 1 (8,33%) de *V. fisheri*.

Nas amostras de camarão juvenil foram isoladas 17 cepas das seguintes espécies: 7 cepas (41,18%) de *V. harveyi*, 3 (17,65%) de *V. cholerae*, 3 (17,65%) de *V. anguillarum*, 2 (11,76%) de *Vibrio* spp, 1 (5,88%) de *V. fluvialis* e 1 (5,88%) de *V. alginolyticus*.

Das 12 cepas isoladas das amostras de camarão na fase adulta, 4 (33,33%) foram de *V. parahaemolyticus*, 3 (25%) de *V. harveyi*, 2 (16,67%) de *Vibrio* spp, 2 (16,67%) de *V. damsela* e 1 (8,33%) de *V. carchariae*.

A presença de cepas sacarose positivas foi alta em todas as amostras analisadas, representando 20 cepas (55,6%) das amostras de água de captação, 29 cepas (74,4%) das amostras de água do viveiro e 30 cepas (73,2%) das amostras de camarão.

As espécies predominantes na água de captação e do viveiro foram *V. parahaemolyticus* e *V. cholerae*, nas amostras de pós-larva e juvenil foram *V. harveyi* e *V. cholerae*, e no camarão adulto foram *V. parahaemolyticus* e *V. harveyi*.

As espécies identificadas das 89 cepas de amostras de água (captação e viveiro) e de camarão encontram-se detalhadas na tabela 6.

**Tabela 6** – Identificação das 89 cepas de *Vibrio* isoladas de amostras de água de captação, de viveiro e de camarão do ciclo 2 do cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei*, realizada em uma fazenda de camarão marinho situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Espécies	Origem				
	Água de captação n= 26	Água do viveiro n= 28	Pós-larva n= 8	Camarão Juvenil n= 15	Adulto n= 12
<i>Vibrio</i> spp	3	3	1	4	1
<i>V. anguillarum</i>	1	6	2	2	2
<i>V. hollisae</i>	1	1	-	-	1
<i>V. damsela</i>	2	-	-	-	1
<i>V. harveyi</i>	4	5	3	2	2
<i>V. vulnificus</i>	1	-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	2	3	-	-	4
<i>V. cholerae</i> não tipado	3	3	2	3	-
<i>V. fluvialis</i>	1	-	-	1	-
<i>V. carchariae</i>	2	3	-	-	-
<i>V. cincinnatiensis</i>	1	1	-	-	-
<i>V. metschnikovii</i>	1	-	-	-	-
<i>V. furnissi</i>	1	-	-	1	-
<i>V. alginolyticus</i>	3	1	-	2	1
<i>V. mimicus</i>	-	2	-	-	-

\*n= número de cepas

Destas 89 cepas isoladas no ciclo 2, 26 (29,21%) foram obtidas das amostras de água de captação, 28 (31,46%) das amostras de água do viveiro, 8 (8,99%) do camarão no estágio de pós-larva, 15 (16,85%) do camarão juvenil e 12 (13,5%) do camarão adulto.

Nas amostras de água de captação foram obtidas 4 cepas (15,38%) de *V. harveyi*, 3 (11,54%) de *Vibrio* spp, 3 (11,54%) de *V. alginolyticus*, 3 (11,54%) de *V. cholerae*, 2 (7,69%) de *V. parahaemolyticus*, 2 (7,69%) de *V. damsela*, 1 (3,85%) de *V. anguillarum*, 1 (3,85%) de *V. hollisae*, 1 (3,85%) de *V. vulnificus*, 1 (3,85%) de *V. fluvialis*, 1 (3,85%) de *V. cincinnatiensis*, 1 (3,85%) de *V. metschnikovii* e 1 (3,85%) de *V. furnissi*.

As bactérias isoladas das amostras de água do viveiro foram identificadas e obedeceram a seguinte frequência: 6 cepas (21,43%) de *V. anguillarum*, 5 (17,86%) de *V. harveyi*, 3 (10,71%) de *Vibrio* spp, 3 (10,71%) de *V. parahaemolyticus*, 3 (10,71%) de *V. cholerae*, 3 (10,71%) de *V. carchariae*, 2 (7,14%) de *V. mimicus*, 1 (3,57%) de *V. hollisae*, 1 (3,57%) de *V. cincinnatiensis* e 1 (3,57%) de *V. alginolyticus*.

Das 8 cepas isoladas das amostras de pós-larva de camarão, 3 (37,5%) foram de *V. harveyi*, 2 (25%) de *V. cholerae*, 2 (25%) de *V. anguillarum* e 1 (12,5%) de *Vibrio* spp.

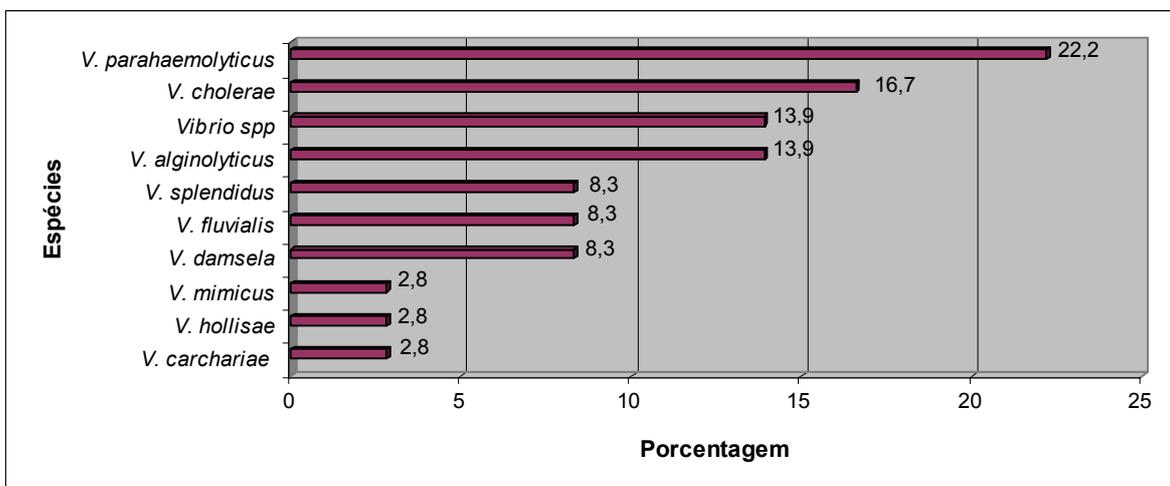
Nas amostras de camarão juvenil foram isoladas 15 cepas, onde 4 (26,67%) foram de *Vibrio* spp, 3 (20%) de *V. cholerae*, 2 (13,33%) de *V. anguillarum*, 2 (13,33%) de *V. alginolyticus*, 2 (13,33%) de *V. harveyi*, 1 (6,67%) de *V. furnissi*, 1 (6,67%) de *V. fluvialis*.

Das amostras do camarão adulto foram obtidas 12 cepas, sendo 4 (33,33%) de *V. parahaemolyticus*, 2 (16,67%) de *V. anguillarum*, 2 (16,67%) de *V. harveyi*, 1 (8,33%) de *Vibrio* spp, (8,33%) de *V. damsela*, (8,33%) de *V. hollisae* e (8,33%) de *V. alginolyticus*.

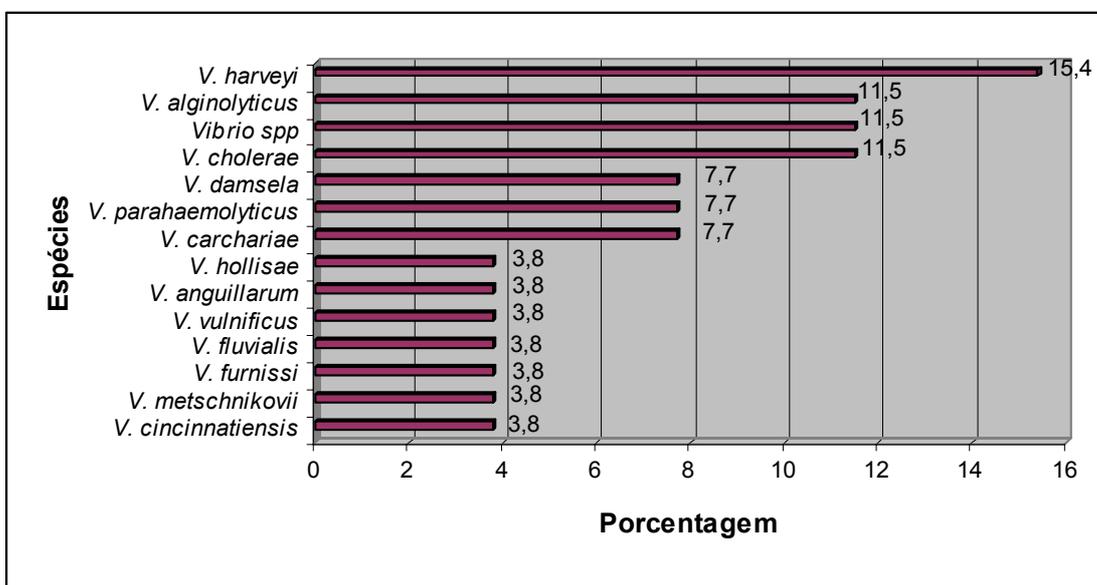
No ciclo 2, a incidência de cepas sacarose positivas foi alta em todas as amostras analisadas, representando 19 cepas (73,08%) das amostras de água de captação, 21 cepas (75%) das amostras de água do viveiro e 28 cepas (80%) das amostras de camarão.

As espécies predominantes na água de captação foram *V. harveyi*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus* e *Vibrio* spp. Nas amostras de água do viveiro a predominância foi das espécies *V. anguillarum* e *V. harveyi*, nas amostras de pós-larva foram *V. harveyi*, *V. cholerae* e *V. anguillarum*, nas amostras de camarão juvenil foram *Vibrio* spp e *V. cholerae*, e no camarão adulto foram *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* e *V. anguillarum*.

As distribuições em porcentagem das cepas obtidas das amostras de água de captação dos dois ciclos encontram-se expostas nas figuras 7 e 8.



**Figura 7** – Distribuição em porcentagem dos 36 isolados de *Vibrio* das amostras de água de captação do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).



**Figura 8** – Distribuição em porcentagem dos 26 isolados de *Vibrio* das amostras de água de captação do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

A maior diversidade de espécies de *Vibrio* foi encontrada nas amostras de água de captação (estuário do rio Coreaú-CE) dos dois ciclos, totalizando 16 espécies em 62 cepas isoladas. Esse fato decorre, provavelmente, da ausência ou diminuição de processos de seleção de espécies em ambientes naturais quando comparado a ambientes de cultivo. O mesmo foi observado por Menezes (2005) que encontrou maior diversidade de espécies de *Vibrio* em amostras de água do rio Choró (CE), que recebe influência de água oceânica, do que em amostras de água de ambiente de cultivo de camarão.

As espécies que predominaram nas cepas isoladas da água de captação oriunda do estuário do rio Coreaú (CE) foram *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. harveyi* e *V. alginolyticus*. Esses dados podem ser comparados aos obtidos por Barbieri *et al.* (1999) que isolaram com maior frequência *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* não O1 e *V. vulnificus* de amostras de água de dois estuários da costa Adriática italiana. Os autores alertam para o perigo que algumas cepas toxigênicas isoladas podem provocar para saúde pública, variando de gastroenterites até quadros graves de septicemia, uma vez que o ambiente estudado é utilizado para produção de alimentos e como área de recreação.

Hervio-Heath *et al.* (2002) isolaram cepas patogênicas de *Vibrio* da costa francesa, obtendo com maior frequência as espécies *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e *V. cholerae* não O1/O139. Segundo os autores, a associação de vibrios patogênicos ao ambiente estuarino evidencia um potencial risco sanitário para a população.

De acordo com Vaseeharan & Ramasamy (2003), a presença de *V. parahaemolyticus* em corpos aquáticos destinados a cultura de camarões é preocupante uma vez que algumas cepas podem provocar doenças nos peneídeos. Além disso, a incidência dessa espécie de *Vibrio* na água pode contaminar a fauna e provocar doenças em humanos quando do consumo de alimentos contaminados. Daniels *et al.* (2000) relataram gastroenterites, infecções em feridas e septicemia como quadros clínicos de infecções provocadas por *V. parahaemolyticus* nos Estados da Flórida, Alabama, Lousiana e Texas.

A incidência de cepas de *V. cholerae* nas amostras de água de captação do presente estudo pode representar risco para a fauna aquática e para a população que faz uso da água do estuário. A frequência das cepas corrobora com os dados de Thompson *et al.* (2003), os quais acrescentam que a espécie *V. cholerae* é ubíqua e abundante em ambientes aquáticos, principalmente em áreas costeiras, estuários e rios. Os autores afirmam que esse microrganismo provocou números consideráveis de mortes no Brasil na última década e

sugerem que as cepas de *V. cholerae* vêm experimentando sucesso na adaptação à mudanças nas condições ambientais.

A presença de algumas espécies de *Vibrio* em ambientes aquáticos representa risco de infecção de feridas cutâneas, e em alguns casos, de septicemia. Rodrigues *et al.* (2001) detectaram 21 pescadores portadores de *Vibrio* dos 50 pesquisados com feridas cutâneas infectadas no município de Raposa (MA), havendo predomínio de *V. alginolyticus* (66,6%), *V. parahaemolyticus* (42,8%) e de *V. cholerae* não O1 (9,5%).

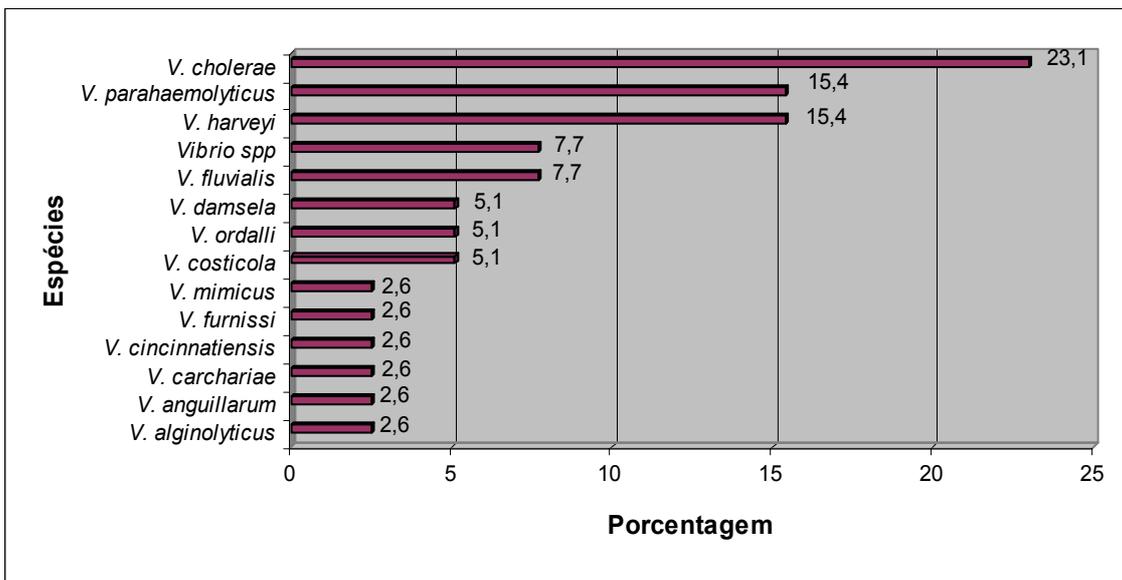
A ocorrência de *V. harveyi* observada na água de captação da fazenda estudada na presente pesquisa pode ser indicativa de risco para o cultivo de camarão. Segundo Hydreyda & Conejero (2003), *V. harveyi* tem sido considerado um dos principais agentes etiológicos de vibriose no cultivo de camarão e foi responsável por perdas econômicas significativas para a indústria camaroneira no sudeste da Ásia.

Macián *et al.* (2000) em estudo sobre identificação de *Vibrio* em amostras de água marinha de Valência na Espanha revelaram um índice de isolados de *V. harveyi* em 24% das cepas, *V. alginolyticus* em 8% e *V. splendidus* em 19%. Os dados podem ser comparados à frequência dos isolados nas amostras do estuário do rio Coreá, a exceção de *V. splendidus*, que ocorreu em maior quantidade nos isolados da água da Espanha no período do inverno. O isolamento de *V. splendidus* das amostras de água de captação foi realizado em temperaturas com variação de 28,4 a 31,4°C.

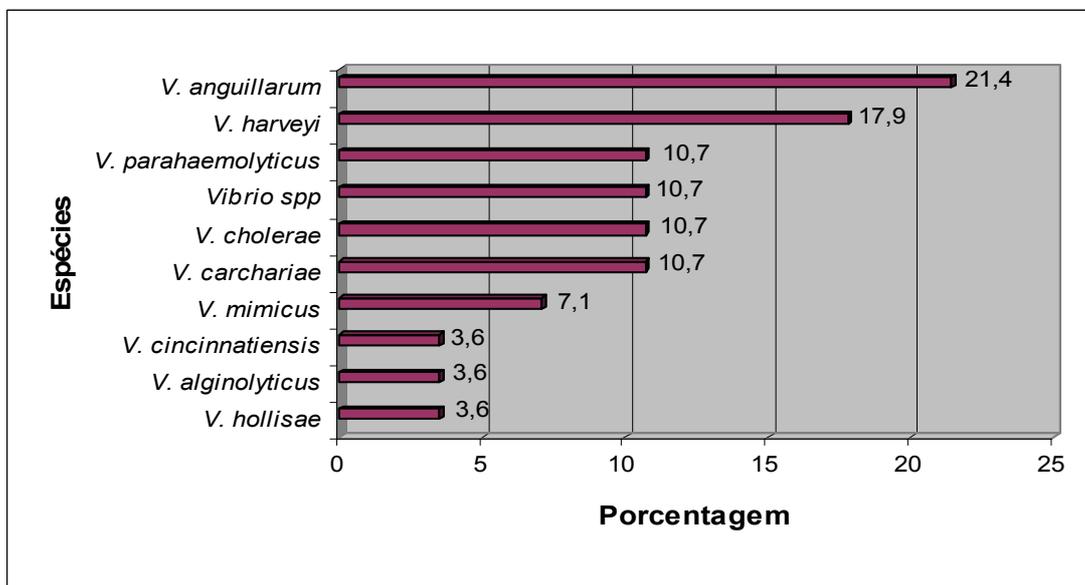
A ocorrência de *V. vulnificus* em amostras de água do estuário do rio Coreá (CE) está de acordo com Yano *et al.* (2004), que afirmam que essa espécie faz parte da microbiota natural de estuários estando associada com infecções alimentares e septicemias. Pfeffer *et al.* (2003) em estudo sobre ecologia do *V. vulnificus* em águas estuarinas obtiveram isolamento dessa espécie apenas quando a temperatura ficou entre 15 e 27°C, e afirmaram que o índice de vibrio foi controlado principalmente pela temperatura, turbidez e nível de oxigênio da água. Os resultados obtidos por Pfeffer *et al.* (2003) podem ser comparados aos obtidos no presente estudo, onde a única cepa de *V. vulnificus* isolada foi de amostra de água com temperatura acima de 28°C.

*V. vulnificus* tem sido relacionado com feridas infeccionadas e é responsável por incontáveis casos de gastroenterites e septicemia primária (Nascimento *et al.*, 2001).

As distribuições em porcentagem das cepas obtidas das amostras de água do viveiro dos dois ciclos encontram-se expostas nas figuras 9 e 10.



**Figura 9** – Distribuição em porcentagem dos 39 isolados de *Vibrio* das amostras de água do viveiro 7 do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).



**Figura 10** – Distribuição em porcentagem dos 28 isolados de *Vibrio* das amostras de água do viveiro 5 do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Foi obtida uma diversidade de 15 espécies de *Vibrio* em 67 isolados dos viveiros nos dois ciclos de cultivo. As maiores frequências foram das espécies *V. cholerae* (17,9%), *V. harveyi* (16,4%), *V. parahaemolyticus* (13,4%) e *V. anguillarum* (10,4%).

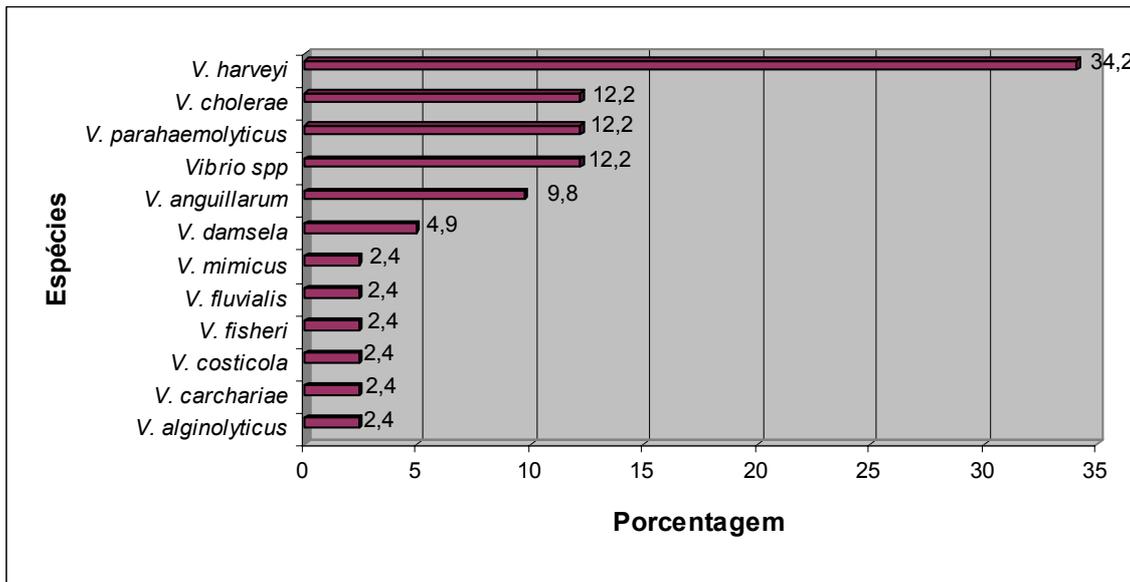
A presença de *Vibrio* nos viveiros está de acordo com os dados de Karunasagar & Karunasagar (2001), que em estudo sobre a comunidade bacteriológica associada ao cultivo de *Penaeus monodon*, na Índia, relataram uma proporção de espécies de *Vibrio* variando de 50 a 73% nos tanques de cultivo de larvas comparada a 31% de isolados desse gênero em amostras de água marinha. Entretanto, as cepas isoladas não se mostraram virulentas quando da aplicação de testes em condições experimentais.

Álvarez *et al.* (2003) relataram a presença de *Vibrio* spp (67%), *V. harveyi* (17%) e *V. carchariae* (17%) em amostras de água destinadas ao cultivo de peneídeos quando do estudo de casos de vibrioses em *Litopenaeus vannamei* e *L. stylirostris* em uma fazenda na costa ocidental da Venezuela. Os autores afirmaram que a diversidade de víbrios foi maior nas amostras de água onde camarões enfermos foram encontrados. Apesar de não terem sido detectados casos de vibrioses na fazenda em estudo localizada no Ceará, chama-se a atenção para a diversidade de víbrios isolados da água destinada ao cultivo de camarões.

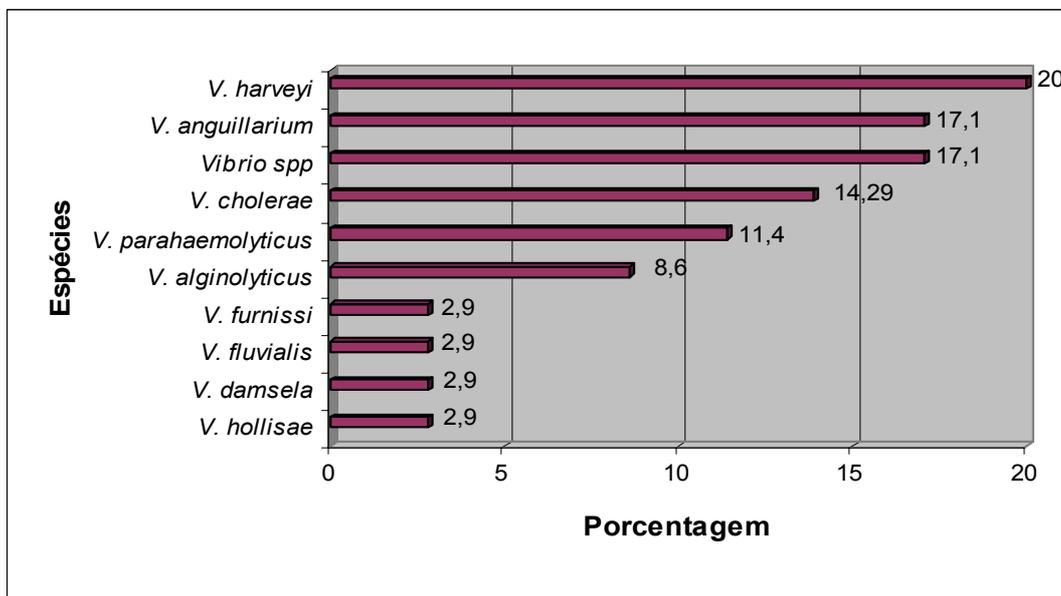
Gopal *et al.* (2005) em estudo sobre a ocorrência de espécies de *Vibrio* no cultivo de camarão na Índia revelaram dados semelhantes aos obtidos na presente pesquisa no que concerne à diversidade de víbrios nos viveiros de camarão, confirmando a presença de 17 espécies isoladas de amostras de água com temperatura variando de 25 a 30°C e pH de 7,8 a 8,4. As espécies encontradas foram *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. fischeri*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. mimicus*, *V. diazotrophicus*, *V. aestuarianus*, *V. campbelli*, *V. splendidus*, *V. cincinnatiensis*, *V. nereis*, *V. anguillarum*, *V. proteolyticus* e *V. pelagicus*. Os autores alertaram para a qualidade bacteriológica do camarão cultivado em águas ricas em víbrios, principalmente *V. cholerae* e *V. parahaemolyticus*, causadores de gastroenterites em consumidores de camarões cultivados.

Além do perigo que a microbiota de vibrio pode representar para a qualidade final dos camarões, ela pode ameaçar a viabilidade nos sistemas de cultivo. Goarant *et al.* (1998) afirmam que os casos de vibrioses são um dos principais problemas da aquicultura.

As distribuições em porcentagem das cepas obtidas das amostras de camarão dos dois ciclos no presente estudo encontram-se expostas nas figuras 11 e 12.



**Figura 11** – Distribuição em porcentagem dos 41 isolados de *Vibrio* das amostras de camarão do ciclo 1 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).



**Figura 12** – Distribuição em porcentagem dos 35 isolados de *Vibrio* das amostras de camarão do ciclo 2 do cultivo em uma fazenda de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Das 76 cepas isoladas de camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento foram obtidas 14 espécies, com predominância das espécies de *V. harveyi* e *V. cholerae* nas pós-larvas; *V. cholerae*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus* e *V. harveyi* nos juvenis; e *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* e *V. anguillarum* nos adultos.

A frequência de cepas isoladas nas amostras de pós-larva e juvenis da presente pesquisa não coincide com os resultados obtidos por Vandenberghe *et al.* (1999), que em inspeções bacteriológicas no cultivo de *L. vannamei* no Equador e México, relataram a presença predominante de *V. alginolyticus* em todos os estágios larvais, estando associado com a saúde dos estágios náuplios e zoea. *V. harveyi* foi associado com doenças em pós-larvas e juvenis. As espécies *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* e *Photobacterium damsela* foram associadas com os estágios juvenil e adulto do *L. vannamei*.

Em estudo sobre um caso de mortalidade em uma larvicultura de camarão, Vieira *et al.* (2000) isolaram *V. alginolyticus* (50%) e *V. fluvialis* (50%) em amostras de pós-larvas, e nas amostras de zoea e de náuplios de artêmia isolaram *V. alginolyticus* (100%). De acordo com a investigação, as diferentes espécies de *Vibrio* isoladas foram responsáveis pela mortalidade verificada na larvicultura estudada, sendo constatado o estresse do camarão de alguma forma, na fase anterior ao desenvolvimento da vibriose.

Hoa *et al.* (2000) isolaram quatro espécies de víbrio de estágios larvais do camarão *Macrobrachium rosenbergii* cultivado no Vietnã, onde 62% foram de *V. cholerae*, 20% de *V. alginolyticus*, 10% de *V. carchariae* e 8% de *V. mimicus*. Esses dados podem ser comparados aos obtidos nas amostras de pós-larva dos dois ciclos de cultivo do *L. vannamei* no estuário do rio Coreaú (CE).

Aguirre-Guzmán *et al.* (2002) estudaram o efeito de diferentes espécies de *Vibrio* sobre a sobrevivência larval do camarão branco *L. vannamei* e observaram que todos os subestágios larvais que foram infectados com *V. alginolyticus* ( $10^5$  a  $10^7$  UFC/mL) tiveram uma sobrevivência significativamente maior que os obtidos por seus homólogos que foram infectados por *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* e *V. penaeicida*, sendo esta última espécie a que reportou os valores mais baixos de sobrevivência. Entretanto, foi observado que os subestágios larvais do camarão que foram infectados com *V. harveyi* ( $10^5$  a  $10^7$  UFC/mL) mostraram resultados de sobrevivência similares a seus homólogos que foram infectados com *V. parahaemolyticus*. Os autores revelaram, portanto, que nos ensaios, os víbrios que se mostraram mais patogênicos foram *V. penaeicida*, *V. harveyi* e *V. parahaemolyticus*.

No presente estudo a espécie de *V. harveyi* foi a única encontrada em todos os estágios de desenvolvimento do camarão nos dois ciclos, esse dado está de acordo com os resultados obtidos por Alvarez *et al.* (2000), que obtiveram 79% de cepas pertencentes ao gênero *Vibrio* em estudo bacteriológico em camarões peneídeos na Venezuela. Segundo os autores, *V. harveyi* foi isolado de todas as fontes e em todos os anos em que durou a investigação (1992-1996). Essa bactéria encontra-se amplamente distribuída em ambientes marinhos, estuarinos, em peixes e camarões marinhos silvestres e cultivados, sadios e/ou enfermos, com potencial de provocar epizootias em populações de camarão cultivadas ou em camarões silvestres submetidos a confinamento. Além de *V. harveyi* que representou 18% dos isolados, foram obtidos *V. fluvialis* tipo I em 1%; *V. alginolyticus* em 0,6%; *V. carchariae* e *V. hollisae* em 0,3% e *V. metschnikovii* em 0,1%.

O isolamento de *V. harveyi* e *V. parahaemolyticus* de amostras de camarão adulto corrobora os resultados descritos por Retamales (2002), que em estudo sobre a comunidade bacteriana da flora intestinal do *L. vannamei* cultivado no México confirmou a presença do gênero *Vibrio*, principalmente *V. harveyi* e *V. parahaemolyticus* no período de 1998 a 1999, relatando surtos de doenças nos camarões no período estudado. O mesmo autor afirma que a comunidade microbiana representa um papel importante nos sistemas de cultivo de peneídeos, principalmente no que concerne a produtividade e ciclagem de nutrientes. Oxley *et al.* (2002) isolaram *V. parahaemolyticus* da flora intestinal do camarão *Penaeus merguensis*. Entretanto, obtiveram com maior frequência *V. gazogenes*.

Gaméz *et al.* (2004) em estudo sobre a ocorrência de víbrios no cultivo do *L. vannamei* em Sonora no México no ano de 2003 revelaram a presença de 6 espécies do gênero em 106 amostras de hepatopâncreas, sendo 30% de *Vibrio fluvialis*, 27% de *V. damsela*, 12,5% de *V. vulnificus*, 12,5% de *V. parahaemolyticus*, 11% de *V. alginolyticus* e 7% de *V. harveyi*. De acordo com os autores, não foram detectados surtos de vibriose em 2003 nas fazendas estudadas. Apesar de não ter sido feito isolamento de *Vibrio* de amostras de hepatopâncreas dos camarões, os resultados apresentados podem ser comparados aos dados de Gaméz *et al.* (2004) quando do isolamento de *V. parahaemolyticus* e *V. harveyi* de camarões sadios durante o ciclo de cultivo.

A elevada incidência de *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* e *V. cholerae* em amostras de água destinadas a aqüicultura e em camarões cultivados pode ser indicativa de ameaça a viabilidade da atividade. Gullian & Rodríguez (2002) afirmam que o

desenvolvimento da indústria camaroneira na última década foi marcado pelo surgimento de restrições na produção, entre as quais, a mais importante é a ocorrência de enfermidades infecciosas, sendo algumas espécies como *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* frequentemente associadas a mortalidades na larvicultura e engorda.

Apesar dos elevados índices de vibrio e diversidade em espécies obtidas nas amostras de água de captação, água do viveiro e camarão nos dois ciclos de cultivo da fazenda localizada no estuário do rio Coreaú (CE), não se pode precisar qual espécie de vibrio é mais nociva, uma vez que a virulência desse gênero bacteriano é muito variável. Entretanto, a presença de cepas patogênicas merece destaque desde que condições desfavoráveis venham a ser desenvolvidas no sistema de cultivo, tornando os camarões mais suscetíveis a microbiota de vibrio numerosa e diversificada observada nesse estudo.

Labrie *et al.* (2003) verificaram a suscetibilidade de camarões juvenis da espécie *L. vannamei* a cepas de *V. parahaemolyticus* quando da exposição dos camarões ao pesticida metil paration. Os autores submeteram os camarões a presença desse pesticida e depois de 4 dias inocularam *V. parahaemolyticus* através de injeções intramusculares. Lesões histológicas típicas de vibriose foram observadas em maior frequência nos camarões expostos ao metil paration. O estudo demonstrou, portanto, que a exposição ao pesticida aumentou a severidade das infecções provocadas pelo *V. parahaemolyticus*.

A ocorrência de *V. parahaemolyticus* na microbiota do camarão adulto dos dois ciclos de cultivo deve ser considerada como um possível risco à saúde pública, uma vez que essa bactéria está associada a surtos de gastroenterites em vários países. Heitmann *et al.* (2005) afirmam que no Chile a espécie *Vibrio parahaemolyticus* foi detectada em três surtos de gastroenterite desde 1998. O surto mais recente ocorreu durante o verão de 2005, afetando mais de 10.000 pessoas. Segundo os autores, os sintomas apresentados pelos indivíduos afetados foram diarreia, náuseas, vômitos, dores abdominais e/ou febre, sendo a cepa O3:K6 predominante nos últimos três surtos.

Não foram realizados testes de Kanagawa para se determinar a virulência das cepas de *V. parahaemolyticus* isoladas no presente estudo, não sendo possível precisar se as mesmas apresentavam perigo para saúde humana. De acordo com Nair & Opazo (2005), a detecção de cepas de *V. parahaemolyticus* virulentas no meio ambiente é dificultada pela predominância de cepas avirulentas. Os autores alertam para a inadequação da contagem total indiferenciada desses víbrios como controle de contaminação de alimentos, uma vez

que surtos epidemiológicos ocorreram nos Estados Unidos apesar do monitoramento indicar que a enumeração de *V. parahaemolyticus* era inferior a permitida pela legislação.

A ocorrência de *V. cholerae* no ambiente de cultivo observado na presente pesquisa está de acordo com Worden *et al.* (2006) que afirmam que essa espécie é endêmica de ambientes aquáticos, entretanto, a sua proliferação e dinâmica nos ambientes marinhos não foram bem elucidadas. Os mesmos autores, em estudo sobre a regulação trófica de *V. cholerae* no ambiente marinho, demonstraram que a cadeia alimentar tem um efeito significativo para o controle da proliferação desse patógeno em águas costeiras.

As demais espécies de vibrio isoladas das amostras de camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento, a saber: *V. damsela*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. fisheri*, *V. costicola*, *V. carchariae* e *V. hollisae*, podem ser indicativas de risco para a saúde dos camarões. Chanratchakool (1995) em estudo sobre patologia em *Penaeus monodon* revelou que a doença conhecida como “coloração vermelha” instalada no cultivo foi acompanhada por uma expressiva presença de vibrios em amostras de hepatopâncreas dos camarões doentes. De acordo com o autor, a “coloração vermelha” e vibrioses são definidas como patologias relacionadas a condições de estresse dos camarões, sendo o comprometimento dos ambientes de cultivo os principais responsáveis pela instalação das condições de estresse, podendo ser seguidas por infecções virais e/ou bacteriológicas.

A diversidade de vibrios observada em todas as amostras analisadas está relacionada, provavelmente, com a presença de nutrientes nos ambientes estudados, além de condições ambientais favoráveis. Alguns autores consideram que a incidência de vibrios pode aumentar em corpos aquáticos que recebem contaminação por descarga industrial ou urbana. Colaço *et al.* (1998) em estudo sobre a ocorrência de *V. cholerae* O1 em ambientes aquáticos no Estado de Pernambuco relataram que a maior incidência do vibrião colérico em águas de rios, canais e de esgoto, representando 86% dos isolados, indicou a contaminação fecal por excretores como a causa preponderante na disseminação da bactéria nos sistemas aquáticos. Entretanto, a correlação entre contaminação de origem fecal e proliferação de vibrios ainda não foi completamente elucidada.

Parasi *et al.* (2004) não obtiveram uma correlação positiva entre a presença de microrganismos de origem fecal e a presença de vibrios patogênicos. Os autores avaliaram a qualidade bacteriológica de 644 amostras de alimentos de origem marinha comercializados em Apulia, sul da Itália e revelaram a presença de *Vibrio* em 278 amostras

(43%), enquanto que apenas 4 e 5% das amostras mostraram níveis de *Escherichia coli* e coliformes fecais, respectivamente acima dos permitidos pela legislação do país.

Outrossim, Mendoza *et al.* (2003) não revelaram relação entre coliformes e vibrios. Em inspeção sobre a qualidade bacteriológica de alimentos de origem marinha em Lima no Peru, os autores obtiveram índices de coliformes fecais variando de 9,1 a >1.100/g e ausência de *V. cholerae* nas 35 amostras de pescados e mariscos analisados.

Vieira *et al.* (2004) obtiveram apenas 10 cepas de *Vibrio* em análise da qualidade bacteriológica de 90 caranguejos comercializados na Avenida Bezerra de Mezenes em Fortaleza (CE). No mesmo estudo foram isoladas enterobactérias das espécies *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter cloacae*.

No presente estudo, 25 cepas foram classificadas como *Vibrio* spp representando 12,2% do total de isolados da pesquisa. Isso se deve a ampla diversidade encontrada para esse gênero bacteriano no meio ambiente e em ambientes de cultivo, e ao emprego de identificação fenotípica das cepas, que utiliza uma série de provas bioquímicas para identificação de uma espécie. Austin *et al.* (1997) relatam que a identificação fenotípica das espécies pertencentes ao gênero *Vibrio* é problemática, a principal razão é a grande variedade de diagnósticos que esse tipo de identificação pode acarretar, como na interpretação das provas de hidrólise da arginina, descarboxilação de lisina e ornitina, produção de indol, utilização de carboidratos e crescimento em diferentes temperaturas. Em resposta a esse problema, a identificação genotípica vem sendo utilizada para diferenciação de vibrios. Nesse sentido, Thompson *et al.* (2004a) afirmam que técnicas como ribotipagem, amplificação aleatória de fragmentos polimórficos (RAPD), amplificação ribossomal, têm facilitado a diferenciação das espécies. Somarny *et al.* (2002) relataram que o emprego de RAPD na diferenciação de espécies patogênicas de vibrio foi eficaz.

Diante do exposto, pode-se observar uma elevada incidência de vibrios nas amostras de água e camarão dos dois ciclos, acompanhada de uma riqueza de espécies considerável para ambientes confinados de cultivo. Apesar da presença de todos os vibrios isolados ser reportada em águas estuarinas e alimentos de origem marinha, as doenças infecciosas no cultivo de peneídeos são instaladas principalmente quando o sistema imunológico dos organismos está comprometido, tornando-os mais suscetíveis a microbiota de vibrio. Outrossim, o isolamento feito de algumas cepas da microbiota acompanhante dos camarões pode representar risco para a saúde humana.

Os resultados referentes aos testes de susceptibilidade a antibióticos realizados com 39 cepas de *Vibrio* (12 cepas de *V. cholerae*, 6 de *V. fluvialis*, 6 de *Vibrio* spp, 5 de *V. harveyi*, 4 de *V. mimicus*, 4 de *V. parahaemolyticus* e 2 de *V. damsela*) oriundas do ambiente e cultivo do camarão estão descritos na tabela 7.

As espécies que apresentaram maior grau de resistência aos antimicrobianos foram: *V. cholerae*, onde 33,33% mostraram-se resistentes a sulfazotrim, 25% com resistência a ampicilina e 33,33% a ceftriaxona. Das cepas de *V. fluvialis*, 16,7% apresentaram resistência a sulfazotrim e 33,33% a ampicilina. Das cepas de *Vibrio* spp, 16,7% revelaram resistência a sulfazotrim e 16,7% a ceftriaxona. Das linhagens de *V. harveyi*, 20% apresentaram resistência a sulfazotrim. A resistência a ampicilina foi observada em *V. mimicus* e *V. parahaemolyticus* na ordem de 50 e 75%, respectivamente.

Foi observada resistência múltipla em 5 cepas de *V. cholerae* não tipado, com 4 cepas resistentes a 2 antibióticos e 1 cepa resistente a 3 antibióticos. Um isolado de *Vibrio* spp apresentou resistência múltipla a 2 antibióticos.

A presença de cepas de *Vibrio* resistentes a antibióticos na aquicultura vem sendo relatada. Segundo Moriarty (1999), nas Filipinas uma enfermidade provocada por vírios em 1996 no cultivo de camarões provocou uma das maiores perdas para a indústria camaroneira no país. Os vírios isolados mostraram-se resistentes a todos os antibióticos testados, incluindo cloranfenicol, furazolidonas, oxitetraciclinas e estreptomicinas.

Álvarez (2000) revelou dados semelhantes aos obtidos no presente estudo quando do estudo microbiológico e sorológico em aquicultura. O autor observou elevada sensibilidade dos isolados de *Vibrio* a ácido oxolínico, cloranfenicol, eritromicina e gentamicina. Todos os isolados de *Vibrio* do presente estudo mostraram-se sensíveis a gentamicina e cloranfenicol. O autor detectou resistência frente ao ácido nalidíxico, estreptomicina, canamicina, novobiocina, penicilina, polimixina B, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol e derivados de sulfa. Na presente pesquisa não foi observada resistência a ácido nalidíxico nem a tetraciclina. Entretanto, 20% das cepas de *V. harveyi* desenvolveram comportamento intermediário frente ao ácido nalidíxico.

Os isolados de *Vibrio* spp das amostras de água e camarão mostraram-se resistentes a sulfazotrim e ceftriaxona, com comportamento intermediário frente à ampicilina. Esses dados não podem ser comparados aos obtidos por Saavedra *et al.* (2004) que revelaram estirpes de *Vibrio* spp isoladas de robalo com resistência de 40% a ampicilina.

**Tabela 7** – Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de 39 cepas de *Vibrio* isoladas de água e de camarão provenientes de uma fazenda de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* situada no estuário do rio Coreaú (CE).

Antib.	Resultado	Cepas (%)						
		<i>Vibrio cholerae</i> (n=12)	<i>Vibrio fluvialis</i> (n=6)	<i>Vibrio spp</i> (n=6)	<i>Vibrio harveyi</i> (n=5)	<i>Vibrio mimicus</i> (n=4)	<i>Vibrio parahaem.</i> (n=4)	<i>Vibrio damsela</i> (n=2)
SUT (25µg)	S	50	66,6	83,3	60	100	100	100
	I	16,7	16,7	0	20	0	0	0
	R	33,3	16,7	16,7	20	0	0	0
AMP (30µg)	S	75	66,7	50	100	50	25	100
	I	0	0	50	0	0	0	0
	R	25	33,3	0	0	50	75	0
CRO (30µg)	S	58,4	83,3	66,6	100	100	100	100
	I	8,3	16,7	16,7	0	0	0	0
	R	33,3	0	16,7	0	0	0	0
IMP (10µg)	S	100	100	100	100	100	75	100
	I	0	0	0	0	0	25	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
NA (30µg)	S	100	100	100	80	100	100	100
	I	0	0	0	20	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
GEN (10µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
CIP (5µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
NIT (300µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
CFO (30µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
TET (30µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0
CLO (30µg)	S	100	100	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0

\* SUT: Sulfazotrim; AMP: Ampicilina; CRO: Ceftriaxona; IPM: Imipenem; NA: Ácido Nalidixico; GEN: Gentamicina; CIP: Ciprofloxacina; NIT: Nitrofurantoína; CFO: Cefoxetina; TET: Tetraciclina; CLO: Cloranfenicol. \* S: Sensível, I: Intermediário; e R: Resistente. \* Antib.: Antibióticos \**Vibrio parahaem.*: *Vibrio parahaemolyticus*.

A sensibilidade das cepas de *V. cholerae* a cloranfenicol observada na presente pesquisa pode ser comparada aos resultados obtidos por Sathiyamurthy *et al.* (1997), que em ensaios sobre resistência a antibióticos de 770 cepas de *V. cholerae* não O1 isoladas de amostras de água estuarinas, sedimento, plâncton e alimentos de origem marinha no sudeste da Índia, observaram sensibilidade de todas as cepas a cefalotin (30 µg), cloranfenicol (30 µg), e polimixina-B (300 µg). Entretanto, as cepas isoladas do ambiente e dos alimentos mostraram-se resistentes a oxitetraciclina, estreptomicina, sulfadiazina e tetraciclina.

Molitoris *et al.* (1985) em estudo sobre suscetibilidade a antimicrobianos de 199 cepas de *V. parahaemolyticus* isoladas de amostras de água e de alimentos de origem marinha da Baía de Jakarta, na Indonésia, obtiveram maior grau de resistência quando comparado aos dados obtidos na presente pesquisa, mostrando resistência a ampicilina (67,3%), gentamicina (2%), tetraciclina (5,7%) e ácido nalidíxico (3%).

A presença de cepas de *Vibrio* resistentes a antibióticos observada no presente estudo pode ser indicativa do uso desses antimicrobianos como controle e prevenção de enfermidades no cultivo dos peneídeos. Esses dados estão de acordo com Moriarty (2003), que afirmam que por toda a Ásia e América Latina, as fazendas de camarão utilizam antibióticos em larga quantidade, incluindo fluoroquinolonas como a sarafloxacin, norfloxacin e enrofloxacin, sendo difícil se determinar o uso total anual, mas uma estimativa conservadora seria numa faixa de 1.000 a 2.000T/ano. Este uso terminará produzindo bactérias com resistência nos dejetos da fazenda que, então, poderão contaminar as águas costeiras, apresentando um impacto potencial para a saúde humana.

De acordo com Sotomayor & Balcázar (2003), a tendência atual é restringir ou reduzir o uso de antibióticos devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana, problemas ecológicos, restrições a importações pela presença de resíduos nos tecidos de camarão e possíveis danos à saúde pública. Em resposta a esse problema, o uso de cepas probióticas na aquicultura vem sendo estudado. Gullian & Rodríguez (2002) em estudo sobre a qualidade imunestimulante de novas bactérias probióticas associadas ao cultivo do *L. vannamei*, demonstraram que algumas bactérias benéficas isoladas da microbiota do hepatopâncreas são competidoras em potencial de cepas patogênicas. Os resultados mostraram uma diminuição da instalação do patógeno no hepatopâncreas, indicando que a natureza probiótica baseia-se na diminuição da instalação do patógeno dentro do hospedeiro, reduzindo dessa forma o risco de enfermidade.

## 5. CONCLUSÃO

O presente estudo sustenta as seguintes conclusões:

1. A elevada incidência de bactérias do gênero *Vibrio* nas amostras de água de captação, água do viveiro e camarão nos diferentes estágios de desenvolvimento nos dois ciclos de cultivo é indicativa de risco em potencial para a viabilidade do cultivo, desde que a imunidade dos organismos fique comprometida quando da instalação de condições ambientais adversas.
2. Não havendo legislação específica limitante para concentrações de víbrios em água destinada a carcinicultura e em camarões cultivados, não se pode precisar o índice de comprometimento do cultivo pela enumeração de víbrios. Entretanto, o isolamento de cepas patogênicas para os camarões e para seres humanos pode indicar risco para a saúde dos peneídeos e para a saúde pública.
3. A grande biodiversidade de *Vibrio* nas águas de cultivo e no camarão parece favorecer o equilíbrio do biosistema.
4. A presença de cepas de *Vibrio* oriundas de amostras de água e de camarão resistentes a ampicilina, sulfazotrim e ceftriaxona pode concorrer para alteração da microbiota autóctone do ambiente de cultivo, podendo representar risco à saúde pública uma vez que a resistência aos antibióticos pode ser transferida para patógenos bacterianos humanos, dificultando alguns tratamentos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. Código de conduta e de práticas de manejo para o desenvolvimento de uma carcinicultura ambiental e socialmente responsável, Recife, 2001.
- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão Marinho. O Agronegócio do Camarão Marinho Cultivado. Revista da ABCC, Recife, 2002.
- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão Marinho. A Carcinicultura Brasileira em 2003. Revista da ABCC, Recife, 2004a.
- ABCC. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão Marinho. Projeto executivo para apoio político ao desenvolvimento do camarão marinho cultivado, Recife, 2004b.
- Abraham, T.J. Antibacterial marine bacterium deter luminous vibriosis in shrimp larvae. NAGA, WorldFish Center Quarterly, v. 27, n. 3-4, 2004.
- Aguirre-Guzmán, G. & Valle, A. F. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. Resent Res. Devl. Microbiology, v. 4, p. 333-348, 2000.
- Aguirre-Guzmán, G.; Vazquez-Juarez, R. & Ascencio, F. Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. Journal of Invertebrate Pathology, v. 78, n. 4, p. 215-219, 2001.
- Aguirre-Guzmán, G.; Vázquez-Juárez, R. & Ascencio, F. Efecto de diferentes especie de *Vibrio* sobre la sobrevivencia larval del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Panorama Acuícola, v. 7, n. 5, p. 18-19, 2002.
- Aguirre-Gúzman, G.; Ruíz, H. M. & Ascencio, F. A review of extracellular virulence product of *Vibrio* species important in diseases of cultivated shrimp. Aquaculture Research, v. 35, n. 15, p. 1395-1404, 2004.

Alam, M. J.; Tomochika, K.; Miyoshi, S. & Shinoda, S. Analysis of seawaters for the recovery of culturable *Vibrio parahaemolyticus* and some other Vibrios. Microbiol. Immunol, v. 45, n. 5, p. 393-397, 2001.

Almeida Filho, E. S.; Valente, A. M.; Stussi, J. S. P.; Oliveira, L. A. T.; Franco, R. M. & Carvalho, J. C. A. P. *Vibrio vulnificus* em pescado, uma revisão. Higiene Alimentar, v. 18, n.116-117, p. 23-28, 2004.

Alterthum, F. Nutrição e Metabolismo Bacterianos. In: Trabulsi, L. R. & Alterthum, F. Microbiologia, 4ª edição – Revista e Atualizada, Atheneu, São Paulo, 2005.

Alvarez, J. D.; Austin, B.; Alvarez, A. M. & Reyes, H. Aislamiento de *Vibrio harveyi* a partir de paguaras (*Chaetodipterus faber*) bajo cultivo en la costa oriental de Venezuela. 1995. Disponível em: <<http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd61/vibrio.html>. Acesso em: 01/07/2004>.

Alvarez, J. D.; Austin, B.; Alvarez, A. M.; Quinter, B. & Reyes, H. Estudio bacteriológico en camarones peneidos silvestres y bajo cultivo en Venezuela. 2000. Disponível em: <<http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/fdivul/fd62/peneid.html>. Acesso em: 17/02/2006>.

Álvarez R. J. Estudios microbiológicos y serológicos em acuicultura. 2000. Disponível em: <<http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/congresos/jornadas/web/jalvarez2.htm>. Acesso em: 08/02/2006>.

Alvarez, R. J. D.; Agurto, C; Obregón, J. & Peroza, L. Detección de *Baculovirus penaei* y de casos de vibriosis em *Litopenaeus vannamei* and *L. stylirostris* en una granja de la costa occidental de Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ, v. XIII, n. 4, p. 255-262, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº12 de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde. Brasil, 2001.

APCC. Microbiologia e segurança microbiológica de alimentos. Livraria Varela. São Paulo, 1997.

Austin, B.; Austin, D. A.; Blanch, A. R.; Cerda, M.; Grimont, P. A. D.; Jofre, J.; Koblavi, S.; Larsen, J. L.; Pedersen, K.; Tiainen, T.; Verdonck, L. & Swings, J. A comparison of methods for the typing of fish-pathogenic *Vibrio* spp. Syst. Appl. Microbiol., v. 20, p. 89-101, 1997.

Barbiere Júnior, R.C. & Ostrensky Neto, A. Camarões Marinhos – Engorda, v. II, Aprenda Fácil, Viçosa, 2002.

Barbieri, E.; Falzano, L.; Fiorentini, C.; Pianetti, A.; Baffone, W.; Fabbri, A.; Matarrese, P.; Casiere, A.; Katouli, M.; Kühn, I.; Möllby, R.; Bruscolini, F. & Donelli, G. Occurrence, diversity, and pathogenicity of halophilic *Vibrio* spp. and non-O1 *Vibrio cholerae* from estuarine waters along the Italian Adriatic Coast. Applied and Environmental Microbiology, v. 65, n. 6, p. 2748-2753, 1999.

Barbosa, H. R. & Torres, B. B. Microbiologia Básica. Atheneu, São Paulo, 1998.

Bennish, M. L. Cholera: pathophysiology, clinical features, and treatment. In: Wachsmuth, I. K.; Blake, P. A. & Olsvik, O. (ed.) *Vibrio cholerae* and Cholera: Molecular to Global Perspectives. ASM Press, Washington, DC, p. 229-255, 1994.

Bier, O. Microbiologia e Imunologia. 24ª edição. Melhoramentos, São Paulo, 1994.

Bik, E. M.; Bunschoten, A. E.; Gouw, R. D. & Mooi, F. R. Genesis of the novel epidemic *Vibrio cholerae* O139 Bengal: evidence for horizontal transfer of genes involved in polysaccharide synthesis. EMBO J., v. 14, p. 209-216, 1995.

Blake, P. A. Historical perspectives on pandemic cholera. In: Wachsmuth, I. K.; Blake, P. A. & Olsvik, O. (ed.) *Vibrio cholerae* and Cholera: Molecular to Global Perspectives. ASM Press, Washington, DC, p. 293-295, 1994.

Borroto, R. J. La ecología de *Vibrio cholerae* serogrupo O1 em ambientes acuáticos. Rev Panam Salud Publica, v. 1, n. 1, p. 3-8, 1997.

Boyd, C. E. & Clay, J. W. Shrimp aquaculture and environment. An adviser to shrimp producers and an environmentalist present a prescription for raising shrimp responsibly. Scientific American, p. 59-65, 1998.

Campos, L. C. *Vibrio cholerae*. In: Trabulsi, L. R. & Alterthum, F. Microbiologia, 4ª edição – Revista e Atualizada, Atheneu, São Paulo, 2005.

Castro-Rosas J. & Escartin E. F. Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces. Journal of Food Protection, v. 65, n. 3, p. 492-498, 2002.

Cavalcanti, L.B.; Correia, E.S. & Cordeiro, E.A. Camarão manual de cultivo de *Macrobrachium rosenbergii* (pitu havaiano – gigante da Malásia). Aquaconsult, Recife, 1986.

CCFH. Codex Committee on Food Hygiene. Discussion paper on risk management strategies for *Vibrio* spp in seafood, 2002.

Cervino, J. M.; Hayes, R. L.; Polson, S. W.; Polson, S. C.; Goreau, T. J.; Martinez, R. J. & Smith, G. W. Relationship of *Vibrio* species infection and elevated temperatures to yellow blotch/band disease in Caribbean corals. Applied Environmental Microbiology, v. 70, n. 11, p. 6855-6864, 2004.

Chanratchakool, P.; Turnbull, J.F.; Funge-Smith, S. & Limsuwan, C. Health management in shrimp ponds. Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries. Kasetsart University Campus. Bangkok, 1995.

Chanratchakool, P. White patch disease of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). AAHRI Newsletter Article, v.4, n. 1, 1995.

Codex Committee on Food Hygiene (CCFH). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Discussion paper on risk management strategies for *Vibrio* spp in seafood. Thirty seventh session, Buenos Aires, 2005.

COEMA. Conselho Estadual do Meio Ambiente. Resolução nº 02 de 27 de março de 2002. Superintendência Estadual do Meio Ambiente. Ceará, 2002.

Colaço, W.; Silva Filho, S.V.; Rodrigues, D.P. & Hofer, E. *Vibrio cholerae* O1 em amostras de ambientes aquáticos e de alimentos analisados no estado de Pernambuco, Brasil. Cad. Saúde Pública, v.14, n. 3, p. 465-471, 1998.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº357 de 17 de março de 2005. Ministério do Meio Ambiente. Brasil, 2005.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº312 de 10 de outubro de 2002. Ministério do Meio Ambiente. Brasil, 2002.

Dall, W.; Hill, B.J.; Rothlisberg, P.C. & Staples, D.J. *Advances in Marine Biology*, v.17. Academic Press, 1999.

Daniels, N. A.; MacKinnon, L.; Bishop, R.; Altekruze, S.; Ray, B.; Hammond, R. M.; Thompson, S.; Wilson S.; Bean, N. H.; Griffin, P. M. & Slutsker, L. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 181, p. 1661-1666, 2000.

Downes, M. P. & Ito, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. APHA, 4th edition, Washington, DC, 2001.

Desmarchelier, P. M. Pathogenic vibrios. In: *Foodborne microorganisms of public health significance*. Sixth Edition. Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch) Food Microbiology Group: New South Wales, Australia, p. 333-358, 2003.

EC. Europe Commission. Opinion of the Scientific Committee on veterinary measures relating to public health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* (in raw and undercooked seafood). Health and Consumer Protection Directorate General, 2001.

Elliot, E. L.; Kaysner, C. A.; Jackson, L. & Tamplin, M.L. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: FDA Bacteriological Analytical Manual. AOAC International Gaithersburg MD, p. 9.01-9.27, 1995.

Elliot, E.L., Kaysner, C.A., Jackson, L. & Tamplin, M.L. *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* spp. Chapter 9. In Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. R.L. Merker (Ed.). AOAC International, Gaithersburg, MD, 1998.

Elliot, E. L.; Kaysner, C. A.; Jackson, L. & Tamplin, M. L. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. In: Food and Drug Administration – FDA, Bacteriological Analytical Manual. FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition – CFSAN, 2001.

Escobedo-Bonilla, C. M. Susceptibilidad a un inóculo viral del síndrome de Taura en lotes de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* Boone 1931) y camarón azul (*Litopenaeus stylirostris* Stimpson 1874) y su evaluación por histopatología y hibridación in situ. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Mazatlán, Sinaloa, México, año de obtención: 1999.

Esteve, M. & Herrera, F. C. Hepatopancreatic alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1939) (Crustacea: Decapoda: *Penaeidae*) experimentally infected with a *Vibrio alginolyticus* strain. J Invertebr Pathol, v. 76, n. 1, p. 1-5, 2000.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Consultas de expertos *ad hoc* sobre la evaluación de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos. Identificación de peligros, evaluación de exposición y

caracterización de peligros de *Campylobacter* spp en pollos para asar y *Vibrio* spp. en mariscos. Oficina Central de la OMS, Ginebra, Suiza, 2001.

FDA. U.S. Food & Drug Administration. Center for Food Safety & Applied Nutrition. Fish and fisheries products hazards and controls guidance, third edition, Appendix 4: Bacterial Pathogen Growth and Inactivation, 2001.

Gámez, C. I.; Galavíz, J. R. G.; Silva, L. G.; Garza, Z. J. M. & Velarde, M. S. T. Detección y prevalencia de *Vibrio* spp em cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* en Sonora durante o ciclo 2003. Revista Salud Pública y Nutrición. Edición especial, n. 6, 2004.

Garthright, W.E. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. In: Food And Drug Administration – FDA. 2001. Bacteriological analytical manual on line. FDA/CFSAN. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>. Acesso em: 15/09/2004>.

Germano, P. M. L. & Germano M. I. S. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. Livraria Varela, São Paulo, 2001.

Goarant, C.; Régnier, F.; Brizard, R. & Marteau, A-L. Acquisition of susceptibility to *Vibrio penaeicida* in *Penaeus stylirostris* postlarvae and juveniles. Aquaculture, v. 169, n.3-4, p. 291-296, 1998.

Goarant, C.; Merien, F.; Berthe, F.; Mermoud, I. & Perolat, P. Arbitrarily primed PCR to type *Vibrio* spp pathogenic for shrimp. Applied and Environmental Microbiology, v. 65, n. 3, p. 1145-1151, 1999.

Goarant C.; Herlin J.; Brizard R.; Marteau AL.; Martin C. & Martin B. Toxic factors of *Vibrio* strains pathogenic to shrimp. Dis Aquat Organ. v. 40, n. 2, p. 101-107, 2000.

Gonçalves, E. G. R.; Lopes, M. J. S.; Oliveira, E. G. & Hofer, E. Avaliação de *Vibrio cholerae* com o zooplâncton de águas estuárias da Baía de São Marcos/ São Luís – MA,

Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 37, n. 4, p. 318-323, 2004.

Gonçalves, E.G.R.; Sabroza, P.C. & Hofer, E. Prevalência de infecção por *Vibrio cholerae* O1 no município de Manacapuru, Amazonas, Brasil (1992). Cad. Saúde Pública, v.12, n. 2, p. 319-325, 1998.

Gopal, S.; Otta, S. K.; Kumar, S.; Karunasagar, I.; Nishibuchi, M. & Karunasagar, I. The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. International Journal of Food Microbiology, v. 102, n. 2, p. 151-159, 2005.

Gullian, M. & Rodríguez, J. Estudio de las cualidades inmunoestimulantes de nuevas bacterias probióticas asociadas al cultivo de *Litopenaeus vannamei*. Manejo de enfermedades em camaronês. Contribuciones del CENAIM durante el VI Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, 2002.

Guimarães, J. I.; Cunha, P. E. V.; Silva, E. A. J.; Almeida, M. A. M.; Rego, F. L.; A. Júnior, L. B.; Silva, M.; Oliveira, A. R. S. B. & Albuquerque, L. F. C. Caracterização biofísicoquímica dos efluentes e afluentes das fazendas de cultivo de camarões do Rio Grande do Norte, 2004. Disponível em:<http://www.idema.rn.gov.br/arquivos%5C7%5CProduto%20Final%5CSum%C3%A1rioRelat%C3%B3rio.doc>. Acesso em: 08/02/2006.

Harwood, V. J.; Gandhi, J. P. & Wright, A. C. Methods for isolation and confirmation of *Vibrio vulnificus* from oysters and environmental sources: a review. J. Microbiol. Methods, v. 59, n. 3, p. 301-316, 2004.

Hayat Mahmud, Z.; Kassu, A.; Mohammad, A.; Yamato, M.; Bhuiyan, N. A.; Balakrish Nair, G. & Ota, F. Isolation and molecular characterization of toxigenic *Vibrio parahaemolyticus* from the Kii Channel Japan. Microbiol. Res., v. 161, n. 1, p. 25-37, 2006.

- Hedreyda, C. T. & Conejero, M.J.U. Isolation of partial *toxR* gene of *Vibrio harveyi* and design of *toxR*-targeted PCR primers for species detection. *Applied Microbiology*, v. 95, p. 602-611, 2003.
- Heitmann G., I; Jofré M., L.; Hormázabal O., J. C.; Olea N., A.; Vallebuona S., C. & Valdés H., C. Revisión y recomendaciones para el manejo de diarrea por *Vibrio parahaemolyticus*. Review and guidelines for treatment of diarrhea caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Chil. Infect.*, v. 22, n. 2, p. 131-140, 2005.
- Hernández, J. Z. Manual purina de bioseguridade no cultivo de camarões marinhos. São Paulo, 2000.
- Hervio-Heath, D.; Colwell, R. R.; Derrien, A.; Robert-Pillot, A.; Fournier, J. M. & Pommepuy, M. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *Journal of Applied Microbiology*, v. 92, n. 6, p. 1123-1135, 2002.
- Hoa, T. T. T.; Oanh, D. T. H. & Phuong, N. T. Characterization and Pathogenicity of *Vibrio* Bacteria Isolated from Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) Hatcheries: Part 1: Isolation and Identification of *Vibrio* spp from Larval Stages. Proceedings of the 2000 annual workshop of JIRCAS Mekong delta Project, 2000.
- Hofer, E.; Quintaes, B. R.; Reis, E. M. F.; Rodrigues, D. P.; Seki, L. M.; Feitosa, I. S.; Ribeiro, L. H. F. F. & Ferreira, M. R. Emergência da múltipla resistência a antimicrobianos em *Vibrio cholerae* isolados de pacientes com gastroenterite no Ceará, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, n. 2, p. 151-156, 1999.
- Honda, T.; Lapuebla, M. A. A; Ni. Y. & Yamamoto, K. Characterization of a new thermostable direct haemolysin produced by Kanagawa-phenomenon negative clinical isolate of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Gen. Microb.* v. 137, n. 2, p. 253-259, 1991.

Horré, R.; Marklein, G. & Schaal, K. P. *Vibrio vulnificus*, an emerging human pathogen. New York. Zentralblatt Für Bakteriologie, Jena, v. 284, p. 273-284, 1996.

Huner, J.V. & Brown, E. Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States. An avi Book, New York, 1985.

Hung, D. T.; Zhu, J.; Sturtevant, D. & Mekalanos, J. J. Bile acids stimulate biofilm formation in *Vibrio cholerae*. Molecular Microbiology, v. 59, n. 1, p. 193-201, 2006.

Huss, H.H.; Ababouch L. & Gram, L. Assessment and management of seafood safety and quality. Fisheries technical paper N°44. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO), Rome, 2004.

Jiang, S. C. & Fu, W. Seasonal abundance and distribution of *Vibrio cholerae* in coastal waters quantified by a 16S-23S intergenic spacer probe. Microbial Ecology, v. 42, n. 4, 2001.

Kaper, J. B.; Morris J. G. & Levine M. M. Cholera. Clin. Microbiol. Rev., v.8, p.48-86, 1995.

Karunasagar, O. & Karunasagar. Bacteriological study of shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius, hatcheries in India. Journal of Applied Ichthyology, v. 17, p. 59, 2001.

Kaspar, C. W. & Tamplin, M. L. Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. Applied Environmental Microbiology, v. 59, n. 8, p. 2425-2429, 1993.

Kaysner, C. A. & DePaola, A. Jr. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and Other *Vibrio* spp. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 9. Substantially rewritten and revised May 2004. In: Bacteriological Analytical Manual Online. Chapter 9, Vibrio, 2004. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html#authors>>. Acesso em 10/01/2006.

- Kaysner, C.A. *Vibrio* species. In: Lund, B.M., T.C. Baird-Parker & Gould, G.W. (eds) The Microbiological Safety and Quality of Foods. Aspen Publishers Inc., Gaithersberg, Maryland, USA, p. 1336-1362, 2000.
- Koo, J.; Marshall, D. L. & DePaola, A. Impact of acid on survival of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio vulnificus* phage. Journal of Food Protection, v. 63, n. 8, p. 1049–1052, 2000.
- Labrie L.; Roque, A.; Gomez-Gil, B. & Turnbull, J. F. Effect of methyl parathion on the susceptibility of shrimp *Litopenaeus vannamei* to experimental vibrioses. Dis. Aquat. Organ., v. 57, n. 3, p. 265-270. 2003.
- Lake, R.; Hudson, A. & Cressey, P. Risk profile: *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. Institute of Environmental Science & Research Limited, 2003.
- Lightner, D. V. Diseases of penaeid shrimp, p.393-486, in McVey, J. P. (ed.), Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture, CRC Press, Boca Ráton, 1996.
- Lightner, D. V. Disease of culture penaeid shrimp. In: Handbook of Mariculture Crustacean Aquaculture, CRC Press, Boca Ráton, 1993.
- Lima, F.C. Víbrios marinhos II. Víbrios não coléricos. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 11, n. 49, p. 8-13, 1997.
- Lima, A.S., Menezes, F.G.R., Aragão, J.S. & Vieira, R.H.S.F. *Vibrio* spp em amostras de camarões, solo e águas de fazendas de camarão nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Anais do IX Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental – ENAMA, 2004.
- Macían, M. C.; Rosa Aznar, C. R. A.; Garay, E. & Pujalte, M. J. Identification of *Vibrio* spp (other than *V. vulnificus*) recovered on CPC agar from marine natural samples. Internatl. Microbiol., n. 3, p. 51-53, 2000.

Madrid, R. M. A crise econômica da carcinicultura. *Panorama da Aqüicultura*, v. 15, n. 90, p. 22-29, 2005.

Maia, E. P. & Nunes, A. J. P. Cultivo de *Farfantepenaeus subtilis* resultados das performances de engorda. *Panorama da Aqüicultura*, v. 13, n. 79, p. 36-41, 2003.

Maldonado, M.; Rodríguez, J & Blas, I. El camarón de cultivo frente al WSSV, su principal patógeno. *Revista Aquatic*, n. 21, p. 78-81, 2004.

Malpartida, J.; Vinatea, L.; Seiffert, W. & Beltrame, E. Qualidade de solo pode prevenir enfermidades. *Panorama da Aqüicultura*, v. 14, n. 86, p. 53-56, 2004.

Matté, G. R; Matté, M. H.; Rivera, I. G. & Martins, M. P. Distribution of potentially pathogenic vibrios in oysters from a tropical region. *Journal of Food Protection*, v. 57, n. 10, p. 870-873, 1994.

Maugeri, T. L.; Caccamo, D. & Gugliandolo, C. Potentially pathogenic vibrios in brackish waters and mussels. *Journal of Applied Microbiology*, v. 89, p. 261, 2000.

Mendes, E. S.; Mendes, P. P.; Góes, L. M. N. B.; Bezerra, S. S. & Vieira, K. P. B. A. Os vibrios na carcinicultura. *Panorama da Aqüicultura*, v. 15, n. 91, 2005.

*Mendoza, M. T. C.; Salva, P. R.; Gonzales, C. S. & Galdós, M. E. A. Evaluación microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla – Peru. Rev. Cubana Salud Pública, v. 29, n. 2, p. 121-123, 2003.*

Menezes, F. G. R. Diversidade de *Vibrio* spp em estuários no estado do Ceará associada à atividade de carcinicultura. Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Ciências Marinhas Tropicais. Universidade Federal do Ceará, ano de obtenção: 2005.

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.

Morais, L. C. L. Estudo para o cultivo, em gaiolas flutuantes, de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931 (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) em Guarapuá, Cairu-BA. Monografia de Graduação do Curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal da Bahia, ano de obtenção: 2002.

Morales, J.C. *Aquicultura marina animal*. Ediciones Mundi-Prensa. Madri, 1982.

Moriarty, D. J. W. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, v. 151, p. 333 – 349, 1997.

Moriarty, D. J. W. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. *Microbial interactions in aquaculture. Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*. Bell, C.R.; Brylinsky, M. & Johnson-Green, P. (eds), Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada, 1999.

Moriarty, D. J. W. Os perigos do uso de antibióticos na aquacultura. 2003. Disponível em: <<http://www.aqualider.com.br/article.php>>. Acesso em: 08/02/2006.

Murakami, K.; Fuse, H.; Takimura, O.; Kamimura, K. & Yamaoka, Y. Phylogenetic analysis of marine environmental strains of *Vibrio* that produce aerobactin. *Journal of Marine Biotechnology*, v. 6, n. 2, p. 76-79, 1998.

Murray, P. R.; Baron, E. J.; Pfaller, M. A.; Tenover, F. C. & Tenover, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th edition, American Society for Microbiology, 1999.

Nair, G. B. & Opazo, J. C. H.. The *Vibrio parahaemolyticus* pandemic. *Rev. Chil. Infect.*, v. 22, n. 2, p. 125-130, 2005.

Nascimento, S. M. M.; Vieira, R. H. S. F.; Theophilo, G. N. D.; Rodrigues, D. P. & Vieira, G. H. F. *Vibrio vulnificus* as a health hazard from shrimp consumers. Inst. Med. Trop., v. 43, n. 5, p. 263-266, 2001.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobiol. Disk Susceptibility Tests. Approved Standards Vilanova. 18 M100-58, 1988.

Nogueira, J.M.R.; Rodrigues, D.P. & Hofer, E. Viabilidade de *Vibrio cholerae* O1 em diferentes tipos de água em condições experimentais. Cad. Saúde Pública, v. 18, n. 5, p. 1339-1345, 2002.

Nunes, A. J. P. O cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em águas oligohalinas. Panorama da Aqüicultura, 2001.

Nunes, A. J. P & Martins, P. C. Avaliando o estado de saúde de camarões marinhos na engorda. Panorama da Aqüicultura, v. 12, n. 72, p. 23-33, 2002.

OPS. Organização Panamericana de Saúde. Risco de transmissão da cólera por alimentos, 1993.

Oxley, A. P. A.; Shipton, W.; Owens L. & McKay, D. Bacterial flora from the gut of the wild and cultured banana prawn, *Penaeus merguensis*. Journal of Applied Microbiology, v. 93, n. 2, p. 214-223, 2002.

Panicker, G.; Call, D. R.; Krug, M. J. & Bej, A. K. Deteccion of pathogenic species in shellfish by using multiplex PCR and DNA microarray. Applied and Environmental Microbiology, v. 70, p. 7436-7444, 2004.

Parisi, A.; Normanno, G.; Addante, N.; Dambrosio, A.; Montagna, C.O.; Quaglia, N.C.; Celano, G.V. & Chiocco, D. Market survey of *Vibrio* spp. and other microorganisms in Italian shellfish. Journal of Food Protection, v. 67, n. 10, p. 2284-2287, 2004.

Prayitno, S. B. & Latchford, J. W. Experimental infection of crustaceans with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*. Effect of salinity and pH on infectiosity. *Aquaculture*, v. 132, p.105-112,1995.

Pereira, A. M. L.; Legat, A. P.; Legat, J. F. A. & Castro, P. F. Biossegurança em fazendas de camarão. *Revista da ABCC*, ano 6, n.1, 2004a.

Pereira, A. M. L & Santos, M. L. Relatório do treinamento em patologia de camarões marinhos, realizado no Instituto Tecnológico de Sonora, Obregón – México, Parnaíba, 2003.

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

Pfeffer, C. S.; Hite, M. F. & Oliver, J. D. Ecology of *Vibrio vulnificus* in estuarine waters of Eastern North Carolina. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 6, p. 3526-3531, 2003.

Randa, M. A.; Polz, M. F. & Lim, F. Effects of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 9, p. 5469-5476, 2004.

Retamales, R. Bacterial community composition in a semi-intensive shrimp culture of *L. vannamei* during El Niño 1997-98 and La Niña 1999. *Investigaciones Marinas*, v. 30, n.1, 2002.

Riquelme, C. E. & Avendaño-Herrera, R. E. Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 76, p. 725-736, 2000.

Rodrigues, S.M.A.; Gonçalves, E.G.R.; 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.

Sá, T.D. Projeto de carcinicultura Salina Nova Vida Beberibe/CE. Ceará Aquacultura Ltda. Estudo de Impacto Ambiental (EIA). Geoconsult Consultoria, Geologia & Meio Ambiente, v. I, tomo A, Fortaleza, 2003.

Saavedra, M.J.; Brito, R.D.; Sousa, M.; Alves, A. & Rema, P. Isolation of *Pasteurella* spp. and *Vibrio* spp in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): susceptibility to different antibiotic groups. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 56, n. 2, p. 277-279, 2004.

Sathiyamurthy, K.; Purushothaman, A. & Ramaiyan, V. Antibiotic-resistant *Vibrio cholerae* in Parangipettai coastal environs, South East India. Microb Drug Resist., v. 3, n. 3, p. 267-270, 1997.

Serra, C. L. M.; Cavalcante, P. R.; Alves, L. M. C.; Nascimento, A. R. & Diniz, S. C. C. S. Avaliação de parâmetros físico-químicos e pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* em águas do estuário do rio Anil (São Luís, Estado do Maranhão), Acta Scientiarum Biological Sciences, v. 25, n. 2, p. 261-266, 2003.

Soares, J.B.; Cassimiro, A.R.S. & Albuquerque, L.M.B. Microbiologia básica, 2ª edição, EUFC, Fortaleza, 1991.

Somarny, W. M. Z.; Mariana, N. S.; Neela, V.; Rozita, R. & Raha, R. J. Differentiation of pathogenic *Vibrio* species by RAPD. Med. Sci., v. 2, n. 4, p. 165-169, 2002.

Sotomayor, M. A. & Balcázar, J. L. Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas probióticas. Revista Aquatic, n. 19, p. 9-15, 2003.

- Suthienkul, O.; Ishibashi, M.; Iida, T., Nettip, N.; Supavej, S.; Eampokalap, B.; Mankino, M. & Honda, T. Urease production correlates with the possession of the TRH gene in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in Thailand. *J. Infect. Dis.*, v. 172, p. 1405-1408, 1996.
- Tantillo, G. M.; Fontanarosa, M.; Di Pinto, A. & Musti, M. Updated perspectives on emerging vibrios associated with human infections. *Lett. Appl. Microbiol.*, v. 39, p. 117-126, 2004.
- Téllez, S. J.; Oliva, M.; Ramírez de León, J. A. & Vázquez, M. Evaluación de la calidad microbiológica del ostión de “La Laguna Madre” de Tamaulipas (México). *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 2, n. 3, p. 152-157, 1999.
- Thompson, F. L.; Iida, T. & Swings, J. Biodiversity of vibrios. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 68, n. 3, p. 403-431, 2004a.
- Thompson, J. R.; Randa, M. A.; Marcelino, L. A.; Tomita-Mitchell, A.; Lim, E. & Polz, M. F. Diversity and dynamics of a North Atlantic coastal *Vibrio* community. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 7, p. 4103-4110, 2004b.
- Thompson, F. L.; Thompson, C. C.; Vicente, A. C. P.; Theophilo, G. N. D; Hofer, E. & Swings, J. Genomic diversity of clinical and environmental *Vibrio cholerae* strains isolated in Brazil between 1991 and 2001 as revealed by fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol.*, v. 41, n. 5, p. 1946–1950, 2003.
- Tobey, J.; Clay, J. & Vergne, P. Impactos económicos, ambientales y sociales del cultivo de camarón em latinoamérica. Centro de Recursos Costeros, Universidad de Rhode Island, 1998.
- Trabulsi, L.R.; Alterthum, F; Gompertz, O.F. & Candeias, J.A.N. *Microbiologia*, 3ª edição, Editora Atheneu, São Paulo, 1999.

- Trabulsi, L.R. & Alterthum, F. Microbiologia, 4ª edição, Editora Atheneu, São Paulo, 2004.
- Twedt, R. M. Recovery of *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic vibrios, p. 1-8, in Read Jr, R. B. (ed.), Bacteriological Analytical Manual. Division of Microbiology, Center for Food and Drug Administration, Arlington, 1984.
- Valença, A. R. & Mendes, G. N. Cultivo de *Litopenaeus vannamei*: Água doce ou oligohalina? Panorama da Aqüicultura, v. 13, n. 78, 2003.
- Vandenbergh, J.; Verdonck, L.; Robles-Arozarena, R.; Rivera, G.; Bolland A.; Balladares, M.; Gomes-Gil, B.; Calderon, J.; Sorgeloos, P. & Swings, J. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock, and hatchery probionts. Applied and Environmental Microbiology, v. 65, n. 6, p. 2592-2597, 1999.
- Vaseeharan, B. & Ramasamy, P. Abundance of potentially pathogenic microorganisms in *Penaeus monodon* larvae rearing systems in India. Microbiology Research, v. 158, p. 299–308, 2003.
- Vieira, R. H. F.; Gesteira, T. C. V.; Marques, L. C.; Martins, P. C. C.; Monteiro, C. M. & Carvalho, R. L. *Vibrio* spp e suas implicações sobre larviculturas de camarões marinhos. Arquivos de Ciências do Mar, v. 33, p. 107 – 112, 2000.
- Vieira, R.H.S.F. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática, Livraria Varela, São Paulo, 2004.
- Vieira, R. H. S. F.; Lima, E. A.; Sousa, D. B. R.; Reis, E. F.; Costa, R. G. & Rodrigues, D. P. *Vibrio* spp. and *Salmonella* spp., presence and susceptibility in crabs *Ucides cordatus*. Rev. Inst. Med. Trop., v. 46, n. 4, p. 179-182, 2004.
- Wong, H-C; Chen, M-C; Liu S-H & Liu, D.P. Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asia countries. International Journal of Food Microbiology, v. 52, n. 3, p. 181-188, 1999.

Wong, H-C.; Liu, S-H. & Chen, M-Y. Virulence and stress susceptibility of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus* isolated from samples from Taiwan and the United States. *Journal of Food Protection*, v. 68, n. 12, p. 2533-2540, 2005.

Wong, H-C.; Ting, S.H. & Shieh, W.R. Incidence of toxigenic Vibrios in foods available in Taiwan. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 73, p. 197 – 202, 1992.

Worden, A. Z.; Seidel, M.; Smriga, S.; Wick, A.; Malfatti, F.; Bartlett, D. & Azam, F. Trophic regulation of *Vibrio cholerae* in coastal marine waters. *Environmental Microbiology*, v. 8, n. 1, p. 21-29, 2006.

Yano, Y.; Yokoyama, M.; Satomi, M.; Oikawa, H. & Chen, S-S. Occurrence of *Vibrio vulnificus* in fish and shellfish available from markets in china. *Journal of Food Protection*, v. 67, n. 8, p. 1617-1623, 2004.

Yeh, T-S; Liu C-H & Chen, J-C. Effect of copper sulfate on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 17, p. 437-446, 2004.

Zakariah, Z. M. The implementation of hazard analysis and critical control point (HACCP) by the seafood industry in Malaysia. *Maritime Institute of Malaysia*, 2003.

## ANEXOS

### ANEXO A – Preparação de reagentes, salina e meios de cultura.

#### ▪ REAGENTES

Os reagentes de grau analítico foram preparados conforme detalhamento em Soares *et al.* (1991) e Vieira (2004).

#### - Cristal Violeta

Suspensão de 2g em 20mL de álcool etílico a 95% - Solução A

Suspensão de 0,8g de oxalato de amônio em 80mL de água destilada – Solução B

As duas soluções, preparadas separadamente, foram misturadas com estocagem em recipiente escuro.

#### - Lugol

Suspensão de 1g de iodo cristalizado e 2g de iodeto de potássio em 300mL de água destilada. Estocagem em recipiente escuro.

#### - Safranina

Suspensão de 2,5g safranina em 100mL de etanol a 95%. Desta solução foram tomados 10mL e dissolvidos em 100mL de água destilada. Estocagem em recipiente escuro.

#### - Solução de Fosfato Monossódico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 1M, pH 7,0

Suspensão de 6,9g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  em 45mL de água destilada com adição 3mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 30%. Ajustou-se o pH para 7,0 e o volume foi completado para 50mL com água destilada. Armazenagem a 4°C.

- **Solução Tampão de ONPG 0,0133M**

Suspensão de 80mg de ONPG em 15mL de água destilada a 37°C com adição de 5mL da solução de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. A solução fica incolor. Armazenagem a 4°C. Antes de usar, a solução foi aquecida a 37°C em volume suficiente para o número dos testes, não sendo reutilizada para outros testes.

- **Reagente de oxidase**

Suspensão de 0,1g de N, N, N',N' tetrametil-p-fenilenodiamina em 10mL de água destilada esterilizada. O reagente foi preparado no mesmo dia do seu uso, acondicionado em vidro escuro, e estocado a 4°C até o momento do uso.

- **McFarland 0,5**

Foram adicionados 0,5mL de cloreto de bário (BaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O) 48mM em 99,5mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,36N. Estocagem em vidro escuro.

▪ **SALINA a 0,85%**

Suspensão de 1,36g de NaCl em 160mL de água destilada. Distribuição de 9mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos. Suspensão de 1,91g de NaCl em 225mL de água destilada. Distribuição em erlenmeyer. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

▪ **MEIOS DE CULTURA**

- **Água Peptonada Alcalina (APA) 1% com 1% de NaCl**

Suspensão de 20,0g de peptona, 20g de NaCl em 2 litros de água destilada. O pH foi ajustado para 8,5 com utilização de uma solução de hidróxido de sódio. Distribuição de 10mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

- **Ágar Tiosulfato-Citrato-Bile-Sacarose (TCBS)**

Suspensão de 89g em 1 litro de água destilada. O meio foi aquecido até ser dissolvido e distribuído 15mL por placa de Petri estéril e seca.

- **Ágar Triptona Soja (TSA) com 1% de NaCl**

Suspensão de 12g de TSA e 3g de NaCl em 300mL de água destilada. O meio foi aquecido até a sua dissolução. Distribuição de 5mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos. Após a retirada dos tubos da autoclave os mesmos foram inclinados.

- **Caldo Triptona Soja (TSB) com 1% de NaCl**

Suspensão de 9g de TSB e 3g de NaCl em 300mL de água destilada. Distribuição de 5mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

- **Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) com 1% de NaCl**

Suspensão de 19,5g de TSI e 3g de NaCl em 300mL de água destilada. O meio foi aquecido até a sua dissolução. Distribuição de 5mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos. Após a retirada da autoclave, os tubos foram inclinados.

- **Meio Basal para Carboidratos**

Suspensão de 0,04g de púrpura de bromocresol, 10g de peptona, 3g de extrato de carne e 10g de cloreto de sódio em 1 litro de água destilada. O pH foi ajustado para 8,5 com utilização de uma solução de hidróxido de sódio. Para cada litro de meio basal foram acrescentados 5g dos seguintes carboidratos: manose, lactose, arabionose, sacarose e glicose. Esterilização por autoclavação a 121°C/15 minutos. Distribuição de 3mL por tubo de ensaio com adição de 1mL de óleo mineral esterilizado.

- **Meio Basal para Aminoácidos**

Suspensão de 0,02g de púrpura de bromocresol, 5g de peptona, 3g de extrato de levedura, 10g de cloreto de sódio e 1g de glicose em 1 litro de água destilada. O pH foi ajustado para 8,5 com utilização de uma solução de hidróxido de sódio. Para cada litro de meio basal foi acrescentado 1,25g dos seguintes aminoácidos arginina, lisina e ornitina. Distribuição de 3mL por tubo de ensaio com adição de 1mL de óleo mineral esterilizado. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

- **Ágar Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM) com 1% de NaCl**

Suspensão de 10,8g de SIM e 3g de NaCl em 300mL de água destilada. O meio foi aquecido até a sua dissolução. Distribuição de 3mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

- **Ágar Muller-Hinton com 1% de NaCl**

Suspensão de 28,5g de Muller-Hinton e 7,5g de NaCl em 750mL de água destilada. O meio foi aquecido até a sua dissolução. Autoclavação a 121°C por 15 minutos. Distribuição de 15mL por placas de Petri estéril.

- **Caldo MRVP com 1% de NaCl**

Suspensão de 5,1g de MRVP e 3g de NaCl em 300mL de água destilada. Distribuição de 3mL nos tubos de ensaio. Autoclavação a 121°C por 15 minutos.

**ANEXO B** – Quadro com valores do Número Mais Provável (NMP) e limites de confiança de 95% para série de três tubos com inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001g.

Tubos Positivos			NMP/g	Lim. Confiança		Tubos Positivos			NMP/g	Lim. Confiança	
0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	<3,0	--	9,5	2	2	0	21	4,5	42
0	0	1	3,0	0,15	9,6	2	2	1	28	8,7	94
0	1	0	3,0	0,15	11	2	2	2	35	8,7	94
0	1	1	6,1	1,2	18	2	3	0	29	8,7	94
0	2	0	6,2	1,2	18	2	3	1	36	8,7	94
0	3	0	9,4	3,6	38	3	0	0	23	4,6	94
1	0	0	3,6	0,17	18	3	0	1	38	8,7	110
1	0	1	7,2	1,3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3,6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7,4	1,3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3,6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3,6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4,5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4,5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9,2	1,4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3,6	42	3	2	3	290	90	1.000
2	0	2	20	4,5	42	3	3	0	240	42	1.000
2	1	0	15	3,7	42	3	3	1	460	90	2.000
2	1	1	20	4,5	42	3	3	2	1100	180	4.100
2	1	2	27	8,7	94	3	3	3	>1100	420	--

Fonte: Adaptado do “Bacteriological Analytical Manual online”. 2001. Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>.

**ANEXO C** – Comportamento fenotípico das 205 cepas de *Vibrio* isoladas das amostras de água de captação, água do viveiro e camarão dos dois ciclos.

Isolados das amostras de água de captação do Ciclo 1 (n=36).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
1	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+
2	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
3	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
4	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
5	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
6	<i>Vibrio spp</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
7	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
8	<i>V. mimicus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
9	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
10	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
11	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
12	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
13	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
14	<i>Vibrio spp</i>	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
15	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
16	<i>V. splendidus</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
17	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
18	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
19	<i>V. splendidus</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
20	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
21	<i>V. hollisae</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
22	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
23	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
24	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+
25	<i>V. splendidus</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
26	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
27	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
28	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
29	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
30	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
31	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
32	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
33	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
34	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
35	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
36	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+

Continuação. Isolados das amostras de água do viveiro do Ciclo 1 (n=39).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
37	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
38	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
39	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
40	<i>V. cincinnatiensis</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
41	<i>V. furnissi</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
42	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
43	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
44	<i>V. costicola</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
45	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
46	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
47	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
48	<i>V. mimicus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
49	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
50	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
51	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
52	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
53	<i>V. costicola</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+
54	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
55	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
56	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
57	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
58	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
59	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
60	<i>V. ordalli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
61	<i>V. ordalli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
62	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
63	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
64	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
65	<i>V.parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
66	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
67	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
68	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
69	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
70	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
71	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
72	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
73	<i>V. harveyi</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
74	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
75	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+

Continuação. Isolados das amostras de camarão do Ciclo 1 (n=41).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
76	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
77	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
78	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
79	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
80	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
81	<i>V. fisheri</i>	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
82	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
83	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
84	<i>V. costicola</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+
85	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
86	<i>V. mimicus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
87	<i>V. harveyi</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
88	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
89	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
90	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
91	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
92	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
93	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
94	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
95	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
96	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
97	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
98	<i>Vibrio</i> spp	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
99	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
100	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
101	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
102	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
103	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
104	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
105	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
106	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
107	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
108	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
109	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
110	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
111	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
112	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
113	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
114	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
115	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
116	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+

Continuação. Isolados das amostras de água de captação do Ciclo 2 (n=26).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
117	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
118	<i>V. hollisae</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
119	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
120	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
121	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
122	<i>V. vulnificus</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
123	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
124	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
125	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
126	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
127	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
128	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
129	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+
130	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-
131	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
132	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
133	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
134	<i>V. cincinnatiensis</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
135	<i>V. metschnikovii</i>	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
136	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
137	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
138	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
139	<i>V. harveyi</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
140	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
141	<i>V. furnissi</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
142	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

Continuação. Isolados das amostras de água do viveiro do Ciclo 2 (n=28).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
143	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
144	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
145	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
146	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
147	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
148	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
149	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
150	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
151	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
152	<i>V. mimicus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
153	<i>V. cincinnatiensis</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
154	<i>V. mimicus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
155	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
156	<i>V. harveyi</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
157	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
158	<i>V. hollisae</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
159	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
160	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
161	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
162	<i>Vibrio spp</i>	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
163	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
164	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
165	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
166	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
167	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
168	<i>Vibrio spp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
169	<i>V. carchariae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
170	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+

Continuação. Isolados das amostras de camarão do Ciclo 2 (n=35).

Cepas	Espécie	Oxidase	Sacarose	Lactose	Glicose	Arabinose	Manose	Arginina	Lisina	Ornitina	0% de NaCl	3% de NaCl	6% de NaCl	8% de NaCl	10% de NaCl	ONPG	VP	Indol
171	<i>Vibrio</i> spp	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
172	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
173	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
174	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
175	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
176	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
177	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
178	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
179	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
180	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
181	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+
182	<i>Vibrio</i> spp	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
183	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
184	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
185	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
186	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
187	<i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
188	<i>Vibrio</i> spp	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
189	<i>V. fluvialis</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
190	<i>V. furnissi</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
191	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
192	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
193	<i>Vibrio</i> spp	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
194	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
195	<i>V. hollisae</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
196	<i>V. anguillarum</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
197	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
198	<i>V. harveyi</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
199	<i>V. damsela</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
200	<i>Vibrio</i> spp	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
201	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
202	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
203	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
204	<i>V. harveyi</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
205	<i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+