

LÍLIAN SAUER ALBERTINI

**ECOLOGIA, FATORES ASSOCIADOS À VIRULÊNCIA E DIVERSIDADE DE
Escherichia coli ISOLADOS DE AMOSTRAS DE ÁGUA DE
LASTRO, ÁGUA DE REGIÕES PORTUÁRIAS E
MOLUSCOS BIVALVES NO BRASIL**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientadora: Profa. Dra. Irma. N. G. Rivera

São Paulo

2009

RESUMO

ALBERTINI, L. S. **Ecologia, fatores associados à virulência e diversidade de *Escherichia coli* isolados de amostras de água de lastro, água de regiões portuárias e moluscos bivalves no Brasil.** 2009. 215 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Os ecossistemas aquáticos possuem microrganismos transitórios que chegam através do ar, solo, despejos industriais e domésticos e através da água de lastro de navios, degradando a qualidade da água. *Escherichia coli* foi isolado de amostras de água de lastro, água de regiões portuárias e de bivalves e dos 331 isolados de *E. coli* estudados, 49,6% apresentaram múltipla resistência variando de 2 a 8 antibióticos. Todos eles foram resistentes a eritromicina, característica natural da espécie. Dois isolados de amostras de água de região portuária de Paranaguá (2/42), possuíam os seguintes antibioticotipos: AMI AMP CTX CAZ CPX ERI PPT SUT e AMI AMC AMP CTX CAZ CRX ERI SUT. Sete fatores associados à virulência foram pesquisados utilizando a técnica de hibridação radioativa: Toxina termoestável (ST), Toxina termolábil (LT), Adesão agregativa (EAEC), Fator de invasão (INV), Toxina “Shiga-like” I (*stx-1*), Toxina “Shiga-like” II (*stx-2*), e o gene que codifica para a intimina (*eae*). Os resultados positivos da hibridação foram confirmados através da reação em cadeia de polimerase e somente 4 isolados apresentaram homologia com o gene que codifica para Aderência Agregativa (AA) de EAEC, 3 para *eae*, 3 para ST e um para *stx2*. Em relação à pesquisa da presença de plasmídeos, um total de 80,0% (24/30) e 72,3% (68/94) dos isolados de *E. coli* de amostras de água de lastro e de amostras de água de regiões portuárias apresentaram plasmídeos, respectivamente. Neste estudo, os isolados de *E. coli* de amostras de moluscos bivalves coletados nas proximidades das regiões portuárias estudadas mostraram que 75,3% (55/73) possuem plasmídeos e 56,8% dos mesmos correspondem a plasmídeos com fragmentos entre 2027 pb e 23.099 pb. Na caracterização molecular dos isolados, verificou-se que o ERIC-PCR apresentou um melhor desempenho pelo maior número de *clusters* com similaridade maior que 70%. A presença de isolados contendo os genótipos encontrados, nos remetem a analisar a importância sobre o risco da presença de *E. coli* patogênica no ambiente marinho costeiro e em água de lastro. Por isso, programas de vigilância sanitária devem ser implementados para proteger a saúde humana, animal e do meio ambiente.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Resistência aos antibióticos. Fatores associados à virulência. Plasmídeos. ERIC-PCR. REP-PCR. Água de lastro. Água de regiões portuárias. Moluscos bivalves.

ABSTRACT

ALBERTINI, L. S. **Ecology, virulence factors and diversity of *Escherichia coli* isolated from ballast water, ports areas and bivalves samples in Brazil.** 2009. 215 f. Ph. D. Thesis (Science) - Institute of Biomedical Science, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

The aquatic ecosystems had transitory microorganisms that arrived through the air, soil, industrial and domestic sewage and ballast water, degrading the water quality. *Escherichia coli* was isolated from ballast water, port areas water and bivalves samples. All of them were resistant to erythromycin, natural behavior of this specie. However, from the 331 isolates of *E. coli* studied, 49.6% had multiple antibiotics resistant varied from 2 to 8 antibiotics. Two isolates from Paranaguá Port area water samples (2/42), showed the following antibiotics type: AMI AMP CTX CAZ CPX ERI PPT SUT and AMI AMC AMP CTX CAZ CRX ERI SUT. Seven virulence associated factors were investigated using radioactive hybridization: heat stable toxin (ST), heat labile toxin (LT), aggregative adhesion (EAEC), invasion factor (INV), Shiga-like I toxin (STx-1), Shiga-like II toxin (STx-2), and the gene that codify for intimin (*eae*). The positive results were confirmed through polymerase chain reaction and only 4 isolates presented homology to the gene that codify for aggregative adherence (AA) of EAEC, 3 for *eae* gene, 3 for ST and one for *stx2*. Concerning the plasmids study, a total of 80.0% (24/30) and 72.3% (68/94) of *E. coli* isolates from ballast water and port area water samples had plasmids, respectively. In this study the *E. coli* isolates from bivalves samples showed that 75.3% (55/73) had plasmids and 56.8% of them had plasmids with size from 2027 bp and 23,099 bp. The molecular characterization of isolates verified that the ERIC-PCR was more efficiency to show high number of clusters with similarity more than 70%. The presence of *E. coli* isolates contained dangerous genotypes, showed the microbial risk present at the coast area ecosystem and ballast water samples and sanitary surveillance programs must be implemented for human, animal and aquatic ecosystem health protection.

Key-words: *Escherichia coli*. Antibiotic Resistance. Virulence factors. Plasmids. ERIC-PCR. REP-PCR. Ballast water. Port areas. Bivalves.

1 INTRODUÇÃO

A água é um elemento de importância fundamental para a sobrevivência do homem. Seu desempenho nos setores industrial e agropecuário, no abastecimento público, na preservação da vida aquática, nas atividades recreacionais e no transporte marítimo confirmam essa importância vital. Três quartos da superfície da Terra são cobertos por água, sendo que 97,4% é salgada e constituem os oceanos e 1,8% está congelada e se encontra nas regiões polares. Desta forma, a água doce disponível para a população do planeta representa apenas 0,8%, e parte desta está contaminada, segundo dados da COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB, 2004).

O desenvolvimento industrial, o crescimento demográfico e a ocupação do solo de forma intensa e acelerada têm provocado esta contaminação que compromete os recursos hídricos disponíveis para o consumo humano e para fins recreacionais, aumentando consideravelmente o surgimento de doenças de veiculação hídrica (RIVERA e MARTINS, 1996). Particularmente, a água contaminada é responsável por 80% das doenças nos países em desenvolvimento, segundo dados da “WORLD HEALTH ORGANIZATION” (WHO, 2006), constituindo, desta forma, uma ameaça à saúde pública (MARTINS et al., 1993).

O reconhecimento da gravidade presente nas águas receptoras de esgotos domésticos, como possíveis veículos de transmissão de agentes de doenças infecciosas e parasitárias, ocorreram com a descoberta dos agentes etiológicos das doenças infecciosas e da sua eliminação juntamente com as fezes dos indivíduos doentes ou portadores, como a do *Vibrio cholerae* em 1854, da *Entamoeba histolytica* em 1875 e da *Shigella dysenteriae* em 1898 (REINHART, 1980). Diversas doenças são associadas à água, e podem ocorrer pela contaminação por excreções humanas ou de outros animais ou pela presença de substâncias químicas nocivas à saúde humana (CETESB, 2004). Segundo dados do “NATIONAL RESEARCH COUNCIL”, vírus e bactérias são os principais responsáveis por doenças transmitidas pela água e alimentos (NRC, 1999) (Tabela 1).

Os ecossistemas aquáticos costeiros podem ser contaminados por receberem esgotos domésticos e/ou pelo deslastre dos navios que transportam e introduzem

microrganismos, parasitas e outros organismos de um ambiente para outro. Quando ingeridas acidentalmente por banhistas ou atingir áreas de cultivo e/ou extração de moluscos bivalves, podem por em risco a saúde da população.

Em termos de Saúde Pública, os aspectos sanitários devem ser enfocados, estudando-se o comportamento dos indicadores de poluição de origem fecal, sendo mais comumente utilizados o grupo dos coliformes fecais ou termotolerantes, e os enterococos fecais [AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA, 1985)]. Neste âmbito, devido à crescente preocupação que vem ocorrendo conseqüente de problemas oriundos da poluição e/ou contaminação das águas costeiras, isolaram-se *E. coli* de várias amostras de água coletadas em sete portos brasileiros, água de lastro de navios que ancoraram em nove portos brasileiros e de moluscos bivalves coletados in natura em áreas próximas a regiões portuárias brasileiras.

Tabela 1 - Listagem dos principais agentes etiológicos das doenças veiculadas pela água e suas rotas de transmissão ao homem.

Agente etiológico	Doença	Rota de transmissão
Viroses		
Vírus da hepatite A	Hepatite infecciosa	Alimento marinho ^b , água ^c
Vírus da hepatite E	Hepatite	Água ^c
Calicivírus	Gastroenterite	Alimento marinho ^b , água ^c
Rotavírus	Gastroenterite infantil	Água ^c
Astrovírus	Gastroenterite	Alimento marinho ^b , água ^c
Enterovírus	Várias	Água ^b
Bactérias autóctones^a		
<i>Mycobacterium marinum</i>	Granuloma	Água ^d
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Infecções de pele	Água ^d
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Alimento marinho ^b , água ^c
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Gastroenterite e Infec. pele	Alimento marinho ^b , água ^d
Bactérias alóctones^a		
<i>Escherichia coli</i>	Gastroenterite	Água ^d
<i>Leptospira interrogans</i>	Leptospirose	Água ^d
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriose	Alimento marinho ^b
<i>Morganella morganii</i>	Intoxicação	Alimento marinho ^b
<i>Salmonella species</i>	Febre tifóide e gastroenterite	Água ^c
Nemátodes		
<i>Anisakis simplex</i>	Anisakiose	Alimento marinho ^b

Fonte: NRC (1996)

^a autóctone = endêmico ao ecossistema; alóctone = transitório ou alheio ao ecossistema, ^b Crú ou pouco cozido, ^c ingestão acidental de água durante a recreação; água potável contaminada com água de mar ou fezes, ^d contato acidental durante recreação ou trabalho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ecossistemas aquáticos das zonas costeiras

Os ecossistemas aquáticos nas zonas costeiras têm uma importância considerável, pois são, a um só tempo, áreas públicas socializadas, onde ocorre relação dos portos marítimos com as cidades, com as paisagens e atividades ocupacionais e recreacionais. Adicionalmente, servem como área de alimentação, berçário, habitat e reprodução de várias espécies, confirmando a necessidade da preservação destes ambientes. As zonas costeiras compreendem as áreas mais produtivas e com maior diversidade biológica do planeta [UNITED NATIONS (U. N., 2008)].

No entanto, frequentemente esses ecossistemas sofrem influência direta da contribuição de água doce e poluição originária do continente. Os ecossistemas aquáticos possuem na sua composição microrganismos autóctones ou nativos, cuja função é específica e microrganismos alóctones (não indígenas) que são provenientes da atividade antrópica do entorno [NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC, 1996)]. As bactérias pelágicas do ambiente marinho podem ser associadas a detritos em suspensão, ao plâncton marinho ou ser de vida livre. Diversos estudos relatam a presença de viroses entéricas humanas e bactérias patogênicas em zonas costeiras (COLWELL, 1978; METCALF, 1978; MELNICK et al., 1979; GRIMES, 1991; BOSCH et al., 2001; KONG et al., 2002).

O Brasil contempla 7.408 km de extensão de linha de costa, desconsiderando os recortes litorâneos (baías, reentrâncias, golfões, etc.), que elevam para mais de 8,5 mil km voltados para o Oceano Atlântico [COMISSÃO NACIONAL INDEPENDENTE SOBRE OS OCEANOS (CNISO, 1998)]. No Brasil, atualmente, cerca de 1/5 da população vive em municípios litorâneos, o que corresponde a cerca de 38 milhões de habitantes, com densidade demográfica em torno de 100 habitantes por km² (MORAES, 1995). Segundo dados do censo demográfico de 2000, esses valores determinam uma densidade demográfica de 87 hab/km² para a zona costeira, valor cinco vezes superior a densidade média nacional que é de 17 hab/km² [(INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE, 2001)].

São imensos os perigos presentes na zona costeira que além de incluírem poluição originária de áreas densamente povoadas, incluem também a entrada de

poluentes provenientes de descargas de rios, descarga de efluentes industriais, derrame de óleo, descarga de água de lastro de embarcações, erosão e aterramento costeiros, desmatamento e instalação de usinas hidrelétricas (EL-SABH et al., 1998). Os estragos causados pelos efeitos negativos de atividades desenvolvidas na costa em ambientes marinhos e costeiros advêm de duas fontes: associados às mudanças econômicas e sociais e aqueles associados à pressão causada pelo excesso populacional sobre os recursos naturais. As mudanças econômicas e sociais em áreas costeiras frequentemente resultam em aumento da pressão da demanda por recursos naturais encontrados em bacias hidrográficas e entre as mesmas. (GESAMP, 2001).

Uma ampla variedade de funções importantes para a sociedade, esclarece a grande ocupação da zona costeira, tais como: a produção de alimentos, a produção de energia, a extração de recursos naturais, a manutenção de habitats de reprodução, a manutenção de rotas migratórias, a garantia da diversidade genética das espécies, a localização para habitação e a prática de recreação, dentre outros (DUBSKY, 1999). No entanto, a sobrevivência das populações costeiras depende da saúde e das condições dos sistemas costeiros, incluindo as áreas úmidas, as regiões estuarinas, as correspondentes bacias de recepção e drenagem, as águas interiores próximas à costa, bem como o próprio sistema marinho. Em suma, a sustentabilidade das atividades antropogênicas nas zonas costeiras depende de um meio marinho saudável e vice-versa (GEO BRASIL, 2002).

Segundo dados da “ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE SALUD” (1994), a morte de mais de três milhões de crianças menores de cinco anos que ocorrem por ano são por complicações diarréicas causadas na maioria das vezes por água contaminada, e que o grau de saúde da população pode ser medido pela qualidade do saneamento oferecido à mesma.

De acordo com a Fundação Nacional da Saúde (FUNASA), são várias as doenças que podem ser causadas ou agravadas pelas más condições de saneamento, drenagem e qualidade da água. De acordo com os dados do GERCO (Gerenciamento Costeiro- MMA), mais de 3.000 toneladas de poluentes líquidos são despejados no litoral brasileiro diariamente e segundo o GEO BRASIL (2002) resultados preliminares indicam que os despejos poluidores estão sendo constituídos principalmente de efluentes industriais e esgotos domésticos.

2.2 Gerenciamento das zonas costeiras e desenvolvimento sustentável

O gerenciamento dos recursos hídricos pode ser traduzido como o instrumento que orienta ao Poder Público e à sociedade, no uso e monitoramento dos recursos ambientais (naturais, econômicos e socioculturais), na área de abrangência de uma bacia hidrográfica, de forma a promover o desenvolvimento sustentável (LANNA, 1995). O principal objetivo, do gerenciamento costeiro é melhorar a qualidade de vida das comunidades humanas que dependem dos recursos costeiros, levando em consideração a manutenção da diversidade biológica e da produtividade dos ecossistemas costeiros (GESAMP, 1996). No Brasil, o gerenciamento costeiro é amparado pela Constituição Federal, que define a zona costeira como propriedade nacional. Neste dispositivo, o Governo Brasileiro instituiu em 16 de maio de 1988 o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro (PNGC) através da Lei 7.661, como parte integrante da Política Nacional para os Recursos do Mar - PNRM e da Política Nacional do Meio Ambiente – PNMA. A mesma, no artigo 2º, visa especificamente “*orientar a utilização nacional dos recursos na Zona Costeira, de forma a contribuir para elevar a qualidade de vida de sua população, e à proteção do seu patrimônio natural, histórico, étnico e cultural*”.

A Lei 7.661/88 foi regulamentada pelo Decreto-Lei 5.300 de 7 de dezembro de 2004. Nos termos do artigo 6º, seção III, capítulo II, deste decreto ficou estabelecido como objetivos da gestão da zona costeira:

I - a promoção do ordenamento do uso dos recursos naturais e da ocupação dos espaços costeiros, subsidiando e otimizando a aplicação dos instrumentos de controle e de gestão da zona costeira;

II - o estabelecimento do processo de gestão, de forma integrada, descentralizada e participativa, das atividades socioeconômicas na zona costeira, de modo a contribuir para elevar a qualidade de vida de sua população e a proteção de seu patrimônio natural, histórico, étnico e cultural;

III - a incorporação da dimensão ambiental nas políticas setoriais voltadas à gestão integrada dos ambientes costeiros e marinhos, compatibilizando-as com o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro - PNGC;

IV - o controle sobre os agentes causadores de poluição ou degradação ambiental que ameacem a qualidade de vida na zona costeira;

V - a produção e difusão do conhecimento para o desenvolvimento e aprimoramento das ações de gestão da zona costeira.

O Brasil dispõe ainda, em relação a programas e projetos específicos para gestão integrada da zona costeira e marinha e aos seus objetivos e metas: o Programa Nacional de Gerenciamento Costeiro (GERCO), o Projeto de Gestão Integrada da Orla Marítima (Projeto ORLA) e o Programa de Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva (REVIZEE) (MMA, 2004).

No que se refere à prevenção, o licenciamento ambiental é um dos instrumentos que se atribui a maior importância, pois através deste o órgão licenciador poderá verificar as condições de funcionamento do empreendimento, dando vistas aos outros instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente.

A Resolução Nº 237, de 19 de dezembro de 1997 do CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA dispõe sobre o licenciamento ambiental em seu artigo 1º, inciso I: *“Licenciamento Ambiental: procedimento administrativo pelo qual o órgão ambiental competente licencia a localização, instalação, ampliação e a operação de empreendimentos e atividades utilizadoras de recursos ambientais, consideradas efetiva ou potencialmente poluidoras ou daquelas que, sob qualquer forma, possam causar degradação ambiental, considerando as disposições legais e regulamentares e as normas técnicas aplicáveis ao caso”*. Esta mesma Resolução estabelece em seu Anexo I, sobre ATIVIDADES OU EMPREENDIMENTOS SUJEITAS AO LICENCIAMENTO AMBIENTAL: **Transporte, terminais e depósitos;** ...; marinas, portos e aeroportos, as atividades potencialmente poluidoras e discrimina a atividade portuária como obrigatória de licenciamento.

Ainda no que refere-se aos recursos hídricos, o Brasil dispõe ainda da Lei 9.433, de 8 de janeiro de 1997 da Política Nacional de Recursos Hídricos, que conforme o seu artigo 2º, inciso II, tem como objetivo: *“a utilização racional e integrada dos recursos hídricos, incluindo o transporte aquaviário, com vistas ao desenvolvimento sustentável”*.

Por fim, vale ressaltar que o monitoramento ambiental dos poluentes e da balneabilidade das praias é controlado pela CETESB (Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e de Defesa do Meio Ambiente), com base na *Lei nº 997, de 31 de maio de 1976*, e no Decreto Estadual 8.468, de 8 de setembro de 1976 que aprova o Regulamento da Lei nº 997, de 31 de maio de 1976, que dispõem sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente, e pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), com base na Resolução Nº. 274 de 29 de novembro de 2000, visando garantir a qualidade bacteriológica de águas de recreação:

- considerando que a saúde, o bem-estar humano podem ser afetados pelas condições de balneabilidade;

- considerando ser a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa dos níveis de qualidade, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar as condições de balneabilidade;

- considerando a necessidade de serem criados instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, em relação aos níveis estabelecidos para a balneabilidade, de forma a assegurar as condições necessárias à recreação de contato primário;

- considerando que a Política Nacional do Meio Ambiente, a Política Nacional de Recursos Hídricos e o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro (PNGC), recomendam a adoção de sistemáticas de avaliação da qualidade ambiental das águas.

2.3 Áreas portuárias brasileiras¹

As instalações portuárias possuem uma elevada estrutura, cujos efeitos se estendem em quase todos os subsistemas territoriais: físico-ambiental, econômico-produtivo e urbanorelacional. Por outro lado, a complexidade de seu entendimento e administração, está relacionada ao fato de que o desenvolvimento de suas funções depende de circunstâncias alheias não só ao porto, mas muitas vezes à própria região e ao estado sede (BARRAGAN MUÑOZ, 1995). Llaquet (2002) afirma que independente de sua função como facilitador da economia ao nível macro, o porto, é um gerador de riqueza e de emprego com efeitos positivos na atividade socioeconômica do território regional e, mais diretamente, na cidade portuária. No entanto, o porto se constitui em fator de desenvolvimento para a cidade se for eficiente e, ao mesmo tempo, ambos crescerem em harmonia, na medida em que minimize os impactos causados por suas atividades, segundo alerta Dankfort (1994), “(...) caso contrário, os transtornos se tornam maiores que os benefícios”. Considerando isto, no Brasil, a Resolução CONAMA Nº 237 em seu anexo I, menciona que as atividades portuárias são consideradas como potencialmente poluidoras (BRASIL, 2002).

¹ Dados disponíveis no site: www.transportes.gov.br – acessos dia 02/ 10/ 2008 e 07/10/2008.

2.3.1 Porto de Belém

O Porto de Belém, inaugurado em 02 de outubro de 1909, tem uma extensão acostável de 1.446,90 m e está situado a uma distância de 120 km do oceano Atlântico. Sua localização é na margem direita da baía de Guajará e na margem esquerda dessa baía se localiza a ilha das Onças com 19 km de comprimento e uma série de ilhas menores. A principal entrada marítima do Porto de Belém está situada pela baía de Marajó, apresentando largura de 55 km e profundidade mínima de 10,5 m e pela baía de Guajará, entre as ilhas da Barra e do Forte, com aproximadamente 110 km de extensão, largura de 3,2 km a 15 km e profundidade de 09 m.

2.3.2 Porto de Fortaleza

As obras do antigo porto de Fortaleza, iniciadas por um molhe de proteção com execução suspensa devido aos assoreamentos provocados na área, foram alteradas por um projeto da Inspeção Federal de Portos, Rios e Canais, aprovado pelo Decreto nº 14.555, de 17 de dezembro de 1920. A sua construção e o desenvolvimento dos trabalhos, iniciados em 1921, foram interrompidos em 1923. Em 20 de dezembro de 1933, através do Decreto nº 23.606, o governo do estado do Ceará recebeu o porto em concessão e, em 1938, o Decreto-Lei nº 544, editado em 7 de julho, previu a transferência das instalações para um novo local, na enseada de Mucuripe. O porto de Fortaleza conta com um cais comercial de 1.050 m de comprimento. Sua região de influência abrange os Estados do Ceará, Piauí, partes do Maranhão, Rio Grande do Norte, da Paraíba e Pernambuco, e se estende, ainda, às regiões Norte e Centro-Oeste e ao Vale do São Francisco, áreas de alcance de distribuição de cargas movimentadas no Porto. O acesso marítimo é feito por uma barra de entrada que possui 100 m de largura e profundidade de 11 m; o canal de acesso, com extensão de 1,5 km, possui largura variável entre 80 m e 100 m e profundidade de 10 m.

2.3.3 Porto de Rio Grande

A primeira providência oficial para melhorar a segurança da navegação ocorreu em 1846, quando o Governo Imperial criou a Inspeção da Praticagem da Barra do Rio

Grande. Em 1847 um total de 668 embarcações transpôs a Barra de Rio Grande, surgindo um pequeno porto, localizado onde hoje é o Porto Velho, no centro da cidade. Em 1906, iniciaram as obras de fixação da Barra de Rio Grande, com aprofundamento para 10 m, e a construção de dois molhes convergentes e um novo porto na cidade do Rio Grande (hoje conhecido como Porto Novo). Em 1º de março de 1915, aproximadamente às 17h30 min, o navio-escola Benjamin Constant, da Armada nacional, calando 6,35 metros, transpôs a Barra. Por volta das 18h30 min, atracou no cais do Porto Novo do Rio Grande, em meio a solenidades festivas. Em 15 de novembro de 1915, foi inaugurado o primeiro trecho de cais do Porto Novo, numa extensão de 500 metros, logo entregues à operação.

O porto de Rio Grande está localizado na margem direita do canal do norte, que liga a Lagoa dos Patos ao Oceano Atlântico. A área de influência compreende os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, o Uruguai, o sul do Paraguai e o norte da Argentina. O acesso fluvial é feito pelo rio Guaíba. O acesso lacustre é feito pela Lagoa dos Patos. Já o acesso marítimo é feito por uma barra limitada pelos molhes leste e oeste, oferecendo a largura de 700 m e profundidade de 14 m. Canais de acesso: o do Porto Novo tem comprimento de 5,1 km, largura de 150 m e profundidade de 8,5 m e o do Superporto se estende por 4,7 km com largura mínima de 200 m e profundidade de 13 m.

2.3.4 Porto de Itaguaí

O porto de Itaguaí, inaugurado em 7 de maio de 1982, está localizado na costa norte da baía de Sepetiba, no município de Itaguaí, estado do Rio de Janeiro, ao sul e a leste da Ilha da Madeira. A área de influência coincide em parte com a hinterlândia do porto do Rio de Janeiro, abrangendo os estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e o sudoeste de Goiás. O acesso marítimo é feito por uma barra que está localizada entre a Ponta dos Castelhanos, na ilha Grande, e a Ponta Grossa da Restinga da Marambaia, oferecendo 12 km de largura e profundidade de 19 m. O canal de acesso, com cerca de 22 km, possui largura de 200 m e profundidade mínima de 13,5 m.

2.3.5 Porto de Paranaguá

O porto de Paranaguá, inaugurado em 17 de março de 1935, localiza-se na cidade de Paranaguá, no estado do Paraná, na margem sul da baía de Paranaguá. A área de influência compreende o estado do Paraná e parte dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Inclui também o Paraguai, que dispõe de um entreposto franco no porto. O acesso marítimo é feito por uma barra de entrada que possui largura de 200 m e profundidade de 12 m. O porto possui três canais de acesso: o do Norte, o do Sudeste e o da Galheta, esse último, o principal, com 28,5 km de extensão, largura variando de 150 m a 200 m e profundidade de 12 m.

2.3.6 Porto de Santos

O porto de Santos, inaugurado em 2 de fevereiro de 1892, está localizado no centro do litoral do estado de São Paulo, estendendo-se ao longo de um estuário limitado pelas ilhas de São Vicente e de Santo Amaro, distando 02 km do Oceano Atlântico. A área de influência compreende o estado de São Paulo e grande parte de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais e Paraná. As instalações do porto compreendem um Cais acostável de 11.042 m de extensão e profundidades variando entre 6,6 m e 13,5 m; 521 m de cais para fins especiais, com profundidade mínima de 5 m, e 1.883m para uso privativo, com profundidades de 5 m a 11 m. O acesso marítimo é franco, contendo um canal com largura de 130 m e profundidade de 13 m, na parte marítima da baía de Santos, e, no estuário, largura de 100 m e profundidade de 12 m.

2.3.7 Porto de Recife

As primeiras iniciativas para a realização de melhoramentos no antigo ancoradouro do Recife datam de 1815. No decorrer do século XIX foram elaborados diversos projetos, sem que a execução, contudo prosperasse. Somente em 1º de julho de 1909, com a publicação do Decreto nº 7.447, foi autorizada a construção das novas instalações, compreendendo, 2.125 m de cais e três armazéns.

O porto de Recife localiza-se na parte centro-leste da cidade de Recife, capital do estado de Pernambuco, na confluência e às margens dos rios Capibaribe, ao sul, e

Beberibe, no local onde desaguam no oceano Atlântico. A área de influência abrange os estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, parte de Alagoas, a faixa litorânea de Sergipe, o sudeste do Piauí, o sul do Ceará e o noroeste da Bahia. O acesso marítimo é feito por dois canais de acesso ao porto, ambos com características naturais. O principal deles, Canal Sul, possui aproximadamente 260 m de largura e 3,4 km de extensão, com profundidade de 10,5 m. O outro, denominado Canal Norte, tem pouca largura, cerca de 1.000 m de comprimento, e profundidade de 6,5 m, e é utilizado apenas por embarcações de pequeno porte.

2.4 Água de Lastro

Água de Lastro, segundo o documento MEPC 49/2/3 que contém a minuta da Convenção Internacional sobre o Controle e Gestão da Água de Lastro de Navios e Sedimentos – Convenção BWM 2004, em seu Artigo 1º, Inciso IV, Título I – que dispõem sobre ‘Definições’, significa água com seu material em suspensão, tomada a bordo do navio para controlar trim², adernamento³, calado⁴, estabilidade ou tensões de um navio [INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION (IMO, 2004)]. Segundo esta definição, a água de lastro tem por objetivo assegurar a fluabilidade, navegabilidade e, por fim, a segurança da embarcação, contrabalançando o peso da carga (Figuras 1 e 2).

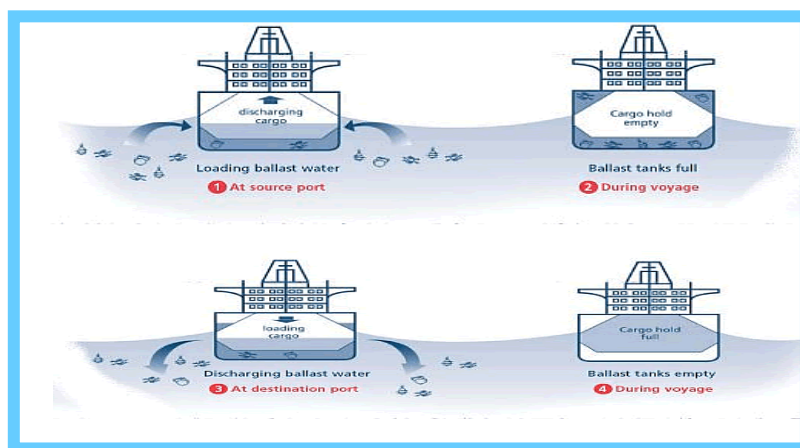


Figura 1- Processo de enchimento e esvaziamento dos tanques de lastro.

Fonte: <<http://www.globallast.imo.org> > acesso dia 15/03/2008.

² *Trim*: é a diferença de imersão entre a proa e a popa do navio.

³ *Adernamento*: Inclinar (a embarcação) deixando um lado debaixo d'água.

⁴ *Calado*: distância vertical da quilha do navio à linha de flutuação; espaço ocupado pelo navio dentro da água.



Figura 2- Processo de esvaziamento dos tanques de lastro.

Fonte: <<http://www.invasivespeciesinfo.gov/aquatics/ballast.shtml>> acesso no dia 23/09/2008.

Em consequência da eficiência e da economia, o lastro sólido: pedras, areia, solo e outros materiais, foram substituídos pela água a partir de 1880 (CARLTON, 2001). No entanto, o aumento de problemas relacionados à introdução de espécies exóticas e a transmissão de doenças surgiram com o advento do uso da água como lastro associada ao crescimento do tráfego marítimo mundial e ao enorme crescimento tecnológico com o desenvolvimento de navios de maior porte e mais veloz (SOUZA et al., 2002). Estima-se que, volumes da ordem de 3 a 4 bilhões de toneladas de água de lastro são transportadas por ano mundialmente (CARLTON e GELLER, 1993; ENDRESEN et al., 2003). SILVA et al. (2004), relataram que na costa brasileira foi estimada a movimentação de aproximadamente 40 milhões de toneladas de água de lastro por ano.

Atualmente a água de lastro constitui uma grande ameaça à saúde humana, animal, à ecologia dos ecossistemas e a economia mundial, pois microrganismos patogênicos, plantas e animais exóticos podem ser transportados de um lugar para outro, promovendo doenças em lugares onde elas não ocorrem rompendo barreiras biogeográficas (CARLTON, 1985; NEHRING, 1998; WILLIAMS et al., 1998; RUIZ et al., 2000). Estima que, de 3 a 4 mil espécies são transportadas por navios diariamente (GOLLASCH, 1997). No entanto, estes números podem ser ainda maiores em virtude da dificuldade de reconhecimento em nível taxonômico de diversos exemplares reconhecidos como espécies não-nativas causando grande preocupação em relação aos impactos no ambiente marinho (HAYES e SLIWA, 2003).

Em consequência da transferência de volumes de água de lastro cada vez maiores e da bioincrustação nos cascos dos navios, que introduzem espécies marinhas exóticas em diferentes ecossistemas, um dos problemas mais reconhecidos em relação à água de lastro, é em nível ecológico (WONHAM et al., 2001). O primeiro registro sobre a introdução de espécies exóticas por meio de água de lastro ocorreu no mar Norte, por

Ostenfeld (1908), após uma floração de diatomácea *Odontella sinensis*, endêmica da costa tropical e subtropical do Indo-pacífico (HALLERGRAEF e BOLCH, 1992). Nos Estados Unidos, acidentalmente, o mexilhão-zebra, oriundo da Europa Oriental, *Dreissena polymorpha*, foi introduzido através da água de lastro nos Grandes Lagos. Atualmente, ele já se espalhou por cerca de 40% de todas as vias navegáveis dos Estados Unidos, e já exigiu um gasto de U\$ 5 bilhões de dólares ao país para tentar conter sua invasão, que ameaça a indústria de ostras e centenas de empregos (CARLTON, 1985). Em 1982, a água-viva *Mnemiopsis leidyi*, endêmica da Costa Atlântica na América do Norte, teve sua primeira ocorrência no Mar Negro e Mar de Azov, ao sul da Ucrânia e da Rússia, respectivamente, onde, atualmente está estabelecida (SILVA et al., 2002).

No Brasil, em 1998, o dinoflagelado, *Gymnodinium catenatum*, foi identificado em uma região de cultivo de moluscos na costa de Santa Catarina (PROENÇA et al., 2001). O principal suspeito de causar sua distribuição foi a água de lastro dos navios, pois estes dinoflagelados formam cistos de resistência, o que poderia facilitar sua sobrevivência no interior dos tanques de lastro. A constatação da toxina ‘paralytic shellfish poisoning – PSP’, produzida pelo dinoflagelado, em áreas de cultivo de moluscos desde a Argentina até a costa de Santa Catarina, transformou-o em um problema de ordem econômica e de saúde pública (PROENÇA et al., 2004). No entanto, o exemplo mais conhecido de invasão com sucesso é o caso do mexilhão dourado, *Limnoperma fortunei*, originário dos rios asiáticos, em especial da China. Este molusco foi introduzido no Rio da Prata, Argentina, em 1991, e avançou pelos Rios Paraná e Paraguai. Atualmente, o mexilhão dourado se estabeleceu no Pantanal brasileiro (MMA, 2004b).

A atual preocupação, referente à água de lastro, diz respeito ao alto risco de transmissão de agentes patogênicos através da mesma, possibilitando, desta forma, o surgimento de surtos de doenças infecciosas, em especial, a cólera (RIVERA et al., 2003; SILVA et al., 2004; VICENTE et al., 2006). O transporte de microrganismos patogênicos pela água de lastro pode acontecer principalmente quando existe despejo de esgoto sem tratamento próximo a zona portuária ou costeira, onde a água é captada (RIVERA e MARTINS, 1996).

A partir da Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (UNCED), no Rio de Janeiro em 1992, a Organização Marítima Internacional (IMO), Agência Especializada da Organização das Nações Unidas (ONU)

que regulamenta o transporte e as atividades marítimas com relação à segurança, à facilitação do comércio marítimo, à preservação do mar, recomendou o início de uma abordagem sistemática para a questão da água de lastro, em busca de uma definição de regras adequadas, a fim de evitar a disseminação de organismos aquáticos não nativos das regiões nas quais as descargas são realizadas. Durante esta Conferência, através de uma iniciativa conjunta, a IMO se juntou ao Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD) e ao Fundo Mundial para o Meio Ambiente (GEF) para identificar e avaliar barreiras ao efetivo trato da questão da água de lastro em algumas regiões em desenvolvimento do mundo. Com esta ação, levou-se à aprovação e à criação do projeto *'Remoção de Barreiras para a Implementação Efetiva do Controle da Água de Lastro e Medidas de Gestão em Países em Desenvolvimento'*, do Programa Global de Gestão de Água de Lastro (GLOBALLAST). Este projeto, visava reduzir a transferência de espécies aquáticas exóticas indesejáveis que tinham como vetor a água de lastro dos navios e apoiar países em desenvolvimento a implementar as medidas de caráter voluntário previstas na Resolução de Assembléia da IMO A.868 (20) – *'Diretrizes para o Controle e gerenciamento da Água de lastro dos navios para Minimizar a Transferência de organismos Aquáticos Nocivos e Agentes Patogênicos'* (BRASIL, 1998).

De acordo com a adoção das normas pela IMO, através da Convenção Internacional de Controle e Gestão da Água de Lastro e Sedimentos - Convenção BWM 2004 - realizada em 16 de fevereiro de 2004, em Londres, foram estabelecidas normas para a troca de água de lastro (Regra D-1) e uma norma para o desempenho de água de lastro (Regra D-2). A Regra D-1 prevê que os navios que realizarem a troca da água de lastro, em conformidade com esta regra, deverão fazê-lo com uma eficiência de pelo menos 95% de troca volumétrica e a Regra D-2, prevê que os navios que realizarem a gestão de água de lastro em conformidade com esta regra deverão descarregar menos de 10 organismos viáveis por metro cúbico com dimensão mínima igual ou maior que 50 micrômetros e menos de 10 organismos viáveis por mililitro com dimensão mínima menor que 50 micrômetros e com dimensão mínima igual ou maior que 10 micrômetros. Os indicadores microbiológicos utilizados na Regra D-2 para avaliar a qualidade microbiológica da água de lastro são: *Vibrio cholerae* (O1 e O139): menos que uma unidade formadora de colônia (UFC) por 100 ml ou por 1 grama de amostra de zooplâncton; *E.coli*: menos que 250 UFC por 100 ml e *Enterococos* fecais: menos que 100 UFC por 100 ml (IMO, 2004). Os prazos para cumprimento da

exigência das Regras D-1 e D-2 em função da construção e da capacidade de lastro dos navios, estabelecidos pela Convenção BWM 2004, para a adaptação dos navios estão expostos na Tabela 2 (ALMEIDA e LEAL NETO, 2005).

Tabela 2- Prazos estabelecidos pela Convenção BWM 2004 para adaptação dos navios, mediante as Regras D-1 e D-2.

Construção do navio	Capacidade do lastro (cal) (m ³)	Exigência
Antes de 2009	$1.500 \leq \text{cal} \leq 5.000$	D-1 após a entrada em vigor e D-2 após 2014.
Antes de 2009	$\text{cal} < 1.500$ ou > 5.000	D-1 após a entrada em vigor e D-2 após 2016.
A partir de 2009	$\text{cal} < 5.000$	D-2.
Entre 2009 e 2012	$\text{cal} \geq 5.000$	D-1 após 2009 e D-2 após 2016.
A partir de 2012	$\text{cal} \geq 5.000$	D-2.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Gerência Geral de Portos, Aeroportos, Fronteiras e Recintos Alfandegários (GGPAF) em junho de 2000, iniciou a gestão do controle da água de lastro mediante a coleta de formulários para informações sobre a água de lastro e entregue de forma voluntária pelos navios. A partir de janeiro de 2001, a submissão do formulário passou a ser obrigatória por todos os navios que solicitam a Livre-Prática⁵, com base na resolução RDC 17, revista pela RCD 217 (BRASIL, 2001).

Nos anos de 2001 e 2002, na pessoa do seu Gerente de Portos, Aeroportos e Fronteiras, Dr. Daniel Lins Menucci e colaboradores como Cátia Pedroso Ferreira e Marestela Huppess Schneider, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), teve uma contribuição relevante no que diz respeito ao primeiro estudo abordando a qualidade microbiológica da água de lastro, por estudos realizados em vários portos do Brasil. Os estudos foram realizados em parceria com o Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM), órgão pertencente à Marinha do Brasil, o Laboratório de Microbiologia Ambiental do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP) e a Universidade de Ilhéus (Bahia). Este estudo, intitulado '*Estudo exploratório para identificação e caracterização de espécies patogênicas em águas de lastro em portos selecionados no Brasil*' contou com o auxílio financeiro do PNUD/UNESCO.

⁵ Livre-Prática: autorização emitida, pelo órgão de vigilância sanitária, a uma embarcação procedente ou não do exterior a entrar em um porto do território nacional e iniciar as operações de desembarque e embarque de carga e viajantes.

No Brasil, a partir de 15 de outubro de 2005, entrou em vigor a Norma da Autoridade Marítima (NORMAM) para o Gerenciamento da Água de Lastro de Navios da Diretoria de Portos e Costas (DPC) - NORMAM-20/DPC, onde a exigência da troca de água de lastro em alto mar passou a ter caráter obrigatório. Entre outras exigências, a mesma estabelece: que os navios possuam Plano de Gestão de Água de Lastro e apresentem o Formulário de Água de Lastro; diretrizes para troca e captação de água de lastro, bem como para descarga de sedimentos do tanque de lastro (BRASIL, 2005).

2.5 Qualidade microbiológica dos Ambientes Aquáticos

A pesquisa de microrganismos patogênicos na água requer procedimentos complexos e longo tempo para obtenção de resultados, o que inviabiliza sua aplicação na rotina, além de que normalmente, encontra-se em número reduzido e sua chegada à água é interminante, portanto para a avaliação de sua qualidade, do ponto de vista bacteriológico, é imprescindível a utilização de organismos indicadores de contaminação fecal (BONDE, 1977).

A quantificação dos indicadores de contaminação fecal em corpos d'água é de grande interesse para saúde pública, pois a detecção de altos níveis bacterianos estão frequentemente associados com elevados níveis de patógenos entéricos [UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA, 1986)]. Microrganismos patogênicos, causadores de doenças transmitidos pela água, são predominantemente de origem fecal e conhecidos como patógenos entéricos e podem ser transmitidos ao homem através da água (MARTINS et al., 1983; NOBLE et al., 2003; ASHBOLD et al., 2004). Os microrganismos tradicionalmente utilizados como indicadores são aqueles encontrados em elevadas concentrações nas fezes humanas. Diversos estudos relatam que coliformes fecais, representados por *E. coli*, têm sido extensivamente utilizados no monitoramento da qualidade de águas destinadas à potabilidade e balneabilidade (SANCHEZ et al., 1986; LÓPEZ-PILA e SZEWZYK, 2000; YOUN-JOO AN et al., 2002; ALM et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2003; SHIBATA et al., 2004; LEBARON et al., 2005).

Historicamente, o grupo coliforme fecal tem sido utilizado como indicador para a avaliação microbiológica da qualidade de diversos ecossistemas aquáticos, e sua presença na água indica poluição com risco potencial de presença de organismos patogênicos (APHA, 1998).

No Brasil os ambientes aquáticos são avaliados seguindo os padrões estabelecidos pela Resolução CONAMA N°. 274 de 29 de novembro de 2000 e a RESOLUÇÃO CONAMA N°. 357 de 17 de março de 2005 (Anexo A).

No ecossistema marinho, os moluscos bivalves são conhecidos como “bioindicadores” ou “monitores” de contaminação ambiental, pois estes possuem a capacidade de identificar diversos sintomas de um ambiente costeiro ou estuarino em estresse (WIDDOWS e DONKIN, 1992; SMAD e WIDDOWS, 1994), e de concentrar e representar a contaminação do ambiente sob o aspecto microbiológico e químico (FALCONER, 1993; FAYER et al., 1992).

Bactérias do grupo coliformes presentes em moluscos filtradores é uma ocorrência mundial, pois é bem estabelecido que, os melhores locais para a reprodução e crescimento de bivalves, ocorre nas zonas costeiras onde há escoamento de esgotos e desembocadura de rios que trazem consigo contaminantes biológicos e químicos, cuja concentração interfere na qualidade do molusco (EPAGRI, 1994). A determinação de coliformes de origem fecal nos tecidos e líquidos intervalar dos bivalves apresenta maiores possibilidades para seu uso como padrão de normatização no cultivo do que a análise da água das áreas produtivas (MACHADO et al., 2001). Em moluscos *in natura*, as contagens totais de microrganismos referem-se ao conteúdo intravalvar carne-líquido e a população microbiana pode oscilar entre 10 e 10⁶ UFC/g [INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS, ICMSF, 1978; JAY, 1994)].

Diversos autores sugerem a utilização de moluscos bivalves, a fim de monitorar a presença de todos os agentes biológicos e abióticos que se encontram na água onde os mesmos vivem, pois estes ficam concentrados sobre as lamelas branquiais e nos tecidos dos moluscos (FALCONER, 1993; FAYER et. al., 1992; MADDEN et. al., 1982 *apud* MORAES et al., 2000), em virtude de serem capazes de filtrar até quatro litros de água por hora (WOOD, 1979). Dados atuais revelam que os moluscos bivalves, em seu processo de alimentação, podem filtrar de 19 a 50 Litros/hora da água onde habitam acumulando todos os contaminantes biológicos e químicos dispersos no ecossistema em seu conteúdo intravalvar (MENEZES et al., 2002). *E. coli*, do grupo coliforme de origem fecal, segundo Rippey (1994), é o principal indicador de qualidade sanitária das águas de criação de moluscos.

2.6 *Escherichia coli*

E. coli, é a espécie mais associada às fezes de animais de sangue quente, pertencente à família *Enterobacteriaceae* e que faz parte da microbiota normal entérica animal e humana (MURRAY, 1999). Trata-se de um bastonete não formador de esporo, gram-negativo, que mede 2 a 3 µm x 0,4 a 0,6 µm (WOLF, 1997). Algumas estirpes produzem colônias mucóides e crescem muito bem à temperatura de 37 °C (SUSSMAN, 1997). Porém, sua caracterização está baseada na capacidade de fermentar a lactose com produção de gás (90%) quando incubados à temperatura de 44 a 45,5 °C (ICMSF, 1978).

E. coli é uma bactéria produtora de indol (96,3%), não utiliza citrato (99,8%), não produz urease (100%), não fermenta o adonitol (99%), produz reação positiva para o teste do vermelho de metila (99%) e reação negativa para o teste de Voges-Proskauer (100%) (EDWARDS e EWING, 1986).

E. coli é classificado em sorogrupos e sorotipos de acordo aos antígenos somáticos termoestáveis O, antígenos capsulares termolábeis K e antígenos flagelares H (ICMSF, 1978; KORNACKI e MARTH, 1982; FRANCO, 1983; BRENNER, 1984). Através de estudos sorológicos empregando reações de aglutinação com antisoros específicos, já foram caracterizados 173 antígenos O (FRANCO e LANDGRAF, 1996; MENG et al., 2001), 100 antígenos K e 57 antígenos H (TRABULSI, 1991).

Esta bactéria usualmente coloniza o tubo digestivo algumas horas após o nascimento, estabelecendo-se principalmente no cólon e na parte mais distal do íleo, onde normalmente permanece confinada ao lúmen (ACHTMAN e PLUSCHKE, 1986). Segundo Dufour (1977), a concentração de *E. coli* nas fezes de seres humanos varia de 10^6 a 10^9 /g.

Constituindo o principal componente do grupo dos coliformes fecais até 1950, *E. coli* não era reconhecida como patogênica (SUSSMAN, 1985). Não obstante, cepas de *E. coli*, têm sido associadas a graves infecções do trato urinário, septicemia, meningite neonatal (SELANDER et al., 1987; CLERMONT et al., 2000), diarreia, síndrome urêmica hemolítica e enfermidades imunológicas no homem (SUSSMAN, 1985).

Cinco categorias de *E. coli* atualmente atuam como agentes etiológicos da diarreia humana: *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) enquanto o patótipo de *E. coli* que adere difusamente (DAEC)

deixou de ser incluído nesta categoria devido a que o processo de adesão difusa não a define como uma categoria de *E. coli* diarreio gênica (TRABULSI, 2008). Adicionalmente, *E. coli* uropatogênica (UPEC) está associada a infecções do trato urinário (JOHNSON, 1991) e *E. coli* associada a meningite (MNEC) causa meningite neonatal e sepses em bebês (KAPER et al., 2004).

2.6.1 Principais Categorias de *E. coli* Diarreio gênicas

2.6.1.1 *E. coli* Enteroagregativa (EAEC)

Em 1979, estudando cepas de EPEC, Cravioto et al., identificaram que algumas cepas aderiam a monocamadas celulares, enquanto outras não apresentaram essa capacidade. Posteriormente, foi observado que o padrão de adesão ocorria em dois padrões distintos, denominados Adesão Localizada (AL) e Adesão Difusa (AD) (SCALETSKY et al., 1984; NATARO et al., 1985). Nataro et al., (1987), examinaram o padrão de aderência em células HEp-2 de isolados de *E. coli* de fezes de crianças saudáveis e com diarreia na cidade de Santiago, Chile, e propuseram a diferenciação entre os padrões de Aderência Localizada (AL), Aderência Difusa (AD) diferenciado em Adesão Difusa propriamente dito e Adesão Agregativa (AA). O padrão de Adesão Agregativa (AA) é caracterizado pela aglutinação das células bacterianas que frequentemente ocorre na superfície celular e a disposição em camadas que lembram “tijolos empilhados” (NATARO et al., 1987).

Cepas de *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC) são assim definidas, por não secretarem as enterotoxinas ST e LT produzidas por ETEC (NATARO e KAPER, 1998) e por formarem um padrão de Adesão Agregativo, quando se associam com as células HEp-2 e HeLa (BERNIER et al., 2002).

O padrão de Adesão Agregativa (AA) de cepas de EAEC é mediado por fímbrias de “Aderência Agregativas” (AAs) (CZECZULIN et al., 1997) e Fatores de Aderência (MOREIRA et al., 2003). A Fímbria de Aderência Agregativa I (AAF/I), denominada “*Bundle Forming*”, de 2 a 3nm de diâmetro associada à presença de um plasmídeo de 60 MDa (pAA1) foram descritas ao se estudar o padrão de Adesão Agregativa (AA) da amostra 17-2 em células HE-p2 e aglutinação manose-resistente de eritrócitos humanos (NATARO et al., 1992).

Em 1997, Czczulin et al., descreveram uma fímbria distinta genética, imunológica e morfológicamente da AAF/I, denominada AAF/II. Apesar da importância das fímbrias AAF na aderência, a maioria das cepas EAEC perdem AAF/I e AAF/II (CZECZULIN et al., 1999). Em 2002, Bernier et al., estudando a cepa típica de EAEC 55989, verificaram que embora possuísse o padrão típico de adesão AA em células HeLa e os marcadores de virulência de EAEC, não possuíam genes que codificavam as fímbrias AAF/I e AAF/II. Neste estudo, através da microscopia eletrônica, pode-se observar que a superfície da cepa EAEC 55989 foi envolvida por longas estruturas fimbriais flexíveis que pareciam envolvidas em um processo de autoaglutinação, facilitando o contato entre a bactéria para a formação agregativa.

A enterotoxina termoestável denominada “*Enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin 1*” (East 1), de 4.1 KDa (38 aminoácidos), foi identificada ao estudarem o plasmídeo da cepa 17-2 de EAEC. Esta enterotoxina, é uma proteína codificada pelo gene *astA*, cuja seqüência de aminoácidos apresenta similaridade com a Toxina Termoestável (ST) de ETEC, sendo capaz de induzir aumento da concentração de cGMP intracelular (SAVARINO et al., 1991; SAVARINO et al., 1993). Entretanto, embora possua 50% de homologia com a toxina Termoestável ST-I, EAST-1 é genética e imunologicamente distinta de ST-I (SAVARINO et al., 1996). Em 1996, Yamamoto e Echeverria, relataram que o gene *astA* que codifica para a toxina EAST-1 tem sido encontrado em ETEC de origem humana e animal.

No ano de 1998 foi descoberta uma enterotoxina termolábil, de 108 KDa, localizada em um plasmídeo de 65 MDa, a qual foi denominada “*Plasmid encoded toxin*” (Pet), capaz de causar acúmulo de fluido e lesões necróticas e hemorrágicas no teste da alça ligada de intestino de rato, que contribui para a patogênese de EAEC (ESLAVA et al., 1998), e é necessária para induzir cepas de EAEC a danificar a mucosa intestinal humana (HENDERSON et al., 1999).

Igualmente foi descrita, ao estudarem a cepa 042 de EAEC, uma proteína extracelular denominada “*Protein Involved in Colonization*” (Pic), que pode estar envolvida na patogênese entérica de cepas de EAEC (HENDERSON et al., 1999) e é capaz de degradar a mucina e causar hemaglutinação dos eritrócitos (HENDERSON et al., 1999; BEHRENS et al., 2002).

Diversos autores afirmam que embora alguns genes, como *shf*, *aspU* e *irp2*, frequentemente serem encontrados em cepas de EAEC, a função das proteínas

codificadas ainda não estão totalmente esclarecidas (CZECZULIN et al., 1999; GIOPPO et al., 2000; OKEKE et al., 2000; SUZART et al., 2001; ELIAS et al., 2002).

Cepas de EAEC estão associadas com casos de diarreia em crianças de países desenvolvidos (NATARO e KAPER, 1998), são capazes de aderir às mucosas do intestino delgado e grosso (NATARO e KAPER, 1998) e parecem estar associadas a casos crônicos de diarreia (diarreia protraída), por pelo menos 14 dias com presença de sangue em pelo menos 11% dos casos (FRANCO e LANDGRAF, 1996; MENG et al., 2001).

Um dos métodos de detecção e diagnóstico de EAEC é o ensaio de adesão às células Hep-2, que evidencia o padrão característico de Aderência Agregativa (AA) lembrando a disposição de tijolos empilhados (RODRIGUEZ-ANGELES, 2002). Outra técnica, como a sonda AA, que consiste em um fragmento críptico de 1 Kb do plasmídeo identificado na cepa 17-2 (sorotipo O3:H2) de EAEC, tem sido largamente utilizada para a detecção de EAEC (BAUDRY et al., 1990). Uma outra sonda genética, desenvolvida a partir de um fragmento de um plasmídeo de cepas isoladas de um caso de diarreia infantil na Índia (DEBROY et al., 1994), foi avaliada em estudos com amostras de cepas de EAEC no Brasil, México, Chile e Índia, no entanto, embora, esta sonda seja mais sensível, a sonda descrita por Baudry et al. (1990) continua sendo vastamente empregada para a detecção de EAEC (FARUQUE et al., 1992; PAUL et al., 1994; GIOPPO et al., 2000; OKEKE et al., 2000).

Adicionalmente aos ensaios de adesão às células Hep-2 e aos ensaios abrangendo sondas de DNA, Albert et al. (1993), ao estudarem cepas de EAEC, observaram a formação de uma película na superfície da cultura, quando cultivadas em caldo Mueller-Hinton. Essa película confirmada através da coloração com Giemsa demonstra a capacidade dessas bactérias em formar biofilmes (NATARO e KAPER, 1998).

Adicionalmente aos ensaios acima citados para a detecção de cepas de EAEC, Schmidt et al. (1995) tem desenvolvido uma seqüência de iniciadores para a detecção da seqüência genética associada à AA através da técnica de PCR (NATARO e KAPER, 1998).

2.6.1.2 *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC)

Em 1977, pela primeira vez, a atividade biológica de *E. coli* verocitotoxigênica (VTEC) foi observada por sua capacidade de causar danos em culturas de células Vero (células provenientes de rim de macaco verde africano) (KONOWALCHUK et al., 1977). Em 1983, a toxina foi purificada no sorotipo O26:H11 (cepa H30) e era semelhante à Toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* Tipo I. A Verotoxina (VT), identificada em *E. coli* verocitotoxigênica (VTEC) e a Shiga-like Toxin (SLT), identificada em *E. coli* produtora da Toxina Shiga (STEC ou SLTEC) são termos similares (O'BRIEN et al., 1983). Em 1987, Levine, utilizou o termo *E. coli* enterohemorrágica para cepas que produzem as mesmas características clínicas, epidemiológicas e patogênicas associadas com *E. coli* O157:H7 e produzem colite hemorrágica (HC) e síndrome urêmica hemolítica (SUH) (LEVINE, 1987).

Cepas de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), especificamente o sorotipo O157:H7, causando diarreia e emergindo como importante causa de doença entérica e renal no homem, têm sido descritas, em diferentes espécies de animais, especialmente associada à espécie bovina (FENG, 1996; ALTEKRUSE et al., 1997; TAUXE, 1997). No entanto, os sorogrupos enterohemorrágicos O26:H11, O111:H8, O103:H2, O113:H21 e O104:21 já foram isolados em vários outros países (MICHANIE, 2003). Epidemias e endemias causadas por *E. coli* enterohemorrágica, em sua maioria, está associada ao consumo de carne moída mal passada ou outros produtos derivados da carne, assim como de leite cru e sucos de frutas contaminados com fezes de bovinos (MURRAY et al., 1998).

A infecção causada por cepas de *E. coli* enterohemorrágica O157:H7, segundo diversos autores, pode desencadear um quadro de Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT), caracterizada por uma anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, manifestações neurológicas, insuficiência renal e febre (MENG et al., 2001; SCARCELLI e PIATTI, 2002).

Duas classes de Shiga Toxina já foram identificadas, a Shiga Toxina 01 (Stx1) e a Shiga Toxina 02 (Stx2) (ARTHUR et al., 2002). Cada toxina é composta por uma subunidade A (35 KDa) e cinco subunidades B (10,7 KDa) (GYLES, 1992). Segundo estudos a subunidade A das toxinas STx1/ VT1 e STx 2/ VT2 possuem 57% de seqüência idêntica de aminoácidos e a subunidade B, 60% de seqüência idêntica de aminoácidos (GYLES, 1992; TAKEDA et al., 1993). Segundo estimativas realizada

pelo “Center of Disease Control (CDC)”, *E. coli* O157:H7 causa, anualmente nos Estados Unidos, aproximadamente 73.400 casos de infecção, com 60 casos associados à morte (MURRAY et al., 1998; SCARCELLI e PIATTI, 2002; SCHROEDER et al., 2002).

2.6.1.3 *E. coli* Enteroinvasora (EIEC)

Em 1987 Levine, destacou a importância de *E. coli* enteroinvasora (EIEC) como um agente causador de diarreia em países em desenvolvimento e que pode provocar um quadro clínico de disenteria semelhante à provocada por *Shigella* spp. De modo geral, *E. coli* Enteroinvasora inclui um grupo relativamente pequeno de sorogrupos, destacando-se: O28, O29, O112, O121, O124, O135, O136, O143, O144, O152, O164, O167 e O173 (LEVINE, 1987; MARTINEZ, 2008), são bioquímicas atípicas, sendo lactose negativas ou utilizam fracamente a lactose, são frequentemente imóveis, não possuem a capacidade de descarboxilar a lisina e não possuem flagelos, (HOBBS e ROBERTS, 1992; FRANCO e LANDGRAF, 2000). Cepas de EIEC e *Shigella* são semelhantes bioquímica e antigenicamente, no entanto, a principal diferença entre elas está relacionada com o potencial patogênico, pois para causar doenças EIEC requer em torno de 10^9 células e *Shigella* menos de 10^3 células (SMALL e FALKON, 1988).

De modo geral, os sintomas da doença causados por EIEC são semelhantes aos de *Shigella* e a característica de invasão, que ocorre em cepas de EIEC e *Shigella*, está associada à presença de um plasmídeo (plasmídeo de Invasão – pInv) (SILVA et al., 1982; PADHYE e DOYLE, 1992) de alto peso molecular (140 MDa), que contém um gene que codifica para uma proteína de membrana externa, que, acredita-se, sejam responsáveis pela invasão das células epiteliais (PADHYE e DOYLE, 1992).

O teste de Sereny é um dos ensaios realizados para a detecção de EIEC. Neste ensaio a ceratoconjuntivite provocada por cepas de EIEC, que são inoculadas nos olhos de cobaias albinas, demonstra a capacidade de invasão (SERÉNY, 1963). O fragmento *ial* de 2.5 Kb isolado de um plasmídeo de Invasão (pInv) de uma cepa de EIEC (SMALL e FALKON, 1986), tem demonstrado ser eficaz na diferenciação de cepas de EIEC com outras categorias de *E. coli* nos ensaios de PCR multiplex (NATARO e KAPER, 1998).

2.6.1.4 *E. coli* Enteropatogência (EPEC)

Cepas de *E. coli* enteropatogênica (EPEC) têm sido uma das maiores causas de diarreia aguda infantil em países em desenvolvimento (GOMES et al., 1991; NATARO e KAPER, 1998; KAPER et al., 2004), e frequentemente está associada a casos de diarreia persistente (BHAN et al., 1989; SCALETSKY et al., 1999; FAGUNDES-NETO e SCALETSKY, 2000). No entanto, muitos adultos considerados portadores não apresentam os sintomas da doença, levando a crer que a imunidade adquirida ocorre com o passar do tempo [(WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC WORKING GROUP, WHOSWG, 1980; PADHYE e DOOYLE, 1992; MENG et al., 2001)]. Em geral, a prevalência de óbitos é superior a 30%, quando a diarreia é causada por EPEC (LEVINE e EDELMAN, 1984).

No Brasil, cepas de EPEC são responsáveis por mais de 30% dos casos de diarreias em crianças (GOMES et al., 1991) e causam mais de 200.000 óbitos anuais de crianças (GOMES et al. 1989; GOMES et al., 1991).

De modo geral, *E. coli* enteropatogênica inclui um grupo relativamente pequeno de sorogrupos. Os principais sorotipos de EPEC implicados a doenças no homem são: O55:H6, O86:H34, O111:H2, O114:H2, O119:H6, O126:H2, O127:H6, O128:H2 e O142:H6 (LEVINE, 1987; GOMES et al., 1989; ROSA et al., 1998; TRABULSI et al., 2002).

Cepas clássicas de EPEC carregam o gene *eaeA*, localizado numa ilha de patogenicidade conhecida como “*Locus of Enterocyte Effacement*” (LEE) e são negativas para Toxina Shiga e as enterotoxinas ST e LT (DONNENBERG, 1995). O gene *eaeA*, codifica para uma proteína chamada intimina de 94 KDa, que facilita a adesão do organismo à célula epitelial e é responsável pela aderência íntima e a lesão “*Attaching and Effacing*” (A/E) (JERSE et al., 1990; DONNENBERG, 1995). A aderência íntima dá início ao processo da lesão “*Attaching and Effacing*” (A/E), e caracteriza-se pela existência de um espaço mínimo de 4 nm entre a bactéria e a célula hospedeira (MOON et al., 1983), e pela destruição das microvilosidades intestinais, aderência íntima e uma acentuada reorganização das proteínas do citoesqueleto dos enterócitos, resultando no surgimento de estruturas na forma de pedestais sobre as quais cepas de EPEC encontram-se intimamente aderidas (NATARO e KAPER, 1998). O plasmídeo EAF acolhe o grupamento de genes *bfp* (“*Bundle Forming Pilus*”) (NATARO e KAPER, 1998).

Os determinantes genéticos responsáveis pela produção da lesão A/E localizam-se em uma ilha de patogenicidade chamada “*Locus of Enterocyte Effacement*” (LEE) (Mc DANIEL et al., 1995). Ao contrário da maioria das cepas de EPEC típicas, cepas de EPEC atípicas, são definidas pela ausência do plasmídeo EAF (“*EPEC Adherence Factor*”) (KAPER, 1996), e expressam fatores de virulência que não são codificados na região LEE (TRABULSI et al., 2002). Outra característica que diferencia cepas atípicas de EPEC é o padrão de aderência em cultura de células epiteliais. Cepas clássicas ou típicas de EPEC são caracterizadas devido o seu padrão de “*Adesão Localizada*” (AL) em células epiteliais (SCALETSKY et al., 1984), enquanto cepas atípicas de EPEC podem apresentar o padrão de adesão conhecida como “*Localized-like Adherence*” (LAL) (RODRIGUES et al. (1996), “*Diffuse Adherence*” (DA) ou “*Aggregative Adherence*” (AA) (TRABULSI et al., 2002).

Três fatores associam a virulência às cepas de EPEC: a capacidade de adesão à mucosa do intestino, a invasão das células epiteliais (DONNENBERG et al., 1989; MILIDIS et al., 1989) e a destruição das microvilosidades das células epiteliais intestinais, sendo esta adesão mediada pelo plasmídeo EAF (FLETCHER et al., 1990).

2.6.1.4 *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC)

A importância clínica na infecção humana, causada por cepas de ETEC, foi estabelecida na década de 70, a partir da infecção deste organismo como causa de diarreia endêmica na Ásia (SACK, 1975). Cepas de *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) são a maior causadora de diarreia infantil em países em desenvolvimento e representam o agente mais frequentemente responsável pela diarreia dos viajantes (HART et al., 1993).

A transmissão de ETEC ocorre principalmente pela via fecal-oral, sendo veiculadas por alimentos e águas contaminados (LEVINE, 1987). Os sintomas causados por infecção causada por cepas de ETEC são geralmente diarreias aquosas, vômitos, dores abdominais, náuseas e febre baixa, e são similares àqueles causados por cólera, mas mais brandos. De modo geral, a diarreia secretora causada por cepas de ETEC desenvolve-se após um tempo médio de duração de um a dois dias e persiste por um período médio de 3 a 4 dias (MURRAY et al., 1998).

A principal característica desta categoria é a capacidade de produzir dois tipos de enterotoxinas, isoladamente ou simultaneamente: toxina termoestável (ST) e toxina termolábil (LT) (LEVINE, 1987) restritas a uma grande diversidade de sorotipos:

O6:H16, O8:H9, O25:H7, O78:H12, O128:H12, O128:H21, O148:H28 e O153:H45 (GUTH, 2008).

As enterotoxinas ST foram classificadas em 02 subgrupos, segundo suas propriedades químicas: ST-I ou STa e ST-II ou STb (DREYFUS et al., 1983). As toxinas ST-I compreendem peptídeos pequenos de 18 a 19 aminoácidos, solúveis em metanol, resistentes ao calor, a ácidos, detergentes e a diversas proteases. A síntese de ST-I é codificada por genes localizados em um transposon (SO e McCARTHY, 1980) e pequenas alterações na seqüência de aminoácidos e de nucleotídeos da toxina definiu variantes genéticas, identificadas em amostras de origem bovina ou suína (ST-Ip), e em amostras de origem humana (ST-Ih) (MOSELEY et al., 1983). O receptor da toxina ST-I é a Guanina Ciclase (Tipo C), uma proteína transmembrana, pertencente à família de receptores de ciclase, localizada na região apical dos enterócitos (RUDNER et al., 1996). Esta união leva a ativação da enzima Guanilato Ciclase, promovendo o aumento dos níveis intracelulares de GMP cíclico, que por sua vez ativa os canais de cloro e sódio, desregulando o fluxo de íons e de água (HUGHES et al., 1978).

Por sua vez, a enterotoxina ST-II é insolúvel em metanol, e embora, o seu mecanismo de ação não seja ainda bem conhecido, sabe-se que não envolve o aumento de nucleotídeos cíclicos (SEARS e KAPER, 1996). No entanto, Chao e Dreyfus (1997) sugerem uma interação da toxina com lipídeos de membrana, ou com a bicamada de membrana ao invés da ligação com um receptor protéico específico. A produção da ST-II é codificada por genes plasmidiais (LEE et al., 1983) e, sua ocorrência também têm sido demonstrada em amostras de origem humana, embora esteja associada principalmente à diarreia de suínos (NAGY et al., 1990; LORTIE et al., 1991; OKAMOTO et al., 1993).

A enterotoxina LT compreende proteínas de alto peso molecular (~ 85 KDa), compostas por uma subunidade central A (28 KDa) e cinco subunidades periféricas B (11,5 KDa cada uma) (STREATFIELD et al., 1992). Duas classes principais foram descritas: LT- I e LT- II (SPANGLER, 1992). A expressão da enterotoxina LT é mediada por genes plasmidiais (DALLAS et al., 1979) e duas variantes antigênicas LT-Ip e LT-Ih já foram descritas, isoladas, respectivamente de amostras de cepas de ETEC de origem suína e de origem humana (HONDA et al., 1981). A enterotoxina LT-I é funcional, estrutural e imunologicamente semelhante à toxina da cólera (CT). Dallas e Falkow (1980) encontraram 79% de homologia ao comparar a seqüência de aminoácidos entre CT e LT – I. No entanto, os sintomas causados de infecções causadas

por cepas de ETEC são mais brandos quando comparados às infecções por cepas de *Vibrio cholerae*, em consequência às diferenças no processo de secreção da toxina para o meio extracelular (HIRST et al., 1984). Variantes antigênicas da enterotoxina LT-II foram descritas em fezes de búfalo na Tailândia (GREEN et al., 1983) e em amostras de origem humana e de alimentos (GUTH et al., 1986; CERQUEIRA et al., 1994; FRANCO et al., 1991). A enterotoxina LT-II possui estrutura e mecanismo de ação similar à LT-I. No entanto, a análise da seqüência de aminoácidos entre as subunidades A de LT-I/, Toxina colérica e LT-II demonstra homologia de 55% e nenhuma homologia entre as subunidades B (PICKETT et al., 1987).

A presença de antígenos hospedeiro-específicos, denominados de fatores de Colonização (CFs) está relacionada à capacidade de cepas de ETEC aderir a receptores específicos presentes na mucosa intestinal, colonizando-a (GAASTRA e SVENNERHOLM, 1996). Os genes codificadores destes vários CFs estão localizados em plasmídeos, que geralmente contém os genes para as toxinas LT-I e ST-I (NATARO e KAPER, 1998). Em 1996, Gaastra e Svennerholm (1996), sugeriram a utilização do sistema de classificação de CFs por McConnell, de designar estes fatores de CS (Antígeno de Superfície de Coli) seguidos de um número que representa a sua ordem cronológica de identificação.

As adesinas, ou Fatores de Colonização (CF) e as enterotoxinas são os principais fatores de virulência expressos por cepas de ETEC (WOLF, 1997). A partir de cepas de ETEC isoladas de humanos, cerca de 20 CFs distintos foram descritos, sendo a maioria formado por fímbrias e constituída por um único antígeno, como o CFA/I, o primeiro CF de ETEC descrito na literatura. Entretanto, outros CFs, como o CFA/II e CFA/IV, formados por um complexo de diferentes antígenos chamados de CS (coli surface), são conhecidos (EVANS et al., 1975).

De modo geral, a colonização do intestino por cepas de ETEC ocorre por meio de adesinas fimbriais e afimbriais, geralmente chamadas Fatores de Colonização Antigênicos (CFA). Os CFA possuem natureza fimbrial, mediam a colonização intestinal e são encontrados na superfície de cepas ETEC. Embora CFA/I, CFA/II e CFA/IV sejam mais prevalentes (Evans e Evans, 1978), um grande número de antígenos fimbriais tem sido caracterizado: CFA/I, CFA/II, CFA/III, entre outros (PICHEL et al., 2002).

2.7 Avaliação do perigo da presença de *E. coli* em ambientes aquáticos

Em 2003, a Organização Mundial da Saúde publicou que um dos perigos, dentre outros, encontrados e associados com o uso dos ambientes de águas costeiras e de água doce com fins recreacionais está relacionado com a qualidade da água. Isto é devido à contaminação dos ecossistemas aquáticos por esgoto não tratado, efluentes tratados insatisfatoriamente e à exposição aos microrganismos patogênicos (WHO, 2003). Nas águas oceânicas, as correntes marítimas e as atividades antrópicas são os principais responsáveis pela distribuição dos microrganismos. No entanto, as doenças infecciosas podem ocorrer por contato durante o uso recreacional ou proveniente das atividades ocupacionais, embora se saiba que a ingestão de alimentos de origem marinha é a principal via de exposição do homem aos microrganismos (NRC, 1999). É necessário, portanto, o acompanhamento microbiológico de alguns grupos bacterianos indicadores de contaminação fecal nos ambientes aquáticos principalmente daqueles suspeitos de receberem descarga de efluentes domiciliares e/ou lançamento de esgoto *in natura* (VIEIRA et al., 1996).

Cepas patogênicas de *E. coli* podem disseminar-se através dos ecossistemas aquáticos (FEDERAL REGISTER, 1989; CRAUM, 1990) e sua presença nestes ambientes requer atenção, pois muitas cepas de *E. coli* são dotadas de um grande número de fatores associados à virulência que variam conforme o patótipo.

Os principais fatores a serem considerados em relação à presença de microrganismos no ecossistema aquático são: a capacidade de replicação; a virulência e infectividade que podem mudar dependendo de sua interação com o hospedeiro e o ambiente; a transferência genética de características como fatores associados à virulência e a resistência aos antibióticos; a disseminação por vias secundárias e terciárias e em alguns casos a baixa dose do microrganismo para causar um efeito severo [FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO, 2003)]. Entretanto, também é necessário considerar os fatores relevantes em relação ao hospedeiro como os genéticos, idade, estado nutricional, estado imune, exposição a infecções prévias; característica da população como acesso e uso de medicamentos, e persistência do organismo na população (FAO/WHO, 2003).

Os impactos da qualidade da água na saúde é uma valiosa ferramenta de avaliação no desenvolvimento de políticas apropriadas para a saúde da população e o desenvolvimento auto-sustentável. A avaliação de riscos microbiológicos está sendo cada vez mais utilizada como um instrumento científico adequado para o gerenciamento de riscos (POND, 2005).

Estudos epidemiológicos são ferramentas essenciais por providenciarem estimativas do risco e dados para os modelos de análise de riscos (FAO/WHO, 2005). Poucos são os estudos caracterizando os isolados de *E. coli* de ambientes aquáticos. Em 1989, um surto causado por *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 em Cabool, resultou em 3 mortes e 240 doentes (PARMELEE, 1990). Nos Estados Unidos, durante os anos de 1985 a 1994, especificamente por *E. coli*, foram reportados 166 casos, com 1 óbito, de doenças associadas ao uso recreacional das águas e 965 casos de infecções gastrintestinais agudas com 11 óbitos (WHO, 1999). Em 2001 e 2002, 65 surtos foram reportados e associados com o uso de água recreacional, nos Estados Unidos, 30 deles estavam associados com gastroenterites causadas por *E. coli* toxigênicas (YODER et al., 2004).

Diversos fatores associados a virulência foram detectados em um estudo com 449 cepas de *E. coli* isoladas de reservatórios de água tratada e não tratada. Neste estudo, de 212 isolados de *E. coli* de água tratada, 9,7% (20/212) continham genes homólogos à seqüência que codificava para ST, 4,2% (9/212) para o gene *eae* e SLT (EHEC). De 237 isolados de *E. coli* de água não tratada, 3,4% (8/237) e 2,5% (6/237) apresentaram seqüência homóloga para as sondas SLTII (EHEC), e ST (ETEC), respectivamente. Apenas um isolado apresentou seqüência homóloga para a sonda LT (ETEC), três isolados reagiram com a sonda *eae* e outros três com a sonda EAF (MARTINS et al., 1992).

Orsi et al. (2007) estudaram 133 cepas de *E. coli* isoladas de amostras de água pela CETESB das Represas Guarapiranga (68) e Billings (65). Neste estudo, três cepas de *E. coli* isoladas da Represa Guarapiranga e três cepas de *E. coli* isoladas da Represa Billings hibridizaram com a sonda AA de EAEC, 2 outras cepas de *E. coli* isolada da Represa Guarapiranga hibridizaram com a sonda LT-I de ETEC, 2 cepas com a sonda *eae* de EPEC e uma cepa hibridizou com a sonda *stx2*.

No estado de São Paulo, Brasil, no período de 1992 a 2002, a avaliação de dados sobre as causas/vias de transmissão de surtos de diarreia, mostrou que dos 1.143 surtos de diarreia, 124 surtos (10,9%) estavam associados à água. Uma análise mais detalhada

para os surtos de diarreia notificados no período de 2000 a 2002 apontou que dos 728 surtos de diarreia envolvendo 17.181 casos, 36 (5%) foram devido exclusivamente à exposição à água [DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR/CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA “PROFESSOR ALEXANDRE VRANJAC”/COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS/SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO (DDTHA/CVE/CCD/SES-SP, 2005)].

A crescente pressão e impactos sobre os ecossistemas aquáticos costeiros, no que se refere à introdução de microrganismos, muitos deles patogênicos, comprovam a necessidade de que se reconheçam os possíveis perigos microbiológicos e as áreas de risco no ambiente aquático costeiro. Pois os mesmos cada vez mais estão sofrendo um processo considerável de degradação ambiental, originado pela sua utilização para a construção de infra-estrutura relacionada ao transporte marítimo, destacando-se neste caso a construção de instalações portuárias tanto para fins comerciais, pesqueiro e para atividades recreativas (portos desportivos), pelo lançamento de esgotos em áreas destinadas à recreação e à prática de atividades ocupacionais, entre outros, bem como, pelo lançamento de água de lastro de navios oriundos de outros países que poderiam conter microrganismos patogênicos exóticos.

E. coli, uma espécie utilizada como indicador de contaminação fecal, oferece uma boa alternativa de estudo modelo para avaliar o perigo microbiológico presente em água de lastro, água de áreas costeiras e amostras de moluscos bivalves nas regiões portuárias brasileiras.

7CONCLUSÕES

- * Indicadores de contaminação fecal como coliformes termotolerantes e *E. coli* foram úteis na avaliação do nível de ação antropogênica em ambientes portuários e amostras de água de lastro.
- * O grau de contaminação fecal em moluscos bivalves, indica o comprometimento da qualidade sanitária das águas do entorno.
- * A presença de isolados de *E. coli* de mostras de água de lastro, de ambientes costeiros portuários e moluscos bivalves resistentes até oito antibióticos constitui um problema para a saúde humana, animal e dos ecossistemas.
- * A presença de isolados de *E. coli* que albergam fatores associados à virulência (*stx2*, ST, EAC, *eae*) (12/331) compromete a qualidade dos ambientes costeiros portuários que são utilizados para fins recreacionais e como lastro de navios.
- * A técnica molecular ERIC-PCR demonstrou mais eficiência na caracterização de isolados de *E. coli* de mostras de água de lastro, de água de regiões portuárias e moluscos bivalves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS⁶

ACHTMAN, M.; PLUSCHKE, G. Clonal analysis of descent and virulence among selected *Escherichia coli*. **Ann. Rev. Microbiol.**, v. 40, p. 185-210, 1986.

ACKMAN, D.; MARKS, S.; MACK, P.; CALDWELL, M.; ROOT, T.; BIRKHEAD, G. Swimming-associated haemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7 infection: evidence of prolonged contamination of a fresh water lake. **Epidemiol. Infect.**, v. 119, p. 1-8, 1997.

AGÊNCIA NACIONAL DE TRANSPORTES AQUAVIÁRIOS. Disponível em: <www.antaq.gov.br/portal/anuários/portuários/Tabelas/embarcações.pdf>. Acesso em: 14 maio 2009.

AKIBA, T.; KOYANA, K.; ISHIKI, Y.; KIMURA, S.; FUKUSHIMA, T. On the mechanism of the development of the multiple drug-resistant clones of *Shigella*. **Japan J. Microbiol.**, v. 4, p. 219, 1960.

ALBERT, M. J.; QADRI, F.; HAQUE, A.; BHUIYAN, N. A. Bacterial clump formation at the surface of liquid culture as a rapid test for identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 31, p. 1397-1399, 1993.

ALM, E. W.; BURKE, J.; SPAIN, A. Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. **Water Res.**, v. 37, p. 3978-3982, 2003.

ALMEIDA, L. P.; LEAL NETO, A. C. Convenção internacional para controle e gestão de água de lastro: consequências para o porto de Suape. SEMINÁRIO SOBRE MEIO AMBIENTE MARINHO, 5., 2005, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Engenharia Naval, 2005.

AL-MOSSAWI, M.A.J.; KADRI, M.; SALEM, A.; SALAMA, M. Incidence of antibiotic resistant fecal coliforms in the coastal waters of Kuwait. **Water Air Soil Pollut.**, v.17, p. 141-149, 1982.

ALTEKRUSE, S. F.; COHEN, M. L.; SWERDLOW, D. L. Emerging foodborn diseases. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 3. p. 1-12, 1997.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Microbiological examination. **Microbiological Examination of water and Wastewater**. 20th ed. Washington, DC: APHA, AWWA, WEF, 1998.

⁶ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAM WATER WORK ASSOCIATION; WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. **Standard Methods of the experimenation of Water and Wasterwater**. 14 ed. New York: APHA, 1985. 1268 p.

ARTHUR, T. M.; BARKOCY-GALLAGHER, G. A.; KOOHMARAIE, M. Prevalence and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on carcasses in commercial beef cattle processing plants. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, p. 4847-4852, 2002.

ASHBOLT, N. J. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. **Toxicology**, v. 198, p. 229-238, 2004.

AVORN, J.; SOLOMON, D. H. Cultural and economic factors thet (mis)shape antibiotic use: the nonpharmacologic basis of therapeutics. **Ann. Intern. Med.**, v.133, p. 128-135, 2000.

BARRAGAN MUÑOZ, J. M. **Puerto, ciudad y espacio litoral em la Bahía de Cádiz**. Salamanca: Autoridad Portuária de la Bahía de Cádiz, 1995.

BARRAGAN MUÑOZ, J.M. **La gestión de áreas litorales en España y Latinoamérica**. Cádiz: Universidad de Cádiz, 2005.

BAUDRY, B.; SAVARINO, S. J.; VIAL, P.; KAPER, J. B.; LEVINE, M. M. A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative *Escherichia coli*, a recently discovered diarrheal pathogen. **J. Infect. Dis.**, v. 161, p. 1249-1251, 1990.

BAYA, A.M.; BRAYTON, P.R.; BROWN, V.L.; GRIMES, D.J.; RUSSEK-COHEN, E.; COLWELL, R.R.. Coincident plasmids and antimicrobial resistance in marine bacteria isolated from polluted and unpolluted Atlantic Ocean samples. **Appl. Environ. Micro.**, v. 51, p. 1285-1292, 1986.

BEHRENS, M.; SHEIKH, J.; NATARO J. P. Regulation of the overlapping *pid set* locus in *Shigella flexneri* and enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 2915-2925, 2002.

BERNIER, C.; GOUNON, P.; BOUGUÉNEC. C. Identification of an aggregative adhesion fimbria (AAF) type III-encoding operon in enteroaggregative *Escherichia coli* as a sensitive probe for the AAF-encoding operon family. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 4302-4311, 2002.

BHAN, M. K.; RAIJ, P.; LEVINE, M. M. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. **J. Infect. Dis**, v. 159, p. 1061-1064, 1989.

BIRNBOIM, H. C.; DOLY, J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. **Nucleic Acids Res.**, v. 7, p. 1513-1523, 1979.

BLACK, R. E. Epidemiology of traveler's diarrhea and relative importance of various pathogens. **Rev. Infect. Dis.**, v. 12, S73-S79, 1990.

BONDE, G J. Bacteria Indicators of water pollution. **Adv. Aquatic Microbial.**, v. 1, p. 273-364, 1977.

BOSCH, A.; SANCHEZ, G.; LE GUYADER, F.; HAUGARREAU, L.; PINTO, R. Human enteric viruses in Coquina clams associated with large hepatitis A outbreak. **Water Sci. Technol.**, v. 43, p. 61-65, 2001.

BRASIL. Ministério da Marinha. **Diretrizes para o controle e gerenciamento da água de lastro dos navios para minimizar a transferência de organismos aquáticos nocivos e agentes patogênicos.** Resolução A.868(20)-IMO, Diretoria de Portos e Costas (DPC). Brasília: Marinha do Brasil, 1998. 25 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 217, de 21 de novembro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico, anexo a esta Resolução, com vistas à promoção da vigilância sanitária nos Portos de Controle Sanitário instalados no território nacional, embarcações que operem transportes de cargas e ou viajantes nesses locais, e com vistas a promoção da vigilância epidemiológica e do controle de vetores dessas áreas e dos meios de transporte que nelas circulam. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 de dezembro de 2001.

BRASIL. Água de lastro. ANVISA. Projetos GGPAF 2002 (in: <http://www.anvisa.gov.br/paf/index.htm>).

BRASIL. *Portaria Nº 52/DPC, de 14 de junho de 2005.* Norma da Autoridade Marítima para o gerenciamento da água de lastro de navios. Diretoria de Portos e Costas (DPC), Marinha do Brasil. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, Nº 121, 27 jun. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Serviço de Inspeção de produtos Animais. **SERPA – SC.** Informação DIPES Nº 097/88, Brasília, DF. 1988.

BRENNER, D. J. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Baltimore: Williams e Wilkins, 1984. p. 408-423.

BRITO, B. G.; VIDOTTO, M. C.; BERBEL M. M.; TAGLIARI, K. C. Fatores de virulência presentes em amostras de *Escherichia coli* uropatogênicas – UPEC para suínos. **Ciência Rural**, v. 34, p. 645-652, 2004.

BRYAN, L.E. General mechanisms of resistance to antibiotics. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 22, p. 1-15, 1988.

CABELLI, V. J. Swimming-Associated Illnesses and Recreational Water Quality Criteria. **Water Sci. Technol.**, v. 21, p. 13-21, 1989.

CARLTON J. T. Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organism: the biology of ballast water. **Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.**, v. 23, p. 313-371, 1985.

CARLTON, J.T. **Introduced species in U.S. coastal waters: Environmental impacts and management priorities.** Arlington, VA: Pew Oceans Commission, 2001.

CARLTON, J.T.; GELLER, J.B. Ecological roulette: The global transport of nonindigenous marine organisms. **Science**, v. 261, p. 78-82, 1993.

CEBULA T.A.; PAYNE, W.L.; FENG, P. Simultaneous identification of strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and their Shiga-like toxin type by mismatch amplification mutation assay–multiplex PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 248–250, 1995.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. **Surveillance for waterborne disease outbreaks.** United States: MMWR, v. 42, p.1-22, 1993.

CERQUEIRA, A. M. F; TIBANA, A.; GOMES, T. A. T.; GUTH, B. E. C. Search for LT-II and ST-b DNA sequences among *Escherichia coli* isolated from bovine meat products by colony hybridization. **J. Food. Protect.**, v.57, p. 734-736, 1994.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de águas litorâneas do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias.** São Paulo: CETESB, 2004.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos.** São Paulo: CETESB, 1990. (Série Manuais).

CHAO, K. L.; DREYFUS, L. A. interactions of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin B with cultured human intestinal epithelial cells. **Infect. Immun.**, v. 65, p. 3209-3217, 1997.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 66 p. 4555-4558, 2000.

COLLIN, B.; REHNSTAM-HOLM, A. S.; HERNROTH, B. Faecal contaminants in edible bivalves from Maputo Bay, Mozambique; seasonal distribution, pathogenesis and antibiotic resistance. **Open Nutr. J.**, v.2, p. 86-93, 2008.

COLWELL, R.R. Bacteria and viruses, indicators of environmental changes occurring in the estuaries. **Environ. Int.**, v.1, p. 223–231, 1978.

COMISSÃO NACIONAL INDEPENDENTE SOBRE OS OCEANOS. **O Brasil e o Mar no Século XXI**. Rio de Janeiro: Editora Comis. Nac. Indep. sobre os Oceanos, 1998.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução N° 274**, 29 de novembro de 2000. São Paulo: CONAMA, 2000.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução No 357**, 17 de março de 2005. São Paulo: CONAMA, 2000.

COOKE, E.M. *Escherichia coli* – an overreview. **J. Hyg.**, v. 95, p. 523- 530, 1985.

CRAUN, G. F. **Causes of waterborne outbreaks in the United States**. In: American Water Works Association. Water Quality Technology Proceedings. Denver: AWWA, 1990. p. 149-152.

CRAVIOTO, A.; GROSS, R. J.; SCOTLAND, S. M.; ROWE, B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. **Curr. Microbial.**, v. 3, p. 95-99, 1979.

CZECZULIN, J.; BALEPUR, S.; HICKS, S.; PHILLIPS, A. D.; HALL, R.; KOTHARY, M. H.; NAVARRO-GARCIA, F.; NATARO, J. P. Multiple fimbrial antigens confer aggregative adherence in enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 65, p. 4135- 4145, 1997.

CZECZULIN, J.; WHITTAM, T. S.; HENDERSON, I. R.; NAVARRO-GARCIA, F.; NATARO, J. P. Phylogenetic analysis of enteroaggregative and diffusely adherent *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 2692- 2699, 1999.

DALLAS, W.S.; GILL, D.M.; FALKOW, S. Cistrons encoding *Escherichia coli* heat-labile toxin. **J. Bacterial.**, v. 139, p. 850-858, 1979.

DALLAS, W.S.; FALKOW S. Amino acid sequence homology between cholera toxin and *Escherichia coli* heat-labile toxin. **Nature**, v. 288, 499–501, 1980.

DANKFORT, J. **Renovação urbana em áreas portuárias**: estudo de caso. Rio de Janeiro: Secretaria Municipal de Cultura, 1994. v. 3, n. 4-5, p. 96-114. (Cadernos do Patrimônio Cultural).

DATTA, N.; OLRATE, R. Factors in Strains of *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* 1 Isolated During Epidemics in Mexico: Classification by Compatibility. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 5, p. 310-317. 1974.

DAVID, M.; GOLLASCH, S.; CABRINI, M.; PERKOVIČ, M.; BOŠNJAK, D.; VIRGILIO, D. Results from the first ballast water sampling study in the Mediterranean Sea – the Port of Koper study. **Mar. Poll. Bull.**, v. 54, n. 1, p. 53-65, 2007.

DEBROY, C.; BRIGHT, B.D.; WILSON, R.A.; YEALY, R.D.; YUMAR, R.; BHAN, M.K. Plasmid-coded DNA fragment developed as a specific gene probe for the identification of enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Med. Microbiol.**, v.41, p. 393-398, 1994.

DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR. CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA “PROFESSOR ALEXANDRE VRANJAC”. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. **Doença diarréica e outras relacionadas à transmissão hídrica e alimentar: aspectos programáticos, metodológicos e situação epidemiológica**. São Paulo: Secretaria do Estado da Saúde, setembro, 2005. Ano 2, n. 21.

DONNENBERG, M. S. Enteropathogenic *Escherichia coli*. In: BLASER, M. J.; RAUDIN, J. L.; GREENBERG, H. B.; GUERRANT, R. L. **Infections of the gastrointestinal tract**. [S.l.]: Raven Press, 1995. p. 709-726.

DONNENBERG, M. S.; DONOHUE-ROLFE, A.; KEUSCH, G. T. Epithelial cell invasion: an over-looked property of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) associated with the EPEC adherent factor. **J. Infect. Dis.**, v.160, p. 453-459, 1989.

DONNENBERG, M. S.; WHITTAM, T. S. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. **J. Clin. Invest.**, v. 107, p. 539-48, 2001.

DREYFUS, L. A.; FRANTZ, J. C.; ROBERTSON, D. C. Chemical properties of heat-stable enterotoxins produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* of different host origins. **Infect. Immun.**, v. 2, p. 539-548, 1983.

DUBSKY, K. Marine Environment; Coastal Zones. In: LAMMERS P. E. M.; GILBERT, A. J. (Ed.). **Towards Environmental Pressure Indicators for the EU – Indicator Definition**. Ireland: Vrije Universiteit Amsterdam, Institute for Environmental Studies for European Commission/ Eurostat. Coastwatch Europe Network, 1999. p. 63-72.

DUFOUR, A. P. *Escherichia coli*: The fecal coliform. In: HOADLEY, A.W.; DUTKA, B.J. (Ed.). **Bacterial Indicators. Health Hazards Associated with Water**. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1977. p. 48-58.

DUFOUR, A.P. Bacterial indicators of recreational water quality. **Can. J. Publ. Health.**, v.75, p. 49-56, 1984.

EDWARDS, P. R. AND EWING, W. H. **Identification of Enterobacteriaceae**. 4 ed. New York: Elsevier Science Publishing, 1986. 245 p.

ELIAS, W. P.; UBER, A. P.; TOMITA, S. K.; TRABULSI, L. R.; GOMES, T. A. Combinations of putative virulence markers in typical and variant enteroaggregative *Escherichia coli* strains from children with and without diarrhoea. **Epidemiol. Infect.**, v. 129, p. 49-55, 2002.

EL- SABH, M.; DEMERS, S.; LAFONTAINE, D. Coastal Management and Sustainable Development: From Stockholm to Rimouski. **Ocean Coast. Manage.**, v. 39, p. 1-24, 1998.

ENDRESEN, Ø.; SØRGÅRD, E.; BEHRENS, H.L.; ANDERSEN, A.B. How much ballast. In: _____. **Ballast Water News**. Local: Global Ballast Water Management Programme, 2003. Issue 14, p. 6-7.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA. SANTA CATARINA SA. **Manual do cultivo do mexilhão *Perna perna***. Santa Catarina: EPAGRI, 1994.

ESLAVA, C.; NAVARRO-GARCIA, F.; CZECZULIN, J.; HENDERSON, I. R.; CRAVIOTO, A.; NATARO, J. P. Pet, na autotransporter enterotoxin from enteroaggregative *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 3155-3163, 1998.

EVANS D.G.; EVANS, D.J. JR. New Surface-Associated Heat-Labile Colonization Factor Antigen (CFA/II) Produced by Enterotoxigenic *Escherichia coli* of Serogroups O6 and O8. **Infect. Immun.**, v.21, p. 638-647, 1978.

EVANS, D.G.; SILVER, R.P.; EVANS, JR, D.J.; CHASE, D.G.; GORBACH, S.L. Plasmid-controlled colonization factor associated with virulence in *Escherichia coli* enterotoxigenic for humans. **Infec. Immun.**, v. 12, p. 656-667, 1975.

FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I.C. The gut at war: the consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition. **Med. J.**, v. 118, p. 21-29, 2000.

FALCONER, I.R. (Ed.). **Algae toxins in seafood and drinking water**. San Diego: Academic Press, 1993.

ORGANIZATION INTERNACIONAL DES EPIZOOTIES; WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH; WORLS HEALTH ORGANIZATION; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial usage and Antimicrobial Resistance**: Scientific Assessment proceedings. Geneve: FAO/OIE/WHO, 2003. p.41.

FARUQUE, S. M.; HAIDER, K.; RAHMAN, M. M.; ABDUL-ALIM, A. R. M.; BAQUI, A. H.; AHMAD, Q.S. Evaluation of a DNA probe to identify enteroaggregative *Escherichia coli* from children with diarrhea in Bangladesh. **J. Diarrhoeal. Dis. Res.**, v. 10, p. 31-34, 1992.

FAYER, R.; GAMBLE, H.R.; LICHTENFELS, J.R.; BIER, J.W. Waterborne and foodborne parasites. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3th ed. Washington: DC: APHA, 1992. Chap 41.

FEDERAL REGISTER. Drinking water; national primary drinking water regulation; total coliforms (including fecal coliforms and *E. coli*); final rule. **Fed. Regist.**, v. 54, p. 27544–27568, 1989.

FENG, P. *Escherichia coli* O157:H7: Novel vehicles of infection and emergent of phenotypic variants. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 1, p. 1-9, 1996.

FLETCHER, J. M.; SAUNDERS, J. R.; BATT, R. M.; EMBAYE, H.; GETTY, P.; HART, C. A.; Attaching effacement of the rabbit enterocyte brush border is encoded on a single 96,5 Kilobase-pair plasmid in an EPEC O111 strain. **Infectivity. Immunity**, v. 58, p. 1316-1322, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters**. 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/008/a0252e/a0252e00.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Hazard characterization for pathogens in food and water: guidelines**. Roma: FAO, 2003. 61 p. (Microbiological risk assessment series, n. 3).

FRANCO, B. D. G. M. **Frequência de isolamento e propriedades de *Escherichia coli* enteropatogênica em alimentos**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1983.

FRANCO, B. D. G. M.; GOMES, T. A. T.; JAKABI, M.; MARQUES, L. R. M. Use of probes to detect virulence factor DNA sequences in *Escherichia coli* strains isolated from foods. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 12, p. 333-338, 1991.

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2000. cap. 7, p. 56-89.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 33-81.

GAASTRA, W.; SVENNERHOLM, A.M. Colonization factors of human enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). **Trends Microbiol.**, v. 4, p. 444–452, 1996.

GANNON, J. M.; RASHAD, R.; KING, K.; THOMAS, E. J. G. Detection and characterization of the *eae* gene of shiga-like toxin producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. **J.Clin. Microbiol.**, v. 31, p. 1268–1274, 1993.

GEO BRASIL 2002. **Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil**. Brasília, D. F.: Edições IBAMA, 2002. 440 p.

JOINT GROUP OF EXPERTS ON THE SCIENTIFIC ASPECTS OF MARINE ENVIRONMENTAL PROTECTION. GESAMP. **The contributions of Science to Integrated Coastal Management**. EUA, 1996. IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP. Reports and Studies, n. 61.

JOINT GROUP OF EXPERTS ON THE SCIENTIFIC ASPECTS OF MARINE ENVIRONMENTAL PROTECTION. GESAMP. IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP. **A sea of troubles**. Rep. Stud. GESAMP, n. 70, 2001.

GIOPPO, N. M. R.; ELIAS, W. P.; VIDOTTO, M. C.; LINHARES, R. E.; SARIDAKIS, H. O.; GOMES, T. A. T.; TRABULSI, L. R.; PELAYO, J. S. Prevalence of HEp-2 cells adherent *Escherichia coli* and characterization of enteroaggregative *E. coli* and chainlike adherent *E. coli* isolated from children with and without diarrhea, in Londrina, Brazil. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 190, p. 293-298, 2000.

GOLLASCH, S. **Removal of barriers to the effective implementation of ballast water control and management measures in developing countries**. [s.1]: GEF/IMO/UNDP, 1997. p.151-97.

GOMES, T.A.T.; RASSI, V.; MACDONALD, K.L.; RAMOS, S.R.T.S.; TRABULSI, L.R.; VIEIRA, M.A.M.; GUTH, B.E.C.; CANDEIAS, J.A.N.; IVEY, C.; TOLEDO, M.R.F.T.; BLAKE, P.A. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 164, p. 331-337, 1991.

GOMES, T. A. T.; VIEIRA, M. A. M.; WACHSMUTH, I. K.; BLAKE, P. A.; TRABULSI, L. R. Serotype-specific prevalence of *Escherichia coli* strains with EPEC adherence factor genes in infants with and without diarrhea in São Paulo, Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 160, p. 131-135, 1989.

GREEN, B.A.; NEIL, R.J; RUYECHAN, W.T.; HOLMES, R.K. Evidence that a new enterotoxin of *Escherichia coli* which activates adenylate cyclase in eukaryotic target cells is not plasmid mediated. **Infect. Immun.**, v. 41, p.383-390, 1983.

GRIMES, D.J. "Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: A Review." **Estuaries**, v.14, p. 345–360, 1991.

GRUNSTEIN, M.; HOGNES D. S. Colony hybridization: a method for the isolation of cloned DNAs that contain a specific gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 72, p. 3961-3965, 1975.

GUILLOT, J.F.; CHASLUS-DANCLA, E.; LAFONT, J. P. Spontaneous implantation of antibiotic resistance enterobacteriaceae in the digestive tract of chickens in the absence of selective pressure. **Antimicrobiol. Agents Chemother.**, v. 12, p. 697-702, 1977.

GUNZBURG, S. T.; TORNIEPORTH, N. G.; RILEY, L. W. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 1375-1377, 1995.

GUTH, B.E.C.; TWIDDY, E.M.; TRABULSI, L.R.; HOLMES, R.K. Variation in chemical properties and antigenic determinants among type II heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 54, p.529-536, 1986.

GUTH, B.E.C. *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atneu, 2008.

GYLES, C. L. *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. **Can. J. Microbiol.**, v. 38, n. 1, p. 734-746, 1992.

HALLERGRAEFF, G. M.; BOLCH, C. J. Transport of distom and dinoflagellate resting spores in ships ballast water: implication for plankton biogeography and aquaculture. **J. Plankton Res.**, v.14, p.1067-1084, 1992.

HART, C. A.; BATT, R. M.; SAUNDERS, J. R. Diarrhoea caused by *Escherichia coli*. **Ann. Trop. Paediatr.**, v.13, p. 121-131, 1993.

HAYES, K. R.; SLIWA, C. Identifying potential marine pests – a deductive approach applied to Australia. **Mar. Poll. Bull.**, v. 46, p. 91-98, 2003.

HEINEMANN, S.A.; THOMSON, F.K.; HYNES, W.L. Plasmid-Borne Antibiotic Resistance in *Vibrio cholerae* Isolated from Ships' Ballast Water. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MARINE BIOINVASIONS, 3., 2003, La Jolla, California. **Conference...** La Jolla: EUA, 2003.

HENDERSON, I. R.; HICKS, S.; NAVARRO-GARCIA, F.; ELIAS, W. P.; PHILIPS, A. D.; NATARO, J. P. Involvement of the enteroaggregative *Escherichia coli* plasmid-encoded toxin in causing human intestinal damage. **Infect. Immun.**, v. 67, p. 5338-5344, 1999.

HIGGNINS, C. F.; AMES, G. F. L.; BARNES, W. M.; CLEMENT, J. M.; HOFFNUNG, M. A novel intercistronic regulatory element of prokaryotic operons. **Nature**, v. 298, p. 760- 762, 1982.

HIRST, T. R.; SANCHEZ, J.; KAPER, J.B.; HARDY, S. J.; HOLMGREN, J. Mechanism of toxin secretion by *Vibrio cholerae* investigated in strains encode heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 24, p. 7752- 7756, 1984.

HOBBS, B. C. AND ROBERTS, D. **Toxinfecções e Controle Higiênico – Sanitário de Alimentos**. São Paulo: Varela editora, 1992.

HONDA, T.; TSUJI, T.; TAKEDA, Y.; MIWATANI, T. Immunological nonidentifiy of heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 34, p. 337-340, 1981.

HUGRES, J. M.; MURAD, F.; CHANG, B.; GUERRANT, R. L. Role of cyclic GMP in the action of heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. **Nature**, v. 271, p. 755-756, 1978.

HULTON, C.S.J.; HIGGINS, C.F.; SHARP, P.M. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enteric bacteria. **Mol. Microbiol.**, v. 5, p. 825-834, 1991.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Ambientes das Águas no Estado do Rio de Janeiro**. Projeto PLANÁGUASEMADS/ GTZ. Rio de Janeiro, IBGE, 2001. Censo 1991.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. International Convention for the Control and Management of Ship's Ballast Water and Sediments, February 13, 2004. London. Disponível em: <<http://www.imo.org>>. Acesso em: 20 mar. 2008.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. Management of Ship's Ballast Water; Sediments. In: INTERNATIONAL CONVENTION FOR THE CONTROL, 2004, London. IMO, 2004.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. **Guidelines for the control and management of ships' ballast water to minimize the transfer of harmful aquatic organisms and pathogens**. London: IMO, 1997. Resolution A.868 (20).

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION. Compilation of the full texts of the London Convention 1972 and the 1996 Protocol thereto. International Maritime Organisation LC.2/Circular 380, 12. In: CONVENTION ON THE PREVENTION OF MARINE POLLUTION BY DUMPING OF WASTES AND OTHER MATTER, 1972, London. IMO, 1997.

INTERNATIONAL COMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. **Microrganisms in foods their significance e methods of enumeration**. 2. ed. Toronto: University of Toronto Press, 1978. v.1, 434 p.

JAY, J. M. **Microbiologia Moderna de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1994.

JERSE, A. E.; YU, J.; TALL, B. D.; KAPER, J. B. A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesion on tissue culture cells. **Proc. Natl. Ac. Sci.**, v. 87, p. 7839-43, 1990.

JERSE, A.E.; YU, J.; TALL, B.D.; KAPER, J.B. A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 87, p. 7839-43, 1990.

JOACHIMSTHAL, E.L; IVANOV, V.; TAY, J.H.; TAY, T.L.S. Flow cytometry and conventional enumeration of microorganisms in ships' ballast water and marine samples. **Mar. Poll. Bull.**, v. 46, p. 308–313, 2003.

JOACHIMSTHAL, E. L.; IVANOV, V.; TAY, S. T.L; TAY, J. -H. Bacteriological examination of ballast water in Singapore Harbour by flow cytometry with FISH. **Mar. Poll. Bull.**, v. 49, p. 334- 343, 2004.

JOHNSON, J.R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.4, n.1, p.80-128, 1991.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature**, v. 2, p. 123-139, 2004.

KAPER, J. B. Defining EPEC. **Rev. Microbiol.**, v. 27, p. 130-33, 1996. Apresentado no Proceedings of the International Symposium on Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC).

KASPAR, C. W.; BURGESS, J. L., KNIGHT, I. T.; COLWELL, R. R. Antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. **Can. J. Microbiol.**, v. 36, p. 891-894, 1990.

KNIGHT, I.T.; WELLS, C.S.; WIGGINS, B.; RUSSELL, H.; REYNOLDS, K.A.; HUQ, A. Detection and Enumeration of Fecal Indicators and Pathogens in the Ballast Water of Transoceanic Cargo Vessels Entering the Great Lakes . In: GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 1999, Chicago. **Abstract...** Chicago: ASM, 1999. p. 546, Q-71.

KONG, R.Y.C.; LEE, S.K.Y.; LAW, T.W.F.; LAW, S.H.W.; WU, R.S.S. Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine water by multiplex PCR. **Water Res.**, v.36, p. 2802–2812, 2002.

KONOWALCHUK, J.; SPEIRS, J. I.; STAVRIC, S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 18, p. 775-779, 1977.

KORNACKI, J. L.; MARTH, E. H. Food borne illness caused by *Escherichia coli*. A review. **J. Food Prot.**, v. 45: 1051-1067, 1982.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. **FEMS Microbiol. Rev.**, v.24, p.107-117, 2000.

LANNA, A.E. **Gerenciamento de bacia hidrográfica: Aspectos conceituais e metodológicos.** Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos recursos Naturais Renováveis, 1995.

LAVOIE, D.M.; SMITH, L.D.; RUIZ, G.M. The potential for intracoastal transfer of nonindigenous species in the ballast water of ships. **Est. Coast. Shelf Sci.**, v. 48, p. 551-564, 1999.

LEBARON, P.; HENRY, A.; LEPEUPLE, A. S.; PENA, G.; SERVAIS, P. Na operational method for the real-time monitoring of *E. coli* numbers in bathing waters **Mar. Poll. Bull.**, v .50, p.652-659, 2005.

LEE, C. H.; MOSELEY, S. L.; MOON, H. W.; WHIPP, S. C.; GYLES, C. L.; SO, M. Characterization of the gene encoding heat-stable toxin II and preliminary molecular epidemiological studies of enterotoxin *Escherichia coli* heat-stable toxin II producers. **Infect. Immun.**, v. 42, p. 264-268, 1983.

LEVINE, M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. **J. Infect Dis.**, v. 155, p. 377-89, 1987.

LEVINE, M. M.; EDELMAN, R. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. **Epidemiol. Rev.**, v. 6, p. 31-51, 1984.

LICENCE, K.; OATES, K. R.; SYNGE, B. A.; REID, T. M. S. An outbreak of *E. coli* O157 infection with evidence of spread from animals to man through contamination of a private water supply. **Epidemiol. Infect.**, v. 126, p. 135-138, 2001.

LLAQUET, J. L. E. **Los puertos españoles y su relación con las ciudades: un análisis de su reciente evolución.** Portus, Vicenza: La Gráfica; Stampa editrice, 2002. v. 2, n. 4, p. 6-21.

LÓPEZ-PILA, J. M.; SZEWZYK, R. Estimating the infection risk in recreational waters from the faecal indicator concentration and from the ratio between pathogens and indicators. **Water Res.**, v. 34, n.17, p. 4195-4200, 2000.

LORTIE, A. L.; DUBREUIL, J. AD.; HAREL, J. Characterization of *Escherichia coli* strains producing heat-stable enterotoxin b (STb) isolated from humans with diarrhea. **J. Clin. Microbiol.**, v. 29, p. 656-6569, 1991.

MACHADO, I. C.; PAULA, A. M. R. DE; BUZZO, A.; JAKABI, M.; RISTORI, C.; SAKUMA, H. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue *Crassostrea brasiliana*: Análise da ostra (tecidos moles e líquido intervalvar. **Hig. Aliment.**, v. 15, p.44-48, 2001.

MADDEN, J.; CARDELLI, M. C.; REED, B. A. R. *Vibrio cholerae* in shellfish from U.S. coastal waters. **Food Technol.**, v. 36, p. 93-96, 1982.

MARTINEZ, M. B. *Escherichia coli* Enteroinvasora (EIEC) In: TRABULSI, L. R. E.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

MARTINS, M. T.; SANCHEZ, P. S.; SATO, M. I. Z.; BRAYTON, P. R.; COLWELL, R. R. Detection of *Vibrio cholerae* O1 in the aquatic environment in Brazil employing direct immunofluorescence microscopy. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 9, p. 390-392, 1993.

MARTINS, M. T.; RIVERA, I. G.; CLARK, D. L.; OLSON, B. H. Detection of virulence factors in culturable *Escherichia coli* isolates from water samples by DNA probes and recovery of toxin-bearing strains in minimal o-nitrophenol-beta-D-galactopyranoside-4-methylumbelliferyl-beta-D-g luc uronide media. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 58, p. 3095-3100, 1992.

MASS, R. An improved colony hybridization method with significantly increased sensitivity for detection of single genes. **Plasmid.**, v. 10, p. 296-298, 1983.

MC DANIEL, T. K.; JARVIS, K. G.; DONNENBERG, M. S.; KAPER, J. B. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 92, p. 1664-8, 1995.

MEIRELLES-PEREIRA, F.; PEREIRA, A.M.S.; SILVA, M.C.G.; GONÇALVES, V.D.; BRUM, P.R.; CASTRO, A.R.; PEREIRA, A.A.; ESTEVES, F.A.; PEREIRA, J.A.A. Ecological aspects of the antimicrobial resistance in bacteria of importance to human infections. **Braz. J Microbiol.**, v. 33, p. 287-293, 2002.

MELNICK, J.L.; GERBA, C.P.; WALLIS, G. Virus in water. **Méd. Instrum.**, v. 13, p. 499-508, 1979.

MENEZES, F. G.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; VIEIRA, R. H. S. F. Ocorrência de *Salmonella spp.* isoladas de ostras em criadouro natural. In: OITAVO ENCONTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ENAMA, 2002.

MENG, J.; FENG, P.; DOYLE, P. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS**. 2001, Washington. APHA, 676p. Cap. 35, p. 331-341.

METCALF, T. G. Indicators of viruses in shellfish. In: G Berg, editor. Indicators of viruses in water and food. Michigan: **Ann. Harbor Sci.**, v. pp. 383-415. 1978.

MICHANIE, S. *Escherichia coli* O157:H7 – La Bacteria que Disparo el HACCP em la Industria de Carne . **Revista de la Unión de la Industria Carniça**, Argentina, Ano 4, n. 17, p.40-42, set., 2003.

MILIDIS, M. D.; KOORNHOF. H. J.; PHILLIPS, J. I. Invasive potential of noncytotoxic enteropathogenic *Escherichia coli* in a vitro Henle 407 cell model. **Infect. Immun.**, v.57, p. 1928-1935, 1989.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. MMA. **O Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro**. Brasília, DF: MMA, 2004a. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/gerco/planocac.html>>. Acesso em: 10 set. 2008.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. MMA. Programa Globalast. **Água de Lastro: Mexilhão dourado**. Brasília, DF: MMA, 2004b. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/aguadelastro/>>. Acesso em: 10 set. 2008.

MOHAPATRA, B.R.; MAZUMDER, A. Comparative Efficacy of five different rep-PCR methods to discriminate *Escherichia coli* populations in aquatic environments. **Water Sci. Technol.**, v. 58, p. 537-547, 2008.

MOON, H. W.; WHIPP, S. C.; ARGENZIO, R.A A.; LEVINE, M. M.; GIANELLA, R. A. Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. **Infect. Immun.**, v. 41, p. 1340-51, 1983.

MORAES, A. C. R. **Os Impactos da Política Urbana sobre Zona Costeira**. Brasília, DF: MMA, 1995. v.1. (Série Gerenciamento Costeiro).

MORAES, A.C.R. **Contribuições para gestão da zona costeira do Brasil**. São Paulo: Hucitec, 1999. Natal-Brasil, Notícias. Disponível em: <<http://groups.msn.com/natal-brazil/links.msnw>>. Acesso em: 24 Fev. 2008.

MORAES, I. R.; DEL MASTRO, N.; JAKABI, L.; GELLI, D. S. Estudo da Radiossensibilidade ao ⁶⁰Co do *Vibrio cholerae* O1 incorporado em ostras. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, p. 29-32, 2000.

MOREIRA C. N.; PEREIRA, M. A.; BROD, C. S.; RODRIGUES, D. P.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from healthy dairy cattle in southern Brazil. **Vet. Microbiol.**, v. 93, p.179-183, 2003.

MOSELEY, S. L.; SAMADPOUR-MOTALEBI, M.; FALKOW, S. Plasmid association and nucleotide sequence relationship of two genes encoding heat-stable enterotoxin production in *Escherichia coli* H-10407. **J. Bacteriol.**, v. 156, p. 441-3, 1983.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol.**, v. 155, p. 335-350, 1987.

MURRAY, P.P. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington, DC: ASM Press, 1999.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. **Medical Microbiology**. Local: Editora, 1998.

NAGY, B.; CASEY, T. A.; MOON, H. W. Phenotype and genotype of *Escherichia coli*. Isolated from pigs with post weaning diarrhea in Hungary. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28, p. 651-653, 1990.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 11, p.142-201, 1998.

NATARO, J. P.; BALDINI M. M.; KAPER, J. B.; BLACK, R. E.; BRAVO, N.; Levine, M. M. Detection of na adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA probe. **J. Infect. Dis.**, v. 152, p. 560-565, 1985.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B.; ROBINS-BROWNE, R.; PRADO, V.; VIAL, P. A.; LEVINE, M. M. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 16, p.829-831, 1987.

NATARO, J. P.; DENG, Y.; MANEVAL, D. R.; GERMAN, A. L.; MARTIN, W. C.; LEVINE, M. M. Aggregative adherence fimbriae I of enteroaggregative *Escherichia coli* mediate adherence to HEp-2 cells and hemagglutination of human erythrocytes. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 2297-2304, 1992.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B.; ROBINS-BROWNE, R.; PRADO, V., VIAL, P.; LEVINE, M. M. Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. **Pediatr. Infect. Dis.**, v. 6, p. 829–831, 1987.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Stemming the Tide: Controlling introductions of nonindigenous species by ships' ballast water**. Washington D. C.: National Academic Press, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Understanding the ocean's role in human health: from monsoons to microbes**. Washington D.C: National Academic Press, 1999. 132p.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INTITULE. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. Wayne, PA: NCCLS, 2000. (Document M2-A7).

NEHRING, S. Non-indigenous phytoplankton species in the north sea. Supposed regions of origin and possible transport vector. **Arch. Fish. Mar. Res.** v. 46, p. 181-194, 1998.

NIPPER, M. Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessments in coastal environments: Brazilian perspective. **Aquatic Ecosystem Health Manage.**, v. 3, p 433-447. 2000.

NOBLE, R. T.; LEECASTER, M. K.; MCGEE, C. D.; WEISEBERG, S. B.; RITTER, K. Comparision of Total Coliform, Fecal Coliform, and *Enterococcus bacterial* indicator response for ocean recreational water quality testing. **Water Res.**, v. 37, p. 1637-1643, 2003.

NOGUEIRA, G.; NAKAMURA, C. V.; TOGNIM, M. C. B.; FILHO, B. A. A.; DIAS, B. P. F. Qualidade microbiológica de água potável de comunidades urbanas e rurais, Paraná. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, p. 232-236, 2003.

O'BRIEN, A. D.; MELTON, A. R.; SCHMITT, C. K.; MCKEE, M. I.; BATTS, M. I.; GRIFFIN, D. E. Profile of *Escherichia coli* O157:h7 pathogen responsible for hamburguer-borne outbreak of hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome in Washington. **J. Clin. Microbiol.**, v. 31, n. 10, p. 2799-2801, 1993.

OKAMOTO, K.; FUJII, Y.; AKSHI, N.; HITOTSUBASHI, S.; KURAZONO, H.; KARASAWA, T.; TAKEDA, Y. Identification and characterization of heat-stable enterotoxin II-producing *Escherichia coli* from patients with diarrhea. **Microbiol. Immunol.**, v. 37, p. 411-414. 1993.

OKEKE, I. N.; LAMIKANRA, A.; CZECZULIN, L.; DUBOVSKY, F.; KAPER, J. P.; NATARO, J. P. Heterogeneous virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from children in southwest Nigeria. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p. 252-260, 2000.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Las condiciones de salud en las Americas**. OPLS, 1994. v.1, p.167-174. (Publicación Científica nº 549).

ORSI, R. H.; STOPPE, N. C.; SATO, M. I. Z.; GOMES, T. A. T.; PRADO, P. I.; MANFIO, G. P.; OTTOBONI, L. M. M. Genetic variability and pathogenicity potencial of *Escherichia coli* isolated from recreational water reservoirs. **Res. Microbiol.**, v. 158, p. 420-427, 2007.

PADHYE, N. V.; DOYLE, M. P. *Escherichia coli* O157:H7: epidemiology, pathogenesis and methods for detection in food. **J. Food Prot.**, v. 55, p. 555-565, 1992.

PARMELEE, M. A. Outbreak reveals vulnerability of water operations. **Am. Water Works Assoc. Main. Stream**, v. 34, p. 1-9, 1990.

PAUL, M.; TSUKAMOTO, T.; GHOSH, A. R.; BHATTACHARYA, S. K.; MANNA, B.; CHAKRABARTI, S.; NAIR, G. B.; SACK, D. A.; SEM, D.; TAKEDA, Y. The significance of enteroaggregative *Escherichia coli* in etiology of hospitalized diarrhea in Calcutta, India and the demonstration of a new honey-combed pattern of aggregative adherence. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 117, p. 319-326, 1994.

PICHEL, M. G.; BINSZTEIN, N.; QADRI, F.; GIRON, J. A. Type IV longus pilus of enterotoxigenic *Escherichia coli*: occurrence and association with toxin types and colonization factors among strains isolated in Argentina. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 694-697, 2002.

PICKETT, C. L.; WEINSTEIN, D. L.; HOLMES, R. K. Genetics of type II a heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli*: Operon fusions, nucleotide sequence, and hybridization studies. **J. Bacteriol.**, v. 169, p. 5180-5187, 1987.

PNUMA: Diagnostico regional sobre las actividades realizadas en tierra que afectan los ambientes marinos, costeros y dulceacuicolas asociados en el Atlantico Sudoccidental Superior. Informes y Estudios del Programa de Mares Regionales del PNUMA, no. 170. PNUMA - Oficina de Coordinación del PAM, 2000.

POND, K. **Water recreation and disease. Plausibility of associated infections**: Acute effects, sequelae and mortality (emerging issues in water and infectious diseases series). Washington, D.C.: WHO, 2005. 239 p.

PROENÇA, L. A. O.; Tamanaha, M. S.; Souza, N. P. **The toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* GRAHAN in southern Brazilian waters**: occurrence, pigments and toxins. Rio Grande: Atlântica, 2001. v.23, p.59-65.

PROENÇA, L. A. O.; FERNANDES, L. F. Introdução de microalgas no ambiente marinho: impactos negativos e fatores controladores. In: SILVA, J.; SOUZA, R. **Água de lastro e bioinvasão**. Rio de Janeiro: Interciência, 2004. Capítulo 7.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; IMBERECHTS, H.; GRIJSPEERDT, K.; DE ZUTTER, L.; HEYNDRIKX, M. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, p. 3615-3623, 2005.

REINHART, N. M. **Condições sanitárias e classificação das águas do mar destinadas a balneabilidade de praias do Estado do Paraná**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

RIPPEY, S.R. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. **Clin. Microbiol.**, v. 7, p. 419-25, 1994.

RIVERA, I. N. G.; MARTINS, M. T. Bactérias enteropatogênicas no ambiente aquático. **Rev. Ciênc. Farm.**, v. 17, p. 115-136, 1996.

RIVERA, I. N. G.; LIPP, E. K.; GIL, A.; CHOOPUN, N.; HUQ, A.; COLWELL, R. R. Method of DNA extraction and application of multiplex polymerase chain reaction to detect toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139 from aquatic ecosystems. **Environ. Microbiol.**, v. 5, p. 599-606, 2003.

RIVERA, I. N. G.; PAULA, C. R.; SOUZA, C. P. Microbiologia aquática marinha. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia Ambiental**. [s.l.]. EMPRAPA, 2008.

RODRIGUES, J.; SCALETSKY, I. C.; CAMPOS, L. C.; GOMES, T. A.; WHITTAM, T. S.; TRABULSI, L. R. Clonal structure and virulence factors in strains of *Escherichia coli* of the classic serogroup O55. **Infect. Immun.**, v. 64, p. 2680-2686, 1996.

RODRIGUES-ANGELES, G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. **Salud Public Mex.** v. 44. p. 464-75, 2002.

ROSA, A. A.; MARIANO, A. T.; PEREIRA, A. M.; TIBANA, A.; GOMES, T. A.; ANDRADE, J. R. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* isolated from infants with acute diarrhoea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Med. Microbiol.**, v. 47, p. 781-790, 1998.

RUDNER, X. L.; NICCHITTA, C.; ALMENOFF, J. S. Biogenesis, cellular localization, and functional activation of the heat-stable enterotoxin receptor (Guanylyl Cyclase C). **Biochemistry**, v. 35, p. 10680-10686, 1996.

RUIZ, G. M.; RAWLINGS, T. K.; DOBBS, F. C.; DRAKE, L. A.; MULLADY, T.; HUQ, A.; COLWELL, R.R. *Global spread of microorganisms by ships*. **Nature**, v. 408, p. 49-50, 2000.

SACK, R.B. Human diarrhoeal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Ann. Rev. Microbiol.**, v. 29, p.333-353, 1975.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. Gel electrophoresis of DNA. **In:_____**. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANCHEZ, P. S.; AGUDO, E. G.; CASTRO, F. G.; ALVES, M. N.; MARTINS, M. T. Evaluation of the sanitary quality of marine recreational waters and sands from beaches of the São Paulo state, Brazil. **Water. Sci. Tech.**, v. 18, p. 61-72. 1986.

SAVARINO, S. J.; FASANO, A.; ROBERTSON, D. C.; LEVINE, M. M. Enteroaggregative *Escherichia coli* elaborate a heat-stable enterotoxin demonstrable in a in vitro rabbit intestinal model. **J. Clin. Invest.**, v. 87, p. 1450-1455, 1991.

SAVARINO, S. J.; FASANO, A.; WATSON, J.; MARTIN, B. M.; LEVINE, M. M. GUANDALINI, S. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 3093-3097, 1993.

SAVARINO, S. J.; MCVEIGH, A.; WATSON, J.; CRAVIOTO, A.; MOLINA, J.; ECHEVERRIA, P.; BHAN, M. K.; LEVINE, M. M.; FASANO, A. Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin is not restricted enterotoxin of *E. coli*. **J. Infect. Dis.**, v. 173, p. 1019-22, 1996.

SCALETSKY, I. C.; PEDROSO, M. Z.; MORAIS, M. B.; CARVALHO, R. L.; SILVA, R. M.; FABBRICOTTI, S. H.; FAGUNDES-NETO, U. Association of patterns of *Escherichia coli* adherent factor to Hep-2 cells with acute and persistent diarrhea. **Arq. Gastroenterol.**, v. 36, p. 54-60, 1999.

SCALETSKY, I. C. A.; SILVA, M. L. M.; TRABULSI, L. R. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. **Infect. Immun.**, v. 45, p. 534-536, 1984.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M. Patógenos Emergentes Relacionados à Contaminação de Alimentos de Origem Animal. **Biológico**, São Paulo, v. 64, p 123-127, 2002.

SCHMIDT, H.; KNOP, C.; FRANKE, S.; ALEKSIC, S.; HEESEMANN, J.; KARCH, H. Development of PCR for screening of enteroaggregative *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 701-705, 1995.

SCHROEDER, C. M. et al. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O157 Isolated from humans, Cattle, Swine, and Food. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, p. 576-581, 2002.

SCHULTZ, C. et al. Detection of ETEC in stool samples by using nonradioactively labeled oligonucleotide DNA probes and PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, p.2393-2397, 1994.

SCHUTT, C. Plasmids in the bacterial assemblage of a dystrophic lake:evidence for plasmid-encoded nickel resistance. **Microb. Ecol.**, v. 17, p 49-62, 1989.

SEARS, C. L.; KAPER, J. B. Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion. **Microbiol. Rev.**, v. 60, p. 167-215, 1996.

SELANDER, R. K.; CAUGANT, D. A.; WHITTAM, T. S. Genetic structure and variation in natural populations of *Escherichia coli*. In: *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*.

NEIDHARDT, F. C. et al. (Ed.). **Cell Mol Biol.** Washington, DC: American Society for Microbiology, 1987. p. 1625-1645.

SERÉNY, B. Biochemical reactions and virulence of *E. coli* O124, K12 (B17). **Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.**, v. 10, p. 11-18, 1963.

SEYFRIED, D.L.; TOBIN, R.S.; BROWN, W.E.; NESS, P.F. 'A prospective study of swimming-related illness. II. Morbidity and the microbiological quality of water'. **Am. J. Public Health.**, v. 75, p. 1071-1075, 1985.

SHIBATA, T.; SOLO-GABRIELE, H.M.; FLEMING, L.E.; ELMIR, S. Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in a urban tropical environment. **Water Res.**, v. 38, p. 3119-3131, 2004.

SILVA, J. S. V.; FERNANDES, F. C.; SOUZA, R. C. C. L.; LARSEN, K. T. S.; DANELON, O. M. Água De Lastro E Bioinvasão. In: Silva, J. S. V.; Souza, R. C.C.L. **Água de Lastro e Bioinvasão.** Rio de Janeiro: Ed. Interciência, 2004. p. 1-10.

SILVA, J.; FERNANDES, F. C.; LARSEN, K. T. S. ; SOUZA, R. C. C. L. Água de lastro. **Ciência Hoje**, São Paulo, v.32, n.188, p.4, 2002.

SILVA, R. M.; TOLEDO, M. R. F.; TRABULSI, L. R. Correlation of invasiveness with plasmid in enteroinvasive strains of *Escherichia coli*. **J. Infect. Dis.**, v. 146, p. 708, 1982.

SINGH, B.; READ, S.; ASSEMAN, C.; MALMSTROM, V.; MOTTET, C.; STEPHANS, L. A.; STEPANKOVÁ. R.; TLASKALOVÁ. H.; POWRIW. F. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. **Immunol. Rev.**, v. 182, p. 190-200, 2001.

SIZEMORE, R.K.; COLWELL, R.R. Plasmids carried by antibiotic-resistant marine bacteria. **Antimicrobial. Agents Chemother.**, v 12, p. 373-382, 1977.

SMAD, A.C.; WIDDOWS, J. The scope for growth of bivalves as an , integrated response parameter in biological monitoring. In: KRAMER, K.J.M. (Ed.). **Biomonitoring of coastal waters and estuaries.** Boca Raton, FL: CRC Press, 1994. p. 247-267.

SMALL, P. L. C.; FALKON, S. Identification of regions on a 230- K base plasmid from enteroinvasive *Escherichia coli* that are required for entry into HEP-2 cells. **Infect. Immun.**, v. 56, p.225-229, 1988.

SMALL, P. L.; FALCOW, S. Development of a DNA probe for the virulence plasmid of *Shigella* ssp and enteroinvasive *Escherichia coli*. In: LEIVE, L. (Ed.). **Microbiology.** Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1986.

SMAYDA, T. J. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. **Limnol. Oceanogr.**, v. 42, p. 1137–1153, 1997.

SO, M.; MCCARTHY, B. J. Nucleotide sequence of the bacterial transposon Tn1681 encoding a heat-stable (ST) toxin and its identification in enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 77, p. 4011-4015, 1980.

SOUZA, R. C. C. L.; FERNANDES, F. C.; DANELON, O. M.; LARSEN, K. T. S.; SILVA, J. S. V.; COLLICHIO, F.; RAPAGNÃ, L. Metodologia de amostragem dos organismos transportados e água de lastro dos navios mercantes. **Pesq. Naval**, v. 14, p. 221-235, 2001.

SPANGLER, B. D. Structure and function of cholera toxin and the related *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. **Microbial. Rev.**, v. 56, p. 622-647, 1992.

STACY-PHIPPS, S.; MECCA, J.J.; WEISS, J.B. Multiplex PCR assay and simple preparation method for stool specimens detect enterotoxigenic *Escherichia coli* DNA during course of infection. **J. Clin. Microbiol.**, v.33, p. 1054-1059, 1995.

STANISICH, V. A. Identification and analysis of plasmids at genetic level. In: GRINSTED, J.; BENNET, P. M. **Plasmid technology**. London: Academic Press, 1990.

STREATFIELD, S. J.; SANDKVIST, M.; SIXMA, T. K.; BAGDASARIAN, M.; HOL, W. G.; HIRST, T. R. Intermolecular interactions between the A and B subunits of heat-labile enterotoxin from *Escherichia coli* promote holotoxin assembly and stability in vivo. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 89, p. 12140–12144, 1992.

SUSSMAN, M. *Escherichia coli*: mechanisms of virulence. United Kingdom: Cambridge University Press, 1997.

SUSSMAN, M. *E. coli* in human and animal disease. In: _____. **The virulence of *Escherichia coli***: reviews and methods. London: Academic Press, 1985.

SUZART, S.; GUTH, B. E.; PEDROSO, M. Z.; OKAFOR, U. M.; GOMES, T. A. Diversity of surface structures and virulence genetic markers among enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) strains with and without the EAEC DNA probe sequence. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 201, p. 163-168, 2001.

TAKEDA, Y.; HONDA, T.; SIMA, H.; TSUJI, T.; MIWATANI, T. Analysis of antigenic determinants in cholera enterotoxin and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Infect. Immun.**, v. 41, p. 50-53, 1983.

TAUXE, R. V. Emerging foodborne diseases: An evolving public health challenge. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 3, p. 1-13, 1997.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 281-301, 2000.

THOMSON, F. K.; HEINEMANN, S. A.; DOBBS, F. C. Patterns of Antibiotic resistance in cholera bacteria isolated from ship's ballast water. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MARINE BIOINVASIONS, 3., 2003, La Jolla. **Anais...** La Jolla, California, 2003. p. 180.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1991. p. 386.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TRABULSI, L. R.; KELLER, R.; GOMES, T. A. T. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. **Emerg. Infect. Dis.**, v.8, p. 508-513, 2002.

UNITED NATIONS. 2008. **Atlas of Oceans**. Disponível em: <<http://www.oceansatlas.org>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ambient water quality criteria for bacteria EPA-440/5-84-002. U.S. Environmental Protection Agency Washington, D.C.:USEPA, 1986.

VALENTE, M. A. Efeito da irradiação sobre mexilhões [*Perna perna* (Linnaeus, 1958)]: Coliformes termotolerantes e *Enterococcus*; Ação antimicrobiana e Análise sensorial das amostras. Tese (Mestrado) - Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense, 2004.

VENKATESAN M. M.; BUYASSE J. M.; KOPECKO D. J. Use of *Shigella flexneri* ipaC and ipaH gene sequences for the general identification of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, p. 2687-2691, 1989.

VERSALOVIC, J.; KOEUTH, T.; LUPSKI, J. R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. **Nucleic Acids Res.**, v. 19, p. 6823-6831, 1991.

VICENTE, A. C. P.; RIVERA, I. N. G.; VIEIRA, M. D.; COELHO, A. *Vibrio cholerae* populations and their role in South America. In: THOMPSON, F. L.; AUSTIN, B.; SWINGS, J. (Ed.). **The Biology of Vibrios**. Washington D. C.: American Society for Microbiology Press, 2006. ch 17, p. 239-247.

VIEIRA, R.H.F.; EVANGELISTA, N.S.S.; RODRIGUES, D.P. Colimetria das águas marinhas de Fortaleza (Ceará, Brasil) e detecção de cepas de *Escherichia coli* Enteroinvasora (EIEC) e Enteropatogênica Clássica (EPEC). **Arq. Ciênc. Mar.**, v.30, p.27-31, 1996.

VIEIRA, R. H. S. F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R.; CARVALHO, F. C. T.; FONTELES FILHO, A. A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e Identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Braz. J. Vet. Rev. Anim. Sci.**, v. 45, n. 3, p.180-189, 2008.

WADE, T.J.; PAI, N.; EISENBERG, J.N.; COLFORD, J.M. Do U.S. Environmental Protection Agency water quality guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. **Environ. Health Perspect.**, v. 111, p. 1102–1109, 2003.

WIDDOWS, J.; DONKIN, P. Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. In: GOSLING, E. (Ed.). **The mussel *Mytilus***: ecology, physiology, genetics and culture. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 383-424.

WILLIAMS, R. J.; GRIFFITHS, F. B.; VAN DER WAL, E. J.; KELLY, J. cargo vessel ballast water as a vector for transport of nonindigenous marine species. **Estuary Coastal Shelf. Sci.**, v. 26, p. 409-420, 1998.

WHITBY, G.; LEWIS, E.; DONALD, P.; SHAFER, P.; WILEY, C. Microbiological Chemical and Physical Survey of Ballast Water on Ships on the Great Lakes. In: EIGHTH INTERNATIONAL ZEBRA MUSSEL AND OTHER NUISANCE SPECIES CONFERENCE, SACRAMENTO, March 16-19, 1998, California. **Conference...** California: Editor, 1998.

WOLF M. K. Occurrence, Distribution and Associations of O and H Serogroups, Colonizations Factor antigens, and Toxins of Enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 10, p. 569-584, 1997.

WONHAM, M. J.; WALTON, W.C.; RUIZ, G. M; FRESE, A . M.; GALIL, B. Going to the source: rol of the invasion pathway in determining potential invaders. **Mar. Ecol. Progr.**, v. 215, p. 1-12, 2001.

WOOD, P.C. **Manual de higiene de los mariscos**. Zaragoza: Editora, 1979. 83 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health-based monitoring of recreational waters: the feasibility of a new approach (the “Annapolis Protocol”)**. Geneva, WHO, 1999. (Protection of the Human Environment, Water Sanitation and Health Series, HO/SDE/WSH.99.1).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cholera, 2005. **Wkly Epidem. Rec.**, v. 81, p. 297-308, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for safe recreational water environments, 2003. v. 1: Coastal and fresh waters.

WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC WORKING GROUP. *Escherichia coli* diarrhea. *Bulletin W.H.O.* Local: WHO, 1980. v. 58, p. 23-36.

YODER, J.S.; BLACKBURN, B. G.; CRAUN, G. F.; HILL, V.; LEVY, D. A.; CHEN N.; LEE, S. H.; CALDERON. M. J. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with recreational water – United States. 2001-2002. *MMWR Surveill. Summ.*, v. 53, p. 1-22. 2004.

YOUN-JOO, A.N.; KAMPBELL, D. H.; BREIDENBACH, G. P. *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediments at marinas. *Environ. Poll.*, v. 120, p. 771-778, 2002.

ZO, Y.; GRIMM, C.; MATTE, M.; MATTE, G.; KNIGHT, I.T.; HUQ, A.; COLWELL, R.R. Detection and Enumeration of Pathogenic Bacteria in Ballast Water of Transoceanic Vessels Entering the Great Lakes and Resistance to Common Antibiotics. In: GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 1999, Chicago. **Abstract...** Local: ASM, 1999. p. 594, Q-317.