

OCORRÊNCIA DE *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* EM OSTRAS E
OUTROS PRODUTOS MARINHOS NO LITORAL DE SÃO PAULO,
BRASIL. REVISÃO E CONSIDERAÇÕES SOBRE O RISCO
POTENCIAL PARA A SAÚDE PÚBLICA *

Dilma Scala GELLI **
Takako TACHIBANA **
Theodósio M.P. SILVA **

RIAL-A/411

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T. M. P. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras e outros produtos marinhos no litoral de São Paulo, Brasil. Revisão e considerações sobre o risco potencial para a saúde pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

RESUMO: Foi pesquisada a incidência de *Vibrio parahaemolyticus* em 101 amostras, sendo 12 de peixes, 5 de mariscos, 6 de camarões, 70 de ostras e 8 de água do mar (região costeira), encontrando-se 75 amostras positivas, assim distribuídas: 5 de peixes, 2 de mariscos, 3 de camarões, 6 de água do mar e 39 de ostras; 40 cepas, que foram sorotipadas pela Food and Drug Administration, Department of Health, Education and Welfare, dos Estados Unidos, eram não hemolíticas e, dentre elas, encontraram-se 17 tipos sorológicos diferentes. Os resultados são discutidos com base na revisão da literatura pertinente à disseminação e patogenicidade desse microrganismo.

DESCRITORES: *Vibrio parahaemolyticus*, isolamento em ostras e outros produtos do mar (São Paulo, Brasil).

I N T R O D U Ç Ã O

O *Vibrio parahemolyticus* é um microrganismo Gram-negativo, halófilo, aeróbio facultativo. O seu desenvolvimento é favorecido quando se acresce ao meio de cultura 2 a 4% de cloreto de sódio, e sua multiplicação é intensa a 37°C e em temperaturas ambientes. É facilmente destruído pelo calor e, portanto, pela cocção⁶.

A primeira descrição dessa bactéria foi feita por T. Fujino (1951), que a denominou de *Pasteurella parahaemolyticus*. Em 1958, Takikawa sugeriu o nome de *Pseudomonas enteritis*; Miyamoto propôs a criação de um novo gênero — *Oceanomonas* — com as espécies *O. parahaemolyticus*, *O. enteritis* e *O. alginolyticus*. R. Sakazaki, em estudos posteriores, verificou a semelhança dessa bactéria com as bactérias do

* Trabalho realizado na Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Da Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

gênero *Vibrio*, e propôs a designação de *Vibrio parahaemolyticus*, que permanece 10, 22, 28.

Ubiquitário dos ambientes marinhos, o *Vibrio parahaemolyticus* parece ser capaz de se multiplicar em águas salgadas sem a concorrência de um animal hospedeiro¹⁰. Tem sido isolado repetidamente em amostras de águas costeiras e de estuários, em sedimentos marinhos, peixes, crustáceos e moluscos, na quase totalidade dos oceanos, de locais reconhecidamente poluídos ou não 3, 8, 10, 15, 19, 20, 22, 23. O número desses microrganismos tem distribuição sazonal, maior nos períodos quentes do ano. Conseqüentemente, deve ser quantitativamente maior a presença de *Vibrio parahaemolyticus* nas costas dos países de clima quente e temperado 8, 10, 19, 23, 28.

Também, repetidamente, esse organismo tem sido isolado e apontado como agente causal de gastroenterite e responsabilizado por surtos de toxi-infecções alimentares 1, 2, 4, 11, 16, 21, 25, 29. A primeira descrição de infecção entérica foi realizada por Fujino (1951), na investigação de surto provocado pelo consumo de *shirasu* contaminado, no Japão¹³. Nesse país, a infecção por *Vibrio parahaemolyticus* é significativamente alta (40-70% dentre todas as infecções bacterianas) sem dúvida por causa dos hábitos alimentares típicos de consumo de produtos pescados não cozidos^{13, 29}. Porém, ocorrências semelhantes, embora menos freqüentes, têm sido descritas em outros países (Inglaterra, Índia, Estados Unidos, Coreia, Malásia, Panamá, Togo, Nova Zelândia etc.).

O quadro clínico desenvolvido, quando da infecção gastrentérica pelo *Vibrio parahaemolyticus*, é de moderada gravidade, com a apresentação dos primeiros sintomas, 6-24 horas após o consumo do alimento infectante, e inclui dores epigástricas violentas, náuseas, vômitos, diarreia (com presença de muco e sangue nas fezes), febre, dor de cabeça e calafrios. Esses sintomas, em geral, regredem em 1-3 dias 2, 5, 7, 21, 25, 29, porém o quadro clíni-

co pode se agravar e confundir-se com o da diarreia colérica 4, 28, 29. Outras infecções como septicemias, otites e ulcerações de pele^{10, 29} ocorrem, assim como infecções por acidentes laboratoriais³². A pesquisa da origem da infecção conduz sempre aos ambientes marinhos.

A classificação antigênica do *Vibrio parahaemolyticus* é feita com base no antígeno somático "O" e no antígeno capsular "K". Os antígenos flagelares (H) são destituídos de importância na sua identificação, uma vez que não são específicos da espécie, mas comuns também a outras espécies do gênero *Vibrio*. Reconhecem-se, até o momento, 11 diferentes antígenos "O" e 53 antígenos "K"; porém, o número de cepas ainda não caracterizadas sorologicamente é extenso^{10, 29}. Essa identificação, à parte de sua importância epidemiológica, não fornece nenhum dado seguro acerca da virulência das cepas; qualquer sorotipo é potencialmente capaz de provocar infecção.

Em seu estudo pioneiro, Fujino denominou a bactéria, por ele isolada, de altamente tóxica, capaz de provocar a morte em camundongos que ingeriram ou foram inoculados experimentalmente com células viáveis e, reações severas, quando testada em alça ligada de íleo de coelho¹⁴.

Caracteristicamente importante foi a detecção de produção de hemolisinas, que não obedece a uma distribuição geral entre as cepas; determinados *V. parahaemolyticus*, independentemente do sorotipo, são capazes de produzir hemólise do tipo beta, quando inoculados em ágar-sangue de Wagatsuma (meio básico específico acrescido de hemácias humanas) e incubados por 18-24 horas, a 35°C; o teste foi denominado de Kanagawa^{10, 28 29}. SAKURAI *et alii* e SAKAZAKI³⁰ demonstraram a existência de mais de uma hemolisina; as cepas Kanagawa positivas, hemolíticas, são comuns sobretudo entre os isolamentos de material fecal de doentes, e as negativas, não hemolíticas, entre os do material obtido do meio ambiente^{10, 28, 29, 33, 34}. Correlacionou-se, então, o fenômeno de Kanagawa diretamente com a virulência desse agente:

as cepas hemolíticas, designadas de virulentas e as não hemolíticas, de avirulentas. Na tentativa de se aclarar o mecanismo de atuação patogênica, surgiram várias hipóteses, como a da possibilidade de "conversão" ou "seleção" para as virulentas no próprio trato intestinal^{7, 10, 28, 29}.

As pesquisas com o fito de determinar qual das hemolisinas, ou se o conjunto delas se relacionava diretamente com o fenômeno de virulência, não foram bem sucedidas por todos os pesquisadores, e o conjunto dos resultados evidenciou várias divergências. Extratos purificados dessas enzimas nem sempre provocaram as mesmas reações nos múltiplos ensaios efetuados, quando da administração de células viáveis (inoculação intraperitoneal de ratos, em alça ligada do íleo de coelho, em duodeno de cão, por ingestão, e pelo teste de edema de pata de camundongo). Essa controversia foi acentuada pela sucessão de descrições de infecções, com isolamento de cepas não hemolíticas, que se apresentavam com gravidade compatível com as infecções provocadas por cepas Kanagawa positivas^{26, 28, 29}.

Vários pesquisadores sugerem a necessidade da ingestão de doses infectantes para que a instalação clínica da infecção ocorra. Em experiências com voluntários, uma dose de 3×10^5 células viáveis/ml de cepas Kanagawa positivas foi admitida como suficiente; enquanto doses de mais de 10^9 células viáveis/ml de cepas não hemolíticas não o foram²⁹. Twedt e colaboradores, em ensaios com alça ligada de íleo de coelho, observaram que há um período de incubação menor quando da inoculação de doses maiores do agente, incluindo-se testes com cepas Kanagawa negativas e com as de *Vibrio alginolyticus* (também ubiqüitário de ambientes marinhos, porém nunca isolado de infecções humanas)^{33, 34}. Kato e colaboradores observaram que cepas hemolíticas, desprovidas de antígeno "K", comportam-se como as não hemolíticas; sobretudo,

as cepas Kanagawa negativas, isoladas de material humano (fezes diarréicas e material de autópsia), mostram-se igualmente não reativas em experimentos com animais de laboratório.

Em trabalhos recentes, Twedt e colaboradores concluíram que as reações em ensaios experimentais são determinadas por porções íntimas da estrutura celular do *V. parahaemolyticus* e que esse fator de patogenicidade, quando testado pelas partículas lisadas de células, parece ser afetado por forças iônicas, neutralizáveis por diálise. Seus estudos atuais visam averiguar se esse fator é plasmídeo-dependente*. Portanto, qualquer que seja o princípio virulento desse agente, ainda falta a sua identificação e caracterização bioquímica definida.

Apesar dos numerosos trabalhos, nem sempre concordantes, o fato primeiro e importante é que o *Vibrio parahaemolyticus* é agente freqüente de toxi-infecções alimentares, podendo apresentar outros tipos de infecção¹¹. São comuns descrições da detecção e ocorrência desse agente numa dada região, seguida a curto prazo de relatos de infecções humanas, a exemplo do que ocorreu na Inglaterra^{1, 15}, Estados Unidos^{10, 11}, Panamá^{20, 21} e Coreia⁸. Não se sabe se existe sensibilidade individual ao agente, ou se podem ocorrer imunizações naturais; porém os relatos de casos humanos se sucedem, em que crianças, jovens e adultos são afetados, praticamente em todas as regiões (países de clima quente, temperado e frio, respectivamente), e em populações que apresentam hábitos alimentares os mais diversos. Isso porque, apesar de o *Vibrio parahaemolyticus* ser restrito a ambientes marinhos, nada o impede de infectar outra classe de alimentos, desde que presente num ambiente de cozinha, nem de reinfetar um produto pescado já cozido.

* Comunicação pessoal por carta de 9 de julho de 1975

A presença do *Vibrio parahaemolyticus* entre nós já foi apontada por HOFER & SILVA¹⁵, e LEITÃO & ARIMA²², que trabalharam respectivamente com peixe e com águas e sedimentos de origem marinha.

Considerando o já exposto, decidimos então pesquisar esse agente em produtos do mar, especialmente em ostras, que são excelentes sentinelas das condições sanitárias do ambiente que as rodeia, devido ao sistema biológico de captação de alimentos por membranas, o que permite retenção e concentração de partículas pequenas, como as bactérias, em seus corpos¹⁸. Também não utilizamos materiais que tivessem sofrido quaisquer tipos de tratamento (depuração ou processamento); limitamo-nos à análise qualitativa, com programação de se complementarem os dados, posteriormente, com quantificação do agente nas amostras não tratadas, com o objetivo de determinar a carga de *Vibrio parahaemolyticus* nesse material.

No presente trabalho, relatamos os resultados obtidos. O possível risco para a Saúde Pública também é considerado.

MATERIAL E MÉTODOS

Usaram-se 70 amostras de ostras, 12 de peixes, 5 de mariscos, 6 de camarões e 8 de água do mar (região costeira), num total de 101 amostras.

O método empregado foi o preconizado no manual fornecido pela Food and Drug Administration⁹, e de acordo com trabalho de FISHBEIN & WENTZ¹².

Procedeu-se ao seguinte esquema de trabalho:

a) Inoculação de 10 g ou 10 ml do material em frascos com 100 ml de GSTB (glucose salt teepol broht), como meio seletivo de enriquecimento, e incubação por 18-24 horas, a 35°C;

b) Após a inoculação, o caldo foi semeado em placas de TCBS (thiosulfate citrate bile sucrose agar*), pelo método de estrias e com o auxílio de alça em cabo de Kolle, incubando-se por 18-24 horas, a 35°C;

c) As colônias típicas desenvolvidas foram isoladas em meio de Rugai²⁷, com 3% de cloreto de sódio, substituindo o meio TSI (triple sugar iron), sem prejuízos técnicos e com a vantagem da indicação de produção de indol;

d) As cepas presuntivas de *Vibrio parahaemolyticus* foram então testadas frente ao Gram e por provas bioquímicas;

e) 40 cepas com comportamento da espécie foram enviadas à Food and Drug Administration, para os Drs. Fishbein e Wentz, que confirmaram nossos resultados de identificação, complementando-os com o teste de Kanagawa e com a caracterização serológica.

RESULTADOS

A caracterização do *Vibrio parahaemolyticus* foi obtida pelas seguintes reações:

a) Coloração de Gram: bacilos Gram-negativos, com morfologia típica de Vibrião;

b) TCBS: colônias típicas (verde-azuladas, com aproximadamente 3 mm de diâmetro);

c) Comportamento em meio de Rugai, com 3% de cloreto de sódio: alcalina no ápice, ácido na base, sem gás, com indol positivo;

d) Halofilismo: ausência de crescimento em caldo com 0% e 10% de cloreto de sódio, e crescimento em caldo com 6% e 8% de cloreto de sódio;

e) Incubação a 42°C: crescimento positivo;

f) Fermentação da glicose, sem produ-

* Difco Laboratories, U.S.A.

ção de gás, pelo método de Hugh Leifson;
 g) Fermentação da celobiose, maltose, manita e trealose;
 h) Não fermentação da sacarose, inosita e dulcita;
 i) Motilidade: positiva;
 j) Citocromo-oxidase: positiva;
 l) Indol: positivo;
 m) Descarboxilação da lisina e ornitina;
 n) Arginina: negativa;

o) Voges Proskauer: negativa;
 p) Teste de Kanagawa: negativo; 40 das cepas testadas não apresentaram hemolisinas (Kanagawa-negativas).

Dentre as 101 amostras de material analisado, 75 (74,25%) foram positivas para *Vibrio parahaemolyticus*. A incidência por material teve a seguinte distribuição (tabela 1):

TABELA 1

Amostras positivas para Vibrio parahaemolyticus

Amostras	N.º analisado	Positivas	Porcentagem
Ostras	70	59	84,28
Peixe	12	5	41,66
Água do mar	8	6	75,00
Camarão	6	3	50,00
Marisco	5	2	40,00
T o t a l	101	75	74,25

Pela identificação sorológica, realizada em 40 dentre as cepas isoladas, encontraram-se 17 sorotipos diferentes (tabela 2):

TABELA 2
Identificação sorológica

Sorotipos	N.º	Porcentagem
05: K 17	7	17,50
04: K não tipável	5	12,50
01: K 25	4	10,00
03: K 33	3	7,50
04: K 42	3	7,50
010: K 24	3	7,50
01: K 32	2	5,00
010: K não tipável	2	5,00
011: K 50	2	5,00
03: K 31	2	5,00
01: K 38	1	2,50
03: K 6	1	2,50
03: K 30	1	2,50
04: K 53	1	2,50
06: K 18	1	2,50
07: K 19	1	2,50
011: K não tipável	1	2,50
T o t a l	40	100,00

Como era esperado, todos os sorotipos identificados estavam presentes nos isolados de ostras, sendo os mais frequentes os scrotipos 05: K 17, 04: K não tipável e 03: K 33.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Nossos achados revelam a alta incidência do *Vibrio parahaemolyticus* (74,25% das amostras analisadas), assim como a multiplicidade dos sorotipos (17 sorotipos em 40 cepas). Embora não concordantes com a distribuição da frequência obtida por LEITÃO & ARIMA²², os dois resultados somados sugerem que a população dessa bactéria pode variar quando se consideram áreas diferentes de uma mesma região (trabalhamos com materiais oriundos de Cananéia, enquanto Leitão analisou a região estuária de Santos), e que existe realmente diversidade de identidades sorológicas em nosso meio.

Apesar de em ambos os trabalhos as cepas isoladas não serem hemolíticas, não está excluída a possibilidade de uma toxinfecção humana. Como já mencionado, as cepas isoladas do ambiente são em geral Kanagawa negativas, nas mesmas regiões onde são freqüentes e bem conhecidas as infecções por essa etiologia. Ademais, há descrições de casos por cepas não hemolíticas, e de isolamentos de *Vibrio parahaemolyticus* Kanagawa negativos nas fezes de afetados, com concomitante presença de cepas Kanagawa negativas nos alimentos veiculadores da infecção. Sobretudo, não existem dados oficiais da ocorrência de problemas gastrentéricos por essa etiologia, na literatura do país. Não sabemos se houve casos no passado atribuídos, na época, a outras entidades.

Como sempre, a formulação da questão do provável papel patogênico de um microrganismo numa comunidade vem acompanhado de muitas incógnitas; o *Vibrio parahaemolyticus* está presente em nosso meio, e em outros locais é apontado como agente causal de infecções humanas.

Recomendamos atenção para esse problema que é de Saúde Pública; a pesquisa do *Vibrio parahaemolyticus* deve ser incluída em casos de toxinfecções alimentares quando do consumo de pescados e em outras síndromes onde não tenham sido evidenciados outros agentes etiológicos. Recomendamos ainda que seu controle seja previsto pela legislação e fiscalização dos produtos de origem marinha.

Métodos profiláticos adequados devem ser incentivados. Esses métodos consistem principalmente no tratamento das ostras, em tanques especiais, com água do mar filtrada, constantemente ozonizada e irradiada com luz ultravioleta de comprimento de onda bactericida, por um espaço de tempo de 18-24 horas; devem ser transportadas em caminhões com vagões refrigerados, a exemplo do que já vem sendo realizado na região de Cananéia, e como foi recomendado por diversos autores^{6, 17, 24}. O conjunto dessas medidas diminui a carga microbiana desses moluscos e não permite a multiplicação posterior das bactérias.

Agradecimentos

Agradecemos a colaboração dos Drs. Morris Fishbein, Barry A. Wentz e Joseph O. Olson Jr. da Food and Drug Administration, Department of Health, Education and Welfare, Estados Unidos da América, que nos auxiliaram na confirmação e caracterização das cepas; ao Dr. Roberto M. Twedt, também da F.D.A., pelos esclarecimentos prestados; ao Dr. Geraldo Henrique Pinto, Diretor da Divisão Especial de Saúde do Vale da Ribeira, S.P.; à Sorecostra S/A, Cananéia, S.P., pelo fornecimento das amostras e esclarecimentos quanto aos métodos de depuração das ostras, e aos funcionários da Seção de Meios de Cultura do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

GELLI, D. S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T. M. P. — Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters and other sea products from the São Paulo littoral in Brazil. Review and comments on the potencial public health problems. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

SUMMARY: Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* was researched in 101 samples of sea products being 12 fishes, 5 shellfishes, 6 shrimps, 70 oysters and 8 samples of sea water. 75 positive samples were found, distributed as follows: 5 fishes, 2 shellfishes, 3 shrimps, 39 oysters and 6 samples of sea water. 40 strains which were submitted to serological analysis by the Food and Drug Administration, U. S. Department of Health, Education and Welfare proved to be non-haemolytic and among them 17 different serological types were encountered.

The results are discussed based on the review of the literature on the dissemination and pathogenicity of this microorganism.

DESCRIPTORS: *Vibrio parahaemolyticus* isolation in oysters and other sea products (São Paulo, Brazil).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARKER JR., W.H. — *Vibrio parahaemolyticus* outbreaks in the United States. *Lancet*, 1 (7857): 551-4, 1974.
2. BARROW, G.I. — Marine micro-organisms and food poisoning. In: HOBBS, B. C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. — *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 190-6.
3. BARROW, G.I. & MILLER, D.C. — *Vibrio parahaemolyticus*: a potential pathogen from marine sources in Britain. *Lancet*, 1 (7748): 485-6, 1972.
4. BOCKEMUL, J.; AMEDOME, A. & TRIEMER, A. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis during the El Tor cholera epidemic in Togo (West Africa). *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 24: 101-4, 1975.
5. BOLEN, J. L.; ZAMISKA, S. A. & GREENOUGH III, W.B. — Clinical features in enteritis due to *Vibrio parahaemolyticus*. *Am. J. Med.*, 57: 638-41, 1974.
6. BRADSHAW, J. G.; FRANCIS, D.W. & TWEDT, R.M. — Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in cooked seafood at refrigeration temperatures. *Appl. Microbiol.*, 27: 657-61, 1974.
7. DADISMAN JR., T.A.; NELSON, R; MOLENDA, J.R. & GARBER, H.J. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Maryland. I. Clinical and epidemiological aspects. *Am. J. Epidemiol.*, 96: 414-26, 1972.
8. DOKI CHUM; JAE KYO CHUNG; SUNG YONG SEOL & RYUNBIN TAK — *Vibrio parahaemolyticus* in the Republic of Korea. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 1125-9, 1974.
9. ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration — *Isolation and identification of Vibrio parahaemolyticus*. [s.l.] F.D.A., may 5, 1972. [Multiliterado]
10. FISHBEIN, M.; MEHLMAN, I.J. & PITCHER, J. — Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from the processed meat of Chesapeake Bay blue crabs. *Appl. Microbiol.*, 20: 176-8, 1970.
11. FISHBEIN, M. & OLSON JR., J.C. — *Vibrio parahaemolyticus*: a real foodborne disease problem. *FDA Papers*, 5 (7): 16-22, 1971.
12. FISHBEIN, M. & WENTZ, B. — *Vibrio parahaemolyticus* methodology for isolation from seafoods and epidemic specimens. *J. Milk Fd. Technol.*, 36: 118-23, 1973.

GELLI, D.S.; TACHIBANA, T. & SILVA, T.M.P. — Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras e outros produtos marinhos no litoral de São Paulo, Brasil. Revisão e considerações sobre o risco potencial para a saúde pública. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 9-16, 1975/76.

13. FUJINO, T. apud SAKAZAKI, R. — Recent trends of *Vibrio parahaemolyticus* as a causative agent of food poisoning. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 19-30.
14. FUJINO, T. apud TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. ³⁴
15. HOFER, E. & SILVA, C.H.D. — Isolamento e identificação de *Vibrio parahaemolyticus* de material de peixe de origem marinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 5.º, Rio de Janeiro, 1974. Resumos dos Trabalhos. p. 193.
16. HOOPER, W.K.; BARROW, G.I. & McNAB, D.J.N. — *Vibrio parahaemolyticus* food-poisoning in Britain. *Lancet*, 1 (7866): 1100-2, 1974.
17. HYGIENE du poisson et des fruits de mer. *Chronicle Wild Hith Org.*, 29: 63-9, 1975.
18. JANSSEN, W.A. — Oysters: retention and excretion of three types of human waterborne diseases bacteria. *Health Lab. Sci.*, 11 (1): 20-4, 1974 apud *Abstracts on Hygiene*, 49 (8): 663, 1974. Resumo n.º 2511.
19. KANEKO, T. & COLWELL, R.R. — Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* and related organisms in the Atlantic Ocean off South Carolina and Georgia. *Appl. Microbiol.*, 28: 1009-17, 1974.
20. KOURANY, M.; KINNEY, R.J. & VÁSQUEZ, M.A. — *Vibrio parahaemolyticus* in seawater off the Pacific coast of Panamá. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 714-5, 1974.
21. KOURANY, M. & VÁSQUEZ, M.A. — The first reported case from Panamá of acute gastroenteritis caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 24: 638-40, 1975.
22. LEITÃO, M.F.F. & ARIMA, H.K. — *Vibrio parahaemolyticus* no ambiente marinho do Estado de São Paulo. I — Ocorrência na água e avaliação da metodologia e isolamentos. *Col. Inst. Technol. Alimentos*, 6: 149-66, 1975.
23. LISTON, J. & BAROSS, J. — Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the natural environment. *J. Milk Fd. Technol.*, 36 113-7, 1973.
24. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Comité d'experts de l'OMS/FAO. Hygiène du poisson e des fruits de mer. Genève, 1974. Sér. rapp. techn. n.º 550.
25. PEFFERS, A.S.R.; BAILAY, J.; BARROW, G.I. & HOBBS, B.C. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis and international air travel. *Lancet*, 1 (7795): 143-5, 1973.
26. PTHUCHEARY, S.D. — *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis in Malaysia. *Med. J. Malaysia*, 28: 44-6, 1973.
27. RUGAI, E. & ARAUJO, A. — Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28: 79-83, 1968.
28. SAKAZAKI, R. — Control of contamination with *Vibrio parahaemolyticus* in seafoods and isolation and identification of the *Vibrio*. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 375-85.
29. SAKAZAKI, R. — Recent trends of *Vibrio parahaemolyticus* as a causative agent of food poisoning. In: HOBBS, B.C. & CHRISTIAN, J.H.B., ed. — *The microbiological safety of food*. London, Academic Press, 1973. p. 19-30.
30. SAKAZAKI, R. apud TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. ³⁴
31. SAKURAL, J.; MATSUZAKI, A.; TAKEDA, Y. & MIWATANI, T. — Existence of two distinct haemolysins in *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect. Immun.*, 9: 777-80, 1974.
32. SANYAL, S.C.; SIL, J. & SAKAZAKI, R. — Laboratory infection by *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Med. Microbiol.*, 6: 121-2, 1973.
33. TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. — Studies on the enteropathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in the ligated rabbit ileum. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON *VIBRIO PARAHAEMOLYTI-CUS*. Tokio, 1973.
34. TWEDT, R.M. & BROWN, D.F. — *Vibrio parahaemolyticus* infection or toxicosis? *J. Milk Fd Technol.*, 36: 129-34, 1973.

Recebido para publicação em 13 de junho de 1975.