

Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de Jundiá (*Rhamdia quelen*)¹

Mateus Matiuzzi da Costa^{2*}, Rodolfo de Moraes Peixoto², Cheila de Lima Boijink³, Lucélia Castagna⁴, Fabio Meurer² e Agueda Castagna de Vargas⁴

ABSTRACT.- Costa M.M., Peixoto R.M., Boijink C.L., Castagna L., Meurer F., & Vargas A.C. 2008. [Antimicrobial sensibility of bacterial isolates from jundiá (*Rhamdia quelen*).] Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(10):477-480. Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rua da Simpatia 179, Petrolina, PE 56304-440, Brazil. E-mail: mateus.costa@univasf.edu.br

Aiming the evaluation of sensitivity profiles of pathogen bacteria responsible for fish diseases, 51 bacterial isolates from Jundiá (*Rhamdia quelen*) belonging to the genus *Acinetobacter* spp. (8), *Aeromonas* spp. (15), *Edwardsiella* spp. (2), *Enterobacter* spp. (2), *Klebsiella* spp. (1), *Plesiomonas* spp. (5), *Pseudomonas* spp. (1), *Staphylococcus* spp. (11), and *Vibrio* spp. (6), were tested against antimicrobial agents used for treatment of bacterial fish diseases. All samples were processed at the Laboratory of Bacteriology, Department of Preventive Veterinary Medicine, UFSM. From 51 bacteria isolated from jundiá fishes (*Rhamdia quelen*) 51 (100%) were sensitive to gentamycin, 49 (96,08%) to sulphazotrin, 47(92,16%) to chloramphenicol, 43 (84,31%) to tetracylin, 43 (84,31%) to nalidixic acid, 31 (60,78%) to nitrofurantoin, 22 (43,14%) to erythromycin, 22 (43,14%) to ampicillin, 15 (29,41%) spiramycin, 13 (25,50%) to cholystin, and 5 (3%) to penicillin G. With exception of an isolate of *Staphylococcus* spp., the bacteria analyzed in the present study were resistant to one or more antimicrobial agents tested. Knowledge of the sensitivity profile of bacteria involved in infectious processes in fish will allow rational antimicrobial treatment that will contribute to the control of fish diseases in *Rhamdia quelen* without causing great risks to public health and the environment.

INDEX TERMS: Pathogen bacterial, antimicrobial drugs, *Rhamdia quelen*.

RESUMO.- Objetivando o delineamento do perfil de sensibilidade dos agentes bacterianos causadores de enfermidades em peixes, 51 isolados bacterianos provenientes de Jundiá e pertencentes aos gêneros *Acinetobacter* spp. (8), *Aeromonas* spp. (15), *Edwardsiella* spp. (2), *Enterobacter* spp. (2), *Klebsiella* spp. (1), *Plesiomonas* spp. (5), *Pseudomonas* spp. (1), *Staphylococcus* spp.(11) e *Vibrio* spp. (6)

foram testados frente aos antimicrobianos utilizados no tratamento de enfermidades em peixes. Dos 51 isolados bacterianos obtidos de exemplares de Jundiá (*Rhamdia quelen*) 51 (100%) foram sensíveis a gentamicina, 49 (96,08%) ao sulfazotrim, 47 (92,16%) ao cloranfenicol, 43 (84,31%), a tetraciclina, 43 (84,31%) ao ácido nalidíxico, 31 (60,78%) à nitrofurantoina, 22 (43,14%) à eritromicina, 22 (43,14%) à ampicilina, 15 (29,41%) à espiramicina, 13 (25,50%) à colistina e 5 (3%) foram sensíveis a penicilina G. Com exceção de um isolado do gênero *Staphylococcus* spp., as bactérias analisadas no presente estudo foram resistentes a um ou mais agentes antimicrobianos testados. O conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias envolvidas em processos infecciosos nos peixes permitirá aos técnicos à adoção de uma antimicrobiano-terapia racional, que contribuirá para o controle das enfermidades em *Rhamdia quelen*, sem causar grandes riscos à saúde pública e ao meio ambiente.

¹ Recebido em 4 de abril de 2007.

Aceito para publicação em 16 de maio de 2008.

Este projeto foi financiado pela CAPES.

² Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rua da Simpatia 179, Centro, Petrolina, PE 56304-440, Brasil. *Autor para correspondência: mateus.costa@univasf.edu.br

³ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Cidade Universitária, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM, Cidade Universitária, Santa Maria, RS.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Patógenos bacterianos, antimicrobianos, *Rhamdia quelen*.

INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas são responsáveis por grandes perdas em criações intensivas as quais podem apresentar índice elevado de mortalidade, que pode em certos casos chegar a 100% de mortalidade (Post 1987). Segundo Linhares & Gewandszajder (1983), as bactérias são encontradas nos mais variados ambientes e algumas podem causar doenças infecto-contagiosas no homem, animais e vegetais. No meio aquático, as bactérias fazem parte da flora normal da água e são consideradas como patogênicas oportunistas, visto que provocam infecções, quando os peixes estão em condições ambientais desfavoráveis ou durante o período reprodutivo (Barja & Estevez 1988; Kirkan et al. 2003). A resistência natural às enfermidades é reduzida nos peixes jovens e são uma conseqüência do sistema imunológico imaturo (Kirkan et al. 2003).

Nos últimos anos, há um grande interesse na criação de peixes nativos em tanques, devido ao aumento do consumo, com isto, estes peixes estão sujeitos aos agentes estressores, sendo estes ligados a qualidade da água, regime alimentar, densidade populacional, fatores ambientais e manejo. A medida que se intensifica o cultivo de peixes, começam a surgir problemas relacionados ao estresse, que pela redução na imunidade dos animais, possibilita um aumento na ocorrência de doenças infecciosas, tornando necessário o uso de terapia antimicrobiana (Plumn 1994, Pathak & Gopal 2005).

Os antibióticos têm sido utilizados como promotores do crescimento, para profilaxia de infecções em criatórios de peixe. Todavia, tem seu emprego limitado, pois se utilizados de uma forma indiscriminada e abusiva podem acarretar no desenvolvimento de uma microbiota resistente, através da troca de plasmídeos de resistência em infecções cruzadas e inativação dos agentes antimicrobianos pelo pH da água (Akinbowale et al. 2006, Cabello 2006). A contaminação de fontes de água com resíduos de antibióticos, pode ser responsável por infecções de difícil tratamento e constituir um risco a saúde pública (Dixow & Issvoran 1993, Schmidt et al.

2000, Saavedra et al. 2004). Outro efeito adverso esta associado à bioacumulação destes fármacos, quando administrado durante períodos longos (Welcomme 1985).

O presente trabalho tem como objetivos: avaliar o perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de peixes nativos Jundiá (*Rhamdia quelen*) aos agentes antimicrobianos, criados em tanques; e produzir subsídios para a aplicação da antibioticoterapia, que diminuirá o risco de resistência bacteriana e contaminação ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Setor de Bacteriologia, da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizados 51 isolados bacterianos obtidos das lesões externas e conteúdo renal de Jundiá (*Rhamdia quelen*), sendo estas pertencentes aos seguintes gêneros: *Aeromonas* spp. (15 isolados), *Acinetobacter* spp. (8 isolados), *Edwardsiella* spp. (2 isolados), *Enterobacter* spp. (2 isolados), *Klebsiella* spp. (1 isolado), *Plesiomonas* spp. (5 isolados), *Pseudomonas* spp. (1 isolado), *Staphylococcus* spp. (11 isolados) e *Vibrio* spp. (6 isolados). Os isolados bacterianos foram mantidos liofilizados até a realização dos testes. Para verificar a viabilidade e pureza, estes foram semeados em Trypticase Soy Ágar (TSA), sendo posteriormente incubados a 27°C por 48 horas. Todos isolados considerados viáveis e puros foram submetidos ao teste de Kirby Bauer modificado, conforme Bauer citado por Vandepitte et al. (1993), onde as colônias foram retiradas de cultivo primário e em seguidas repicadas em meio líquido de caldo Mueller Hinton com incubação a 27°C até uma turvação adequada. Com o auxílio de um "Swab" estéril a cultura bacteriana foi uniformemente distribuída numa placa de Mueller Hinton Ágar com posterior aplicação de discos para antibiograma estéreis. Após a confecção das placas, estas foram incubadas por 24 horas a 27°C, quando se procedeu a leitura da sensibilidade. Os antibióticos utilizados neste estudo foram: ácido nalidíxico, ampicilina, colistina, cloranfenicol, espiramicina, eritromicina, gentamicina, nitrofurantoína, tetraciclina, penicilina G e sulfazotrim.

RESULTADOS

Dos 51 isolados de Jundiá (*Rhamdia quelen*), todos (100%) foram sensíveis a gentamicina, 49 (96,08%) ao sulfazotrim, 47 (92,16%) foram sensíveis ao cloranfenicol, 43 (84,31%)

Quadro 1. Número de isolados bacterianos obtidos de Jundiás (*Rhamdia quelen*) sensíveis aos antimicrobianos testados

Gêneros	No ^a	Erit.	Clo.	Ac.	Nal.	Col.	Esp.	Gen.	Nit.	Tet.	Pen.	Amp.	Sul.
<i>Vibrio</i> spp.	6	4	6	6	0	1	6	6	6	0	0	6	
<i>Acinetobacter</i> spp.	8	3	7	8	5	2	8	1	6	0	4	7	
<i>Staphylococcus</i> spp.	11	8	9	4	4	8	11	8	9	5	10	11	
<i>Enterobacter</i> spp.	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	2	2	
<i>Edwardsiella</i> spp.	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	
<i>Klebsiella</i> spp.	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
<i>Aeromonas</i> spp.	15	5	15	15	1	2	15	11	14	0	3	15	
<i>Plesiomonas</i> spp.	5	2	5	5	2	1	5	5	5	0	1	4	
Total	51	22	47	43	13	15	51	31	43	5	22	49	

^a No = número de isolados, Erit. = eritromicina, Clo. = cloranfenicol, Ac. Nal = ácido nalidíxico, Col. = colistina, Esp. = espiramicina, Gen. = gentamicina, Nit. = nitrofurantoína, Tet. = tetraciclina, Pen.G = penicilina G, Amp. = ampicilina, Sul. = Sulafzotrim.

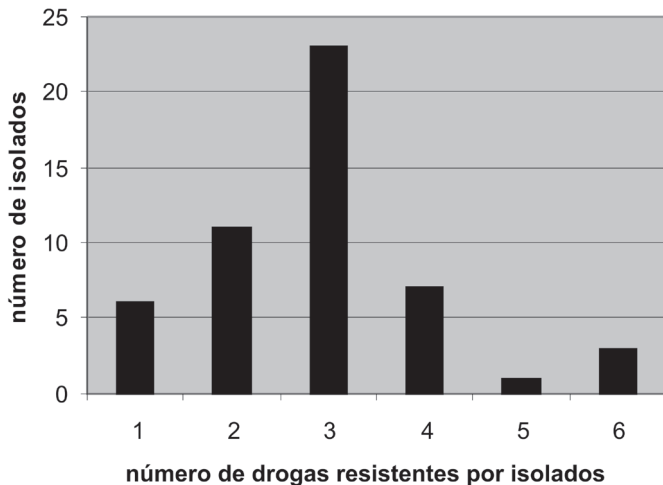


Fig.1. Número de isolados bacterianos obtidos de jundiás (*Rhamdia quelen*) apresentando resistência simultânea às drogas antimicrobianas testadas.

ao ácido nalídixico, 31 (60,78%) à nitrofurantoina, 22 (43,14%) foram sensíveis à eritromicina, 22 (43,14%) à ampicilina, 15 (29,41%) apresentaram sensibilidade à espiramicina, 13 (25,50%) à colistina e 5 isolados (3%) foi sensível a penicilina G. Os perfis de sensibilidade aos agentes antimicrobianos, conforme os diferentes gêneros bacterianos estão apresentados no Quadro 1.

Com exceção de um isolado do gênero *Staphylococcus* spp., as bactérias analisadas no presente estudo foram resistentes a um ou mais agentes antimicrobianos testados (Fig.1). A resistência simultânea a colistina, penicilina e ampicilina apresentou maior frequência, ocorrendo em 10 isolados de diferentes gêneros bacterianos.

DISCUSSÃO

Os antimicrobianos testados no presente trabalho representam os principais princípios ativos dos fármacos mais utilizados na profilaxia e terapêutica de infecções na aquicultura. Barja & Esteves (1988) indicam o uso de cloranfenicol, oxitetraciclina, kanamicina, sulfonamidas, nitrofuranos e ácido oxolínico para controle de infecções como vibrioses, septicemias e furunculoses causadas por *Aeromonas* spp., bem como em infecções ocasionadas por *Plesiomonas shigelloides*. Quinolomas e nitrofuranos são recomendados para tratamento e profilaxia de infecções ocasionadas por *Edwardsiella* spp. e *Pseudomonas* spp. A Ampicilina e a bacitracina são indicadas no controle de infecções ocasionadas por *Staphylococcus* spp.

O perfil de sensibilidade apresentado pelos gêneros bacterianos obtidos de jundiá (*Rhamdia quelen*) podem auxiliar técnicos na escolha do tratamento. As bactérias pertencentes ao gênero *Aeromonas* spp. são consideradas patogênicas para diversas espécies terrestres e aquáticas (Saavedra et al., 2004). Estas bactérias são amplamente disseminadas no ambiente aquático e trazem grandes perdas a aquicultura mundial (Hatha et al. 2005, Maniati et al. 2005). Os isolados de *Aeromonas* spp. ana-

lisados no presente estudo foram sensíveis ao cloranfenicol, ácido nalídixico, gentamicina e sulfazotrim (Quadro 1). Estes achados estão de acordo com experimentos realizados em outras espécies de peixes, como pintados, carpas e trutas, onde a maior sensibilidade encontrada foi para a gentamicina e o ácido nalídixico (Rall et al. 1998, Kozinska et al. 2002, Kirkan et al. 2003). A resistência aos antimicrobianos é um evento bastante estudado em peixes e seu ambiente (Saavedra et al. 2004, Hatha et al. 2005). Em muitos casos, esta resistência pode ser disseminada por plasmídeos (Akinbowale et al. 2006). Segundo Hatha et al. (2005), isolados de *Aeromonas* spp. possuem uma resistência inerente a ampicilina e oxitetraciclina. Na aquicultura, a resistência de *Aeromonas* spp. aos beta-lactâmicos é crescente (Saavedra et al. 2004). Em nosso experimento a maior resistência dos isolados foi observada para colistina, espiramicina, penicilina G e ampicilina.

Vibrio spp. e *Plesiomonas shigelloides*, junto a *Aeromonas* spp. são os principais grupos de patógenos na aquicultura, sendo que também demonstram um potencial emergente em ocasionar infecções alimentares nos seres humanos (Austin & Austin 1993). Neste sentido, a determinação da sensibilidade destas bactérias aos antimicrobianos torna-se importante. No presente estudo, estes isolados foram particularmente sensíveis ao cloranfenicol, ácido nalídixico, gentamicina, nitrofurantoina, tetraciclina e sulfazotrim. Enquanto que a maior resistência foi observada a penicilina G e a ampicilina (Quadro 1), o que também foi observado em estudo realizado por Maniati et al. (2005). O cloranfenicol e a nitrofurantoina embora sejam eficazes contra os isolados estudados tem seu uso proibido no Brasil para produção animal (MAPA 2002).

A resistência múltipla aos antimicrobianos tem sido uma preocupação crescente por parte da comunidade científica. Os antimicrobianos são amplamente utilizados para prevenir ou tratar infecções microbianas nos animais e no homem e são utilizados para acelerar o crescimento e desempenho dos animais, inclusive na aquicultura (Kummerer 2004). O uso abusivo destas drogas está associado a diversos problemas, como a presença de resíduos ilegais na carne e transmissão de bactérias resistentes para o meio ambiente, animais e o próprio homem, num risco potencial à saúde pública (Schmidt et al. 2000). Cabello (2006) afirma que a grande utilização de antimicrobianos na profilaxia de infecções em aquicultura está aumentando a possibilidade da contaminação do meio ambiente, dos animais e do próprio homem com bactérias resistentes. Em nosso trabalho, a resistência a mais de um antimicrobiano foi observada, em bactérias dos gêneros *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp. (Fig.1). Estes achados corroboram aos descritos para *Aeromonas hydrophila* (Belém-Costa & Cyrino 2006).

Com a intensificação da aquicultura, os cuidados na adoção de terapia com drogas antimicrobianas devem ser aumentados, pois pesquisas como a de McPhearsom et

al. (1991), que mostraram um aumento significativo na resistência aos antibióticos de bactérias isoladas de rios, tanques não tratados e tanques tratados com estes fármacos. A presença de bactérias resistentes no ambiente aquático, em particular no sedimento. Isto reflete em alterações significativas sobre a população de outros organismos aquáticos, como as algas, alterando desta forma o equilíbrio ecológico (Hernandez et al. 2005). Logo, alternativas buscando a antibioticoterapia planejada, a adoção de medidas de manejo sanitário e o uso de probióticos são muito importantes para reduzir os riscos aos seres humanos e ao meio ambiente sem prejudicar, financeiramente a produção em aquicultura (Cabello et al. 2006).

CONCLUSÕES

A gentamicina foi o antimicrobiano com maior percentual de sensibilidade nos isolados bacterianos obtidos de Jundiá (*Rhamdia quelen*), enquanto que a penicilina G apresentou o menor.

A maior parte dos isolados testados foi resistente a mais de um dos grupos de antimicrobianos analisados.

REFERÊNCIAS

- Akinbowale O.L., Peng H. & Barton M.D. 2006. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *J. Appl. Microbiol.* 100:1103-1113.
- Austin B. & Austin D.A. 1993. Bacterial Fish Pathogens Disease in Farmed and Wild Fish. Ellis Horwood, Chichester, UK, p.196-224.
- Barja J.L. & Esteves T. 1988. Patologia Aquícola. Caicyt, Buenos Aires. 550p.
- Belém-Costa A. & Cyrino J.E.P. 2006. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Sciencia Agricola* 63(3):281-284.
- Cabello F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.* 8(7):1137-1144.
- Dixon B.A. & Issvoran G. 1993. Antibacterial drug resistance in *Aeromonas* spp. Isolated from domestic goldfish and koi from California. *J. World Aquacult. Soc.* 24(1):102-104.
- Hatha M., Vivekanandhan A.A. & Joice G.J. 2005. Antibiotic resistance pattern of mobile aeromonads from farm raised fresh water fish. *Int. J. Food Microbiol.* 98:131-134.
- Hernandez G.C., Ullloa P.J., Vergara O.J.A., Espejo T.R. & Cabello C.F. 2005. *Vibrio parahaemolyticus* infections and algal intoxications as emergent public health problems in Chile. *Revta Med. Chile* 133:1081-1088.
- Kirkan S., Gosksoy E.O. & Kaya O. 2003. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey hatchers farms. *J. Vet. Med. B* 50: 339-342.
- Kozinska A., Figueras M.J., Chacon M.R. & Soler L. 2002. Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Appl. Microbiol.* 93:1034-1041.
- Kummerer K. 2004. Resistance in the environment. *J. Antimicrob. Chemother.* 54(2):311-320.
- Linhares S.V. & Gewandzsnajder F. 1983. *Biologia. Ática*, São Paulo. 448p.
- Maniati M., Petinaki E. & Maniatis K.A.N. 2005. Antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* sp., *Vibrio* sp. and *Plesiomonas shigelloides* isolated in the Philippines and Thailand. *Int. J. Antimicrob. Agents* 25:345-353.
- MAPA 2002. Proibição do uso de Nitrofuranos e seus derivados como promotores de crescimento. Instrução Normativa nº 38 de 8 de maio.
- McPhearsom R.M., Deapola A., Zywno S.R., Mote M.L. & Guarino A.M. 1991. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture* 99(3-4):203-211.
- Pathak S.P. & Gopal K. 2005. Occurrence of antibiotic and metal resistance in bacteria from organs of river fish. *Environment. Res.* 98:100-103.
- Plumb J.A. 1994. Health Maintenance of Culture Fishes: Principal microbial diseases. CRC Press, USA. 254p.
- Post G. 1987. Textbook of Fish Health. T.H.F.Public.,NJK, Berlin. 288p.
- Rall V.L.M., Iaria S.T., Heidtmann S., Pimenta F.C., Gamba R.C. & Pedroso D.M.M. 1998. *Aeromonas* species isolated from pintado fish (*Pseudoplatystoma* sp.): virulence factors and drug susceptibility. *J. Braz. Soc. Microbiol.* 29:222-227.
- Saavedra M.J., Guedes-Novais S., Alves A., Rema P., Tacão M., Correia A. & Martinez-Murcia A. 2004. Resistance to B-lactam antibiotics in *Aeromonas hydrophila* isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. Microbiol.* 7:207-211.
- Vandepitte J., Engbaek K., Piot P. & Heuck C.C. 1993. Métodos Básicos de Laboratório em Bacteriologia Clínica. Organização Mundial da Saúde, Genebra. 122p.
- Schmidt A.S., Bruun M.S., Dalsgaard I., Pedersen K. & Larsen J.L. 2000. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four Danish rainbow trout farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(11):4908-4915.
- Welcomme R.L. 1985. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). River Fisheries, Rome. 262p.