

## MICROBIOTA BACTERIANA COM POTENCIAL PATOGENICO EM PACAMÃ E PERFIL DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS<sup>1</sup>

FRANCISCO GILVAN BEZERRA DOS SANTOS<sup>2</sup>, GISELE VENERONI GOUVEIA<sup>2\*</sup>, CHIRLES ARAÚJO DE FRANÇA<sup>2</sup>, MÁRCIA GOMES DE SOUZA<sup>2</sup>, MATEUS MATIUZZI DA COSTA<sup>2</sup>

**RESUMO** - Na aquicultura, as infecções causadas por bactérias são fatores que causam prejuízos. O objetivo deste trabalho foi identificar bactérias com potencial patogênico em pacamãs (*Lophiosilurus alexandri*) do Vale do São Francisco. Cento e quinze animais foram utilizados para amostragem de brânquias, rins, lesões externas e ovas. As amostras foram semeadas em Agar Tripton de Soja. Os perfis bioquímicos e de sensibilidade aos antimicrobianos foram determinados. As espécies identificadas foram *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. media*, *Acinetobacter* spp., *P. alcaligenes*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *P. shigelloides*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii* e *S. sannei*. A sensibilidade dos isolados aos antimicrobianos foi de 85% para norfloxacin, 79% para ceftriaxona, 78% para enrofloxacin, 68% para o sulfazotrim, 60% para nitrofurantoína, 59% para tetraciclina, 55% para o ácido nalidíxico, 49% para streptomycin, 45% para eritromicina, 32% para neomicina, 7% para ampicilina e 3% para lincomicina. Resistência múltipla foi observada em todos os isolados analisados. Considerando a ocorrência de bactérias com potencial patogênico em pacamã e a resistência delas às drogas antimicrobianas, medidas de segurança devem ser adotadas durante uma antimicrobiano-terapia, com a utilização de antibióticos que as cepas não apresentem resistência ou tentando-se produtos naturais como alternativa a antimicrobianos, garantindo a proteção da saúde humana e animal, bem como do meio ambiente.

**Palavras-chave:** Aquicultura. *Lophiosilurus alexandri*. Resistência a antibacterianos.

## ACTERIAL MICROBIOTA WITH PATHOGENIC POTENTIAL IN PACAMÃ AND SENSITIVITY PATTERN TO ANTIBACTERIALS

**ABSTRACT** - In aquaculture, infections caused by bacteria are factors that cause damage. The purpose of this study was to identify bacteria with pathogenic potential in pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) of São Francisco Valley. One hundred and fifteen animals were used for sampling from gills, kidneys, external lesions and eggs. The samples were streaked in Trypticase soy agar. The biochemical and antimicrobial susceptibility profiles were determined. The bacterial species identified were *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. media*, *Acinetobacter* spp., *P. alcaligenes*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *P. shigelloides*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii* and *S. sannei*. The sensitivity to antimicrobial was 85% to norfloxacin, 79% to ceftriaxone, 78% to enrofloxacin, 68% to sulfazothrim, 60% to nitrofurantoin, 59% to tetracycline, 55% to nalidixic acid, 49% to streptomycin, 45% to erythromycin, 32% to neomycin, 7% to ampicillin and 3% to lincomycin. Multiple resistance was observed to all isolates analyzed. Considering the occurrence of pathogenic bacteria in pacamã and its resistance to antimicrobial drugs, security measures should be adopted during antimicrobial therapy, with the use of antibiotics that did not show resistance strains or trying natural products as an alternative to antibiotics, ensuring protection of human and animal health, as well as the environment.

**Keywords:** Aquaculture. *Lophiosilurus alexandri*. Resistance to antibacterial.

\*Autor para correspondência.

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 09/07/2012; aceito em 03/04/2014.

Trabalho de dissertação de mestrado em Ciência Animal do primeiro autor.

<sup>2</sup>Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Rodovia BR 407 Km 12, Lote 543, Projeto de Irrigação Nilo Coelho s/n, C1, CEP: 56300-000, Petrolina, PE, Brazil; sangilvan@hotmail.com; giseleveneroni@yahoo.com.br; chirleskb@yahoo.com.br; mgsveterinaria@hotmail.com; mateus.costa@univasf.edu.br.

## INTRODUÇÃO

A piscicultura vem conquistando cada vez mais destaque e importância tanto no cenário nacional quanto internacional. No entanto, gastos com o cultivo de peixes, rações, instalações e mão de obra com conhecimento técnico são necessários. Infecções, principalmente àquelas ocasionadas por bactérias, são outra fonte de gasto para o criador (COSTA et al., 2008).

A espécie pacamã (*Lophosilurus alexandri*), originária da bacia do São Francisco, representa um dos peixes de maior interesse na piscicultura brasileira, em especial no Sub-Médio do Rio São Francisco (LÓPEZ; SAMPAIO, 2000).

Os ambientes aquáticos são os mais expostos à presença de patógenos, por se tratarem de locais visitados pelas mais diferentes espécies de animais e ainda por contarem com a possibilidade de transporte de muitos agentes etiológicos deixados no solo e levados durante as estações chuvosas. Consequentemente animais aquáticos, em especial peixes, apresentam maior exposição aos micro-organismos (BOIJINK et al., 2001).

A presença de organismos contagiosos em seu habitat, pode fazer com que os peixes apresentem microbiota variada. *Aeromonas* sp., *Plesiomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Flavobacterium* sp. já foram identificadas em diversos peixes (SHAMA et al., 2000; BOIJINK et al., 2001). No entanto, não existe estudo da microbiota de pacamãs.

As alterações ambientais e/ou comportamentais, como por exemplo, criação intensiva com elevada densidade de animais por metro cúbico, queda de valores nutricionais dos alimentos, manejo inadequado conduzindo os animais ao estresse, mudanças bruscas da temperatura e excesso de resíduos metabólicos podem interferir na imunidade dos peixes e favorecer quadros de infecções causadas por bactérias oportunistas. Os gêneros *Aeromonas* e *Pseudomonas* classicamente são conhecidos como táxons a agrupar o maior número de espécies denominadas de patógenos oportunistas (SAAVEDRA et al., 2004). O gênero *Aeromonas* spp. é descrito como o mais patogênico e promove grandes prejuízos no cultivo de peixes de água doce (NAM; JOH, 2007).

A alta densidade animal é fator predisponente às infecções bacterianas, dentre elas, as causadas por *Aeromonas* spp., principalmente *A. hydrophila*. Esse gênero tem apresentado alta resistência às drogas mais utilizadas na piscicultura (SARTER et al., 2007). O uso frequente e indiscriminado de agentes terapêuticos tem contribuído de forma relevante para a seleção de cepas de micro-organismos isolados de peixes resistentes à oxitetraciclina, amoxicilina, ampicilina, novobiocin e polimixin-B (SAAVEDRA et al., 2004; HATHA, 2005).

*Aeromonas* spp. podem conduzir diarreia, gastroenterites, septicemias infecciosas ou endocardi-

tes, meningites e pneumonia (BALCÁZAR et al., 2007). São capazes de produzir elastase, amilase, nuclease, lipase, protease, gelatinase e lecitinase, que constituem importantes fatores de virulência associados a enfermidades em peixes e humanos (OROZOVA et al., 2008; KOZIŃSKA; PEKALA, 2010).

O objetivo deste estudo foi identificar a microbiota bacteriana de pacamãs (*Lophosilurus alexandri*) e verificar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de amostras para isolamento das bactérias ocorreu entre dezembro de 2009 e fevereiro de 2010. Foram coletadas amostras de brânquias e rins de 100 juvenis de pacamãs (*Lophosilurus alexandri*) mortos devido a septicemia, sendo que alguns dos animais haviam sido submetidos a tratamento com cloreto de sódio. Os animais eram criados em tanques contendo água oriunda do Rio São Francisco. Todos os animais vieram a óbito nas instalações de reprodução da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do Parnaíba e do São Francisco (CODEVASF), sendo coletadas as amostras dos animais já mortos. Cinco dentre os 100 juvenis apresentavam lesões externas típicas de infecções bacterianas como *Aeromonas* spp., das quais também foram coletadas amostras. Além disso, também foram coletadas amostras de 15 ovas de animais adultos. As amostras foram semeadas em placas de petri contendo Agar Tripitona de Soja (TSA, Biosystems, Hymedial, Mundai, Índia) e incubadas a 28°C por 24 horas.

A identificação da microbiota bacteriana foi realizada por meio de características morfológicas, bioquímicas e tintoriais conforme descrito por Quinn et al. (1994) e Holt et al. (1994). Para isso, foram utilizadas a coloração de Gram e os testes bioquímicos de produção de oxidase, padrão fermentativo e produção de gás e H<sub>2</sub>S em TSI (Triple Sugar Iron Agar), oxidação e fermentação da glicose em meio GOF (Glucose Oxidative Fermentative), perfil bioquímico em meio SIM (Sulfito, Indol e Motilidade), fermentação da sacarose, redução de nitrato, vermelho de metila, produção da esculetina, hidrólise da gelatina e descarboxilação da ornitina.

Os testes de sensibilidade à agentes antimicrobianos foram realizados pelo método modificado de difusão em disco Kirby-Bauer (CLSI, 2007) com turvação microbiana na escala 0,5 de MacFarland em caldo Mueller Hinton. As amostras foram transferidas com auxílio de *swab* estéril para placas contendo ágar Mueller Hinton, onde foram aplicados discos contendo os seguintes fármacos aminoglicosídicos: estreptomicina (10 µg), lincomicina (02 µg), neomicina (30 µg); betalactâmicos: ampicilina (10 µg), ceftriaxona (30 µg); macrolídeos: eritromicina (10

µg); nitrofurantoína: nitrofurantoína (30 µg); quinolonas: ácido nalidíxico (30 µg), enrofloxacin (05 µg), norfloxacin (10 µg); tetraciclina: tetraciclina (30 µg) e sulfazotrim (25 µg). As placas foram incubadas em estufa a 28 °C durante 24 horas. O índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi calculado de acordo com Kruperman (1983).

Foi realizada uma análise de qui-quadrado ( $p < 0,05$ ) para verificar a distribuição de isolados quanto ao local de isolamento no peixe e gêneros

identificados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 100 animais que participaram do experimento, enfermos e que vieram a óbito, foi possível isolar bactérias em 64 peixes. O número de isolados e local de isolamento estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Local de isolamento das bactérias nos peixes e frequência dos isolados.

Local de isolamento	Número de isolados	% de isolados
Brânquias	92	51,98%
Rim	65	36,72%
Lesões externas	9	5,08%
Ovas	11	6,22%

A análise de qui-quadrado para o local de isolamento de bactérias nos peixes, apontou resultado significativo ( $p \leq 0,05$ ). Isto é, o número de bactérias isoladas de brânquias, rim, lesões externas e ovas diferiram entre si. Dentre os 64 animais que apresentaram bactérias 73% dos isolados foram oriundos tanto de brânquias como de rim, em 18 % foram coletadas amostras de rim ou de brânquias e, em 9 % foram coletadas amostras de rim, brânquias e de lesões externas. A grande quantidade de isolados obtidos nas brânquias dos pacamãs indica a ampla distribuição ambiental dos micro-organismos no ambiente aquático e na superfície dos peixes.

Em um experimento realizado no Sul do Brasil, Shama et al. (2000) avaliando 100 jundiás

(*Rhamdia quelen*) isolaram 43,40% das bactérias provenientes dos rins, 35,85% de lesões externas e 18,87% de ambos locais.

Os gêneros de bactérias identificados fenotipicamente podem ser observados na Tabela 2, destacando-se a presença de *Aeromonas* spp., *Enterobacter* spp. e *Acinetobacter* spp.. Dentre as espécies que foram possíveis ser identificadas pode-se destacar *A. hydrophila* (n = 47/177), *A. salmonicida* (n = 27/177), *A. media* (n = 15/177), *K. oxytoca* (n = 9/177), *E. agglomerans* (n = 9/177), *P. shigelloides* (n = 6/177), *V. parahaemolyticus* (n = 6/177), *K. pneumoniae* (n = 5/177), *V. metschnikovii* (n = 4/177) e *S. sonnei* (n = 2/177).

**Tabela 2.** Gêneros identificados em juvenis de pacamãs (*Lophiosilurus alexandri*) segundo a região de isolamento no peixe.

Gêneros identificados	Local do Isolamento				Total (n)	%
	Brânquia (n=92)	Rim (n=65)	Lesão (n=9)	Ovas (n=11)		
<i>Aeromonas</i> spp.	58,69%	47,69%	44,45%	.	89	50,27
<i>Acinetobacter</i> spp.	8,70%	9,23%	.	54,55%	20	11,3
<i>Enterobacter</i> spp.	7,60%	15,38%	22,22%	27,27%	22	12,44
<i>Klebsiella</i> spp.	6,52%	10,77%	.	9,09%	14	7,90
<i>Pseudomonas</i> spp.	5,44%	7,69%	33,33%	9,09%	14	7,90
<i>Shigella</i> spp.	2,17%	.	.	.	2	1,14
<i>Vibrio</i> spp.	5,44%	7,69%	.	.	10	5,65
<i>Plesiomonas</i> spp.	5,44%	1,55%	.	.	6	3,40

A análise de qui-quadrado referente aos gêneros isolados apontou que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre o número de bactérias isoladas entre os diferentes gêneros identificados. Neste estudo prevaleceram bactérias pertencentes às famílias Aeromonadaceae (58,69%) e Enterobacteriaceae. Nessas famílias ocorre grande número de espécies povoadoras nos reservatórios aquáticos. Estes resultados são corroborados com os dados citados por Carneiro et al. (2007), ao realizarem um experimento com tilápias do Nilo doentes (peixes de cultivo), e verificarem que 25% das amostras isoladas eram pertencentes às famílias Aeromonadaceae e Enterobacteriaceae. No presente estudo, os resultados concordam com os citados pela literatura e demonstram o potencial patogênico das bactérias isoladas de pacamã (*L. alexandri*). As enterobactérias são patógenos oportunistas em peixes, a despeito de sua ampla disseminação no ambiente aquático (NEWAJ-FYZUL et al., 2008).

Dentre as bactérias identificadas 50,27% pertencem ao gênero *Aeromonas* e dessas 52,80% a espécie *A. hydrophila*, concordando com resultados obtidos por outros estudos (NAM; JOH, 2007; SILVA et al., 2010). Dentro do gênero *Aeromonas*, a espécie *A. hydrophila* é a mais passível de ser encontrada em infecções de peixes (MIRANDA; ZEMELMAN, 2002).

No trabalho desenvolvido por Shama et al. (2000), *Aeromonas* spp. foi isolada em 6% das amostras de rins e de lesões externas de jundiás, sendo que os isolados mais prevalentes foram de *Plesiomonas shigelloides*. Embora, a maioria das bactérias isoladas no presente estudo pertença ao gênero *Aeromonas*, variações na prevalência das espécies podem ser observadas em outros estudos e, essas discrepâncias podem ser explicadas por diferenças no meio de criação dos peixes (SHAMA et al. 2000; SILVA et al., 2010).

Cepas de *Aeromonas* são capazes de produzir mecanismos de virulência, tornarem-se invasivas e destruir diferentes tipos de tecidos de peixes (ABEROUM; JOOYANDEH, 2010). Isto se deve a capacidade em produzirem várias enzimas, como a elastase, amilase, nuclease, lipase, protease, gelatinase e lecitinase, relatadas como responsáveis pela virulência dessas bactérias (OROZOVA et al., 2008; KOZIŃSKA; PEKALA, 2010).

*Aeromonas* spp. são bactérias capazes de infectar tanto animais ectotérmicos quanto animais endotérmicos, com potencial zoonótico (ABEROUM; JOOYANDEH, 2010). A literatura demonstra a participação destas bactérias em diarreias, gastroenterites e septicemias, em pacientes humanos (GUERRA et al., 2007).

O número de isolados de *Pseudomonas* spp. não foi expressivo, em relação ao descrito na literatura (NEWAJ-FYZUL et al., 2008). Entretanto essas bactérias são importantes patógenos de organismos aquáticos e merecem atenção, particularmente pela

crescente resistência a agentes antimicrobianos (OBRITSCH et al., 2004). Além disso, essa bactéria pode ser associada a intoxicações alimentares devido principalmente ao consumo de peixe cru (YAGOUB, 2009).

A porcentagem de *Vibrio* spp. foi baixa. Este resultado pode ser explicado pela dificuldade no isolamento e cultivo de espécies desse gênero (BALCÁZAR et al., 2007). Akinbowale et al. (2006), ao avaliar peixes e crustáceos, descreveram o predomínio de bactérias dos gêneros *Vibrio* spp. e *Aeromonas* spp.. Espécies do gênero *Vibrio* spp. são capazes de causar doenças em humanos, que podem ser encontradas em alimentos e, principalmente na água, também podendo ser isoladas de organismos marinhos (WARD; BEJ, 2006). Pereira et al. (2007) isolaram *Vibrio* de mexilhões (*Perna perna*) e verificaram que cerca de 11 % das amostras foram de *Vibrio parahaemolyticus*.

A presença de *Plesiomonas shigelloides* foi observada em apenas 3% do total de amostras isoladas neste estudo. Em um experimento onde os peixes eram oriundos de um sistema de reciclagem, este micro-organismo foi isolado em 12% das amostras avaliadas (ESPOSTO et al., 2007). O potencial patogênico de *P. shigelloides* tem sido descrito na literatura (BOIJINK et al., 2001).

O perfil de resistência aos antimicrobianos pode ser observado na Tabela 3. Alta sensibilidade foi observada para norfloxacin e enrofloxacin, duas quinolonas. Os resultados foram semelhantes aos obtidos por outros pesquisadores (HATHA et al., 2005; AKINBOALE et al., 2006; COSTA et al., 2008). Contudo, diferem dos relatados por Arias et al. (2010), embora estes autores tenham trabalhado com amostras de *Aeromonas* spp. selecionadas de diarreia em humanos. Em peixes, as quinolonas são drogas de grande utilização no combate a furunculose e outras infecções ocasionadas por *Aeromonas* spp. (SMITH et al., 2010).

A tetraciclina e o sulfazotrim possuem grande potencial de uso na aquicultura, sendo recomendados para o tratamento de diversas infecções em peixes fora do Brasil, tais como as vibrioses e a furunculose (SMITH et al., 2010). No Brasil, a única droga legalmente permitida para o tratamento de infecções em peixes é o florfenicol que é um antimicrobiano análogo fluorado do cloranfenicol e tianfenicol que foi produzido sinteticamente para uso exclusivo de médicos veterinários, sendo que sua atividade antimicrobiana abrange um espectro maior que o tianfenicol e semelhante ao cloranfenicol (PARK et al., 2007). A ocorrência de *A. hydrophila* resistente à tetraciclina foi descrita em estudos realizados com carpa (*Misgurnus anguillicaudatus*) na Coreia (JUN et al., 2010) e no Brasil (CARNEIRO et al., 2007). Alguns isolados apresentaram sensibilidade aos aminoglicosídeos, contudo drogas deste grupo apresentam pouca aplicação em aquicultura (JUN et al., 2010).

**Tabela 3.** Porcentagem de isolados bacterianos em amostras de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) cultivados nos Vales do Parnaíba e do São Francisco no período entre 2009 e 2010.

Gênero	N	AM (%)	CR (%)	TE (%)	ES (%)	LI (%)	NE (%)	ER (%)	SU (%)	EM (%)	NA (%)	NO (%)	NI (%)	IRMA
<i>Aeromonas</i>	89	77	13	44	44	89	57	55	36	24	38	77	41	0,58
<i>Acinetobacter</i>	20	40	50	50	65	50	95	60	35	40	75	40	40	0,59
<i>Enterobacter</i>	22	95	62	38	81	100	86	71	43	38	71	24	33	0,61
<i>Klebsiella</i>	14	83	17	42	42	92	42	83	17	0	33	8	83	0,64
<i>P. shigelloides</i>	6	100	0	50	50	100	50	83	50	33	83	0	50	0,52
<i>Pseudomonas</i>	14	100	21	50	77	77	64	21	21	0	7	14	7	0,57
<i>Shigella</i>	2	100	0	50	100	100	50	100	0	50	50	0	50	0,63
<i>Vibrio</i>	10	100	33	33	78	89	67	67	78	44	33	22	22	0,64
Total	177	7	79	59	49	3	32	45	68	78	55	85	60	-

N= número de amostras; AM: ampicilina; CR: ceftriaxona; TE: tetraciclina; ES: Estreptomicina; LI: Lincomicina; NE: Neomicina; ER: Eritromicina; SU: Sulfazotrim; NE: Enrofloxacin; NA: Ácido Nalidíxico, NO: Norfloxacin; NI: Nitrofurantoina; IRMA: Índice de Resistência Múltipla aos Antimicrobianos.

Com relação aos beta-lactâmicos, alta resistência foi observada à ceftriaxona (79%), enquanto que uma baixa resistência foi obtida frente à ampicilina (7%) e lincomicina (3%). A resistência aos beta-lactâmicos é crescente em isolados de peixes (SAAVEDRA et al., 2004; COSTA et al., 2008; FRANCO et al., 2010). Caso particular se faz em relação à ampicilina, cuja resistência é descrita como intrínseca para isolados de *Aeromonas* spp. (SAAVEDRA et al., 2004). A baixa resistência das bactérias à ampicilina das bactérias avaliadas pode estar associada à alta frequência de bactérias do gênero *Aeromonas*. Nestas bactérias a resistência aos beta-lactâmicos é intrínseca e está associada à produção de enzimas beta-lactamases (MIRANDA et al., 2013). O aumento no número de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos se deve ao uso indiscriminado e de forma excessiva do mesmo na produção animal intensiva (HARAKEH et al., 2006). Após a morte das bactérias sensíveis a droga pode haver uma proliferação das bactérias resistentes, e possível transferência dos genes de resistência para outras bactérias que nunca foram expostas ao antibiótico (VERSCHUERE et al., 2000).

Franco et al. (2010), avaliando isolados de camarões (*Litopenaeus vannamei*), encontraram resistência à ampicilina e lincomicina próxima da resistência observada neste estudo. Costa et al. (2008) detectaram elevado nível de resistência à ampicilina para bactérias isoladas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivadas em Santa Maria-RS, Brasil. *Vibrio* spp. resistente a ampicilina foi detectado em isolados de robalos (*Dicentrarchus labrax*) cultivados na piscicultura da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal (SAAVEDRA et al., 2004).

Quando verificada a resistência múltipla aos antimicrobianos (Tabela 3), observa-se que esta foi maior para as enterobactérias, seguida dos vibrios. Um aspecto importante a ser destacado é que todos os grupos de bactérias obtidas de pacamãs apresentaram resistência a mais de duas classes de drogas antimicrobianas simultaneamente. Quando analisados em conjunto, estes dados trazem grande preocupação, uma vez que estas bactérias possuem uma ampla

distribuição ambiental. A troca de genes de resistência entre bactérias ambientais e patógenos oportunistas é algo bem estudado especialmente no ambiente aquático (CABELLO et al., 2013).

Silva (2011), analisando a sensibilidade de *A. hydrophila* obtidas de peixes do Rio São Francisco, também observou também resistência múltipla aos antimicrobianos, sendo que esta poderia estar relacionada à contaminação ambiental por antibióticos e metais pesados. Embora neste trabalho, a resistência múltipla nos isolados de *Aeromonas* spp. não tenha demonstrado elevados índices de resistência, outros estudos têm alertado para preocupação com este fato. Em *Aeromonas* isoladas de água potável, pacientes e criatórios de peixes demonstraram resistência múltipla (OROZOVA et al., 2008; ZAKY et al., 2010). Um trabalho realizado na Índia demonstrou resistência múltipla de *A. hydrophila* isoladas de peixes para vários grupos de fármacos testados (KASKHEDIKAR; CHHABRA, 2010).

O uso não planejado de antibióticos nos cultivos de peixes, tanto como prevenção quanto para terapêutica, vem aumentando a resistência de bactérias pelo processo de seleção, assim como outras atividades humanas não planejadas. Segundo Sarter et al. (2007) a Ásia passou a apresentar bactérias com múltipla resistência aos antibióticos em decorrência do uso indiscriminado de diferentes fármacos.

Os peixes utilizados no presente estudo foram oriundos de uma propriedade sem histórico de uso de drogas antimicrobianas, próximo a cidade de Petrolina/PE. Cidade em que todo o esgoto doméstico e industrial é lançado no rio sem tratamento prévio. A água que abastece toda a Estação de Piscicultura da Estação do Bebedouro, propriedade que cedeu os peixes desse estudo, é captada cinquenta quilômetros abaixo da cidade de Petrolina/PE, diretamente do Rio São Francisco e, não é submetida a tratamento antes de ser destinada aos tanques de cultivos dos pacamãs. O ambiente aquático é muito dinâmico, o que facilita a transferência de fatores de resistência e emergência de cepas resistentes que podem facilmente chegar aos seres humanos (NEWAJ-FYZUL et al., 2008).

Assim, o isolamento e identificação das bac-

térias *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *Acinetobacter* spp., *A. media*, *Pseudomonas* spp., *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *E. agglomerans*, *Plesiomonas shigelloides*, *V. parahaemolyticus*, *K. pneumoniae*, *Vibrio metschnikovii* e *Shigella sonnei* com potencial patogênico para organismos aquáticos, mostram-se como um importante aspecto econômico e ecológico a ser estudado.

## CONCLUSÕES

No presente estudo foi verificada grande variedade de espécies bacterianas com potencial patogênico em pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), tais como *A. hydrophila*, *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Acinetobacter* spp. e *Enterobacter* spp., sendo a maioria das bactérias isoladas de brânquias.

A multi-resistência a dois ou mais fármacos observada em todos os isolados representando uma preocupação a respeito da atividade aquícola desenvolvida no Sub-Médio do Rio São Francisco, bem como a saúde humana dada a possibilidade de infecções humanas por bactérias resistentes.

## REFERÊNCIAS

ABEROUM, A.; JOOYANDEH, H. A Review on Occurrence and Characterization of the *Aeromonas* Species from Marine Fishes. **World Journal of Fish and Marine Sciences**, Dubai, v. 2, n. 6, p. 519-523, 2010.

AKINBOWALE, O. L.; PENG, H.; BARTON, M. D. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. **Journal of Applied Microbiology**, England, v. 100, n. 5, p.1103-1113, 2006.

ARIAS, A. et al. Molecular mechanisms of quinolone resistance and *Aeromonas veronii* bv. sobria. **International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology**, Barcelona, v. 13, n. 3, p. 135-141, 2010.

BALCÁZAR, J. L. et al. Quantitative detection of *Aeromonas salmonicida* in fish tissue by real-time PCR using self-quenched, fluorogenic primers. **Journal of Medical Microbiology**, England, v. 56, p. 323-328, 2007.

BOIJINK, C. L. et al. Inoculação de suspensão bacteriana de *Plesiomonas shigelloides* em jundiás, *Rhamdia quelen* (Teleostei: pimelodidae), **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 497-501, 2001.

CABELLO, F. C. et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. **Environmental microbiology**, England, v. 15, n. 7, p. 1917-1942, 2013.

CARNEIRO, D. O. et al. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 869-876, 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, CLSI, **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**, CLSI/ NCCLS, M100-S16, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2007.

COSTA, M. M. et al. Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, p. 477-480, 2008.

ESPOSTO, E. et al. Enteropatógenos bacterianos em peixes criados em uma estação de reciclagem de nutrientes e no ecossistema relacionado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 144-148, 2007.

FRANCO, I. et al. Caracterização molecular e susceptibilidade aos antimicrobianos de isolados bacterianos de camarões (*Litopenaeus vannamei*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 2, p. 527-536, 2010.

GUERRA, I. M. F. et al. *Aeromonas* associated diarrhoeal disease in south Brazil: prevalence, virulence factors and antimicrobial resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 638-643, 2007.

HARAKAEH, S.; YASSINE, H.; EL-FADEL, M. Antimicrobial-resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. **Environmental Pollution**, England, v. 143, p. 269-277, 2006.

HATHA, M. et al. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 98, n. 2, p. 131-134, 2005.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's Manual® of Determinative Bacteriology** – 9<sup>th</sup> ed. Rev., Of: Shorter Bergey's manual of determinative bacteriology, Baltimore, Maryland, USA, 1994.

JUN, J. W. et al. Occurrence of tetracycline-resistant *A. hydrophila* infection in Korean cyprinid loach

- (*Misgurnus anguillicaudatus*). **African Journal of Microbiology**, Nigeria, v. 4, n. 9, p. 849-855, 2010.
- KASKHEDIKAR, A.; CHHABRA, D. Multiple drug resistance in *A. hydrophila* isolates of fish. **Veterinary World**, Rajkot, v. 3, n. 2, p. 76-77, 2010.
- KOZIŃSKA, A.; PEKALA, A. Serotyping of *Aeromonas* species isolated from Polish fish farms in relation to species and virulence phenotype of the bacteria. **Bull Veterinary Institute Pulawy**, Poland, v. 54, p. 315-320, 2010.
- KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 46, n. 1, p. 165-170, 1983.
- LOPÉZ, C. M.; SAMPAIO, E. V. Sobrevivência e crescimento larval do pacamã *Lophisilurus alexandri* Steindachner 1877 (Siluriformes, Pimelodidae), em função de três densidades de estocagem em laboratório. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 2, p. 491-494, 2000.
- MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 293, p. 207-218, 2002.
- MIRANDA, C.D; TELLO, A.; KEEN, P. Mechanisms of antimicrobial resistance in finfish aquaculture environments. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 4, 2013.
- NAM, I.-Y.; JOH, K. Rapid Detection of Virulence Factors of *Aeromonas* Isolated from a Trout Farm by Hexaplex-PCR. **The Journal of Microbiology**, Seoul, v. 45, n. 4, p. 297-304, 2007.
- NEWAJ-FYZUL, A. et al. Prevalence of Bacterial Pathogens and their Anti-microbial Resistance in Tilapia and their Pond Water in Trinidad. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 55, n. 4, p. 206-213, 2008.
- OBRITSCH, M. D. et al. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Obtained from Intensive Care Unit. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 48, n. 12, p. 4606-4610, 2004.
- OROZOVA, P. et al. Antibiotic resistance of potentially pathogenic *Aeromonas* strains. **Trakia Journal of Sciences**, Bulgaria, v. 6, n. 1, p. 71-77, 2008.
- PARK, B-K. et al. Pharmacokinetics of florfenicol and its major metabolite, florfenicol amine, in rabbits. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, England, v. 30, p. 32-36, 2007.
- PEREIRA, C. S. et al. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 1, p. 56-59, 2007.
- QUINN, P. J. Et al. **Clinical veterinary Medicine**, London: Mosby-Year ed., 1994. 648 p.
- SAAVEDRA, M. J. et al. Isolamento de *Pasteurella* spp. e *Vibrio* spp. em robalos (*Dicentrarchus labrax*) Susceptibilidade a diferentes grupos de antibióticos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, p. 277-279, 2004.
- SARTER, S. et al. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. **Food Control**, Kidlington, v. 18, n. 11, p. 1391-1396, 2007.
- SHAMA, S. et al. Bactérias com potencial patogênico nos rins e lesões externas de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados em sistema semi-intensivo, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 293-298, 2000.
- SILVA, L. J. A. **hydrophila em organismos aquáticos no Vale do São Francisco: Fatores de virulência e perfil de resistência à antimicrobianos e metais pesados**. 2011. 61 f. (Dissertação de mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2011.
- SILVA, R. M. L. et al. *Aeromonas* spp. em água de piscicultura da região da baixada ocidental maranhense. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 245-249, 2010.
- SMITH, P. R. et al. Guidelines for antimicrobial use in aquaculture. In: GUARDABASSI, L., JENSEN, L. B., KRUSE, H. **Guia de Antimicrobianos em Veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- VERSCHUERE, L. et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. Washington, v. 64, n. 4, p. 655-671, 2000.
- WARD, L. N.; BEJ, A. K. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in Shellfish by Use of Multiplexed Real-Time PCR with TaqMan Fluorescent Probes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 3, p. 2031-2042, 2006.
- YAGOUB, S. O. Isolation of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. from raw fish sold in fish market in Khartoum state. **Journal of Bacteriology**

**Research**, Lagos, v. 1, n.7 , p. 085-088, 2009.

ZAKY, M. M. M.; MANSOUR, F. A.; PERSSON, K. M. Factors influencing multi-drug resistant and plasmid DNA harbouring *A. hydrophila* isolated from Lake Manzala, Egypt. **Journal of Bacteriology Research**, Lagos, v. 2, n. 4, p. 30-40, 2010.