

ATIVIDADE HEMOLÍTICA E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS POR ESPÉCIES DE *Aeromonas* ISOLADAS DE CRIAÇÃO INTENSIVA DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

HEMOLYTIC ACTIVITY AND RESISTANCE TO ANTIMICROBIALS BY *Aeromonas* SPECIES ISOLATED FROM INTENSIVE REARING OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)

M. I. SUHET^{1,2*}, R. P. SCHOCKEN-ITURRINO², L. A. AMARAL³

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar espécies de *Aeromonas* isoladas em amostras de tilápias do Nilo criadas em tanques-rede e da água do local de criação. As amostras foram plaqueadas em meios seletivos ADA e m-aeromonas e colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos para identificação da espécie. Isolados foram avaliados para produção de hemolisina utilizando ágar sangue e teste de resistência a antimicrobianos conforme o método de difusão de discos. Nas amostras de água e superfície dos peixes *A. hydrophila* foi a espécie mais isolada, seguida por *Aeromonas caviae* e *Aeromonas sobria* e no rim dos peixes as espécies isoladas foram *A. hydrophila* e *A. veronii*. Das culturas estudadas, 65 (57%) apresentaram atividade hemolítica. O teste com antimicrobianos revelou resistência de todos os isolados pela amoxicilina e resistência variável a eritromicina. É importante considerar que a lagoa estudada, além da criação de peixes e usada para fins recreativos; portanto a presença de aeromonas pode implicar em doenças nos peixes e em seres humanos e atenção deve ser dada ao uso de antimicrobianos, devido à porcentagem de resistência apresentada.

PALAVRAS-CHAVE: *Aeromonas*. Análise microbiológica. Hemolisina. Piscicultura.

SUMMARY

The objective of the work was to evaluate *Aeromonas* species isolated from samples of Nile tilapia reared in net-cage and from the pond water. The samples were cultured in m-aeromonas and ADA selective media and the colonies underwent typical biochemical tests to identify the species. Isolates were evaluated for hemolysin production using blood agar and antimicrobial resistance test according to disk diffusion method. In water and fish body surface samples, *A. hydrophila* was the most occurring species, followed by *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria*. While in the fish kidneys, the most occurring species were *A. hydrophila* and *A. veronii*. Of the studied cultures, 65 (57%) had hemolytic activity. The antimicrobial resistance test showed that all isolates were resistant to amoxicillin and offered variable resistance to erythromycin. It is important to notice that the studied pond, in addition to being used for rearing fish, is also used for recreational purposes. Therefore, the presence of aeromonas may result in fish and human diseases; and special attention should be placed to the use of antimicrobial due to the high resistance displayed.

KEY-WORDS: *Aeromonas*. Microbiological analysis. Hemolysin. Pisciculture.

¹ Trabalho parte do doutorado do primeiro autor no programa de pós-graduação em Microbiologia Agropecuária, FCAV – UNESP, Jaboticabal, SP.

² Programa de pós-graduação em Microbiologia Agropecuária, FCAV – UNESP, Via de Acesso Paulo Donato Castellani, s/n. CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP. Fone (0**16)32092652. isabelsuhet@hotmail.com*

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV - UNESP, Jaboticabal, SP.

INTRODUÇÃO

A diminuição dos estoques naturais de peixe durante as décadas de 70 e 80 no Estado do Espírito Santo levou, em 2001, órgãos governamentais e sindicatos a implantarem na lagoa Juara, uma criação intensiva de tilápias do Nilo (*Oreochomis niloticus*) em tanques-rede, com o objetivo de beneficiar famílias de pescadores artesanais da comunidade local através da venda *in natura* (DUARTE, 2007).

Pesquisas recentes apontam que a intensificação descontrolada da aquicultura pode levar à deterioração ambiental e afetar a saúde dos peixes (HIRSCH et al., 2006). Das doenças a que os peixes podem ser acometidos, a Septicemia Hemorrágica Bacteriana causada por *Aeromonas hydrophila*, *A. jandaei*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida* e *A. veronii* bt. sobria é relatada como o maior problema sanitário, podendo ocasionar alta mortalidade com prejuízos econômicos significativos (AUSTIN et al., 1998; KOZINSKA, 2007). A ampla distribuição de *Aeromonas* em ambientes hídricos e seu potencial patogênico levam todas as treze espécies já identificadas a serem consideradas significativas em termos de saúde pública (TOKAJIAN & HASHWA, 2004), representando risco de infecção de ferida para seres humanos resultante da exposição à água contaminada (HIRANSUTHIKUL et al., 2005) ou de gastroenterite quando a água sem tratamento é usada para bebida (GHENGHESH et al., 2001).

Alguns autores consideram a produção β -hemólise um fator de virulência de espécies de *Aeromonas* (DI

BARI et al., 2007). Estudos tem associado produção de hemolisina por *Aeromonas* às infecções gastrointestinais (GONZÁLEZ-SERRANO et al., 2002) e infecções de peixes de água doce (KOZINSKA, 2007).

O uso universal e muitas vezes indiscriminado de antimicrobianos em medicina humana e animal, incluindo a aquicultura, tem trazido sérias consequências, como a aparição de cepas de aeromonas resistentes (ALVARÉZ et al., 2004).

Até o momento não há documentação científica sobre espécies, atividade hemolítica e resistência antimicrobiana por aeromonas isoladas da lagoa Juara, no estado do Espírito Santo, local de realização de atividades aquícolas e recreativas. Portanto, o presente trabalho faz essa avaliação em isolados de amostras de água e peixes da criação.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi conduzido em uma lagoa com área aproximada de 2,8 km², tendo cerca de 16 km de extensão, localizada (20° 06' E, 40° 14' N) a 5 km do Oceano Atlântico, no Estado do Espírito Santo, sudeste do Brasil (Figura 1). A instalação de criação de tilápia do Nilo (*Oreochomis niloticus*) consta de cento e cinquenta tanques-rede de 4 m³ de volume útil, com densidade média de 125 peixes por m³, distribuídos em 5 linhas, sendo esses tanques localizados em área com profundidade média de 3m.

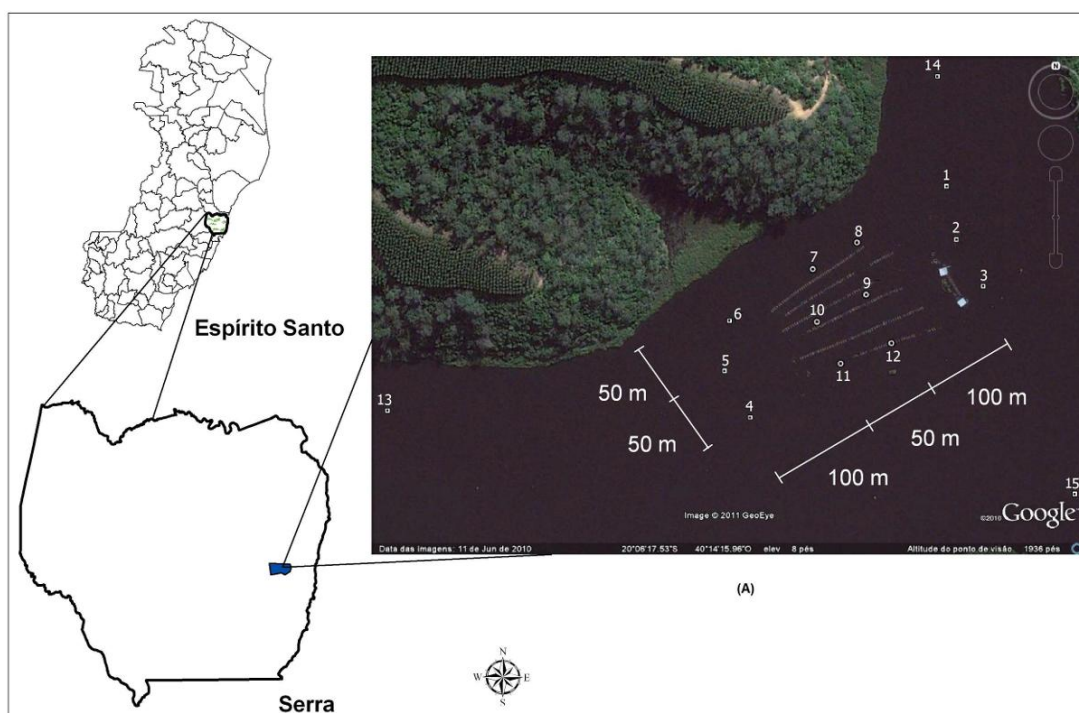


Figura 1 - Lagoa Juara, estado do Espírito Santo, Brasil onde foi conduzido o estudo. (A) Montagem de imagens de satélite obtidas pelo programa Google Earth. <http://maps.google.com/maps?ll=-20.114011,-40.229739&z=14&t=h&hl=pt-br>. Croqui com os pontos de amostragem.

Amostragem

Amostragem e análises foram realizadas mensalmente durante um ano, de abril de 2008 a março de 2009. Em cada visita, foram coletadas uma amostra de água e dois peixes de cada um dos seis tanques-rede e uma amostra da água da lagoa em cada um de seis pontos pré determinados no entorno dos tanques-rede, com distância entre os pontos de 50 m e entre os locais de 100 m (Figura 1A). Assim, foram colhidas um total de 72 amostras de água da lagoa, 72 de água dos tanques-rede e 144 peixes. As amostras de água foram colhidas a 20 cm da superfície, usando frasco de vidro esterilizado de 500 mL, identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo protegido e mantidas a temperatura menor do que 10°C até o momento da análise. Os peixes foram capturados dos tanques-rede utilizando puçá, acondicionados em sacos plásticos contendo água do mesmo tanque, identificados e adicionados de oxigênio para o transporte. Foi determinada *in situ* a temperatura da água utilizando um oxímetro AT-150.

Pesquisa de *Aeromonas* nos peixes, rim e na água

No laboratório, os peixes foram transferidos para recipientes esterilizados de peso conhecido e imersos em caixas de PVC contendo água e gelo para a dessensibilização. Em seguida foram pesados, adicionados de água peptonada estéril (APE) 0,1%, em quantidade igual ao peso do peixe e agitados de forma a lavar toda a superfície (SILVA et al., 2007). O líquido resultante da lavagem foi utilizado para diluições decimais e plaqueamento de forma a obter colônias isoladas. Após a obtenção da água de enxaguadura da superfície externa, dentro da capela de fluxo laminar, as escamas foram removidas mecanicamente e o tegumento desinfetado com etanol a 70%. A seguir, por uma incisão na porção ventral média fragmentos do parênquima renal foram retirados com um suabe (HIRSCH et al., 2006) e transferidos para tubos de ensaio contendo caldo tripticase soja (TSB), incubados a 28°C por 24 horas para posterior plaqueamento.

Devido ao excesso de material particulado na água da lagoa e dos tanques, não foi possível utilizar a técnica de membrana filtrante; portanto foi aplicada a técnica de spread-plate em que alíquotas da amostra e suas diluições foram distribuídas sobre placas contendo o meio de cultura, de forma a obter colônias isoladas (SILVA et al., 2007).

Utilizou-se como meio seletivo o ágar dextrina-ampicilina e o ágar seletivo M-*Aeromonas* base suplementados com 10 µg mL⁻¹ de ampicilina. As placas foram incubadas a 28°C por 24 a 48 horas.

Caracterização das espécies de *Aeromonas*

Colônias amareladas, circundadas por halo decorrente da hidrólise da dextrina ou trehalose até cinco delas foram transferidas para tubos com o ágar tripticase soja inclinado para, em seguida, verificar a morfologia e coloração pelo método de Gram, e realizar os testes da catalase e oxidase. Estirpes caracterizadas como bastonetes Gram negativas,

catalase e oxidase positiva foram inoculadas em ágar triplice-açúcar-ferro para uma triagem inicial (MARTINELLI et al., 2010). Para a diferenciação do gênero e caracterização das espécies foram realizadas as provas de descarboxilação da lisina e da ornitina, hidrólise da esculina e da arginina, ONPG e gelatina, resistência ao agente vibriostático O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) (50 e 150 µg), produção de ácido a partir dos carboidratos glicose, lactose, sacarose, manitol, salicina, manose, rafinose, arabinose, inositol e sorbitol, teste de VM e VP, produção de indol, crescimento na ausência e presença de 6% de cloreto de sódio, motilidade e redução de nitratos (DI BARI et al., 2007).

Produção de hemolisina

Atividade hemolítica dos isolados de *Aeromonas* obtidos das amostras de água, superfície e rim dos peixes foi determinada pela verificação de zona de β-hemólise ao redor das colônias em placas contendo ágar tripticase soja, acrescido de 5% de sangue desfibrinado de cavalo, após incubação por 18 a 24 h (MONFORT & BALEUX, 1991, TOKAJIAN & HASHWA, 2004) a 28 °C.

Teste de resistência a antimicrobianos

O teste de resistência a antimicrobianos foi realizado conforme o método de difusão de discos de antimicrobianos (BAUER et al., 1966). Os antimicrobianos utilizados foram a gentamicina (10 µg), ácido nalidixico (30 µg), tetraciclina (30 µg), ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), amoxicilina (10 µg), eritromicina (15 µg), levofloxacina (5 µg) e ofloxacina (10 µg).

Para validação das metodologias foi utilizada uma amostra de referência, *Aeromonas hydrophila*, ATCC 7966, recebida da coleção de cultura da FIOCRUZ-RJ.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Distribuição das espécies de *Aeromonas*

Do total de 1.314 colônias, dos locais analisados, *Aeromonas* spp. foram isoladas em 711 (54%) das amostras e foram diferenciadas em oito espécies, *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandae*, *A. salmonicida*, *A. eucrenophila*, *A. schubertii* e isolados considerados como atípicas (Figura 2).

Aeromonas hydrophila foi a espécie dominante, variando de 32 a 35% nas amostras da água da lagoa, dos tanques-rede e superfície dos peixes, com maior ocorrência no rim dos peixes, correspondendo a 44% das amostras analisadas.

O intervalo de variação da temperatura da água do mínimo de 21,99°C em julho/08 a máxima de 29,78°C em fevereiro/09 pode ter favorecido a multiplicação de *A. hydrophila*, que segundo Holt et al. (1994) a temperatura ótima está entre 22 a 28°C. Isso pode justificar nossos resultados acima do encontrado por Schafer et al. (2004) de 3,0% em amostras de rim e fígado de trutas aparentemente sadias criadas em água com temperatura média de 15°C.

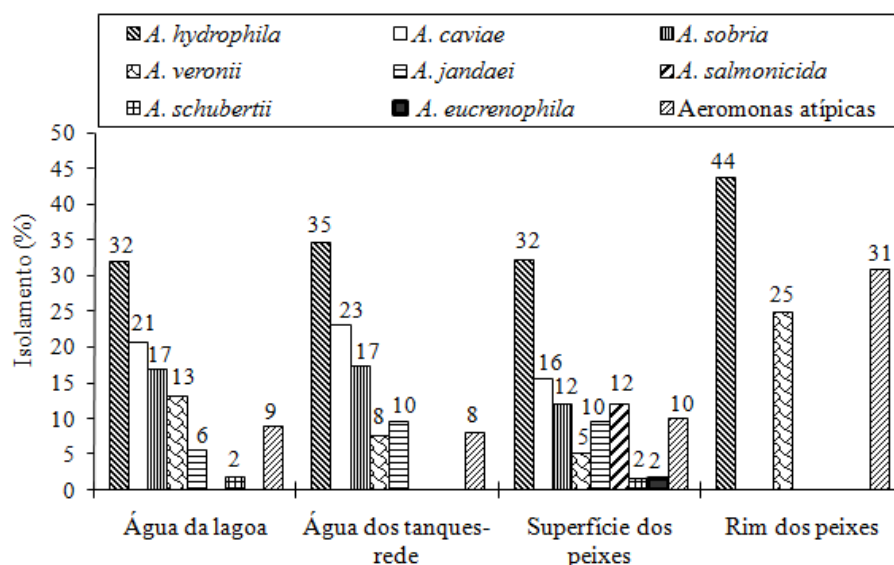


Figura 2 - Distribuição das espécies de *Aeromonas* isoladas das amostras de água da lagoa, água dos tanques-rede, superfície e rim dos peixes.

O aumento do volume das águas no período chuvoso pode ter sido a causa da redução do número de amostras positivas para *A. hydrophila* na água e superfície, comparada às amostras de rim dos peixes. Nossos resultados para isolamento em amostras de água se aproximaram ao encontrado por Araujo et al. (1991), em que essa bactéria foi isolada em 32% das amostras de água de lagoa eutrofizada, no noroeste da Espanha.

Aeromonas caviae e *Aeromonas sobria* foram isoladas na água da lagoa (21 e 17%), dos tanques (23 e 17%) e da superfície dos peixes (16 e 12%), respectivamente, não sendo encontradas, no rim dos peixes. A menor frequência de isolamento dessas espécies em relação a *A. hydrophila* pode ser devido ao local de estudo não receber efluente de esgotos. A ocorrência de *A. caviae* associada a águas com maior nível de poluição fecal foi descrita por Monfort & Baleux (1991) e de *Aeromonas sobria* em águas menos poluídas ou com nenhuma poluição fecal foi relatada por Araújo et al. (1991).

Aeromonas veronii foi isolada em todos os locais, sendo a segunda espécie isolada nas amostras de rim dos peixes (25%). Maior porcentagem de isolamento foi encontrada por Kozinska (2007) em 57% das amostras de rim de carpas sadias na Polônia e por Azevedo et al. (2003) em 31,9% de tilápias criadas em Pesque-Pagues da Região Metropolitana de São Paulo. Essa foi a espécie mais isolada por Soler et al. (2002) em amostras de água doce na Espanha e Rahman et al. (2002) isolaram *Aeromonas veronii* biovar sobria de várias espécies de peixes com Síndrome Ulcerativa Epizootica (SUE) em Bangladesh. Orozova et al. (2009) consideram essa espécie patogênica para peixes de águas tropicais e Kozinska (2007), para peixes de águas temperadas.

Aeromonas jandaei foi isolada em todos os locais, exceto no rim dos peixes. Essa espécie também foi isolada por Hirsch et al. (2006), em superfície corpórea de tilápias do Nilo e água de tanques-rede de pisciculturas da região do Alto Rio Grande, Minas Gerais.

Aeromonas salmonicida e *A. eurenophila* só foram isoladas nas amostras de superfície dos peixes. Austin et al. (1998) consideram *A. salmonicida* de difícil isolamento em águas por sobreviver em ambiente aquático como cocultura com outras bactérias, e essa estreita associação, diminui as chances de reconhecê-la em uma população mista.

Aeromonas schubertii só foi isolada nas amostras de água da lagoa e da superfície dos peixes. *Aeromonas* spp., que nas provas bioquímicas apresentaram algum resultado atípico, foram consideradas *Aeromonas* atípicas, sendo isoladas em todos os locais, com maior ocorrência no rim dos peixes.

Embora tenham sido analisadas tilápias aparentemente saudáveis, foram encontradas as espécies potencialmente patogênicas para peixes de águas tropicais, *Aeromonas hydrophila*, (KOZINSKA, 2007) *A. caviae* (MARTINS et al., 2008), *A. sobria* (RAHMAN et al., 2002), *A. veronii* (OROZOVA et al., 2009) e *A. jandaei* (SANTOS et al., 1999) e também a espécie patogênica para peixes de águas frias *A. salmonicida* (AUSTIN et al., 1998). À exceção de *A. salmonicida*, as demais espécies também foram isoladas na água da lagoa e dos tanques sem grandes diferenças, quando a porcentagem e espécies isoladas reforçando a hipótese de que a microbiota apresentada pelo pescado, reflete a qualidade microbiológica do ambiente em que ele é capturado (MARTINS, 2005). O fato dessas espécies serem patogênicas para seres humanos, pode implicar em gastroenterite pela ingestão de alimentos que venham a sofrer contaminação

cruzada com esses peixes ou com a água, ou ainda infecção de ferida em pescadores e manipuladores portadores de dilacerações ou abrasões na pele, bem como para os que fazem uso da lagoa para recreação, pois acidentalmente pode ocorrer contato e ou ingestão dessa água (FIGUERAS et al., 2005, HIRANSUTHIKUL et al., 2005).

Atividade hemolítica das espécies de *Aeromonas*

Atividade hemolítica foi detectada em 65 (57%) das 114 culturas estudadas, sendo 35 isolados das amostras de água, 24 da superfície e 6 dos rim dos peixes. O resultado da atividade hemolítica das culturas encontra-se na Figura 3. *A. jandaei* foi a espécie em que a atividade hemolítica foi maior em isolados das amostras de água (100%), seguida por *A. veronii* (90%), *A. hydrophila* (74%) e *A. sobria* (50%). Para isolados da superfície e rim dos peixes, *A. hydrophila* foi a espécie mais hemolítica (56 e 80%), seguida de *A. veronii* (50 e 67%), respectivamente. *A. salmonicida*, *A. sobria*, *A. jandaei* e *A. caviae* isoladas da superfície dos peixes também apresentaram atividade hemolítica. Essas espécies podem ser consideradas potencialmente patogênicas (DI BARI et al., 2007).

Monfort & Baleux (1990) verificaram produção de hemolisina em 100% das estirpes de *Aeromonas hydrophila* e *A. sobria* isoladas da água de lagoa salobra de tratamento de esgotos, no sul da França e Monfort & Baleux (1991), em outro estudo, para isolados do mesmo local, encontraram 96% de *A. hydrophila* e 97% de *A. sobria* produtoras de

hemolisina. Esses resultados estão acima dos encontrados no presente trabalho, para isolados de amostras de água, que foi de 74% para *A. hydrophila* e de 50% para *A. sobria*. Rahman et al. (2002) verificaram que isolados de *A. veronii* biovar sobria de peixe com Síndrome Ulcerativa Epizootica (SUE) em Bangladesh apresentaram atividade hemolítica e aglutinaram eritrócitos de peixes podendo ser um agente causal da SUE nos peixes. Abbott et al. (2003) encontraram em isolados de amostras clínicas, de animais e ambientais, 100% de hemólise para estirpes de *A. veronii*. Esses resultados estão acima dos encontrados no presente trabalho, para isolados de *A. veronii* de amostras de água que foi de 90%, da superfície foi de 50% e do rim dos peixes foi de 67%.

As diferenças para a atividade hemolítica de aeromonas encontradas neste estudo pode ter sido influenciada pelas condições ambientais de multiplicação o que altera a expressão de gens que codificam hemolisina (WANG et al., 2003). *Aeromonas* cultivadas em temperatura mais baixa apresentam mais estirpes e fatores de virulência reunidos que aeromonas cultivadas em temperatura mais alta (GONZÁLEZ-SERRANO et al., 2002). Segundo Chacón et al. (2003) em isolados clínicos a atividade β -hemolítica é significativamente mais frequente que em isolados ambientais. Para Abbott et al. (2003), o aumento da incidência em isolados clínicos é devido à transferência horizontal de genes de hemolisina de espécies de *Aeromonas* hemolítica, para espécies não hemolíticas.

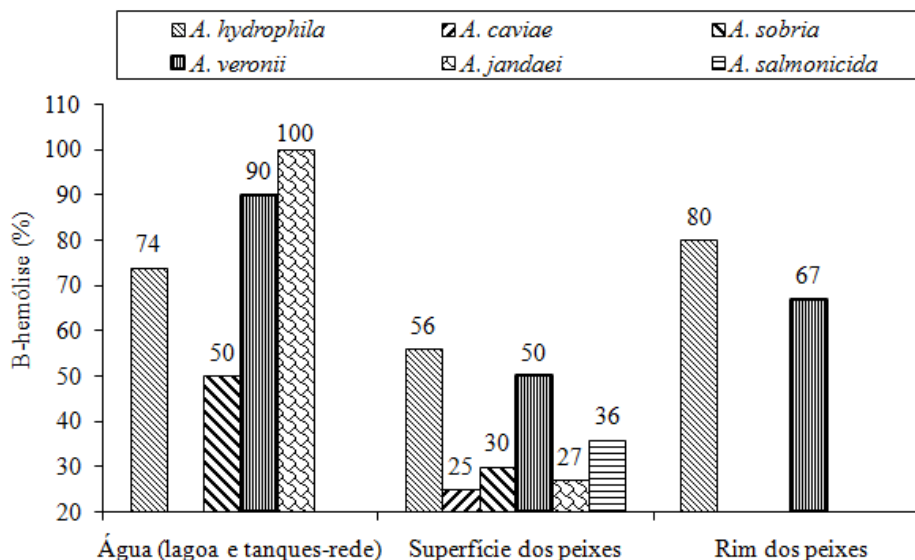


Figura 3 - Atividade hemolítica das culturas de aeromonas isoladas da água (lagoa e tanques-rede), superfície e do rim dos peixes.

Tabela 1 - Resistência a antimicrobianos por espécies de *Aeromonas* isoladas da água (lagoa e tanques-rede), superfície e rim dos peixes.

Espécies	Origem	Resistência a antimicrobianos (%)							
		Gen 10 µg	Nal 30 µg	Tet 30 µg	Ofx 5 µg	Eri 15 µg	Amo 10 µg	Lvx 5 µg	Clo 30 µg
<i>A. hydrophila</i> ^a	Padrão	0	0	0	0	0	100	0	0
	Água (n=10)	0	0	0	0	50	100	0	0
<i>A. hydrophila</i>	Superfície (n=10)	0	0	0	0	50	100	0	0
	Rim (n = 2)	0	0	0	0	0	100	0	0
<i>A. caviae</i>	Água (n = 4)	0	0	0	0	50	100	0	0
	Superfície (n = 4)	0	0	0	0	50	100	0	0
<i>A. sobria</i>	Água (n = 4)	0	0	0	0	50	100	0	0
	Superfície (n = 4)	0	0	0	0	50	100	0	0
<i>A. veronii</i>	Água (n = 7)	0	0	43	0	43	100	0	0
	Superfície (n = 6)	0	0	50	0	33	100	0	0
	Rim (n = 2)	0	0	50	0	50	100	0	0
<i>A. salmonicida</i>	Superfície (n = 7)	29	0	43	0	57	100	0	0
<i>A. jandaei</i>	Água (n = 7)	0	0	0	0	43	100	0	0
	Superfície (n = 7)	0	0	0	0	57	100	0	0
Total de isolados (n = 74)		3	0	14	0	47	100	0	0

^a = Cepa padrão cedida pela FIOCRUZ-RJ.

n = Número de isolados testados.

Gen = Gentamicina, Nal = Ácido nalidíxico, Tet = Tetraciclina, Ofx = Ofloxacina, Eri = Eritromicina, Amo = Amoxicilina, Lvx = Levofloxacina e Clo = Cloranfenicol.

Resistência a antimicrobianos

O comportamento frente a antimicrobianos das espécies de *Aeromonas* isoladas na água, superfície e rim dos peixes, encontra-se na Tabela 1

O total de 74 estirpes caracterizadas como pertencentes às espécies *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. salmonicida* e *A. jandaei* isoladas das amostras de água, superfície e rim dos peixes revelou resistência à amoxicilina e sensibilidade ao ácido nalidíxico, ofloxacina, levofloxacina e cloranfenicol. Dos isolados de *A. salmonicida* da superfície dos peixes, 29% apresentaram resistência à gentamicina e 43% à tetraciclina e para *A. veronii*, 43% dos isolados de amostras da água e 50% da superfície e rim dos peixes também apresentaram resistência à tetraciclina.

A eritromicina foi o antibiótico que apresentou maior variação na resistência para as espécies de aeromonas e para as origens dos isolados.

Resistência à amoxicilina para todas as estirpes de todas as origens deste estudo estão de acordo com Bizani & Brandelli (2001), que encontraram 100% de resistência a esse antibiótico por *A. hydrophila* e *A.*

sobria isoladas em amostras de água de abastecimento e lavagem final de carcaça em abatedouro de bovinos, Porto Alegre e por Hiransuthikul et al. (2005) em isolados de *Aeromonas* de infecções de tecido mole de pacientes na Tailândia depois do Tsunami de 2004.

A sensibilidade de 100% dos isolados de *A. hydrophila* para a tetraciclina e gentamicina deste trabalho foram idênticos aos resultados de Barcellos et al. (2008) para estirpes de *A. hydrophila* isoladas de amostras de rins, baço, fígado, pele e músculo de jundiás (*Rhamdia quelen*). Entretanto, os resultados dos autores para sensibilidade ao cloranfenicol e sensibilidade intermediária à eritromicina estão abaixo dos encontrados neste estudo que foi de 100%.

Álvarez et al. (2004) observaram que *Aeromonas hydrophila* proveniente da água de cultivo de tilápias do Lago de Valencia, apresentaram 100% resistência à gentamicina, tetraciclina e eritromicina. Enquanto neste trabalho, essas estirpes foram sensíveis para gentamicina e tetraciclina e apresentaram resistência variável à eritromicina. Para sensibilidade ao ácido nalidíxico e cloranfenicol os resultados foram compatíveis.

Os resultados deste estudo para sensibilidade à gentamicina e resistência à amoxicilina por *Aeromonas caviae* estão de acordo com os de Al-Benwan et al. (2007), para isolados dessa espécie de paciente com cistite no Kuwait em que foram sensíveis à ciprofloxacina, cefotaxina e gentamicina e resistentes à amoxicilina, cotrimoxazole, ampicilina, cefuroxime e cephalothin.

Segundo Hirsch et al. (2006), os dados de resistência ao cloranfenicol são extremamente variáveis dentro do gênero, não havendo parâmetro a ser considerado, bem como para ofloxacina e levofloxacina. Neste trabalho, todas as estirpes de todas as origens foram sensíveis a esses antibióticos.

Foi confirmado para todas as espécies de *Aeromonas* testadas resistência apenas à amoxicilina.

Não foram verificadas grandes diferenças quanto à resistência para uma mesma espécie isolada da água comparada à superfície dos peixes.

A resistência intermediária à eritromicina apresentada por todas as espécies de *Aeromonas* isoladas da água e superfície dos peixes neste estudo, também foi encontrada por Hirsch et al. (2006) em isolados de superfície corpórea de peixes e de água do tanque de criação e atribuíram essa resistência à multiplicação de clones resistentes que pode ter sido proveniente dos alevinos ou da ração.

A resistência intermediária à tetraciclina apresentada pelos isolados de *A. veronii* e *A. salmonicida*, neste estudo, pode ser pela facilidade dessas espécies em desenvolver resistência na presença de baixas concentrações de antibióticos (GOÑI-URRIZA et al., 2000). Segundo Álvarez et al. (2006), o ácido oxolínico, cloranfenicol, eritromicina e a tetraciclina, são amplamente usados na aquicultura para o controle de patógenos Gram negativos. O cloridrato de oxitetraciclina é um dos antibióticos de uso permitido nos Estados Unidos para controle de Septicemia por *Aeromonas* móveis (MAS) causada *Aeromonas hydrophila* (FAO, 2009). No Brasil, a oxitetraciclina já é utilizada para controle e profilaxia de doenças bacterianas nos peixes (PEREIRA JR et al., 2006).

Aeromonas salmonicida não é considerada patogênica para espécies de peixes de regiões de clima tropical; porém, para as demais bactérias consideradas patogênicas, a resistência intermediária à eritromicina e à tetraciclina já pode ser considerada motivo de alerta para a piscicultura em estudo.

CONCLUSÕES

A predominância de *Aeromonas hydrophila* em todos os locais estudados e de *A. veronii* no rim dos peixes aliada à maior produção de hemólise, permite inferir que essas espécies podem contribuir em algum momento para a mortalidade de tilápias. Essas espécies, incluindo *A. sobria* e *A. jandaei* isoladas das amostras da superfície dos peixes e da água, podem representar risco para a saúde pública. Atenção deve ser dada à administração dos antibióticos, tetraciclina, eritromicina e amoxicilina, devido à porcentagem de resistência apresentada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a APLJ-ES pelo apoio logístico nas atividades de campo, a FIOCRUZ-RJ pela doação da cepa de referência, a FUNDUNESP e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, S. L.; CHEUNG, W. K. W.; JANDA J. M. The Genus *Aeromonas*: Biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. **Journal of Clinical Microbiology**, n.6, v.41, p.2348–2357, 2003.

AL-BENWAN, K.; ABBOTT, S.; JANDA, M.; HUYS, G.; JOHN ALBERT, M. Cystitis caused by *Aeromonas caviae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n.7, p.2348–2350, 2007.

ÁLVAREZ, R. J. D.; AGURTO, C. P.; ÁLVAREZ, A. M.; OBREGÓN, J. Resistência antimicrobiana em bactérias aisladas de tilápias, agua y sedimento em Venezuela. **Revista Científica**, FCV-LUZ, v. XIV, n.6, p. 491-499, 2004.

ARAUJO, R. M.; ARRIBAS, R. M.; PARES, R. Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution. **Journal of Applied Bacteriology**, v.71, n.2, p.182-186, 1991.

AUSTIN, D. A.; ROBERTSON, P. A. W.; WALLACE, D. K.; DASKALOV, H.; AUSTIN, B. Isolation of *Aeromonas salmonicida* in association with purple-pigmented bacteria in sediment from a Scottish loch. **Letters in Applied Microbiology**, v.27, n.6, p.349–351, 1998.

AZEVEDO, V. M.; MORITA, M.; DROPA, M.; CABIANCA, M. A. A.; ESTEVES, K. E.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H. Ocorrência de *Aeromonas* spp. e *Vibrio cholerae* em pesque-pagues da região metropolitana de São Paulo. **Revista Eletrônica de Epidemiologia das Doenças Transmitidas por Alimentos - REVNET DTA**, v.3, n.4, p.114-119, 2003. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/revp03_v0l3n4.pdf>. Acesso em 14/10/2009.

BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C.; RODRIGUES, L. B.; SANTOS, L. R.; MOTTA, A. C.; RITTER, F.; BEDIN, A. C.; SILVA, L. B. *Aeromonas hydrophila* em *Rhamdia quelen*: aspectos macro e microscópico das lesões e perfil de resistência a antimicrobianos. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, n.3, p.355-363, 2008.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.493-496, 1966.

- BIZANI, D.; BRANDELLI, A. Antimicrobial susceptibility, hemolysis, and hemagglutination Among *Aeromonas* spp. isolated from water of a bovine abattoir. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.334-339, 2001.
- CHACÓN, M. R. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. **International Journal of Food Microbiology**, v.84, p.41-49, 2003.
- DI BARI, M.; HACHICH, E. M.; MELO, A. M. J.; SATO, M. I. Z. *Aeromonas* spp. and microbial indicators in raw drinking water sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.516-521, 2007.
- DUARTE, R. B. A. **Histórias de sucesso: agronegócios: aquicultura e pesca/coordenador nacional do projeto casos de sucesso**. Brasília: Sebrae, 2007. 200 p.
- FAO anuario. **Estadísticas de pesca y acuicultura**. 2007. Roma, FAO. 2009. p 24-26, 72p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i1013t/i1013t.pdf>> acesso em: 27/08/2010.
- FIGUERAS, M. J.; SUAREZ-FRANQUET, A.; CHACON, M. R.; SOLER, L.; NAVARRO, M.; ALEJANDRE, C.; GRASA, B.; MARTINEZ-MURCIA, A. J.; GUARRO, J. First record of the rare species *Aeromonas culicicola* from a drinking water supply. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.1, p.538-541, 2005.
- GHENGHESH, K. S.; EL-GHODBAN, A.; DKAKNI, R.; ABEID, S.; ALTOMI, A.; TARHUNI, A.; MARIALIGETI, K. Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, n.2, p.169-173. 2001.
- GOÑI-URRIZA, M.; PINEAU, L.; CAPDEPUY, M.; ROQUES, C.; CAUMETTE, P.; QUENTIN, C. Antimicrobial resistance of mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from two european rivers. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.46, p.297-301, 2000.
- GONZALEZ-SERRANO, C. J.; SANTOS, J. A.; GARCIA-LOPEZ, M. L.; OTERO, A. Virulence markers in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biovar sobria isolates from freshwater fish and from a diarrhoea case. **Journal of Applied Microbiology**, v.93, p.414-419, 2002.
- HIRANSUTHIKUL, N.; TANTISIRIWAT, W.; LERTUTSAHAKUL, K.; VIBHAGOL, A.; BOONMA, P. Skin and soft-tissue infections among tsunami survivors in southern Thailand. **Clinical Infectious Diseases**, v.41, n.10, p.93-96, 2005.
- HIRSCH, D.; PEREIRA JÚNIOR, D. J.; LOGATO, P. V. R.; PICCOLI, R. H.; FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência antimicrobiana de espécies móveis de *Aeromonas moveis* isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1211-1217, 2006.
- HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 9th ed. Lippincott, Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
- KOZINSKA, A. Dominant pathogenic species of mesophilic aeromonads isolated from diseased and healthy fish cultured in Poland. **Journal of Fish Diseases**, v.30, p.293-301, 2007.
- MARTINELLI, T. M.; ROSSI JUNIOR, O. D.; CERESER, N. D.; CARDOZO, M. V.; KAMIMURA, B. A.; NESPOLO, N. M.; PINTO, F. R. Ocorrência de *Aeromonas* spp. em abaterdouro bovino e sensibilidade a antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.195-202, 2010.
- MARTINS, A. G., LIMA, A. **Efeitos da emissão dos efluentes domésticos na proliferação de *Aeromonas* sp. em águas de superfície e pescado do estuário do rio Bacanga, São Luís/MA**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2005. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) - Universidade Federal do Ceará, 2005.
- MARTINS, A. G. L. A.; NASCIMENTO, A. R.; VIEIRA, R. H. S. F.; SERRA, J. L.; ROCHA, M. M. R. M. Quantificação e identificação de *Aeromonas* spp. em águas de superfície do estuário do rio bacanga em São Luís/MA (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos**, v.27, n.1, 2009.
- MARTINS, M. L.; MIYAZAKI, D. M. Y.; MOURIÑO, J. L. P. *Aeromonas caviae* durante surto de mortalidade em tilápias do Nilo e suplementação com vitamina C na dieta. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, p.585-590. 2008.
- MONFORT, P.; BALEUX, B. Dynamics of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, and *Aeromonas caviae* in a sewage treatment pond. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, n.7, p.1999-2006, 1990.
- MONFORT, P.; BALEUX, B. Distribution and survival of motile *Aeromonas* spp. in brackish water receiving sewage treatment effluent. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, n.9, p.2459-2467, 1991.
- OROZOVA, P.; BARKER, M.; AUSTIN, D. A.; AUSTIN, B. Identification and pathogenicity to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), of some aeromonads. **Journal of Fish Diseases**, v.32, n.10, p.865-71, 2009.
- PEREIRA JR., D. J.; FIGUEIREDO H. C. P.; CARNEIRO, D. O.; LEAL, C. A. G. Concentração

inibitória mínima de oxitetraciclina para isolados de *Aeromonas hydrophila* obtidos de diferentes fontes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1190-1195, 2006.

RAHMAN, M.; COLQUE-NAVARRO, P.; KÜHN, I.; HUY, G.; SWINGS, J.; MÖLLBY, R. Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.2, p.650-655, 2002.

SANTOS, J. A.; GONZÁLEZ, C. J.; OTERO, A.; GARCÍA-LÓPEZ, M. L. Hemolytic activity and siderophore production in different *Aeromonas* species isolated from fish. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.12, p.5612-5614, 1999.

SCHAFER, I.; ROHRBACHER, L. O.; COLLA, N. C. Identificação dos gêneros bacterianos presentes em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas na serra catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.3, n.1, p.56-61, 2004.

SILVA N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES,

R. A. R. **Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos**. 3ed. São Paulo: Varela, 2007. 552p.

SOLER, L.; FIGUERAS, M. J.; CHACÓN, M. R.; VILA, J.; FRANCESC, M.; MARTINEZ-MURCIA, A. J.; GUARRO, J. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffi* recovered from freshwater and seawater. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.32, p.243-247, 2002.

TOKAJIAN, S.; HASHWA, F. Phenotypic and genotypic identification of *Aeromonas* spp. isolated from a chlorinated intermittent water distribution system in Lebanon. **Journal of Water and Health**, v.2, p.115-122, 2004.

WANG, G.; CLARK, C. G.; LIU, C.; PUCKNELL, C.; MUNRO, C. K.; KRUK, T. M. A. C.; CALDEIRA, R.; WOODWARD, D. L.; RODGERS, F. G. Detection and characterization of the hemolysin genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.3, p. 1048-1054, 2003.