

# Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de alimentos de origem animal ao extrato bruto e a fração proteica obtida de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown\*

Maria Gilnara Lima Bandeira<sup>1</sup>, Germana Guimarães Rebouças<sup>2</sup>, Rossetti Diógenes de Oliveira Filho<sup>3</sup>, Maria Rociene Abrantes<sup>4\*</sup>, Michele Dalvina Correia da Silva<sup>5</sup> e Jean Berg Alves da Silva<sup>6</sup>

**ABSTRACT.** Bandeira M.G.L., Rebouças G.G., Oliveira-Filho R.D., Abrantes M.R., Silva M.D.C. & da Silva J.B.A. [**Sensitivity profile of *Staphylococcus* spp. isolated from food of animal origin to extract and protein fraction obtained from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown.**] Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de alimentos de origem animal ao extrato bruto e a fração proteica obtida de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(2):163-167, 2016. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido, Av. Francisco Mota 572, Mossoró, RN 59625-900, Brasil. E-mail: rocienevet3@hotmail.com

Because of the large increase in resistance by pathogenic microorganisms to multiple drugs, there is growing demand for natural alternatives. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, known as lemon balm is popularly used for various therapeutic purposes. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of antibiotics and of extract and protein fraction obtained from lemon balm (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown) on *Staphylococcus* spp. from animal origin foods. *Staphylococcus* spp. were isolated from 23 samples of various foods. The bacteria underwent the antibiogram diffusion technique in agar with the following antibiotics: oxacillin, gentamycin, amikacin, ampicillin and cephalixin. Then, we evaluated the antimicrobial activity of lemon balm at two different concentrations, one from the crude extract and another from a fraction with 60-90% saturation in ammonium sulfate. There was 100% resistance of the strains to ampicillin. Concerning the following antibiotics amikacin, cephalixin, gentamicin and oxacillin, there was 8%, 8%, 13% and 87% of resistant strains respectively. In trials with the protein of the crude extract and of the fraction with 60-90% saturation in ammonium sulfate, 17.3% and 56.5% of the strains were inhibited, respectively. Few studies have linked the use of lemon balm to inhibition of microorganisms in foods and the results of this work indicate a significant antibacterial activity, especially in multi-drug resistant strains. The lemon balm can be of great importance for the food industry, being a potential natural preservative for food.

**KEY WORDS.** Lemon balm, antibiotics, resistance.

---

\* Recebido em 27 de setembro de 2015.

Aceito para publicação em 13 de janeiro de 2016.

<sup>1</sup> Biotecnologista, MSc, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará, Rua Estevão Remígio 1145, CE 62930. Email: gilnarabandeira@gmail.com

<sup>2</sup> Biotecnologista, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido (UFRSA), Av. Francisco Mota 572, Mossoró, RN 59625-900. Email: ggreboucas@gmail.com - bolsista CAPES.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Porangabuçu, Rua Alexandre Baraúna, 994, Rodolfo Teófilo, Fortaleza, CE 60430-160. Email: fi\_diorgenes@hotmail.com - bolsista FUNCAP.

<sup>4</sup> Médica-veterinária, MSc, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UFRSA, Av. Francisco Mota 572, Mossoró, RN 59625-900. \*Autora para correspondência, Email: rocienevet3@hotmail.com - bolsista CAPES.

<sup>5</sup> Bióloga, DSc, Departamento de Ciências Animais (DCA) UFRSA, Av. Francisco Mota 572, Mossoró, RN 59625-900. E-mail: micheledalvina@ufersa.edu.br

<sup>6</sup> Médico-veterinário, DSc, DCA, UFRSA, Av. Francisco Mota 572, Mossoró, RN 59625-900. E-mail: jeanberg@ufersa.edu.br

**RESUMO.** Em razão do grande aumento da resistência de micro-organismos patogênicos a múltiplas drogas, é crescente a busca por alternativas naturais. A *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, conhecida como Erva Cidreira é utilizada popularmente para diversos fins terapêuticos. Com isso, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial antibacteriano de antibióticos e preparações proteicas obtidas de Erva Cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown) em *Staphylococcus* spp. provenientes de alimentos de origem animal. Foram isolados *Staphylococcus* spp. de 23 amostras de alimentos diversos. As bactérias foram submetidas a técnica de antibiograma de difusão em ágar, com os seguintes antibióticos: Oxacilina, Gentamicina, Amicacina, Cefalexina e Ampicilina. Em seguida foi realizada a avaliação do potencial antibacteriano de duas concentrações de proteínas, obtidas do extrato bruto e de uma fração com 60-90% de saturação em sulfato de amônio. Foi observada resistência de 100% das cepas a ampicilina. Com relação aos antimicrobianos Amicacina, cefalexina, Gentamicina e Oxacilina, houve 8%, 8%, 13% e 87% de cepas resistentes, respectivamente. Nos ensaios com as proteínas do extrato bruto e da fração com 60-90% de saturação em sulfato de amônio, 17,3% e 56,5% das cepas foram inibidas, respectivamente. Poucos estudos associam o uso da Erva Cidreira a inibição de micro-organismos em alimentos e os resultados deste trabalho indicam sua relevante atividade antibacteriana, principalmente em cepas multirresistentes. A Erva Cidreira pode ser de grande importância para a indústria de alimentos, sendo um potencial conservante natural para alimentos.

**PALAVRAS-CHAVE.** Erva cidreira, antibióticos, resistência.

## INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são mundialmente conhecidas como agentes causadores de várias doenças tanto em humanos como em animais (Le Loir 2003), sendo na pecuária leiteira, uma das principais causadoras de mastites (White & Mcdermott 2001). Estas bactérias também são transmitidas ao homem através da alimentação, pois apresentam características que possibilitam seu crescimento em uma grande variedade de alimentos que requerem manipulação durante o processamento (Le Loir 2003).

Por outro lado, o desenvolvimento de antimicrobianos nas últimas décadas, desde a descoberta das penicilinas naturais, e o avanço da indústria farmacêutica levou ao surgimento de diversos antimicrobianos, com espectro de ação cada vez mais

amplo. Entretanto, a exposição a essas substâncias desencadeou resistência bacteriana, limitando as opções terapêuticas dos processos infecciosos (Cunico et al. 2004). A resistência de patógenos humanos e animais a drogas é um sério problema tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Duarte 2006).

O uso indiscriminado e irresponsável de antibióticos, humano ou veterinário, tem favorecido a pressão seletiva e predominância de espécies bacterianas cada vez mais resistentes (Del Fioli et al. 2010). Exemplo desta resistência, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é o maior patógeno nosocomial em infecções hospitalares, sendo responsável por inativar a ação de vários antibióticos, tornando a multirresistência um grande problema de saúde pública (Tacconelli et al. 2008).

Linhagens de MRSA têm sido encontradas em alimentos de origem animal como leite e derivados. Sua presença nestes alimentos permite que seja transferida ao homem através do seu consumo, fato que demonstra ser cada vez mais necessária a busca por novas substâncias antibacterianas (De Boer 2009).

Como alternativa a esta resistência, o homem tem feito uso de plantas na busca pela promoção e manutenção de sua saúde, estima-se que cerca de 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais indígenas e tradicionais como os fitoterápicos (Bagetta et al. 2010). No Brasil devido à riqueza de sua flora e ao conhecimento popular transmitido através das gerações, as plantas medicinais são vendidas em feiras livres e mercados populares para o tratamento de doenças diversas (Duarte 2006).

A *Lippia alba*, conhecida como Erva Cidreira é tradicionalmente usada como analgésica, antipirética, sedativa, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, no tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias, antiespasmódica, antifúngica, inseticida e repelente. É utilizada nas formas de chá, macerada, em compressas, banhos ou extratos alcoólicos (Yamamoto et al. 2008).

Baseado no comprovado potencial terapêutico dessa planta e das poucas publicações em relação a sua capacidade antibacteriana frente a micro-organismos, este trabalho objetivou avaliar o perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de alimentos de origem animal a frações proteicas extraídas de Erva Cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal - LIPOA, da Univer-

sidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), onde as amostras de alimentos de origem animal foram obtidas a partir das análises de rotina do mesmo. Foram utilizadas no experimento nove amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de leite, nove de camarão, três de gema de ovo e duas de bebida láctea; totalizando 23 amostras.

### Isolamento de *Staphylococcus* de alimentos

De cada amostra de alimento foram pesados 25g ou retirado 25 mL e diluídos em solução salina peptonada a 0,1%, obtendo uma diluição de 10<sup>-1</sup>. Da diluição, foram utilizados 0.1 mL para a semeadura em superfície em placas de petri contendo Baird Parker Agar acrescido de emulsão de gema de ovo e telurito a 5%. Em seguida as placas foram incubadas a 36° C por 48 horas para o crescimento microbiano. Foram selecionadas as colônias típicas e atípicas, adicionadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion), e incubadas a 36°C por 48 horas. Foram realizados o teste de coloração de Gram para posterior confirmação quanto a microscopia morfológica de acordo com as recomendações da Instrução Normativa N° 62 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil 2003).

### Teste de sensibilidade *in vitro*

Os isolados de *Staphylococcus* foram submetidos a testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* através da técnica de difusão em ágar, de acordo com a metodologia descrita por Bauer et al. (1966) em Agar Mueller-Hinton, utilizando os seguintes discos de antibióticos: amicacina (30µg), ampicilina (10µg), cefalexina (30µg), gentamicina (10µg) e oxacilina (1µg). O procedimento de leitura foi realizado medindo os halos de inibição formados ao redor dos discos, medidos com paquímetro após 24h de incubação a 37°C. A interpretação quanto ao perfil de sensibilidade foi feita de acordo com a tabela de halos padronizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CISI 2011).

### Teste de sensibilidade *in vitro* com as frações proteicas

Folhas de *Lippia alba* foram coletadas para análise proteica, separadas, lavadas, secas e submetidas à trituração para obtenção de uma farinha. Uma extração proteica foi realizada a 10 % (p/v) em solução de NaCl 0,15M sob agitação, *overnight*, seguida de centrifugação (8000 rpm, 30 minutos a 4°C) e filtração para obtenção do Extrato Bruto (EB).

O EB obtido foi submetido à precipitação proteica fracionada utilizando sulfato de amônio. O sal foi adicionado ao EB com saturação de 0-30%, 30-60% e 60-90% com obtenção das frações proteicas. Em cada processo de precipitação o material foi submetido a uma agitação por 4 horas, seguida de centrifugação (8000 rpm, 30 minutos, a 4°C). O precipitado foi ressuspenso em solução de NaCl 0,15M e o sobrenadante submetido à próxima precipitação utilizando o mesmo processo. As frações obtidas foram submetidas à diálise exaustiva em membranas semipermeáveis, por 5 horas a 4°C, com trocas de água destilada e a última contra a solução de NaCl 0,15M para eliminação do sulfato de amônio.

As amostras proteicas (EB e frações) foram quantificadas pelo método de Lowry et al. (1951) sendo utilizada uma curva padrão de albumina sérica bovina, com valores compreendidos entre 31, 25 e 500µg.

Foi utilizada a fração proteica do extrato bruto e da concentração com 60-90% de saturação em sulfato de amônio. Os isolados de *Staphylococcus* foram submetidos a testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* a estas duas concentrações da fração proteica através da técnica de difusão em ágar, de acordo com a metodologia descrita por Bauer et al. (1966) em Agar Mueller-Hinton, utilizando discos limpos embebidos em 15µl de cada preparação. O procedimento de leitura foi realizado medindo os halos de inibição formados ao redor dos discos, medidos com paquímetro após 24h de incubação a 37°C. Foram utilizados o antibiótico Amicacina e a Solução de NaCl 0,15M, como controle positivo e negativo, respectivamente.

### Análise Estatística

Foi realizada a estatística descritiva para calcular as médias e o desvio padrão nos resultados. Aplicou-se o delineamento inteiramente casualizado e os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) através do software Assistat 7.7 (Silva 2013).

## RESULTADOS

No estudo de sensibilidade aos antimicrobianos (Tabela 1) observou-se que do total de 23 cepas de *Staphylococcus* spp. submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, nenhuma apresentou-se sensível para Ampicilina. Apenas duas cepas (8%) foram resistentes à Amicacina e Cefalexina. Com relação à Gentamicina e Oxacilina, houve 13% e 87% de cepas resistentes, respectivamente.

Na Figura 1 pode-se observar a comparação dos valores de resistência de *Staphylococcus* spp. em relação aos alimentos que foram isolados. O camarão e o leite foram os alimentos com maior porcentual de *Staphylococcus* spp. resistentes aos antimicrobianos testados. As cepas isoladas de leite, gema de ovo e bebida láctea foram 100% resistentes a Ampicilina e Oxacilina.

Tabela 1. Perfil de resistência e sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de alimentos de origem animal a diferentes antimicrobianos de uso farmacêuticos.

Antibióticos	Resistente		Sensível	
	Nº	%	Nº	%
Amicacina 30µg	2	8	21	92
Ampicilina 10µg	23	100	0	0
Cefalexina 30µg	2	8	21	92
Gentamicina 10µg	3	13	20	87
Oxacilina 1µg	20	87	3	13

Nº: números absolutos; %: valor percentual.

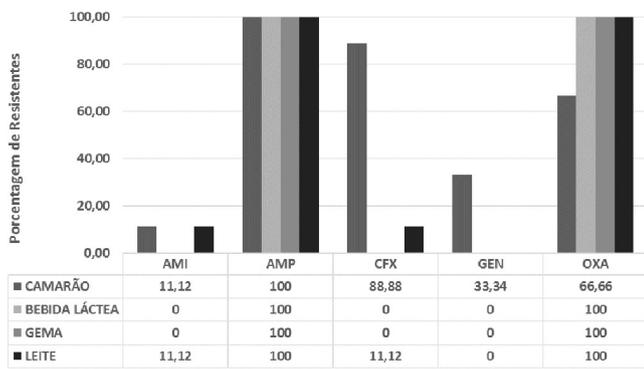


Figura 1. Perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. a diferentes antimicrobianos de uso farmacêuticos em relação ao alimento de origem animal.

Tabela 2. Valores, em porcentagem, da inibição de *Staphylococcus* spp. pelo uso da fração proteica do extrato bruto e da concentração 60-90% de saturação em sulfato de amônio, extraídos de *Lippia alba*.

Valores	Cepas (Percentual)		Média do halo (mm)
	Inibição	Sem inibição	
Extrato Bruto	17,39	82,61	7,75 a
Fração 60-90%	56,5	43,5	10,23 b
Controle Positivo*	100	-	-
Controle Negativo**	-	100	-

\*Antibiótico Amicacina; \*\*Solução de NaCl 0,15M.

No camarão, 88,88% das cepas isoladas foram resistentes a Cefalexina (Figura 1), valores diferentes dos isolados de outros alimentos que demonstraram alta sensibilidade a este antimicrobiano. As bactérias isoladas de camarão também apresentaram resistência a Gentamicina (33,34%), sendo as cepas isoladas dos outros alimentos 100% sensíveis ao mesmo.

De acordo com a tabela de halos padronizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CISI 2011), a média dos valores dos halos obtidos prediz, de modo geral, a resistência dos *Staphylococcus* spp. avaliados à Ampicilina e Oxacilina. Estes valores também indicam a sensibilidade desses micro-organismos a Amicacina, Cefalexina e Gentamicina.

Após leitura dos halos de inibição utilizando os discos de antibióticos e observar a multiresistência das cepas, as amostras foram testadas quanto a sensibilidade com a fração proteica do extrato bruto e da concentração 60-90% de saturação em sulfato de amônio, extraídos de *L. alba*. Foi observado que a concentração com 60-90% de saturação em sulfato de amônio inibiu um maior número de cepas em relação ao extrato bruto (Tabela 2), 56,5% e 17,39%, respectivamente. Esta concentração também proporcionou desenvolvimento de maiores halos de inibição ao redor dos discos contendo a concentra-

ção 60-90% de saturação em sulfato de amônio em relação à fração obtida do extrato bruto. A média dos halos de inibição da fração proteica do extrato bruto e da concentração 60-90% de saturação em sulfato de amônio, extraídos de *L. alba*, foram, respectivamente, 7,75mm e 10,23mm.

Valores maiores de inibição utilizando a fração proteica com 60-90% de saturação em sulfato de amônio podem ser atribuídos a uma maior concentração de proteínas antibacterianas nessa fração, em relação ao extrato bruto.

## DISCUSSÃO

A elevada resistência à ampicilina pode estar associada a provável produção de beta-lactamases, ao uso frequente ou mesmo sub dosagens desse beta-lactâmico (Li et al. 2007). Os antibióticos beta-lactâmicos são preferíveis e muito usados porque atingem a parede celular da bactéria, que é um dos componentes mais acessíveis ao antibiótico e essenciais a vida bacteriana (McCallum et al. 2010).

As principais causas do uso de antimicrobianos em pecuária leiteira são para o controle e o tratamento das mastites. Contudo, na maioria das vezes os antimicrobianos são utilizados de forma errônea e abusiva, o que contribui para o aumento da resistência dos patógenos, dificultando o tratamento dessas infecções. Possivelmente os antimicrobianos utilizados em animais de produção contribuem para gerar cepas resistentes de micro-organismos que podem ser transmitidas ao ser humano pela ingestão de produtos de origem animal (White & McDermott 2001). Outra consequência é a presença de resíduos de antibióticos no leite, o que pode ocasionar uma série de problemas ao consumidor, como a ocorrência de reações de hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos mais sensíveis, caracterizando outro relevante risco à saúde pública (Martins et al. 2006).

A administração de antimicrobianos visando prevenir ou eliminar as enfermidades na carcinicultura está bastante disseminada, sendo um dos principais motivos do aparecimento de linhagens bacterianas multiresistentes em camarões que crescem em viveiros (Oka et al. 2000, Lyle-Fritch et al. 2006, Uno et al. 2006). Vieira et al. (2006), observaram em seus estudos com camarões de feiras livres que 60% das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, isoladas destes camarões, foram resistentes a ampicilina e eritromicina. Verificaram ainda resistência de isolados aos mesmos antibióticos, sendo em maiores proporções: 85,71% a eritromicina e 100% a ampicilina.

Azevedo et al. (2011) utilizou o extrato etanólico de Erva Cidreira em diferentes concentrações (25, 50, 75 e 100 mg/ml) e nenhuma foi eficiente na inibição de *S. aureus*, porém obteve uma concentração inibitória mínima para *E. coli* menor que 25 mg/ml.

A resistência bacteriana é considerada como um problema inerente à terapia antimicrobiana, por este motivo é preciso sempre buscar novas fontes terapêuticas os quais sejam mais eficientes para o tratamento de infecções. Os produtos naturais são uma alternativa extremamente viável, uma vez que sempre foram importantes para o descobrimento de novas drogas, sendo fornecedoras de princípio ativo, além de uma alternativa mais econômica no controle de doenças (Duarte 2006).

## CONCLUSÃO

A elevada incidência de *Staphylococcus* spp. resistente aos antimicrobianos testados é preocupante, pois trata-se de bactérias de origem alimentar. As preparações proteicas de *L. alba* demonstraram potencial antibacteriano contra cepas de *Staphylococcus* spp. isolados de alimentos. Estes resultados indicam sua relevante atividade antibacteriana, principalmente em cepas resistentes a vários antimicrobianos. Podendo ainda serem de grande utilidade na indústria de alimentos com potencial para uso como conservante natural, fornecendo alimentos mais seguros para os consumidores.

## REFERÊNCIAS

- Azevedo R.R.S. Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. *Revista Semente*, 6:240-249, 2011.
- Bagetta G., Morrone L.A., Rombolà L., Amantea D., Russo R., Berliocchi L., Sakurada S., Sakurada T., Rotiroti D. & Corasaniti M.T. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. *Fitoterapia*, 81:453-461, 2010.
- Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C. & Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45:493-496, 1996.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. *Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água*. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2003, 14-51p.
- Clsi. Publication M100-S21 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories, 2011.
- Cunico M.M., Carvalho J.L.S., Kerber V.A., Higaskino C.E.K., Cruz Almeida S.C., Miguel M.D. & Miguel O.G. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14:97-103, 2004.
- De Boer E., Zwartkruis-Nahuis J.T.M., Wit B., Huijsdens X.W., De Neeling A.J., Bosch T., Van Oosterom R.A.A., Vila A. & Heuvelink A.E. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*, 134:52-6, 2009.
- Del Fiol F.S., Lopes L.C., Toledo M.I. & Barberato-Filho S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 43:68-72, 2010.
- Duarte M.C.T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. *Multiciência*, 7:1-16, 2006.
- Le Loir Y., Baron F. & Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2:63-76, 2003.
- Li X., Mehrotra M., Ghimire S. & Adewoye L.  $\beta$ -Lactam resistance and  $\beta$ -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*, 121:197-214, 2007.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193:265-275, 1951.
- Lyle-Fritch L.P., Romero-Beltrán E. & Páez-Osuna F. A survey on use of the chemical and biological products for shrimp farming in Sinaloa (NW Mexico). *Aquacultural Engineering*, 35:135-146, 2006.
- Martins R.P., Marques M.R.H. & Neto A.C. Etiologia da mastite subclínica em vacas do rebanho de uma queijaria em Nossa Senhora do Livramento, MT. *Revista Higiene Alimentar*, 20:104-110, 2006.
- McCallum N., Berger-Bachi B. & Senn M.M. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, 300:118-129, 2010.
- Oka H., Ito Y. & Matsumoto H. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods: review. *Journal of Chromatography A.*, 882:109-133, 2000.
- Silva F.A.S. *Assistat 7.7*. UFCCG, Campina Grande, 2013.
- Tacconelli E., Angelis G., Cataldo MA., Pozzi E. & Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61:26-38, 2008.
- Uno K. Pharmacokinetics of oxolinic acid and oxytetracycline in Kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 230:1-11, 2004.
- Vieira R.H.S.F., Rebouças R.H. & Albuquerque W.F. *Staphylococcus* coagulase positiva em camarão sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri*, comercializado na feira-livre de pescado do mucuripe - Fortaleza - CE. *Boletim Técnico Científico. CEPENE.*, 14:11-22, 2006.
- White D.G. & McDermott P.F. Emergence and transfer of antibacterial resistance. *Journal of Dairy Science*, 84:151-155, 2001.
- Yamamoto P.Y., Colombo C.A., Azevedo Filho J.A. Lourenção A.L., Marques M.O.M., Morais G.D.S., Chiorato A.F., Martins A.L.M. & Siqueira W.J. Performance of ginger Grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. *Scientia Agricola*, 65:481-489, 2008.