

Comunicação

[Communication]

Isolamento de *Pasteurella* spp. e *Vibrio* spp. em robalos (*Dicentrarchus labrax*). Susceptibilidade a diferentes grupos de antibióticos

[Isolation of *Pasteurella* spp. and *Vibrio* spp. in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Susceptibility to different antibiotic groups]

M.J. Saavedra, R.D. Brito, M. Sousa, A. Alves, P. Rema

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – CECAV
Apt.1013, 5000-911
Vila Real, Portugal

O robalo (*Dicentrarchus labrax*) é uma espécie de interesse comercial reconhecido, ocupando posição de destaque no consumo de peixe nos países europeus (Blanquet, 1998).

Diversos estudos demonstram que grande parte dos surtos bacterianos ocorridos em explorações de *D. labrax*, sem sinais exteriores da doença, são devidos às deficiências de manejo, factores de estresse ambiental e qualidade da água de cultivo.

As doenças infecciosas mais frequentes nos cultivos de peixes são as de origem bacteriana, com predominância de *Vibrio* spp., *Pasteurella piscicida* e *Myxobacter* spp. A pasteurelose, cujo agente é a *P. piscicida* em peixes de água salgada, é a doença infecciosa bacteriana de maior frequência (Schmidt et al., 2000). A presença desses microrganismos determina quebras significativas na produção e na rentabilidade da exploração de peixes. Para prevenir a morbidade e mortalidade na exploração recorre-se ao uso de antibióticos. Todavia, a utilização sistemática de antibióticos como prática veterinária de tratamento conduz ao aparecimento de estirpes resistentes.

Os objetivos deste trabalho foram determinar a resistência de agentes bacterianos isolados aos antibióticos beta-lactâmicos e aminoglicosídeos, às tetraciclina e ao cloranfenicol (Adams et al., 1998; Schmidt et al., 2000; Teo et al., 2000) e

estimar a correlação entre as alterações histopatológicas e os isolados bacterianos.

O experimento foi realizado na unidade experimental de piscicultura da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro durante um ensaio de crescimento feito com juvenis de robalo, onde foi observada mortalidade anormal. Após os primeiros indícios de doença, o ensaio foi interrompido e procedeu-se à recolha aleatória de 10 peixes para posterior análise.

A necropsia dos cadáveres e isolamento de estirpes bacterianas foi feita a partir de amostras de água e de peixes (pele e rins). Foram utilizados meios selectivos e diferenciais (TCBS, GSP, ágar-MacConkey, ágar-sangue) de acordo com as espécies bacterianas. Durante a necropsia procedeu-se à execução de esfregaços frescos de pele e de brânquias para detecção de formas parasitárias. Após a incubação a 22°C, verificou-se o desenvolvimento de diferentes colónias sendo a identificação das estirpes efectuada pelo sistema API20NE (bioMérieux), seguindo a metodologia indicada pelo fabricante.

O estudo da susceptibilidade aos agentes antibacterianos foi efectuada pela técnica de difusão em ágar, seguindo as normas do National Committee for Clinical Laboratory Standards (National..., 1997), com 19 antibióticos: carbenicilina, piperacilina, piperacilina + tazobactan, amoxicilina, amoxicilina + ác.

clavulânico, ticarcilina, ticarcilina + ác. clavulânico, ampicilina, cefalotina, cefoperazona, cefepime, cefotaxime, aztreonamo, imipenemo, tetraciclina, norfloxacina, estreptomina, tobramicina, canamicina e cloranfenicol.

As amostras de tecidos recolhidas foram fixadas em formol tamponado a 10%, incluídas em parafina e posteriormente cortadas com 3µm de espessura e corados pela hematoxilina-eosina.

Nas brânquias foram encontradas inúmeras formas parasitárias de *Dactylogyrus* spp. Não

foram observadas quaisquer alterações macroscópicas externas ou nos órgãos internos. O exame microscópico revelou inflamação aguda moderada das brânquias e esteatose hepatocitária exuberante em alguns dos animais.

A identificação dos agentes bacterianos presentes na água e na pele permitiu classificar as estirpes como *Pasteurella haemolytica* (50%), *Pasteurella multocida* (25%) e *Vibrio* spp.(25%). Nas amostras de rins não foram isoladas estirpes bacterianas. Cerca de 66,7% das *Pasteurella* spp. apresentaram resistência à amoxicilina e ticarcilina (Fig. 1).

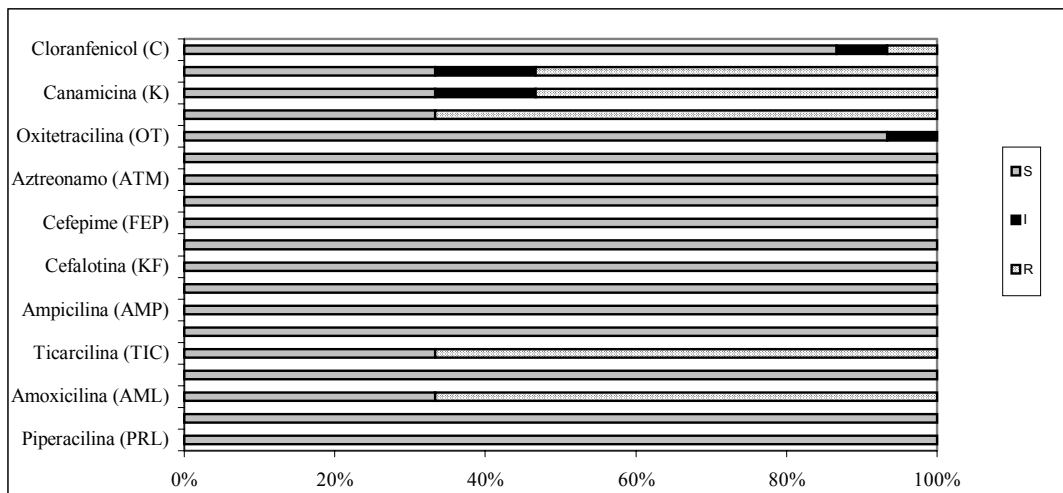


Figura 1. Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos testados para *Pasteurella* spp.

Em relação aos aminoglicosídeos, as *Pasteurella* spp. apresentaram resistência à estreptomina (66,7%). Observou-se elevada susceptibilidade à oxitetraciclina e ao cloranfenicol, respectivamente, 93% e 87%. Nas estirpes de *Vibrio* spp. observou-se resistência de 80% à carbenicilina e de 40% à amoxicilina e ampicilina (Fig. 2). Todos os isolados apresentaram susceptibilidade ao aztreonamo. Especialmente relevante foi a elevada resistência das estirpes de *Vibrio* à estreptomina (100%). Todos os isolados apresentaram susceptibilidade à tetraciclina e ao cloranfenicol.

Os resultados sugerem que o estado de morbidade dos robalos (*D. labrax*) pode ser atribuído à elevada carga parasitária, com agravamento pela presença de bactérias, factores que estiveram na origem do elevado índice de mortalidade. Foram realizados testes bioquímicos para complementar a biotipificação numérica realizada pelos testes comerciais API 20NE. Concluiu-se que o cloranfenicol e a tetraciclina foram os antimicrobianos mais eficazes para o tratamento da infecção por esses agentes. Ressalta-se que o uso do cloranfenicol não é recomendado para ser usado em animais destinados ao consumo humano.

Isolamento de *Pasteurella* spp. e *Vibrio* spp...

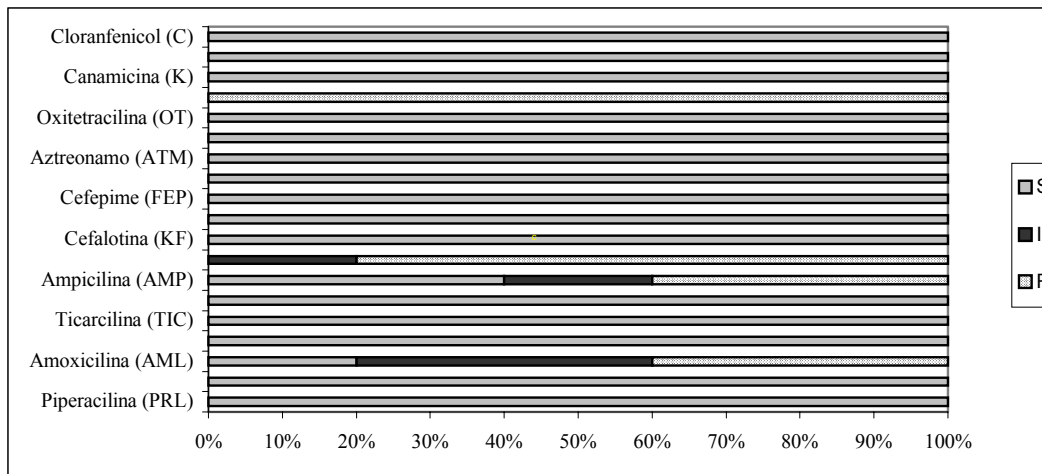


Figura 2. Perfil de susceptibilidade aos grupos de antibióticos testados para *Vibrio* spp.

Palavras-chave: *Dicentrarchus labrax*, antibióticos, resistência, pasteurelose

ABSTRACT

The most frequent infectious diseases that affect fish are those of bacterial origin. In European sea bass fish farms (*Dicentrarchus labrax*) are included *Vibrio* spp., *Pasteurella piscicida* and *Myxobacter* spp. In addition to these, it is also possible to find, although lesser frequently, other pathogenic agents such as *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus* spp. and *Enterobacter* spp. The presence of these micro-organisms in fish farms contributes for a significant decrease in fish production and subsequent loss of profitability in these aquaculture units. The use of antibiotics may therefore be necessary as a prophylactic measure although their systematic utilization leads to the development of strains of antibiotic resistant bacteria. Bearing that in mind, a survey was conducted on the susceptibility of isolated strains of bacteria found in juvenile European sea bass. It was concluded that chloranphenicol and tetracycline are two important antibiotic alternatives for therapy against isolated bacterial agents.

Keywords: *Dicentrarchus labrax*, antibiotics, resistant, bacteria, pasteurellosis

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C.A.; AUSTIN, B.; MEADEN, P.G. et al. Molecular characterization of plasmid mediated oxytetracycline resistance in *Aeromonas salmonicida*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.64, p.4194-4201, 1998.
- BLANQUET, I. Robalo. In: MARIA ARMANDA, H. (Ed.) *Manual de aquaculture*, 1998. p.177-187.
- NATIONAL Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Approved standards. M2-A5. Villanova, Pa., 5.ed., 1997.
- ROBERTS, R.J. The bacteriology of teleosts. In: ROBERTS R.J. (Ed.) *Fish pathology*. 2.ed. Baillière Tindall, 1989. p.289-319.
- SCHMIDT, A.S.; BRUUN, M.S.; DALSGAARD, I. et al. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four danish rainbow trout farms. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.66, p.4908-4915, 2000.
- TEO, J.W.B.P.; SUWANTO, A.; POH, C.L. Novel beta-lactamase genes from two environmental isolates of *Vibrio harveyi*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, p.1309-1314, 2000.