



INIA
INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES
AGRÍCOLAS

AÑO 2019. VOL. 37 NÚM. 1-2

ZOOTECNIA TROPICAL

TABLA DE CONTENIDO Vol. 37 N° 1-2

Artículos Científicos

da Rosa, JV; de Souza, AIA; Timm, CD.

- Yersinia enterocolitica* em pescados do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil** 7
 (*Yersinia enterocolitica* from fishes from the Lagoa dos Patos estuary, Brazil)

Silva, FFC; Ferreira, JLS; Calil, FN.

- Produtividade da forrageira Tamani em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) na região sul de Goiás** 15
 (*Tamani forage productivity in an integration crop-livestock-forest (ICLS) system in south of Goiás*)

Macías A., J; Vivanco M., Hurtado G., E; Carreño M., Á.

- Niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y su relación con la población folicular en hembras Brahman** 25
 (*Plasma levels of the Anti-Müllerian Hormone and its relationship with the follicular population in Brahman females*)

Mesa F., A; Mesa P., C; Millán H., O; Luigi S., T; Ramírez M., L; Rojas, L.

- Evaluación de la calidad sanitaria durante el procesamiento del jamón cocido, en una empresa del estado Carabobo, Venezuela** 35
 (*Assesment of the sanitary quality during processing of cooked ham in a company of Carabobo state, Venezuela*)

Nota Técnica

Garcés M., J; Díaz L., Á; González, L.

- Caracterización preliminar de la pesca artesanal de arrastre camaronero en el occidente de Venezuela** 45
 (*Preliminary characterization of artisanal shrimp trawling fisheries in the western of Venezuela*)

- Instrucciones al autor 53

***Yersinia enterocolitica* em pescados do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil**

Janaina V. da Rosa^{1*}, Agnes I. A. de Souza¹, Cláudio D. Timm¹

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Departamento de Veterinária Preventiva. Pelotas. Brasil. *Correio eletrônico: janavrosa@yahoo.com.br.

RESUMO

Yersinia enterocolitica, uma bactéria que causa doença transmitida por alimentos (DTA), já foi encontrada em lagoas e lagos, e tem sido isolada de carne de porco, bovino, ostras, peixe e leite cru. A bactéria causa síndromes gastrintestinais e é capaz de se multiplicar em temperaturas utilizadas durante o armazenamento do pescado. O trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Y. enterocolitica* em peixes capturados no estuário da Lagoa dos Patos e verificar a similaridade entre isolados de amostras colhidas imediatamente após o desembarque e após o processamento para venda ao consumidor. 13 desembarques de pescados foram acompanhados e 130 peixes (65 inteiros e 65 eviscerados) foram analisados quanto à presença de *Y. enterocolitica*. O microrganismo foi isolado em 4,61 % das amostras de peixes inteiros e em 7,7 % das amostras de peixes prontos para o comércio, especificamente nas espécies *Paralichthys orbignyanus* e *Micropogonias furnieri*, o que constitui o primeiro registro da ocorrência desta bactéria nessas espécies de pescado. Os resultados demonstram a necessidade de orientar os manipuladores quanto aos cuidados higiênico-sanitários nas operações de limpeza e sanitização, de modo a evitar a contaminação do alimento por micro-organismos patogênicos. Também é preciso intensificar as ações de vigilância sanitária, a fim de evitar riscos no consumo de pescados.

Palavras chave: peixes, doenças transmitidas por alimentos, higiene dos alimentos.

***Yersinia enterocolitica* from fishes from the Lagoa dos Patos estuary, Brazil**

ABSTRACT

Yersinia enterocolitica, a bacterium that causes foodborne disease (FBD), has been found in ponds and lakes and has been isolated from pork, beef, oysters, fish, and raw milk. It causes gastrointestinal syndromes and can multiply at temperatures used during the storage of fish. The study aimed to investigate the presence of *Y. enterocolitica* in fish caught in the Lagoa dos Patos estuary and to verify the similarity between isolates from samples collected immediately after landing and after processing for sale to the consumer. 13 fish discharges were followed and 130 fishes (65 entire and 65 cleaned) were analyzed regarding *Y. enterocolitica* presence. The microorganism was isolated in 4.61 % of whole fish samples and 7.7 % of ready-to-trade fish samples, specifically *Paralichthys orbignyanus* and *Micropogonias furnieri* species, which constitutes the first record of this bacteria occurrence in these fish species. The results demonstrate the need to train the handlers about the hygienic handling during the operations of cleaning and sanitizing in order to avoid food contamination by pathogenic micro-organisms. It also needs to increase health surveillance activities in order to avoid risks in fish consumption.

Key words: fishes, foodborne diseases, food hygiene.

***Yersinia enterocolitica* en pescados del estuario de la Lagoa dos Patos, Brasil**

RESUMEN

Yersinia enterocolitica, una bacteria causante de enfermedad transmitida por alimentos (ETA), ha sido encontrada en estanques y lagos, y también se ha aislado de carne de cerdo, carne de res, ostras, pescado y leche cruda. Provoca síndromes gastrointestinales y es capaz de multiplicarse a las temperaturas usadas durante el almacenamiento del pescado. El estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de *Y. enterocolitica* en peces capturados en el estuario de Lagoa dos Pato y verificar la similitud entre los aislamientos de las muestras recolectadas inmediatamente después del desembarque y después del procesamiento para la venta al consumidor. Se monitorearon 13 lotes de pesca y 130 peces (65 eviscerados y 65 enteros) se analizaron para determinar la presencia de *Y. enterocolitica*. El microorganismo fue aislado en 4,61 % de muestras de pescado entero y 7,7 % de las muestras de pescado listo para el comercio, específicamente en las especies *Paralichthys orbignyanus* y *Micropogonias furnieri*, lo que constituye el primer registro de la ocurrencia de esta bacteria en estas especies de peces. Los resultados demuestran la necesidad de orientar a los manipuladores sobre los cuidados higiénico-sanitarios en las operaciones de limpieza y desinfección con el fin de evitar la contaminación de los alimentos por microorganismos patógenos. También es necesario intensificar las actividades de vigilancia de la salud con el fin de evitar riesgos en el consumo de pescado.

Palabras clave: peces, enfermedades transmitidas por alimentos, higiene de los alimentos.

INTRODUÇÃO

O pescado é rico em proteínas de elevado valor biológico, vitaminas, sais minerais e ácidos graxos insaturados, como ômega-3. Apresenta, ainda, alta digestibilidade e possui baixa quantidade de gordura saturada, o que propicia benefícios para a saúde humana (MAPA 2019). Pesquisas descrevem também a presença de efeito protetor contra doenças cardiovasculares, transtornos de desenvolvimento, depressão, ansiedade e doenças inflamatórias (MAPA 2019).

Devido a esses fatores, o seu consumo tem aumentado consideravelmente com o passar dos anos. Segundo Sartori e Amancio (2012) é recomendado o consumo de peixes uma ou duas vezes por semana. No território brasileiro, o consumo *per capita* é inferior a 10 kg/ano, sendo que o recomendado pela FAO é de 12 kg/ano, por isso ainda é necessário o incentivo do consumo no Brasil (ABP 2019).

De todos os produtos cárneos, o pescado é o mais sensível à deterioração, hidrólise de gorduras, oxidação e alteração por micro-organismos devido à sua atividade de água elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e pH próximo da neutralidade

(Soares e Gonçalves 2012). É um alimento que apresenta características intrínsecas favoráveis à sobrevivência de micro-organismos patogênicos (Bartolomeu *et al.* 2011).

A captura do pescado no Brasil é muito prejudicada pela existência de quantidades relevantes de comércio de pescado sem inspeção sanitária, sendo assim, ele acaba sendo vendido sem a garantia de segurança e inocuidade alimentar (Seafood Brasil 2019). Além disso, as empresas informais acabam vendendo produtos sem frescor, com troca de espécies e/ou peso abaixo do permitido (Seafood Brasil 2019). Os estabelecimentos industriais de carnes e derivados têm exigências específicas de estrutura e produção, de ordem higiênico-sanitária, visando a manter condições favoráveis no sentido de evitar contaminações que causem danos ao produto e/ou ao consumidor (Brasil 2017).

Yersinia enterocolitica é uma bactéria Gram-negativa que pode causar doença transmitida por alimentos (DTA), sendo responsável por causar síndromes gastrintestinais, que variam de enterite aguda a linfadenite mesentérica. Este micro-organismo tem sido isolado de amostras ambientais, como lagoas e lagos, e de alimentos, como carne de porco, carne bovina, ostras, peixe e leite

cru (Shanmugapriya *et al.* 2014). É uma bactéria psicotrófica, capaz de se multiplicar em temperaturas usualmente utilizadas durante o armazenamento do pescado (- 0,5 à 2 °C). Além disso, também resiste ao congelamento, aumentando sua importância em doenças transmitidas por pescados (Nesbakken 2015). A falta de higiene dos manipuladores de alimentos e técnicas de esterilização inadequadas, em adição a armazenamento impróprio, são fatores importantes que contribuem para a contaminação dos alimentos (Atobla 2012).

Segundo Baldisserotto (2009), não há estudos sobre a qualidade do pescado continental vendido ao consumidor no Rio Grande do Sul. Também faltam estudos que permitam conhecer a ocorrência de agentes etiológicos de DTA em pescados da região, em especial do estuário da Lagoa dos Patos, o que constitui a base indispensável para traçar planos efetivos de controle da sua transmissão para os consumidores. Assim sendo, o trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Y. enterocolitica* em peixes capturados no estuário da Lagoa dos Pato e verificar a similaridade entre isolados de amostras colhidas imediatamente após o desembarque e após o processamento para venda ao consumidor.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das amostras

Treze desembarques de pescados capturados, sendo nove na colônia de pescadores Z-3, no município de Pelotas, e quatro no mercado público do município de Rio Grande, foram acompanhados. Todas as capturas foram realizadas com métodos artesanais no estuário da Lagoa dos Patos, RS.

Foram coletados aleatoriamente em cada desembarque de ambos os municípios, cinco peixes inteiros no momento de cada desembarque e cinco após o processamento (evisceração e higienização) para venda aos consumidores, totalizando 130 amostras. Os pescados foram colocados em sacos estéreis e imediatamente encaminhados ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo, para pesquisa de *Y. enterocolitica*. As coletas foram realizadas durante os meses de abril a outubro de 2014.

Obtenção dos isolados do pescado inteiro

Para pesquisa de *Y. enterocolitica* foi utilizada a metodologia recomendada por Weagant e Feng (2007), com modificações. Foi realizada coleta de conteúdo intestinal com uso de zaragatoas (na metodologia recomendada foi utilizado 0,1 mL da amostra diluída em caldo de enriquecimento) e semeadura por esgotamento em ágar MacConkey (Acumedia, Lansing, Michigan, USA).

Foi utilizada uma temperatura de incubação de 37 °C por 24 horas, diferentemente do protocolo original de 30 °C. Após a incubação, três colônias lactose negativas foram semeadas em Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Acumedia) e, após incubação a 37 °C por 24 horas, foram misturadas com 20 % de glicerol, para manutenção de estoque a -70 °C. Os isolados foram recuperados em BHI a 37 °C por 24 horas, quando necessário.

Obtenção dos isolados de pescado pronto para venda

Para a pesquisa de *Y. enterocolitica*, foi coletado material com uso de zaragatoa estéril, a qual foi passada três vezes em cada um dos dois lados do dorso e posteriormente dos dois lados da superfície interna do pescado e imediatamente semeada por esgotamento em ágar MacConkey, seguindo procedimento conforme descrição anterior.

Extração de DNA

O DNA dos isolados suspeitos de *Y. enterocolitica* foi extraído conforme Sambrook e Russel (2001). Resumidamente, o pellet obtido por centrifugação de 1 mL de cultura em BHI foi ressuspenso em 100 µL de tampão STES [Tris-HCl 0,2 M; NaCl 0,5 M; SDS 0,1 % (m/v); EDTA 0,01 M, pH 7,6]. Foram adicionados 50 µL de pérolas de vidro e 100 µL de fenol/clorofórmio.

Após homogeneização por 1 minuto, a mistura foi centrifugada a 13.000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e precipitado em 2 volumes de etanol absoluto e 0,1 volume de NaCl 5 M a -70 °C por 30 minutos. Uma nova centrifugação foi realizada a 13.000 g por 20 minutos, o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado com etanol a 70 %. Após eluição em 40 µL de tampão de eluição [Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,4],

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados para a identificação de *Y. enterocolitica* (genes A₁, A₂, Y₁, Y₂) e para a comparação de cepas (rep-PCR)

Oligonucleotídeo	Sequência (5' - 3')	(pb) ¹	Referencia
A ₁	TTAATGTGTACGCTGGGAGTG	425	Wannet <i>et al.</i> 2001
A ₂	GGAGTATTCATATGAAGCGTC		
Y ₁	AATACCGCATAACGTCTTCG	330	Wannet <i>et al.</i> 2001
Y ₂	CTTCTTCTGCGAGTAACGTC		
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	-	Versalovic <i>et al.</i> 1994, Rasschaert <i>et al.</i> 2005

¹Tamanho da amplificação na PCR

foi adicionado 1 µL de RNase (10 µg/µL). O DNA extraído foi estocado a -70 °C.

Identificação de *Y. enterocolitica*

Os isolados suspeitos de *Y. enterocolitica* foram analisados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa dos genes A₁, A₂, Y₁, Y₂ (Tabela 1), para identificação de *Y. enterocolitica* conforme Wannet *et al.* (2001), com modificações. Cada reação teve volume final de 25 µL. Foram utilizados 12,5 µL de Master Mix (Qiagen, São Paulo, Brasil) (na literatura citada os componentes foram adicionados separados), 1 µL (10 pmol) de cada oligonucleotídeo, 2 µL de DNA e 6,5 µL de água para completar o volume da reação.

A amplificação foi realizada em termociclador TC-3000 com o programa citado na Tabela 2. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 1 % (sendo usado o gel de agarose a 1,5 % na literatura seguida). Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *Y. enterocolitica* ATCC 0098.

Rep-PCR

Para comparação das cepas da mesma espécie, os DNAs de *Y. enterocolitica* foram analisados pela técnica de PCR em sequências palindrômicas extragênicas repetidas (rep-PCR), utilizando o primer (GTG)₅ apresentado na Tabela 1 (Versalovic *et al.* 1994, Rasschaert *et al.* 2005). As condições da rep-PCR foram as seguintes: 2,5 µL de DNA, 2 µL do oligonucleotídeo, 12,5 µL de Master Mix e 8 µL de água para completar o volume da

reação. Os ciclos da amplificação foram efetuados conforme a Tabela 3. Para a visualização dos padrões de banda das diferentes regiões amplificadas no genoma, os produtos da PCR foram corados com GelRed e a eletroforese foi realizada em gel de agarose 2 %. Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *Y. enterocolitica* ATCC 0098. Como controle negativo foram utilizados todos os componentes da reação, menos DNA.

Tabela 2. Descrição do programa de amplificação para identificação de *Y. enterocolitica* realizada em termociclador.

Fase	T (°C)	t (s)
Desnaturação inicial	94	300
36 ciclos	Desnaturação	45
	Anelamento	45
	Extensão	45
Extensão final	72	420

Tabela 3. Descrição do programa de amplificação para comparação de cepas de *Y. enterocolitica* realizada em termociclador.

Fase	T (°C)	t (s)
Desnaturação inicial	94	300
30 ciclos	Desnaturação	30
	Anelamento	60
	Extensão	300
Extensão final	60	960

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies capturadas no estuário da Lagoa dos Patos desembarcadas na época do ano em que o trabalho foi realizado foram: *Micropogonias furnieri* (corvina), *Mugil platanus* (tainha), ambas de desembarques realizados na Z-3, e *Paralichthys orbignyanus* (linguado), obtido no mercado público de Rio Grande.

As espécies que albergavam o micro-organismo pesquisado foram *P. orbignyanus* e *M. furnieri*, sendo este o primeiro registro de isolamento de *Y. enterocolitica* dessas espécies de pescado. *Y. enterocolitica* foi isolada de 4,61 % (3/65) das amostras de peixes inteiros e de 7,7 % (5/65) das amostras de peixes já eviscerados e prontos para o comércio (Tabela 4).

Na Índia, Khare *et al.* (2006) analisaram diversos tipos de pescados e produtos cárneos e isolaram *Y. enterocolitica* de ostras e caranguejos (20% cada) e de peixes (14,28%). Em outro trabalho, também na Índia, Shanmugapriya *et al.* (2014) analisaram um total de 24 amostras de peixes coletadas de diferentes mercados durante dezembro de 2010 e março de 2011 e encontraram *Y. enterocolitica* em 90 % das amostras. Estes valores são superiores

aos observados em nosso estudo, no qual a bactéria foi identificada em 6,15 % das amostras.

Entretanto, baixa ocorrência de *Y. enterocolitica* em pescados também tem sido reportada, como no estudo de Ripabelli *et al.* (2004), realizado na Itália, no qual isolaram *Y. enterocolitica* de 1% de amostras de crustáceos e de 3 % de moluscos. Além das diferenças geográficas, estes distintos resultados também podem se dever às distintas espécies de organismos aquáticos analisados. O isolamento de *Y. enterocolitica* de alimentos preparados com pescados, seja por estar presente na matéria-prima ou por ter sido contaminado durante o manuseio inadequado ou incorreto acondicionamento, representa sério risco à saúde do consumidor.

Em Portugal, Correia *et al.* (2013) analisaram dados das toxinfecções alimentares reportadas pela European Food Safety Authority (EFSA), no período de 2008 a 2011, e identificaram o arroz com bacalhau como veículo de *Y. enterocolitica* em um surto de DTA. O fato de um prato quente preparado com peixe ter transmitido *Y. enterocolitica* reforça a importância do nosso estudo, indicando a necessidade de controle mais rigoroso

Tabela 4. Mês das coletas, espécies coletadas e isolamentos obtidos.

Desembarques	Meses	Pescados	<i>Yersinia enterocolitica</i>	
			Peixes inteiros	Peixes eviscerados
1	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
2	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
3	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
4	Junho	<i>P. orbignyanus</i>	0	0
5	Julho	<i>P. orbignyanus</i>	0	0
6	Setembro	<i>P. orbignyanus</i>	2	0
7	Outubro	<i>P. orbignyanus</i>	0	1
8	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	1
9	Outubro	<i>M. furnieri</i>	1	2
10	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0
11	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0
12	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	1
13	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0

no processamento do pescado, uma vez que não só pratos preparados com peixe cru podem oferecer risco ao consumidor, caso o pescado esteja contaminado com *Y. enterocolitica*.

Além disso, a presença de *Y. enterocolitica* em peixes inteiros pode favorecer a contaminação cruzada no momento de sua evisceração, pois os utensílios utilizados para retirar as vísceras, caso não sejam bem higienizados, poderão contaminar outros pescados. O isolamento de *Y. enterocolitica* em peixes eviscerados aumenta o risco de contaminação durante a exposição dos produtos para venda ou até na preparação dos alimentos na casa do consumidor final.

No Brasil, de acordo com o Centro de Vigilância Epidemiológica (SES-CVE, 2003), ainda não há dados oficiais sobre a ocorrência de *Y. enterocolitica* como causadora de DTA, mas como o nosso trabalho comprovou, existe a possibilidade de ingestão de peixes contaminados com *Y. enterocolitica* na região de estudo, ressaltando a necessidade de mais estudos sobre o tema em outras regiões do Brasil.

Na análise dos isolados de *Y. enterocolitica* pela rep-PCR todos os isolados apresentaram diferentes perfis de bandas, evidenciando que são cepas distintas. Estes resultados indicam que não houve contaminação cruzada por *Y. enterocolitica* durante a manipulação dos pescados.

CONCLUSÕES

Os peixes das espécies *P. orbignyanus* e *M. furnieri* capturadas no estuário da Lagoa dos Patos podem albergar *Y. enterocolitica*, que pode também estar presente no pescado processado para o comércio ao consumidor.

Os resultados obtidos demonstram a necessidade de orientar os manipuladores quanto aos cuidados higiênico-sanitários nas operações de limpeza e sanificação, de modo a evitar a contaminação do alimento por micro-organismos patogênicos. Também é preciso intensificar as ações de vigilância sanitária, a fim de evitar riscos no consumo de pescados.

LITERATURA CITADA

- ABP (Associação Brasileira da Piscicultura). 2019. Anuário PeixeBR da piscicultura 2019 (em linha). São Paulo, Brasil, Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bmZCoU>
- Atobla, K; Karou, TG; Dadie, AT; Niamke, LS; Dje, KM. 2012. Isolation and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pigs in Abidjan, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 50:3540-3548.
- Baldisserotto, B. 2009. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural* 39(1):291-299.
- Bartolomeu, DAFS; Dallabona, BR; Macedo, REF; Kirschnik, PG. 2011. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Veterinary Science* 16(1):21-30.
- Brasil. 2017. Decreto n. 9013, de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (em linha). *Diário Oficial da União, Seção 1*. Brasília. Consultado 19 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2KkCvPY>
- Correia, CB; Cunha, IC; Coelho, AS; Maia, C; Pena, C; Bonito, CC; Sousa, I; Toscano, MM; Furtado, R; Santos, SD; Viegas, S; Lopes, TT; Saraiva, M; Calhau, MA. 2013. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares (2008-2011) (em linha). Instituto Nacional de Saúde. *Observações do Boletim Epidemiológico*. Consultado 21 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3alv8SI>
- Khare, SS, Kamat, AS; Doctor, TR; Nair, PM. 2006. Incidence of *Yersinia enterocolitica* and Related Species in Some Fish, Meat and Meat Products in India. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 72(2):187-195.
- MAPA. 2019. Consumo de peixe reduz risco de morte por doenças do coração (em linha). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2XOzNtl>

- Nesbakken T. 2015. Update on *Yersinia* as a foodborne pathogen: Analysis and control. *Advances in microbial food safety* 2:33-58.
- Rasschaert, G; Houf, K; Imberechts, H; Grijspeerdt, K; De Zutter, L; Heyndrickx, M. 2005. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 43(8):3615–3623.
- Ripabelli, G; Sammarco, ML; Fanelli, I; Grasso, GM. 2004. Detection of *Salmonella*, *Listeria* spp., *Vibrio* spp., and *Yersinia enterocolitica* in frozen seafood and comparison with enumeration for faecal indicators: implication for public health. *Annali di igiene: medicina preventiva e di comunità* 16(4):531-539.
- Sambrook, J; Russel, DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, EUA.
- Sartori, GO; Amancio, RD. 2012. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional* 19(2):83-93.
- Seafood Brasil. 2019. Cruzada da Industrialização (em linha). *Seafood Brasil* (31):46-48. Consultado 16 out. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2Y2up6H>
- SES-CVE (Secretaria de Estado da Saúde - Centro de Vigilância Epidemiológica). 2003. *Manual das doenças transmitidas por alimentos e água* (em linha). Consultado 21 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bqwPQ9>
- Shanmugapriya, S; Senthilmurugan, T; Thayumanavan, T. 2014. Genetic Diversity among *Yersinia enterocolitica* isolated from Chicken and Fish in and around Coimbatore City. India. *Iranian Journal of Public Health* 43(6):835-844.
- Soares, KMdeP; Gonçalves, AA. 2012. Seafood quality and safety. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 71:1-10.
- Versalovic, J; Schneider, M; de Bruijn, FJ; Lupski, JR. 1994. Genomic fingerprinting of bacteria with repetitive sequence based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology* 5:25-40.
- Wannet, WJB; Reessink, M; Brunings, HA; Maas, HME. 2001. Detection of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* by a Rapid and Sensitive Duplex PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 39(12):4483-4486.
- Weagant, SD; Feng, P. 2007. *Yersinia enterocolitica* (em linha). U.S. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual (BAM). Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bpaYZt>