

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE BACTÉRIAS ORIUNDAS DE AMBIENTE DE CRIAÇÃO E FILÉS DE TILÁPIAS DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Antibacterial resistance in bacteria from fish pond and Nile tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*)

Rejeana Márcia Santos Lima¹, Henrique César Pereira Figueiredo², Flaviane Castro de Faria¹
Roberta Hilsdorf Picolli³, Júlio Silvio de Sousa Bueno Filho⁴, Priscila Vieira Rosa Logato⁵

RESUMO

A resistência de bactérias a antimicrobianos foi determinada em uma piscicultura de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em tanques de terra, sem utilização de antibióticos para profilaxia ou controle de doenças. Foi selecionado um tanque, capturados peixes e coletadas amostras de conteúdo intestinal e superfície dos peixes, água de abastecimento e do tanque, ração, filés de tilápias frescos e congelados. Colônias representativas foram selecionadas e analisadas pelos testes de Gram, catalase, oxidase e oxidação-fermentação. Foram selecionadas 89 amostras e submetidas a antibiograma, utilizando vários antimicrobianos. A maioria das bactérias pertenceu às famílias Enterobacteriaceae e Vibrionaceae. Tanto no ambiente de criação como nos filés de tilápias observou-se que os isolados bacterianos apresentaram-se resistentes principalmente a ampicilina e eritromicina. O índice de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) foi calculado, sendo que do total de 89 isolados analisados 74 (83%), apresentaram MAR ³ 0,2, ou seja apresentaram-se resistentes a dois ou mais antimicrobianos. As frequências de índice MAR foram altas e maiores na ração.

Termos para indexação: Bactéria, resistência a antibióticos, tilápiá do Nilo.

ABSTRACT

This study was conducted in a freshwater tilapia farm that has not used any antibiotic. It was selected one pond, caught 15 fishes and collected samples of intestinal content and mucus surface, water influent and pond water, ration, fresh tilapia fillets and frozen fillets. Phenotypical characteristics, Gram stain, oxidase production, oxidative-fermentative utilization of glucose (O-F) were determined of representative colony. Were selected 89 strains and submitted for antimicrobial sensitivity test using several antibiotics. The major identified bacterial families were belonged Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. The most isolates showed resistance to ampicilin and eritromycin. From the 89 isolates evaluated 74 (83%) showed a multiple antibiotic resistance index (MAR) ³ 0.2, that mean resistance to two or more antibiotics. The MAR índice frequency were higher and bigger in the rations.

Index terms: Bactéria, antibiotic resistance, Nile tilapia.

(Recebido para publicação em 15 de julho de 2004 e aprovado em 21 de fevereiro de 2005)

INTRODUÇÃO

O aumento da ocorrência de resistência antimicrobiana em bactérias provenientes de ambientes de produção animal e as possíveis implicações para saúde pública têm levado a uma intensiva fiscalização do uso de antimicrobianos.

O ambiente aquícola é importante meio para a seleção de espécies bacterianas resistentes a vários antimicrobianos, em virtude da utilização de tais substâncias no tratamento e profilaxia de doenças bacterianas, muitas vezes de forma indiscriminada (SCHMIDT et al., 2000). Ainda, o contato físico entre as bactérias no meio aquático possibilita uma alta frequência

de troca de elementos genéticos móveis, como plasmídios e transposons, codificadores de resistência aos antibióticos. Eventos como esses são particularmente importantes para difusão de resistência a drogas como a tetraciclina (RHODES et al., 2000).

É considerado também emergente o problema da resistência a múltiplas drogas por um mesmo microrganismo, o que leva à dificuldade de tratamento de doenças bacterianas, tanto em animais quanto em seres humanos (ALDERMAN & HASTINGS, 1998). Considera-se que a seleção de clones bacterianos multirresistentes ocorra principalmente em ambientes hospitalares e de produção animal (TEUBER, 2001). Os alimentos de origem

¹Mestranda em Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

²Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG – henrique@ufla.br

³Professora Adjunta do Departamento de Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

⁴Professor Adjunto do Departamento de Ciências Exatas – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

⁵Professora Adjunta do Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

animal contaminados durante o abate e processamento são considerados a principal via para o carregamento de bactérias resistentes aos antibióticos para os seres humanos (HOWGATE, 1998).

Poucos estudos têm caracterizado a ocorrência de resistência a bactérias em ambientes aquícolas, particularmente em climas tropicais. Objetivou-se com este trabalho verificar a frequência de resistência a antibióticos em bactérias oriundas de ambiente de criação e de filés de tilápias do Nilo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e processamento de amostras

De uma piscicultura de criação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1766) em tanques de terra, localizada no município de Lavras (MG), sem histórico prévio de utilização de antimicrobianos, foi selecionado um tanque para a coleta de amostras. Em um mesmo dia foram coletadas amostras em duplicata de 500 mL de água de abastecimento do tanque, 500 mL de água do tanque, 500 gramas de ração farelada utilizada na alimentação dos animais e 10 peixes vivos. No dia subsequente foram capturados cinco peixes vivos que foram submetidos a abate manual para a obtenção de filés frescos e congelados. Os peixes vivos coletados no primeiro dia foram divididos em dois grupos de cinco animais (grupo 1 e grupo 2), para a coleta conjunta de amostras de conteúdo intestinal e muco de superfície. As amostras de muco foram obtidas por lavagem da superfície dos peixes com solução salina estéril a 0,85% em sacos plásticos estéreis e as amostras de conteúdo intestinal por incisão na porção ventral média e coleta das alças intestinais. As duplicatas das amostras de água do tanque e de abastecimento foram homogeneizadas em proporções iguais separadamente de maneira asséptica, formando um grupo de cada amostra. Dos filés obtidos foram amostrados assepticamente 25 g para as análises e o restante foi congelado a -20°C , por 30 dias, para uma nova análise após descongelamento em temperatura ambiente. Todas as amostras obtidas foram submetidas à diluição seriada de base 10 em solução salina estéril a 0,85%.

Quantificação de populações de bactérias

Para a quantificação das populações bacterianas de todas as amostras coletadas foi utilizado ágar soja tripticaseína (TSA) (Biolife, Itália), suplementado com nistatina 200 IU/mL (Abbot, Brasil), para a inibição do crescimento de leveduras. Alíquotas de 0,1 mL das

diluições adequadas das amostras foram semeadas, em duplicata. As placas semeadas foram então incubadas em estufa à temperatura de 30°C , por 24 horas. A leitura foi realizada por meio de contagem das colônias e determinação das UFC/mL pela média das duplicatas e transformadas em log para análise estatística.

Determinação das famílias de bactérias e antibiograma

Dos isolados obtidos em TSA, foram selecionadas e repicadas cinco colônias da duplicata da diluição ótima de cada amostra, sendo realizados testes de triagem de Gram, catalase, oxidase e oxidação-fermentação (O-F). A determinação do perfil de resistência a antimicrobianos foi feita pelo método de difusão de discos de antimicrobianos (BAUER et al., 1966), utilizando o ágar Mueller Hinton (Oxoid, USA). Os agentes antimicrobianos escolhidos foram: tetraciclina, cloranfenicol, sulfazotrim, ampicilina, norfloxacin, cefuroxima, nitrofurantoina, kanamicina e eritromicina (Cecon, Brasil). Foram utilizadas como controle de qualidade do teste as amostras de referência de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). As placas com os inóculos foram incubadas em estufa à temperatura de 30°C por 18-24 horas. Após este período, os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados e comparados com a tabela de performance padrão para testes de susceptibilidade a antimicrobianos e então classificados em resistentes e sensíveis. Para determinação da multirresistência foi utilizado índice MAR (múltipla resistência a antibióticos), que foi definida como a/b, em que "a" foi o número de antimicrobianos aos quais o isolado foi resistente e "b" o número de antimicrobianos aos quais o isolado foi exposto (KRUMPERMAN, 1983). Neste trabalho foi considerada multirresistência quando os isolados apresentaram resistência simultânea a duas ou mais drogas.

Análise estatística

O ensaio fatorial foi montado em um delineamento inteiramente casualizado, assumindo que os erros têm distribuição normal e independente, adotando-se o nível de 5% de significância para a realização dos testes F da ANOVA e de testes "t" de Student, para alguns contrastes, preservando o nível global de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são apresentadas as contagens totais de bactérias das amostras avaliadas.

TABELA 1 – Populações de bactérias presentes em amostras do ambiente de criação e filés de tilápias Nilo.

Origem da amostra	Contagem Total (log)*
Água de abastecimento	2,44 ^a
Água de tanque	4,33 ^b
Lavado de superfície	4,93 ^c
Conteúdo intestinal	6,97 ^c
Ração Farelada	6,15 ^c
Filés de tilápias frescos	2,88 ^a
Filés de tilápias congelados	2,61 ^a

*Médias seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente pelo teste “t” para contrastes “protegidos”.

Observaram-se maiores populações de bactérias nas amostras de conteúdo intestinal e ração e menores em água de abastecimento e filés de tilápias (frescos e congelados) as populações bacterianas no ambiente de criação diferiram entre si, apresentando-se mais altas no conteúdo intestinal ($P < 0,001$), na ração ($P < 0,001$) e no lavado de superfície ($P < 0,01$) sendo mais baixas na água de abastecimento ($P < 0,01$). A partir do fluxo de entrada de água no sistema aquícola, as contagens de bactérias foram mais baixas e aumentaram gradativamente (água de tanque, conteúdo intestinal, lavado de superfície e ração). Este fato sugere que o ambiente de criação favoreceu o aumento das populações de bactérias.

Para avaliação das famílias bacterianas encontradas foram considerados dois grupos descritos como ambiente de criação (água de tanque, água de abastecimento, ração, lavado de superfície e conteúdo intestinal de peixes) e filés de tilápias (filés frescos e congelados). As famílias bacterianas descritas corresponderam àquelas mais importantes da piscicultura de água doce e como potencialmente patogênicas para o homem (MACPHEARSON et al., 1991; SCHMIDT et al., 2000). Do total de isolados obtidos, 46% não foram classificados em nenhuma família sendo um resultado esperado em virtude da grande diversidade de bactérias no ambiente piscícola como *Stenotrophomonas* sp., *Shpingomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Burkholderia cepacia*, dentre outras (MIRANDA & ZEMELMAN, 2002).

De um total de 124 isolados do ambiente de criação de tilápias, a maioria das bactérias pertenceu às famílias Enterobacteriaceae (25%) e Vibrionaceae (19%). Não houve

diferenças marcantes na composição da microbiota do ambiente de criação dos peixes avaliados em relação a estudos anteriores que encontram principalmente bactérias Gram negativas pertencentes às mesmas famílias, sendo Vibrionaceae dominante em amostras de conteúdo intestinal de várias espécies de peixes (HUSS, 1988; MIRANDA & ZEMELMAN, 2001; SUGITA et al., 1991). Essas famílias apresentam bactérias consideradas da microbiota indígena e não indígena dos peixes e eventualmente podem estar presentes em baixas contagens iniciais.

Nos 90 isolados de filés (frescos e congelados), observou-se a predominância de Enterobacteriaceae (24%) e Vibrionaceae (16%), tendo uma frequência de isolamento semelhante à obtida no ambiente de criação. Ainda foram observados isolados de Micrococcaceae (11%), dos quais 50% eram *Staphylococcus* sp. Este fato sugere que a contaminação nos filés por Micrococcaceae pode ser de origem ambiental, já que essas bactérias foram também encontradas no ambiente de criação, apesar de serem considerados por alguns autores como da microbiota não indígena do ambiente de piscicultura (HUSS, 1994).

De cinco grupos que determinavam a origem das bactérias isoladas (água, ração, conteúdo intestinal, lavado de superfície e filés de tilápias), foram escolhidos, de forma aleatória, cinco isolados de cada uma das famílias, bem como do grupo de bactérias não identificadas. A partir desse critério, foram selecionados 89 isolados para a determinação do perfil de resistência aos nove antimicrobianos selecionados. Os percentuais de isolados de ambiente de criação e filés de tilápias, resistentes a cada um dos antimicrobianos testados, é apresentado na Tabela 2.

TABELA 2 – Frequência de resistência a antimicrobianos em isolados bacterianos de ambiente de criação e filés de tilápias do Nilo.

Antimicrobianos	Nº de amostras resistentes (%)	
	Ambiente de criação	Filés de tilápias
Tetraciclina	31 (15%)	5 (8%)
Eritromicina	48 (24%)	12 (18%)
Nitrofurantóina	19 (9%)	5 (8%)
Kanamicina	12 (6%)	6 (9%)
Ampicilina	47 (23%)	14 (22%)
Norfloxacina	11 (5%)	6 (9%)
Cefuroxima	19 (9%)	9 (14%)
Cloranfenicol	14 (7%)	6 (9%)
Sulfazotrim	3 (2%)	2 (3%)

Tanto no ambiente de criação como nos filés de tilápias, observou-se que as bactérias apresentaram frequências de resistência isoladas consideradas baixas e padrões de resistência parecidos em relação aos antimicrobianos testados, sendo estes resistentes principalmente à ampicilina e eritromicina. A resistência mediada por plasmídios é bastante comum nesses grupos de drogas (PRESCOT, 2003). Plasmídios com genes de resistência têm sido detectados na maioria dos grupos bacterianos e podem ser isolados de bactérias da microbiota normal de animais de produção saudáveis (SORUM & LABÉE-LUND, 2002). Estes resultados sugerem que tanto o ambiente de criação como os filés de tilápias pesquisados constituem-se em fontes potenciais de bactérias resistentes principalmente à eritromicina e ampicilina, mesmo sem o uso dessas drogas nesta piscicultura. Entretanto, com o presente estudo não determinou-se se os elementos genéticos que caracterizaram resistência são de origem cromossômica ou plasmidial. Caso essa resistência seja codificada por plasmídios ou transposons estes podem disseminar esta característica para espécies bacterianas filogeneticamente distintas, patogênicas ou não.

Dentre os grupos de drogas analisados neste estudo, detectou-se o aumento da utilização da norfloxacina, em piscicultura. Por este fato, muitos trabalhos têm esclarecido os mecanismos de resistência das bactérias a essa droga (GONI-ÜRRIZA et al., 2000; HAWKEY, 2003; KLUGMAN, 2003). Estes trabalhos demonstram que a resistência às quinolonas

é cromossômica e que a transferência de resistência é rara. A resistência surge da difusão de clones de amostras mutantes. Entretanto, não foi descartada a possibilidade de no futuro a transferência de genes de resistência se tornar a mais importante maneira de conferir resistência às quinolonas.

Com o objetivo de comparar a frequência de resistência, para cada antimicrobiano testado, entre os ambientes pesquisados, foi também determinado o perfil de resistência dos isolados de acordo com suas origens separadamente (filés de tilápias, água, ração, conteúdo intestinal e lavado de superfície) e a maioria dos isolados apresentou-se resistente também a ampicilina e eritromicina. Nas amostras de conteúdo intestinal, superfície de peixe e ração observou-se valores significativos de isolados resistentes à tetraciclina. A resistência à tetraciclina em ambientes aquícolas têm sido bastante descrita (MIRANDA & ZEMELMAN, 2001, 2002; TENDENCIA & DELA PEÑA, 2002). A tetraciclina é uma droga de amplo espectro de atividade e os três mecanismos de resistência a este antimicrobiano são mediados por plasmídios (TENDENCIA & DELA PEÑA, 2001). Esse fato sugere que isolados dessas amostras no presente estudo podem potencialmente servir como reservatórios para resistência a outros antimicrobianos e que estas amostras podem ser a origem da ocorrência de resistência neste sistema aquícola.

Os resultados do índice MAR (Múltipla Resistência a Antimicrobianos) são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – Percentuais de ocorrência de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) em bactérias de ambiente de criação e filés de tilápias do Nilo.

Índice MAR	Origem dos isolados				
	Intestino (16)	Superfície (18)	Água (18)	Ração (12)	Filés (25)
0,22	43,8%	40%	33,3%	8,3%	32%
0,33	25%	22,2%	11,1%	16,7%	12%
0,44	12,5%	0	27,8%	25%	8%
0,55	0	11,1%	5,6%	25%	16%
0,66	0	0	5,6%	8,3%	4%
0,77	0	5,6%	0	8,3%	0
0,88	0	5,6%	5,6%	0	0
0,99	0	0	0	0	0

() número de isolados de cada origem.

De um total de 89 isolados analisados, 74 (83%) apresentaram MAR ³ 0,2, ou seja, apresentaram-se resistentes a dois ou mais antimicrobianos. Quando foram considerados os diferentes ambientes analisados observou-se que os isolados de ração apresentaram os maiores percentuais de MAR, sendo 92% isolados com MAR ³ 0,2. Os isolados de água, superfície conteúdo intestinal e filés de peixe mostraram percentuais de 89%, 84%, 81% e 72% de MAR ³ 0,2, respectivamente. Quando considerado um índice MAR ³ 0,55 (resistência a cinco ou mais drogas), os isolados de ração, superfície, filés e água, apresentaram 42%, 22%, 20% e 17% de índice MAR, respectivamente. Já no conteúdo intestinal, nenhuma bactéria foi isolada com tal classificação. Tal fato sugere que o intestino pode não ser a principal fonte de bactérias multirresistentes, apesar de ter sido a maior população entre as amostras avaliadas. A múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) é alta em ambiente onde há uso constante dessas drogas (KRUMPERMAN, 1983; VIVEKANANDHAN et al., 2002). Entretanto, no estudo, os resultados do índice MAR revelaram que mesmo sem o uso de antimicrobianos no ambiente analisado, muito mais da metade dos isolados foram considerados de alto risco de transferência de genes.

Os isolados da amostra de ração apresentaram maior percentual de MAR³ 0,22 e MAR³ 0,55 (92% e 42%), sugerindo que a ração é, dentre as amostras analisadas, aquela de origem de mais alto risco de transferência, podendo está provocando a difusão e prevalência de resistência no ambiente de produção. A frequência de MAR nos isolados de conteúdo intestinal foi uma das

menores (81%), entre as amostras de ambiente. Foram encontrados altos percentuais de multirresistência de bactérias de conteúdo intestinal de peixes (MIRANDA & ZEMELMAN, 2001). Mesmo com menor percentual de MAR no conteúdo intestinal destes peixes em relação às demais amostras do ambiente, pode ser possível a troca de genes de resistência entre essas bactérias e aquelas da microbiota dos peixes. O trato gastrointestinal do homem e animais é um local favorável a troca de genes de resistência entre bactéria da microbiota e até bactérias patogênicas (SMITH & LEWIN, 1993). A ocorrência de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) testados foi também determinada em relação às principais famílias bacterianas. A família Pseudomonadaceae apresentou o maior número de amostras resistentes a dois ou mais antimicrobianos (64%), seguida da Enterobacteriaceae com 60% das amostras com MAR ³ 0,2 e Vibrionaceae com 42%. Micrococcaceae apresentou menor percentual de amostras resistentes a duas ou mais drogas (33,3%). Fato bastante preocupante, pois Quinn et al. (1994) relatam que a multirresistência em alguns membros de Pseudomonadaceae, está associada a fatores ou plasmídios R (fatores de resistência) e que estes fatores são bastante comuns em bactérias entéricas. Resistência a antimicrobianos mediada por plasmídios tem sido identificada em um número significativo de bactérias de peixes, incluindo membros da família Pseudomonadaceae e Enterobacteriaceae e esses plasmídios têm codificado resistência ao cloranfenicol, sulfonamidas e estreptomicina (ALDERMAN & HASTINGS, 1998).

CONCLUSÕES

Foram encontradas bactérias resistentes a todos os antimicrobianos testados tanto no ambiente de criação como nos filés de tilápias do Nilo, apesar de não haver uso dessas drogas na piscicultura estudada. Estes resultados sugerem que a resistência a antimicrobianos pode ser promovida e mantida por outros fatores que o uso de antimicrobianos no meio aquícola.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), protocolo EDT 2055/03.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDERMAN, D. J.; HASTINGS, T. S. Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance-potential for consumer health risks. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 33, p. 139-155, 1998.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standard single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 36, p. 493-496, 1966.
- GONI-ÚRRIZA, M.; CAPDEPUY, M.; ARPIN, C.; RAYMOND, N.; CAUMETTE, P.; QUENTIN, C. Impact of an urban effluent on antibiotic resistance of riverine Enterobacteriaceae and *Aeromonas* spp. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 125-132, 2000.
- HAWKEY, P. M. Mechanisms of quinolones action and microbial response. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 51, p. 29-35, 2003.
- HOWGATE, P. Review of public health safety of products from aquaculture. **International Journal Food Science and Technology**, Oxford, v. 33, p. 99-125, 1998.
- HUSS, H. H. **Assurance of seafood quality**. Roma: FAO, 1994. 169 p. (Fisheries technical paper, 334).
- HUSS, H. H. **El pescado fresco**: su calidad y cambios de calidad. Roma: FAO, 1988. 132 p.
- KLUGMAN, K. P. The role of clonality in the global spread of fluoroquinolone-resistant bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, [S.l.], v. 36, p. 783-785, 2003.
- KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic indexing of *Escherichia coli* to identify high risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 46, p. 165-170, 1983.
- MACPHEARSON, R. M.; PAOLA, A. de; ZYWNO, S. R.; MOTES JÚNIOR, M. L.; GUARINO, A. Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 99, p. 203-211, 1991.
- MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepción Bay, Chile. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 42, p. 1096-1102, 2001.
- MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 212, p. 31-47, 2002.
- PRESCOT, J. F. Quimioterapia antimicrobiana. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 27-46.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolfe, 1994. 648 p.
- RHODES, G.; HUYS, G.; SWINGS, J.; MACGANN, P.; HINEY, M.; SMITH, P.; PICKUP, R. Distribution of oxytetracycline plasmids between *Aeromonads* in hospital and aquaculture environments: implications of Tn 1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 9, p. 3883-3890, 2000.
- SCHMIDT, A. S.; MORTEN, S. B.; DALSGAARD, K. P. Occurrence of antimicrobial resistance in fish pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 4908-4915, 2000.
- SMITH, J. T.; LEWIN, C. S. Mechanisms of antimicrobial resistance and implications for epidemiology. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 35, p. 233-242, 1993.
- SORUM, H.; LABÉE-LUND, T. M. Antibiotic resistance in food-related bacteria: a result of interfering with the global web of bacterial genetics. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 78, p. 43-56, 2002.

SUGITA, H.; MIYAJIMA, C.; DEGUCHI, Y. The vitamin B12: producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 92, p. 267-276, 1991.

TENDENCIA, E. A.; DELA PEÑA, L. D. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 195, p. 193-204, 2001.

TENDENCIA, E. A.; DELA PEÑA, L. D. Level and percentage recovery of resistance to oxtetracycline and

oxolinic acid of bacteria from shrimp ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 213, p. 1-13, 2002.

TEUBER, M. Veterinary use and antibiotic resistance. **Current Opinion Microbiology**, Oxford, v. 4, p. 493-499, 2001.

VIVEKANANDHAN, G.; SAVITHAMANI; HATHA, A. A. M. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 76, p. 165-168, 2002.