



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
LABORATÓRIO DE CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIANA

Estudo da microbiota bacteriana de jacarés no Fragmento Florestal da UFAM

ORIENTANDA: ANA PAULA MOREIRA ALVES
(Acadêmica de Ciências Naturais)

ORIENTADOR: PROF. DOUTOR TAKESHI MATSUURA

CO-ORIENTADOR: PROF. DOUTOR RONIS DA SILVEIRA

Fevereiro 2016

RESUMO

Os jacarés são comuns na região Amazônica, inclusive na área urbana de Manaus. O próprio Campus Universitário da Universidade Federal do Amazonas é habitado por no mínimo duas espécies de jacarés. Com o aumento da ação antrópica na região de Manaus, principalmente devido ao desmatamento, esses vertebrados vêm aumentando sua presença no ambiente urbano, mesmo em igarapés muito poluídos. A ocorrência de jacarés na área urbana resulta em contato maior com os seres humanos. Logo, conhecer a microbiota bacteriana que está associada aos jacarés é importante para determinar se estes animais poderiam albergar microrganismos patogênicos ao homem e transmiti-los durante um possível contato direto através da mordida ou indiretamente através de seus excrementos. Este estudo visa avaliar se o perfil microbiano destes animais foi alterado devido à grande poluição das águas do seu ambiente e se de alguma maneira a sobrevivência do jacaré nestas áreas poderia estar relacionado com a presença de substâncias bioativas no sangue, protegendo-o contra diversos microrganismos patogênicos.

1. INTRODUÇÃO

Os jacarés estão no topo da cadeia alimentar e potencialmente controlam as populações de suas presas. Eles podem desempenhar papel relevante na ciclagem de nutrientes em alguns ambientes, pois suas fezes favorecem o desenvolvimento de fitoplâncton podendo até afetar o crescimento de peixes.

Existem quatro espécies de jacarés na Amazônia brasileira *Melanosuchus niger* (jacaré-açu), *Caiman crocodilus crocodilus* (jacaré-tinga) e *Paleosuchus trignonatus* (jacaré-coroa) e *Paleosuchus palpebrosus* (jacaré-paguá) (CAMPOS, 2003), e duas destas são as mais frequentes nos igarapés urbanos de Manaus, inclusive no campus universitário da UFAM. A maioria destes igarapés são extremamente poluídos.

Com o crescimento do desmatamento em Manaus, os jacarés passaram a viver em ambiente urbano, o que tem tornado frequente o contato entre os humanos e estes animais, gerando riscos de acidentes e a morte destes animais por retaliação. Em meio urbano, os mesmos vivem em ambientes poluídos e a mercê de todo tipo de poluente químico e biológico, mas mesmo assim dificilmente ouve-se falar de jacarés mortos por este motivo na cidade.

Os ferimentos causados por jacarés geralmente apresentam laceração extensa, sangramento copioso e infecções secundárias graves. Devido ao potencial traumático e capacidade de inoculação de microrganismos, as mordidas de jacarés devem ser encaradas como ferimentos de alto risco (CAMPOS NETO et al., 2013). A mordida de jacarés pode transmitir microrganismos, envolvendo patógenos múltiplos, tais como *Aeromonas hydrophyla* e *Vibrio vulnificus* que causam infecções graves e que podem compor a biota oral de jacarés (HADDAD Jr. et al., 2013).

Essa situação pode ser mais grave em ambiente aquático urbano poluído onde pode haver diversas bactérias patogênicas. No entanto, estes jacarés aparentemente não sofrem nenhum tipo de doença que tais bactérias possam vir a causar. Baseado-se nisso, uma teoria possível de investigação seria que o animal apresenta alguma substância, com ação antimicrobiana intensa, em seu sangue que o protege contra infecções num ambiente tão inóspito. No mundo inteiro, pesquisas buscando encontrar novos antimicrobianos para controlarmos melhor as infecções são de extrema importância.

Os antimicrobianos são drogas que têm a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos ou causar sua destruição (SILVA, 2015). Um grande problema no tratamento com antimicrobianos é o surgimento de resistência a estes compostos, desta forma, a busca incansável por novos antibióticos torna-se uma premissa na área de novos fármacos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Avaliar a biota microbiana com foco na taxonomia de bactérias presentes em jacarés habitantes dos igarapés localizados no Campus Universitário da UFAM, em Manaus/AM.

2.2. Específicos

- Isolar e identificar bactérias totais da mucosa bucal e cloacal dos jacarés;
- Avaliar a variação na microbiota bacteriana entre de jacarés machos e fêmeas;
- Avaliar a relação entre o tamanho/idade com a microbiota bacteriana dos jacarés;
- Caracterizar a atividade antimicrobiana de amostras de soro sanguíneo dos jacarés frente a microrganismos-teste causadores de patologias em humanos.

3. JUSTIFICATIVA

Este animal, devido o desmatamento constante, tem sido empurrado para o ambiente urbano e também para o Campus da Universidade, fazendo com que eles tenham contato direto cada vez mais frequente com os humanos, aumentando o risco de acidentes com os mesmos.

Um ponto de grande relevância para os estudos deste trabalho é que os acidentes por jacarés são pouco conhecidos. Os raros relatos apontam o fato de a maioria dos ataques ser provocada por falta de cuidados quando da aproximação desses animais ou por provocação, o que se conhece sobre os ataques de jacarés é que suas mordidas são altamente infecciosas, podendo levar a morte.

Pelas graves infecções que uma mordida de jacaré pode desencadear um estudo mais avançado sobre a microbiota bacteriana desse animal pode ajudar a desenvolver um tratamento com antimicrobianos mais específicos, já que assim poderemos saber com quais tipos de microrganismos

participam diretamente do processo infeccioso, facilitando o tratamento das infecções bacterianas pelas mordidas de jacarés.

Um ponto que merece investigação é o fato de que os jacarés que se encontram nos igarapés do Campus Universitário acabam migrando entre os igarapés do Campus e os igarapés dos bairros adjacentes a Universidade, que possuem um alto grau de poluentes e contaminantes. Assim sendo, esses animais acabam por levar para dentro da flora e da fauna do Campus Universitário, agentes contaminantes que se alocam, muitas vezes, em seu corpo. Isso pode representar um perigo para os outros animais que dividem o mesmo ambiente que os jacarés no Campus, pois diferentemente dele, talvez os outros não tenham resistência a esses agentes patogênicos de origem bacteriana.

Outro ponto de relevância deste estudo é que estes animais vivem em ambientes contaminados por ações antropogênicas e não sofrem os efeitos diretos de um ambiente tão insalubre.

Assim sendo, por todos os fatores mencionados, este estudo pretende conhecer a microbiota bacteriana de répteis, em especial de jacarés da Amazônia, e seus efeitos para a população, desta maneira pretende diminuir esta lacuna de informações sobre animais da região amazônica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS

Foram capturados cinco jacarés de espécies predominantes do Campus Universitário da UFAM, através da técnica do laço a partir de um cambão, onde após imobilização do animal, foram retiradas as amostras da mucosa bucal, material cloacal e sangue. Os materiais foram armazenados em caixa isotérmica e levada ao laboratório para o devido processamento.

4.2. COLETA DA AMOSTRA

4.2.1. MUCOSA BUCAL E MATERIAL CLOACAL

Com o auxílio de um swab foram retiradas uma amostra da mucosa bucal e com outro swab o material da cloaca dos animais capturados. Estes swabs foram imersos em tubos de cultura contendo Caldo Müeller-Hinton e foram levados para o Laboratório de Controle de Qualidade Microbiana, no Instituto de Ciências Biológicas, na Universidade Federal do Amazonas, onde foram incubados a 37° C pelo período de 24 horas.

4.2.2. SANGUE

Com auxílio de uma seringa foram coletadas amostras contendo três mililitros de sangue de cada indivíduo, transferidos para tubos de coleta, acondicionados em caixas isotérmicas e depois levados para o Controle de Qualidade Microbiana, do Instituto de Ciências Biológicas, na Universidade Federal do Amazonas, onde foram devidamente processadas.

4.3. ISOLAMENTO DA MICROBIOTA BACTERIANA TOTAL (BUCAL E CLOACAL)

Após o período de incubação, o crescimento bacteriano em caldo foi diluído sucessivamente até 10^{-10} , onde 100 μL de cada diluição passou pela técnica de isolamento por “spread-plate” no meio de cultura Ágar Sangue e voltaram a ser incubados novamente a 37°C pelo período de 24 horas.

Após este período foram seguidos os protocolos tradicionais de isolamento e purificação das colônias formadas.

4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS

Os microrganismos já isolados seguiram para o processo de identificação através de métodos fenotípicos tradicionais, pelas características morfo-tintoriais como Gram presença de esporos, conforme preconizados por Holt et al. (1994).

4.5. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO SORO SANGUÍNEO DOS JACARÉS

Devido os entraves inerentes a mudança do Laboratório antigo para as novas instalações do Laboratório de Controle de Qualidade Microbiana, tais como a reativação dos microrganismos-testes, esta etapa da metodologia não foi realizada, mas será iniciada até o próximo mês.

4.6. PRESERVAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

As bactérias observadas como culturas puras foram preservadas em métodos de congelamento, que consistiu em suspender as células em solução crioprotetora e guardar a temperatura de -20°C (MURO & LUCCHI, 1989).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CAPTURA DOS ANIMAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

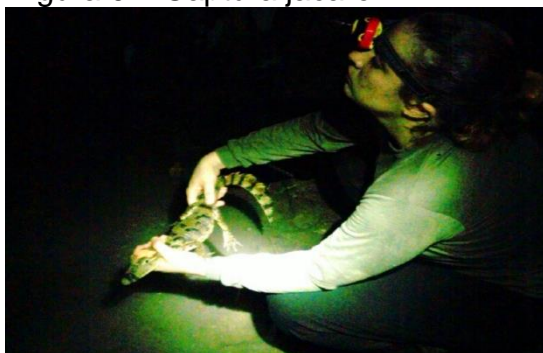
Com a ajuda de uma equipe especializada e técnicas padronizadas foram capturados seis jacarés no Campus Universitário da UFAM conforme informações observadas na Tabela 01.

TABELA 01: Dados coletados na captura dos jacarés no Campus Universitário da UFAM.

ESPÉCIE	SEXO	IDADE	DATA DA COLETA	LOCAL DA CAPTURA	CÓDIGO DO ANIMAL
<i>Paleosuchustrigonatus</i> (jacaré-coroa)	Fêmea	Adulto	16/10/2015	UFAM	J1
<i>Paleosuchustrigonatus</i> (jacaré-coroa)	Fêmea	Adulto	29/10/2015	UFAM	J2
<i>Paleosuchustrigonatus</i> (jacaré-coroa)	Fêmea	Adulto	05/11/2015	UFAM	J3
<i>Paleosuchustrigonatus</i> (jacaré-coroa)	Macho	Jovem	06/01/2016	UFAM	J4
<i>Caiman crocodilos</i> (jacaretinga)	Macho	Jovem	06/01/2016	UFAM	J5
<i>Paleosuchustrigonatus</i> (jacaré-coroa)	Fêmea	Adulto		UFAM	J6

Os jacarés atingem a idade adulta com aproximadamente 11 anos, nessa etapa da vida os mesmos também atingem a idade de maturação sexual, estando aptos a reprodução. Animais com menos de 11 anos são considerados jovens e não se reproduzem. A figura 01 a seguir, mostra o animal após a captura e a coleta do material, o mesmo é devolvido para o campus Universitário após todo o procedimento de coleta.

Figura 01: Captura jacaré



Fonte: arquivo pessoal

As amostras cloacais e orais foram coletadas com “swabs” estéreis. Após a coleta os “swabs” foram imersos em Caldo Müller-Hinton, onde foram submetidos à incubação a 37° C pelo período de 24. A quantidade de sangue coletado de cada animal variou de acordo com tamanho e peso de cada um. A figura 02 mostra o processo de coleta de material oral.

Figura 02: Coleta de amostra cloacal



Fonte: Arquivo pessoal

6.2 ISOLAMENTO DA MICROBIOTA TOTAL (BUCAL E CLOACAL)

Passado o período de incubação das amostras as mesmas seguiram por processo de diluição sucessiva seguida pela técnica de “spread-plate” semeadas em Ágar Müller-Hinton submetidos novamente à incubação a 37° C pelo período de 24h.

Observou-se o crescimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), em seguida as mesmas foram separadas em grupos de acordo com suas macromorfologias.

Na Tabela 02 observa-se o total de isolados bacterianos dos jacarés isolados da boca e da cloaca.

TABELA 02: Total de isolados bacterianos por órgão do jacaré.

JACARÉ	BACTÉRIAS ISOLADAS		TOTAL
J1	Boca	9	27
	Cloaca	18	
J2	Boca	45	104
	Cloaca	59	
	Boca	15	45

J3	Cloaca	30	41
	Boca	22	
J4	Cloaca	21	

Observa-se que jacaré J2 apresentou o maior total de isolados em relação aos outros animais, isto porque a quantidade de colônias observadas no J2 era muito superior a encontrada nos outros animais. A quantidade de UFCs isoladas foi correspondente a quantidade total de colônias encontradas nas placas após o processo de “spread-plate”

Já o jacaré J1 teve uma quantidade pequena de isolados, isto já pode ter alguma relação com o fato do jacaré J1 ter feito a postura de ovos a pouco tempo, e que talvez, o líquido que acompanha a postura dos ovos possa ter alguma substância antimicrobiana para reduzir a microbiota do local.

6.3. IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS ISOLADAS

Na primeira etapa da identificação as bactérias isoladas foram submetidas à determinação das características morfo-tintoriais, por meio da técnica de Coloração de Gram. A Figura 03 mostra os grupos bacterianos de acordo com as características morfo-tintoriais das bactérias isoladas da boca dos jacarés e a Figura 04 mostra os grupos morfo-tintorias de bactérias isoladas da cloaca dos jacarés.

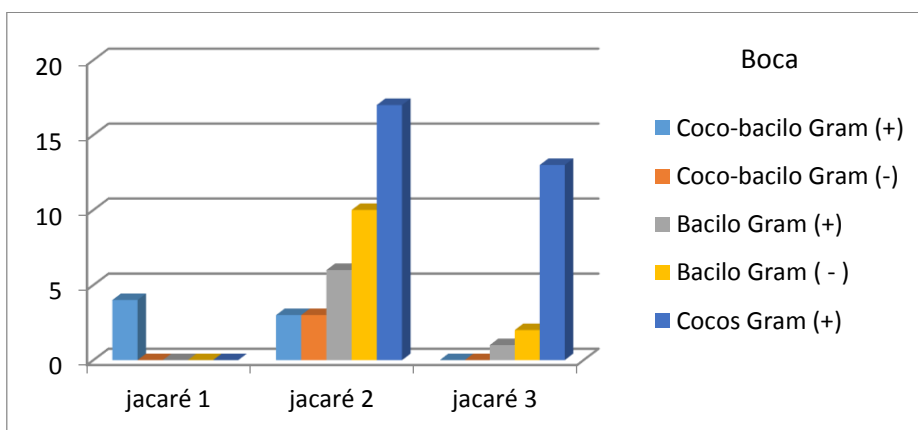


Figura 03: Grupos bacterianos isolados da boca dos jacarés.

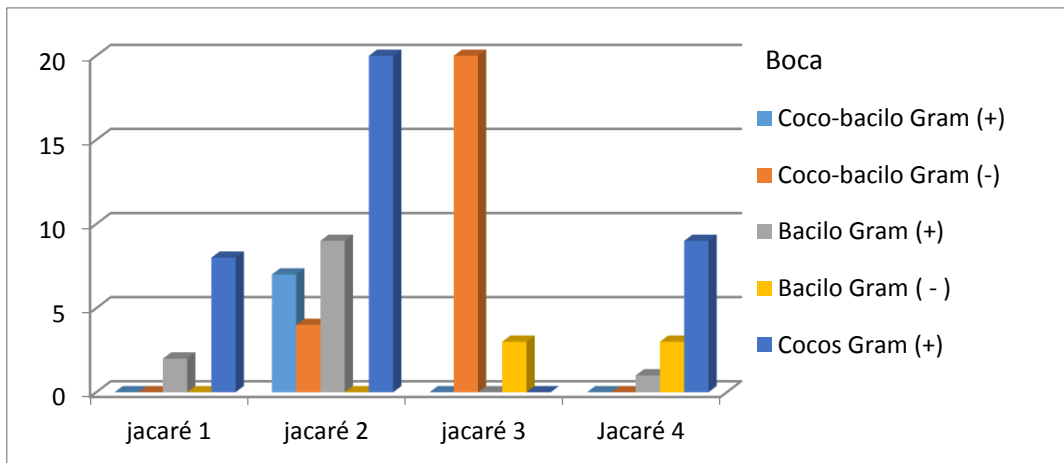


Figura 04: Bactérias isoladas da cloaca dos jacarés.

Após a atividade morfo-tintorial tivemos uma resposta diferente em cada jacaré com relação aos grupos de bactérias. No geral foi possível observar que Cocos Gram-positivos apareceram em maior quantidade nos dois animais, porém o jacaré 02 e o jacaré 04 apresentaram uma maior diversidade dos grupos, contendo os Gram-positivos e também os Gram-negativos. Ao compararmos a boca do jacaré 01 com a dos demais jacarés percebemos uma diferença quantitativa com relação às bactérias isoladas. Nas placas com as bactérias da boca do jacaré 01 foi observada uma colônia que formava um tapete por cima das outras, o que dificulta o isolamento, pela contaminação de outras colônias.

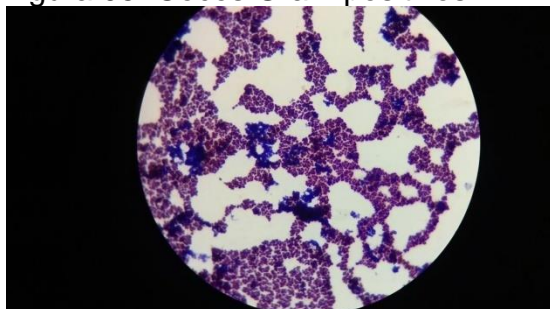
Com relação às bactérias isoladas da cloaca de todos os animais foi possível observar que o grupo Cocos Gram-positivo está em maior quantidade, entretanto o jacaré 02 e 04 apresenta uma diversidade de grupos maior do que o jacaré 01 e o 03.

A diferença de quantidade de bactérias isoladas em cada jacaré deve-se ao crescimento das mesmas nas placas. O jacaré 01 teve um crescimento inferior ao jacaré 02 que apresentou uma enorme quantidade e diversidade de colônias.

A reação das bactérias à técnica de Gram nos mostra diferentes características, no que diz respeito à composição química, estrutura, permeabilidade da parede celular, fisiologia, metabolismo e patogenicidade.

Com os resultados obtidos foi possível verificar que os Cocos Gram-positivos estão em grande quantidade em todos os animais, tanto na cloaca quanto na boca. Os Cocos Gram positivos. A figura 05 mostra a imagem de lâminas de Cocos Gram positivos.

Figura 05: Cocos Gram positivos



6.3.1 IDENTIFICAÇÃO DE GÊNERO E ESPÉCIE DOS GRUPOS ISOLADOS

Na primeira fase de identificação, onde foi utilizado o método de identificação morfo-tintorial, foi possível observar o grande número de Cocos Gram positivos presentes na boca e na cloaca de todos os animais. Em sequência foi realizado o método de identificação utilizando o meio Ágar Manitol Salgado.

O Ágar Manitol é um meio de cultura com indicativo vermelho de fenol, seletivo para estafilococos patogênicos e para a diferenciação de *S. aureus* de outros *Staphylococcus* coagulase negativa. Este teste verifica se o microrganismo tem a capacidade de fermentar o manitol contendo 7,5% de cloreto de sódio. O meio de cultura tem coloração rosa, e a formação de halo amarelo ao redor das colônias indica então o *S. aureus* (Teodoro, 2015).

Foram isolados em Ágar Manitol Salgado 84 amostras de bactérias que pertenciam ao grupo Cocos Gram positivo, tanto da boca quanto da cloaca dos animais. As mesmas foram isoladas e incubadas a 37° C pelo período de 24h. Após o período de incubação 24 isolados apresentaram crescimento no meio de cultura. A tabela a seguir mostra quais bactérias pertencentes a cada jacaré apresentaram crescimento em Ágar Manitol Salgado.

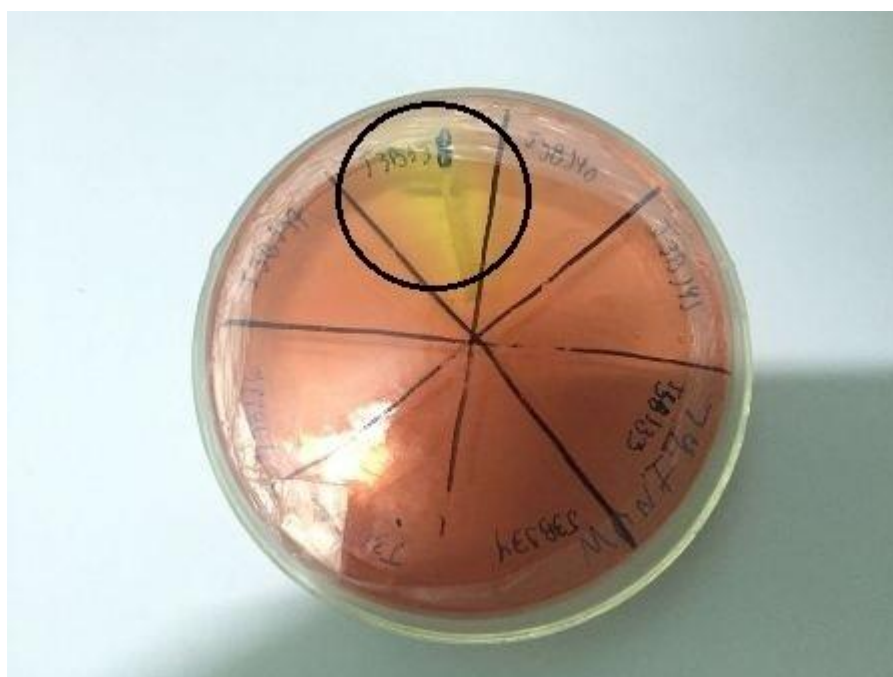
TABELA 03: Crescimento de cepas em Ágar Manitol Salgado

Código	Crescimento	Fermentação de manitol
J1C10	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J1C11	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J1C12	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J1C13	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J1C14	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J1C15	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B28	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B29	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B30	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B31	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B32	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B33	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B34	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B35	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B36	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B37	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B38	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B39	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B48	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B49	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B50	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B51	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B68	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2B69	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C73	positivo	<i>negativo</i>

J2C76	positivo	<i>negativo</i>
J2C74	positivo	<i>negativo</i>
J2C75	positivo	<i>negativo</i>
J2C101	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C102	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C103	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C104	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C118	positivo	<i>negativo</i>
J2C119	positivo	<i>negativo</i>
J2C120	positivo	<i>negativo</i>
J2C121	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C122	positivo	<i>negativo</i>
J2C123	positivo	<i>negativo</i>
J2C124	positivo	<i>negativo</i>
J2C125	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C131	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J2C132	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B133	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B134	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B135	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B136	positivo	<i>negativo</i>
J3B137	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B138	positivo	positivo
J3B140	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B141	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J3B142	positivo	<i>negativo</i>
J3B143	positivo	<i>negativo</i>
J3B145	positivo	positivo
J3B144	positivo	positivo
J4C177	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C178	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C179	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C180	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C181	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C182	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C184	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C185	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C187	positivo	<i>negativo</i>
J4C188	positivo	<i>negativo</i>
J4C189	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C190	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>
J4C191	positivo	<i>negativo</i>
J4C192	positivo	<i>negativo</i>
J4C193	positivo	<i>negativo</i>
J4C194	positivo	<i>negativo</i>
J4C195	positivo	<i>negativo</i>
J4C196	positivo	<i>negativo</i>
J4C197	<i>negativo</i>	<i>negativo</i>

Baseado nos resultados obtidos é possível identificar os isolados pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. e quais indivíduos são representantes da espécie *Staphylococcus aureus*. Com a identificação preliminar utilizando meio Ágar Manitol Salgado foram identificados 24 indivíduos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp, dentre esses foi possível identificar também três cepas que apresentaram fermentação de manitol positiva.

O *Staphylococcus aureus* tem a capacidade de fermentar o manitol em meio contendo 7,5 % de cloreto de sódio. O indicador de pH é o vermelho de fenol, que indica uma reação positiva quando o meio ao redor das colônias se torna amarelo, e negativa quando permanece avermelhado (Anvisa, 2004). Três cepas apresentaram a fermentação positiva, as mesmas tiveram o meio ao seu redor amarelado, o que significa que houve a produção de ácido lático e fermentação do manitol. A figura a seguir mostra uma das placas que apresentou fermentação positiva.



Após a obtenção dos resultados foi possível identificar que existe um grande grupo de bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp. tanto na cloaca quanto na boca dos jacarés que tiveram suas amostras coletadas.

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae*, juntamente como os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Geralmente, esse gênero faz parte da microbiota da pele humana normal e de outros sítios anatômicos (Santos,2007). Dentre essas 17 espécies a de maior interesse médico é o *S. aureus*, pois o mesmo está frequentemente relacionado a diversas infecções em seres humanos.

Os *Staphylococcus aureus* são cocos gram positivos não esporulados, imóveis, anaeróbios facultativos, produtores de catalase, e dispostos em grupos ou “cachos de uvas”. As colônias de *S. aureus* (*aureus*, do latim,

“dourado”) podem se apresentar em colocação amarelada e formação de halo em ágar sangue (TEODORO, 2015). Nas amostras coletadas dos jacarés foram identificadas três microrganismos representantes da espécie *S. aureus*, essas três representantes foram isoladas da boca do jacaré 3. Este animal é uma fêmea que foi capturada em local que apresentava água bastante poluída.

Por se tratar de um microrganismo que apresenta uma grande presença de infecção nos seres humanos, uma pessoa que sofre ataque de um animal que carrega em sua boca um microrganismo como *S. aureus* está suscetível a doenças que podem ser causadas por esse microrganismo. Ao sofrer um ataque por um animal deste tipo não se pode simplesmente pensar nos ferimentos, mas também se deve dar uma grande importância às infecções que possam vir a ser causadas devido a inoculação de microrganismos que, em muitos casos, não são identificados. É necessário se conhecer mais sobre a microbiota deste animal para que se possa dar um tratamento correto e eficaz contra as infecções. A presença do grupo *Staphylococcus* spp. e da espécie *S. aureus* na boca do jacaré 3 mostra que se deve ter grande cuidado no tratamento de infecções por meio de mordidas de jacarés, pois esse é só um dos diversos grupos que estão presentes.

6.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO SORO SANGUÍNEO DOS JACARÉS

Ainda não foram realizadas as atividades antimicrobianas com o soro sanguíneo dos animais, porém as atividades continuaram sendo feitas.

6.5. PRESERVAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

Foram preservadas cerca de 190 isolados pela técnica de congelamento a -20° C.

7. REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica**. Microbiologia, módulo V, 2004.
2. BRITTON, A. **Crocodylians, Natural History and Conservation**. Disponível em: <http://crocodilian.com/cnhc/csp_ptri.htm>. Acessado em: 01 Fev. 2016.
3. CAMPOS, Z. M. DA S. Observações sobre a biologia reprodutiva de três espécies de jacarés na Amazônia Central. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Pantanal. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 19 p.
4. DA SILVEIRA, R.; MAGNUSSON, W. E.; CAMPOS, Z. **Monitoring the distribution, abundance and breeding areas of Caiman crocodilus crocodilus and Melanosuchus niger in the Anavilhanas Archipelago, central Amazonia, Brazil**. Journal of Herpetology, Lawrence, 1997.
5. DOS SANTOS, A., et al. "Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar." *Bras. Patol. Med. Lab* 43 (2007): 413-423.

6. GERMINO, G.F.S.; FRANCO, I.*; PEIXOTO, R.M.; SEABRA, A. G. L.; GAMOSA, E.A.; DUTRA,V.; KREWER, C.C.; COSTA, M.M.; **Isolation and sensitivity of captivity reptiles isolated to antimicrobial drugs in petrolina – pe**, 2009.
7. HADDAD JUNIOR, VIDAL; CAMPOS NETO, MANOEL FRANCISCO DE; MENDES, ADRIANA LÚCIA. **Mordeduras de animais (selvagens e domésticos) e humanas**. Revista de Patologia Tropical, [S.l.], v. 42, n. 1, Abr. 2013. ISSN 1980-8178. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/23587>>. Acesso em: 01 Fev. 2016. doi:10.5216/rpt.v42i1.23587.
8. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
9. LOVELY, C.J.; LESLIE, A.J.; **Normal intestinal flora of wild Nile crocodiles (Crocodylus niloticus) in the Okavango Delta, Botswana**, 2008.
10. MURO, M. A. & LUCHI, M. R. **Preservação de microrganismos**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia "André Toselo", 1989.
11. NETO, MANOEL FRANCISCO DE CAMPOS; STOLF, HAMILTON; HADDAD JUNIOR, VIDAL. **Ataque de jacaré a pescador no Pantanal de Mato Grosso (Brasil): relato de caso**. Diagn Tratamento. 2013;18(1):21-3.
12. RONG-RONG, M.A.; XIAO-BING, W.U.; HONG-XIN, J.; JI-HONG, P.; JIA-LONG, Z.; CHAO-LIN, W.; **Identification of Cloaca Bacteria from Candidate Releasing Chinese Alligators**, 2008.
13. SILVA, E. B. **Antimicrobianos**. Disponível em: <<http://www.fmt.am.gov.br/manual/antimic.htm>>. Acessado em: 01/02/2016.
14. TEODORO, T.M. **Staphylococcus aureus: características, identificação e resistência a antibióticos**. Disponível em: <<http://www.biomedicinaemacao.com.br/2015/02/staphylococcus-aureus-caracteristicas.html#.V52AefkrLIU>> . Acessado em: 25/07/2016.
15. VASCONCELOS, W.; CAMPOS, Z.; HRBEK, T.; MAGNUSSON, W.; FARIAS, I.; **Morphological Variation of the subfamily Caimaninae from the Amazonia to the Pantanal**, 2010.;
16. VILAÇA, A.M. **Uso de habitat por Caiman crocodilus e Paleosuchus palpebrosus no reservatório da UHE de Lajeado, Tocantins**. 2004.;
17. WILLIAM, E.; MAGNUSSON, W.; CAMPOS, Z.; **Schneider's Smooth-fronted Caiman Paleosuchustrigonatus**, 2010.