

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**BACTÉRIAS DO GÊNERO *Aeromonas* E INDICADORES DE
QUALIDADE DA ÁGUA EM PISCICULTURAS DA REGIÃO DA
BAIXADA OCIDENTAL MARANHENSE**

Rejeana Márcia Lima Silva

Médica Veterinária

JABOTICABAL- SÃO PAULO- BRASIL

Abril de 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**BACTÉRIAS DO GÊNERO *Aeromonas* E INDICADORES DE
QUALIDADE DA ÁGUA EM PISCICULTURAS DA REGIÃO DA
BAIXADA OCIDENTAL MARANHENSE**

Rejeana Márcia Lima Silva

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior

Co-orientadora: Profa. Dra. Francisca Neide Costa

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva).

JABOTICABAL- SÃO PAULO- BRASIL

Abril de 2010

S586b Silva, Rejeana Márcia Lima
Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da
água em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense /
Rejeana Márcia Lima Silva. – – Jaboticabal, 2010
xvi, 75 f. il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Oswaldo Durival Rossi Junior
Banca examinadora: Henrique Cesar Pereira Figueiredo, Naiá
Carla Marchi de Rezende Lago, Fabiana Pilarski, Luiz Augusto do
Amaral

Bibliografia

1. *Aeromonas* sp. 2. Qualidade Microbiológica. 3. Resistência
Antimicrobiana. 4. Pisciculturas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.4: 628.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

REJEANA MARCIA LIMA SILVA – nascida em 08 de janeiro de 1970, no município de São Luis- MA, é Médica Veterinária formada pela Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, no ano de 1993. Em 1995 foi aprovada em concurso público para o cargo de Médica Veterinária da então Escola Agrotécnica Federal de São Luiz- MA, hoje, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão- Campus Maracanã. Iniciou mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração Microbiologia de Alimentos na Universidade Federal de Lavras – UFLA, no ano de 2002, concluindo-o em 2004. Em outubro de 2006, iniciou doutorado em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Jaboticabal, através do doutorado interinstitucional (DINTER), entre a UNESP-Jaboticabal e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Em janeiro de 2010 foi aprovada em concurso público e nomeada professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão.

EPIÍGRAFE

As minhas obras não sou eu
quem as realiza,
mas a força de Deus pai que permeia os céus e a terra
(Masaharu Taniguchi)

Dedicatória

Dedico este trabalho à

Luis Artur Lima Silva e Marina Lima Silva, meus filhos, razão do meu viver. Amo vocês.

José da Conceição Barbosa Silva, grande companheiro e parceiro de todos os momentos, pelo amor, dedicação e paciência. Amo você.

Oferecimento

À minha querida e amada mãe, **Maria Ires Lima**, por tudo o que representa pra mim, exemplo de educação, determinação e dedicação, sempre presente em todos os momentos da minha vida.

Ao meu querido pai **Benedito Lima**, pelo amor, carinho e alegria transmitidos sempre.

Aos meus irmãos **Roseana, Rubem Jorge e Pedro Lucas**, pela amizade e apoio.

Aos meus sobrinhos: **João Gabriel, Vitor José, Jorge Vinícius e Tomás**, quantas alegrias vocês me trazem. Cresçam felizes.

À minha amada e inesquecível avó **Marina Santos** (*in memoriam*), por tudo que representou em nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me proporcionado vencer mais essa etapa na minha vida e acima de tudo ter me dado forças quando eu muitas vezes achei que não as tinha. Obrigada Senhor.

Ao Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Júnior, pela confiança, compreensão, dedicação, orientação acertada, precisa e segura.

À Profª Drª Francisca Neide Costa, pela oportunidade concedida, por ter me iniciado na vida científica, ter aceito ser minha co-orientadora neste trabalho e pelo apoio em diversos momentos dessa caminhada.

À Profª Drª Angela Cleusa Banzatto de Carvalho pela orientação no início do doutorado, pelas sugestões na banca de qualificação, pela acolhida e pela amizade.

À Profª Drª Rosangela Zacarias Machado, pela oportunidade concedida, pelo apoio e pela amizade construída.

À colega e **Profª Lúcia Coelho Alves**, por ter cedido as instalações do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA, para realização da primeira etapa deste trabalho e pela amizade construída.

À Drª Fabiana Pilarski, pelas sugestões nas bancas de qualificação e defesa, pela ajuda e pela amizade iniciada durante essa caminhada.

Às técnicas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA, Médicas Veterinárias, **Viramy e Ruth** pelo apoio e disponibilidade durante a realização das análises.

À Médica Veterinária Nancylene Pinto Chaves, pelo apoio na realização deste trabalho e pela amizade construída.

Às alunas de iniciação científica que tanto me ajudaram na realização deste trabalho, **Daniele Lopes do Nascimento (UEMA) e Bruna Akie Kamimura (UNESP)**, pelo auxílio em todos os momentos e pela amizade construída, vocês são especiais.

Aos técnicos do laboratório de Microbiologia de Alimentos da UNESP, **Liliana Biondi Naka (Lila)** e **Waldemar Dibelli Júnior (Diba)**, pela acolhida, pela ajuda, paciência, ensinamentos e brincadeiras durante a minha passagem por este laboratório.

Ao Prof. José da Conceição Barbosa Silva, pela ajuda e sugestões durante a colheita das amostras nas pisciculturas na Baixada Maranhense

À Universidade Estadual de Maranhão (UEMA), pela oportunidade de participar do DINTER.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista- FCAV/UNESP.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante o período de nove meses nas instalações da Universidade Estadual Paulista- Campus Jaboticabal.

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão- IFMA, pela liberação das minhas atividades e pelo apoio financeiro.

Aos proprietários das pisciculturas avaliadas, pela permissão e acolhida.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia da Unesp, obrigada pela acolhida, amizade e descontração no nosso dia-dia.

Aos colegas do grupo de pesquisa da UEMA, obrigada pela amizade, sugestões, troca de experiência no laboratório e nas nossas reuniões.

Aos colegas do DINTER pela troca de experiências, amizade e apoio durante o curso.

A todas as pessoas da cidade de Jaboticabal, amigos que iremos deixar aqui, e nunca mais esqueceremos, que tornaram minha estada e da minha família a melhor e mais tranquila possível.

Obrigada a todos!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE QUADROS.....	xiv
Resumo.....	xv
Summary.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA ..	3
2.1 Aquicultura Brasileira.....	3
2.2 Caracterização do gênero <i>Aeromonas</i>	6
2.2.1 Distribuição e ocorrência de bactérias do gênero <i>Aeromonas</i>	11
2.3 Bactérias do gênero <i>Aeromonas</i> associadas a patologias.....	14
2.3.1 <i>Aeromonas</i> spp.em seres humanos.....	14
2.3.2 <i>Aeromonas</i> spp móveis em peixes.....	15
2.4 Resistência a antimicrobianos em bactérias do gênero <i>Aeromonas</i>	18
2.5 Coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas mesófilas e <i>Aeromonas</i> sp. em água de piscicultura.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Caracterização da área do estudo.....	24
3.2 Caracterização e seleção das propriedades avaliadas.....	26
3.3 Colheita, acondicionamento e transporte das amostras para pesquisa de <i>Aeromonas</i> sp.....	28
3.3.1 Peixes.....	30
3.3.2 Água do sistema de criação.....	30
3.4 Preparo das amostras e enriquecimento seletivo.....	30
3.5 Isolamento e identificação de <i>Aeromonas</i> sp.....	31
3.5.1 Plaqueamento seletivo.....	31

3.5.2 Isolamento de colônias e identificação presuntiva do gênero	
<i>Aeromonas</i>	31
3.5.3 Identificação das espécies.....	33
3.6 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos.....	35
3.7 Quantificação de coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas na água das pisciculturas.....	37
3.7.1 Número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes.....	37
3.7.2 Contagem de microorganismos heterotróficos mesófilos.....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 Pesquisa de <i>Aeromonas</i> sp.	38
4.2 Perfil de resistência aos antimicrobianos.....	45
4.2.1 Perfil de Multirresistência.....	49
4.3 Quantificação de coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas em água de viveiros.....	51
5 CONCLUSÕES.....	56
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
7 REFÊRENCIAS	58

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Número de isolados de <i>Aeromonas</i> sp isoladas da água dos viveiros e dos peixes provenientes de 12 pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	39
Tabela 2. Comportamento de <i>Aeromonas</i> sp. Isoladas de amostras de água e peixe oriundas de pisciculturas, situadas na da região da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009, frente à ação de antimicrobianos.....	45
Tabela 3. Perfil de multirresistência de <i>Aeromonas</i> sp isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na da região da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	49
Tabela 4. Perfil de multirresistência das espécies de <i>Aeromonas</i> sp isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na da região da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	50
Tabela 5. Populações de coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas, mesófilas e número de isolados de <i>Aeromonas</i> em água de viveiros de pisciculturas da região da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fotomicrografia eletrônica de bactéria do gênero <i>Aeromonas</i>	6
Figura 2. Peixe com lesão ulcerativa de pele, causada por <i>A. hydrophila</i>	17
Figura 3. Mapa de localização da Baixada Maranhense.....	24
Figura 4. Campos da Baixada Maranhense no período da cheia.....	25
Figura 5. Campos da Baixada Maranhense no período da seca.....	25
Figura 6. Mapa de localização dos municípios onde estavam situadas as pisciculturas avaliadas.....	26
Figura 7. Fluxograma de identificação das colônias sugestivas de <i>Aeromonas</i> sp.....	32
Figura 8. Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas para classificação dos isolados do gênero <i>Aeromonas</i> sp. (adaptado de CARNAHAN et al., 1991).....	34
Figura 9. Percentual de <i>Aeromonas</i> sp. das amostras de água e peixe de 12 pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	40
Figura 10. Percentual de <i>Aeromonas</i> sp. isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	41
Figura 11. Percentual de espécies de <i>Aeromonas</i> spp. isoladas de amostras de água e peixes de pisciculturas, da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.....	42
Figura 12. Comportamento de <i>Aeromonas</i> sp. isoladas de amostras de água dos viveiros de pisciculturas, situadas na Baixada Maranhense, no período de outubro/2008 à março/2009, frente à ação de antimicrobianos.....	47
Figura 13. Comportamento de <i>Aeromonas</i> sp. isoladas de amostras de peixes de pisciculturas, situadas na Baixada Maranhense, no período de outubro/2008 à março/2009, frente a ação de antimicrobianos.....	48

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Espécies peixes encontradas.....	27
Quadro 2. Resumo da colheita das amostras para pesquisa de <i>Aeromonas</i> sp.....	29
Quadro 3. Padrão de interpretação do teste de susceptibilidade a antimicrobianos.....	36

BACTÉRIAS DO GÊNERO *Aeromonas* E INDICADORES DE QUALIDADE DA ÁGUA EM PISCICULTURAS DA REGIÃO DA BAIXADA OCIDENTAL MARANHENSE

RESUMO- Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se as famílias *Aeromonadaceae* e *Enterobacteriaceae*. Os peixes são importantes veículos de infecções humanas causadas por essas bactérias. Com este enfoque, o estudo foi realizado com o objetivo de verificar a ocorrência de *Aeromonas* sp., coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense. Para tal, foram selecionadas no período de outubro de 2008 a março de 2009, doze propriedades nos municípios de Pinheiro, Palmeirândia e Perimirim e colhidas amostras de água dos viveiros e peixes de cada piscicultura, totalizando 96 amostras. Em 100% das amostras analisadas foi confirmada a presença de *Aeromonas* sp., classificadas em quatro espécies, *A. hydrophila* (87,03%), *A. caviae* (8,02%), *A. veronii sobria* (3,70%), *A. schubertii* (1,23%). Essas ainda apresentaram elevados percentuais de resistência e multiresistência a 12 antimicrobianos testados. As populações de bactérias heterotróficas mesófilas nas pisciculturas variaram de 10^2 UFC/mL a 10^4 UFC/mL de água. Das pisciculturas avaliadas, sete apresentaram pelo menos uma amostra em desacordo com o padrão para coliformes termotolerantes. As amostras analisadas revelaram - se como possíveis vias de transmissão de aeromonas potencialmente patogênicas para peixes e ser humano, representando risco para a saúde da população consumidora dos organismos cultivados nessas propriedades.

Palavras- chave: *Aeromonas* sp., Qualidade microbiológica, Resistência antimicrobiana, Pisciculturas

BACTERIA OF GENUS *Aeromonas* AND QUALITY INDICATORS OF WATER IN FISH FARMS LOCALIZED IN OCCIDENTAL BAIXADA MARANHENSE REGION

SUMMARY - Among widely distributed agents in the aquatic ecosystem can be outstanding the families *Aeromonadaceae* and *Enterobacteriaceae*. The fishes are very important vehicles of human infections caused for these bacteria. With the approach the study intended to verify the occurrence of *Aeromonas* sp., thermotolerant coliforms and heterotrophic mesophilic bacteria in fish farms located in Occidental Baixada Maranhense Region. Twelve properties in the Pinheiro, Palmeirândia and Perimirim's cities were selected in the period from October of 2008 to March of 2009, and harvested water pond and fish samples of each fish farm, with the total of 96 samples. *Aeromonas* sp. was confirmed in 100% of samples, classified in four species, *A. hydrophila* (87,03%), *A. caviae* (8,02%), *A. veronii sobria* (3,70%), *A. schubertii* (1,23%). These bacteria showed high resistance and multiple resistance to the 12 antibiotics tested. The populations of heterotrophic mesophilic bacteria varied between $1,4 \times 10^2$ UFC/mL to $7,2 \times 10^3$ UFC/mL. Seven fish farms showed at least one sample in disagreement with the standard to thermotolerant coliforms. The samples of water and fish revealed the possible sources of potentially pathogenic contamination of aeromonas for fish and human being representing risk for health of the population healthy that consume the organisms cultivated in these properties.

Key words: *Aeromonas* sp., microbiology quality, antibiotic resistance, fish farms

1 INTRODUÇÃO

A Baixada Maranhense constitui uma região ecológica de grande importância, não só pelo potencial hídrico, mas também pelo papel sócioeconômico que representa para a população. Em razão dos abundantes recursos hídricos regionais, a pesca constitui a atividade econômica mais importante, base de sustentação alimentar e de renda. Entretanto, a cada ano, os estoques naturais de peixes têm sido ameaçados, principalmente pela sobrepesca, captura predatória e introdução de espécies exóticas nos lagos e rios, o que tem afetado a reprodução das espécies nativas.

A aquicultura tem se mostrado uma alternativa promissora para complementar a produção de pescado. A crescente demanda por alimentos saudáveis e de qualidade tem levado ao crescimento dessa atividade no mundo. No entanto, o seu sucesso está relacionado diretamente à possibilidade de cultivo de grandes estoques de peixes em pequenos volumes de água.

Como em qualquer atividade, o processo de intensificação pode levar ao surgimento dos mais diversos tipos de enfermidades para os peixes, sendo algumas delas transmissíveis ao ser humano. Na aquicultura, a ocorrência de bacterioses tem estrita relação com situações estressantes, às quais os peixes estão sujeitos constantemente pela elevada densidade populacional nos viveiros, grande quantidade de matéria orgânica, condições inadequadas de manejo e de qualidade da água.

Grande parte desses agentes bacterianos é secundária e faz parte da microbiota da água ou do peixe, manifestando-se em ocasiões nas quais os hospedeiros encontram-se com seu sistema imunológico comprometido. Essas enfermidades, dependendo da etiologia, constituem uma ameaça ao bom desempenho zootécnico das criações e muitas vezes à saúde humana.

Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se aqueles da família *Aeromonadaceae*, cuja presença nesse ambiente pode ser reconhecida pela sua detecção na pele, brânquias e intestino dos peixes e na água.

As aeromonas são um dos principais agentes com potencial patogênico e têm sido responsáveis por perdas econômicas consideráveis na aquicultura. Os peixes são importantes veículos de infecções humanas causadas por aeromonas, principalmente quando são consumidos crus ou após tratamento térmico brando. Além disso, essas bactérias podem sobreviver, multiplicar e produzir fatores de virulência até em pescados estocados a baixas temperaturas (RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; DASKALOV, 2006).

A gastroenterite é a forma de infecção humana mais comum causada por aeromonas. Já, nos peixes, a doença pode apresentar uma variedade de sinais clínicos, tais como: exoftalmia, erosão de nadadeiras, septicemia hemorrágica, podendo chegar até a morte. As aeromonas estão associadas a infecções oportunistas, tanto no ser humano como nos animais homeotérmicos e em peixes, tendo capacidade de apresentar resistência a múltiplas drogas. (JANDA & ABBOTT, 1998; KO et al., 2000; PALU et al., 2006).

No Brasil, até o presente, não foram encontradas informações a respeito das aeromonas nos ambientes de produção de peixes no Maranhão. Faz-se então necessária a identificação primária desse grupo bacteriano em virtude da importância econômica da piscicultura no referido Estado e da diversidade de características da região. Diante do exposto, este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos:

- Verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* em pisciculturas da região da Baixada Ocidental Maranhense;
- Identificar as espécies de *Aeromonas* spp. nos peixes e na água dos viveiros;
- Determinar os perfis de resistência dos isolados de *Aeromonas* sp. a diferentes antimicrobianos;
- Avaliar a qualidade microbiológica da água dos viveiros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aquicultura brasileira

Nos últimos 50 anos, a exploração pesqueira e a demanda mundial de pescado vêm apresentando crescimento rápido e contínuo e, em consequência disso, esse importante recurso natural tem estado próximo do limite máximo de exploração. Nesse mesmo período, a aquicultura apresentou interessante potencial como alternativa para compensar a estagnação da pesca extrativa (SHIROTA & SONADA, 2004).

O Brasil se destaca como um dos países com maior potencial para expansão da aquicultura, no momento em que é crescente a demanda mundial por alimentos de origem aquícola, em razão das suas características nutricionais.

Vários fatores favoreceram o rápido crescimento da aquicultura no Brasil, tais como: condições climáticas favoráveis (pequena variação de temperatura do ar e da água); grande quantidade de recursos hídricos disponíveis; facilidade de adaptação de tecnologias estrangeiras e de importação de insumos e equipamentos (SCORVO-FILHO, 2004).

A produção mundial da aquicultura, em 2004, foi de 59 milhões de toneladas. A China foi o líder da produção com 70% do total, o que correspondeu a 41,3 milhões de toneladas (FAO, 2007).

O Brasil vem ganhando posições no *ranking* internacional estabelecidas pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). A produção aquícola brasileira tem aumentado acima da média mundial desde 1995, com percentual de 21,1%, enquanto a média mundial aumentou somente 9,5% ao ano, no período de 1991 a 2004 (OSTRENSKY et al., 2008).

Segundo dados oficiais, a produção total da aquicultura brasileira foi de cerca de 271.695 toneladas no ano de 2006 (IBAMA, 2007). A região Nordeste manteve-se em primeiro lugar com 109.849 toneladas, ancorada pela produção de camarão marinho e tilápia (BOSCARDIN, 2007).

A despeito do seu potencial, no Maranhão, a produção da aquicultura é da ordem de 764 toneladas/ano, sendo o penúltimo Estado do Nordeste. As espécies mais produzidas nesse Estado são o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). (IBAMA, 2007).

A aquicultura brasileira é baseada de modo geral nos regimes semi-intensivo e intensivo de produção e, com exceção do setor da carcinicultura, a produção é sustentada principalmente por pequenos produtores. A maioria dos cultivos de peixes é realizada em viveiros escavados, onde os alevinos são estocados e alimentados com ração durante todo o período de produção (BORGUETTI & SILVA, 2007).

A atividade é praticada em todos os Estados brasileiros e abrange, principalmente, as seguintes modalidades: piscicultura (criação de peixes), carcinicultura (camarões), ranicultura (rãs) e malacocultura (moluscos: ostras, mexilhões, *escargot*). Outras modalidades, como o cultivo de algas, são praticadas em menor escala. A piscicultura de água doce é o único setor presente em todos os Estados do País, sendo o maior responsável por incrementar a receita produzida da aquicultura (CYRINO et al., 2004; BRASIL, 2009).

Os peixes constituem a maior parte da proteína animal consumida em vários lugares do mundo e desempenham, na economia de muitos países, importante papel, em consequência de sua abundância e excelente composição nutricional. São considerados importantes fontes de proteína de alto valor biológico. A FAO aponta a atividade da aquicultura como estratégica para o estabelecimento de políticas de combate à fome no mundo (BARROS et al., 2002; MARTINS & VAZ, 2002; BARRETO, 2007).

No Brasil, o consumo *per capita* de pescados é de 6 kg/habitante/ano e está muito abaixo daquele recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que é de 12 kg/habitante/ano. Além disso, apresenta disparidades no consumo. Na Região Norte, os peixes representam a principal fonte de proteína animal; entretanto, na Região Centro-oeste, tem pouca expressão na dieta da população, principalmente por causa do alto preço (PESTANA & OSTRENSKY, 2007).

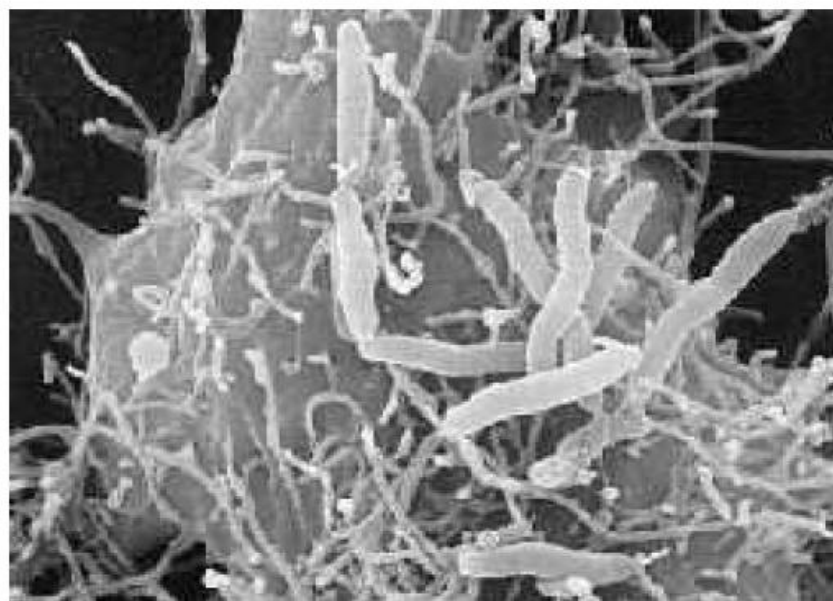
Estudo realizado por KUBITZA & LOPES (2002) identificou que o baixo consumo se deve principalmente pela inabilidade do consumidor em determinar o frescor do pescado (27,6% dos entrevistados) e pelo alto preço do produto (24,5%) em relação a outras carnes. A maioria desses entrevistados (77%) também revelou que os principais motivos para o consumo de peixes é o prazer de comer o produto (45,7%) e o benefício proporcionado à saúde (30,6%).

Nesse mesmo estudo os autores concluíram que o aumento na frequência do consumo pode ser estimulado por meio de campanhas informativas sobre a qualidade nutricional, benefícios à saúde gerados pela ingestão de pescados e formação de novos grupos de consumidores, promovendo o consumo entre crianças.

Com o crescimento da aquicultura, principalmente da piscicultura intensiva e semi-intensiva no País, observa-se o aumento da ocorrência de problemas de ordem microbiológica nas criações. Muitos dos agentes bacterianos ainda não foram identificados ou foram pouco estudados em diversas regiões. É importante conhecê-los para que não haja queda dos bons índices da produção.

2.2 Caracterização do gênero *Aeromonas*

O gênero *Aeromonas* inclui bastonetes Gram-negativos, medindo 0,3-1,0 μm de diâmetro x 1,5-3,5 μm de comprimento, sua ocorrência é isolada, em pares ou em pequenas cadeias (Figura1).



Electron Micrograph of *Aeromonas*, courtesy of Northwest Fisheries Science Center

Figura 1. Fotomicrografia eletrônica de bactéria do gênero *Aeromonas*.

Fonte: EPA, 2006.

São anaeróbios facultativos, oxidase e catalase positivos. Utilizam a D-glicose como única fonte de carbono e energia e sais amoniacaais como fonte de nitrogênio. Quimiorganotróficos capazes de desenvolver metabolismo oxidativo ou fermentativo. Na sua maioria são móveis, por meio de flagelo polar monotríquio. Os cultivos jovens podem sintetizar flagelos peritríquios em meios sólidos. Normalmente encapsulados e não esporulados, fermentam a glicose com produção de ácido com ou sem gás, reduzem nitrato a nitrito, por meio da desnitrificação, e são resistentes ao agente vibriostático 2,4- diamino-6,7-diisopropilpteridine (O/129) (POPOFF, 1984; COLWELL et al., 1986; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; CARNAHAN & JOSEPH, 2005).

Nos últimos 15 anos, uma extensa revisão na nomenclatura e taxonomia do gênero *Aeromonas* foi realizada. Inicialmente os membros desse gênero pertenceram à família *Vibrionaceae*, na qual também estão incluídos os gêneros *Vibrio*, *Photobacterium* e *Plesiomonas*. De acordo com COLWELL et al. (1986), filogeneticamente, o gênero não se enquadrava exatamente nesse grupo e, com base em evidências genéticas e moleculares, sugeriram a criação de uma nova família, chamada de *Aeromonadaceae*, sendo essa classificação muito bem aceita, até os dias atuais. A recente edição do Manual Bergeys, lista três gêneros como pertencentes a essa família: *Aeromonas*, *Oceanimonas* e *Tolumonas* (ABBOTT et al., 2003; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; JANDA & ABBOT, 2010).

RODRIGUES & RIBEIRO (2004) descreveram que, a partir de 1984, esse gênero foi separado fenotipicamente em quatro espécies: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas sobria* e *Aeromonas salmonicida*. Esta última, com três subespécies: *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *masoucida*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*.

Nos últimos anos, quando os marcadores fenotípicos foram reconhecidos e houve clara separação dos grupos, novas espécies foram propostas, tais como: *A. trota* (Vogues Proskauer-VP) negativa e *A. jandaei* (sacarose negativa). Mesmo com as conhecidas limitações dos métodos fenotípicos, características bioquímicas podem ser de grande importância na identificação das espécies, em virtude da diversidade de substratos que podem ser aproveitados pelos membros desse gênero (CARNAHAN, 1993; JANDA & ABBOT, 2010).

Desde então, várias espécies ou grupos de hibridização (HGs) de DNA têm sido descritos. A maioria dos trabalhos baseados em estudos moleculares sugere a existência de 14 diferentes espécies já confirmadas: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. media*, *A. bestiarum*, *A. popofii*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii*, *A. jandaei*, *A. allosaccharophila*, *A. schubertii*, *A. encheleia*, *A. trota*, *A. salmonicida* (KOZINSKA et al., 2002).

Trabalho realizado por DEMARTA et al. (2008) relatou que, segundo a mais recente edição do Manual Bergeys, o gênero *Aeromonas* compreende as seguintes espécies: *A. hydrophila*, *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. caviae*, *A. media*, *A. eucrenophila*, *A. sobria*, *A. veronii* (biovar *sobria* e *veronii*), *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. trota*, *A. allosaccharophila*, *A. encheleia*, *A. popoffii* e dois grupos DNA homólogos, *Aeromonas* sp. (HG11), e *Aeromonas* sp. (HG13, formando o grupo entérico 501). E ainda, *A. ichthiosmia* e *A. enteropelogenes*, consideradas como sinônimas de *A. veronii* e *A. trota*. Mais cinco novas espécies foram descritas, *A. simiae*, *A. molluscorum*, *A. bivalvium*, *A. aquariorum* e a espécie *A. culicicola* que foi sugerida como sinônima de *A. veronii*.

Após uma abordagem polifásica, incluindo análise filogenética como também hibridização DNA-DNA, uma extensa caracterização bioquímica e testes de susceptibilidade a antimicrobianos, uma nova espécie, *A. tecta*, foi caracterizada e obtida a partir de cinco isolados de origem clínica e ambiental, sendo eles de uma criança com diarreia, de adulto assintomático, de água (dois) e de peixe (DEMARTA et al., 2008).

As bactérias do gênero *Aeromonas* podem ser divididas em dois grupos, baseados nas características de motilidade e temperatura de multiplicação. O primeiro é formado por espécies bastante conhecidas e que podem ser patogênicas para o ser humano: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, entre outras, sendo também consideradas patógenos de peixes. São espécies heterogênicas, mesófilas e móveis, com temperatura de multiplicação na faixa entre 5 a 45°C, sendo a ótima de 28°C (POPOFF, 1984; CASTRO-ESCARPULLI, et al., 2003; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004).

As espécies *A. salmonicida* e *A. media* pertencem a um segundo grupo e são caracterizadas como imóveis e psicrófilas. *A. media* é incapaz de se multiplicar a 37°C e *A. salmonicida* em temperaturas menores que 22 e 25°C. Esta última não é patogênica para o ser humano, no entanto, causa furunculose em peixes marinhos, é difícil de ser detectada e não é encontrada em águas superficiais (POPOFF, 1984; RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; AMADOR, 2007).

O mecanismo de patogenicidade de *Aeromonas* sp. é complexo e ainda não foi muito bem esclarecido. A virulência é considerada multifatorial. As aeromonas produzem vários produtos extracelulares biologicamente ativos, tais como: hemolisinas (aerolisinas), citotoxinas, enterotoxinas, proteases, leucocidinas, fosfolipases, elastases, DNases, adesinas e, ainda, colinesterases e endotoxinas. A capacidade de produzir diversos fatores de virulência contribui para a patogênese da doença ocasionada por esse grupo bacteriano (TRABULSI & ALTERTHUM, 2005).

As aeromonas possuem capacidade de adesão às células teciduais, causando diversos graus de injúria nos tecidos, e a severidade da doença depende diretamente dos tipos de fatores de virulência envolvidos e do estado imunológico do paciente (ALBERT et al., 2000; SINHA et al., 2004; SEN & RODGERS, 2004).

Os fatores de virulência produzidos por aeromonas podem ser classificados em: produtos extracelulares e estruturas associadas a células. Entre os mais relatados estão os fatores extracelulares, que incluem hemolisinas, enterotoxinas, proteases, amilases e quinases. Em relação às estruturas associadas às células, podem ser citados: pili, flagelos, proteínas de membrana externa, lipopolissacarídeos e cápsulas (JANDA, 1991; EPA, 2006).

Dos muitos fatores de virulência utilizados para descrever a patogenicidade de aeromonas, a atividade hemolítica parece estar relacionada à enterotoxigenicidade, que pode ser encontrada tanto em amostras clínicas como ambientais (KROVACEC et al., 1994; RADU et al., 2003). Apesar da relação entre potencial patogênico de aeromonas e produção de toxinas hemolíticas, amostras não hemolíticas têm sido isoladas em infecções humanas (NAMDARI & BOTTONE, 1990).

De acordo com MARTINS et al. (2002), a enterotoxina citotóxica, também conhecida como “aerolisina” com atividade enterotóxica, citotóxica e hemolítica, tem sido descrita como o mais poderoso fator de virulência associado a doenças gastrintestinais causadas por aeromonas.

Existem evidências de que algumas espécies de *Aeromonas* spp., contaminantes comuns da água potável e de grande diversidade de alimentos, sejam enteropatogênicas, possuindo capacidade de produzir enterotoxinas, citotoxinas, hemolisinas e/ou invadir células epiteliais (KIROV,1993). GHATAKA et al. (2006) verificaram que, de 55 isolados de *Aeromonas* sp. avaliados, 92,72% revelaram potencial citotóxico em quatro diferentes linhagens celulares.

A espécie *A. hydrophila* é potencial produtora de exoenzimas termorresistentes, como lipases e proteases, e esses produtos, mesmo tendo sua estrutura terciária danificada durante o processo de pasteurização, são capazes de reorganizar a estrutura tridimensional, tornando-se novamente ativos e passíveis de deteriorar os produtos posteriormente obtidos (CHEN, et al., 2003; BRAUN & SUTHERLAND, 2005).

Trabalho realizado na Espanha identificou 35 isolados de *A. caviae* e *A. media*, provenientes de água da companhia de abastecimento público, que apresentaram dois ou mais fatores de virulência associados a genes com potencial patogênico. Os resultados sugeriram que os mesmos poderiam ser transmitidos à população pelo consumo direto ou pela sua utilização na preparação de alimentos (MANUEL PABLOS et al., 2009).

De um total de 75 *Aeromonas* spp. isoladas de amostras colhidas em um abatedouro de frangos, 41,3% apresentaram-se produtoras de enterotoxinas, incluindo espécies de *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii*, *A. schubertii*, *A. trota* e *A. jandaei*. Esses resultados evidenciaram o risco do consumo desse alimento pela população, caso não sejam realizadas as boas práticas de forma adequada (COSTA & ROSSI JUNIOR 2002).

Dentre as espécies de *Aeromonas* spp., *A. sobria* é considerada mais virulenta que *A. hydrophila*. Esse fato foi comprovado a partir da produção de citotoxinas e outras exoenzimas em camundongos, causando alta letalidade. Essa espécie ainda apresenta maior capacidade de invasão e adesão que *A. hydrophila* (DAILY et al., 1981; WATSON et al., 1985).

Esse grupo de microrganismos é considerado importante patógeno de peixes e tem capacidade de sobreviver e se multiplicar, produzindo fatores de virulência, em uma variedade de alimentos estocados a baixas temperaturas. A temperatura de multiplicação bacteriana pode afetar a expressão de vários fatores associados à virulência. Esse fato pode explicar a patogenicidade de isolados de aeromonas em alimentos estocados a baixas temperaturas (RODRIGUES & RIBEIRO, 2004; DASKALOV, 2006).

2.2.1 Distribuição e ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas*

As aeromonas são patógenos emergentes encontrados em uma grande diversidade de habitats, tais como, solo, água, água de consumo (clorada e não clorada), fezes de animais e esgoto. Possuem uma ampla distribuição em meios aquáticos, principalmente dulcícolas e, por essa razão são descritos por alguns autores como componentes da microbiota associada a animais pecilotérmicos e, por outros, como patógenos de peixes e do ser humano em enfermidades de veiculação hídrica (HÄNNINEN et al., 1997; VIVEKANANDHAN et al., 2002; HIRSCH et al., 2006).

Essas bactérias têm sido isoladas de diferentes tipos de alimentos frescos, congelados, descongelados e submetidos à cocção inadequada. Dentre esses podem ser citados peixes de água doce e salgada e outros frutos do mar, leite, queijos, sorvetes, carnes e produtos cárneos, alfaces e outras hortaliças. Dessa forma, os alimentos têm sido apontados como veículos na disseminação dessas bactérias (RADU et al., 2003; PALU et al., 2006).

No Rio de Janeiro, várias espécies de *Aeromonas* spp., dentre elas *A. media* (37,1%), *A. hydrophila* (15,5%), *A. caviae* (14,8%), *A. veronii* biogrupo *veronii* (11,60%), além de *A. sobria*, *A. trota*, *A. schubertii*, *A. jandaei*, *A. veronii* biovar *sobria*, em menores percentuais, foram identificadas em mexilhões *in natura* e pré-cozidos. *Aeromonas* spp. foi identificada em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) congelados, comercializados em supermercados na Cidade do México, predominando *A. salmonicida* (67%) e *A.*

bestiarum (20%). Foi também isolada em vegetais no CEASA de São Paulo (SAAD et al., 1995; CASTRO-ESCARPULLI, et al., 2003; PEREIRA et al., 2004).

Aeromonas hydrophila considerada agente etiológico de zoonose, foi isolada em 36,1% de um total de 238 filés de *catfish*. No Sul da Índia, foram analisadas amostras de peixes e camarões provenientes do maior mercado de Coimbatore, verificando-se a presença de *A. hydrophila* em 33,58% e 17,62%, respectivamente (WANG & SILVA, 1999; VIVEKANANDHAN et al., 2005; DASKALOV, 2006).

As possíveis fontes de contaminação da carne proveniente de um abatedouro de frango foram identificadas a partir da análise de 200 amostras oriundas de diferentes pontos do fluxograma do abate. *Aeromonas* sp. foi isolada em 36% das amostras de penas, 56% de fezes, 72% de carcaças não evisceradas, evisceradas e resfriadas. Os resultados indicaram que as aeromonas estavam presentes no produto final desse abatedouro (COSTA & ROSSI JÚNIOR, 2002).

Os pontos do fluxograma de beneficiamento do leite tipo A foi avaliado quanto à presença de *Aeromonas* sp. Noventa por cento das amostras de leite cru, 30% de leite na saída do pasteurizador, 40% do leite do tanque de abastecimento da máquina de empacotar e 25% do leite pronto para consumo, estavam contaminados pela bactéria. Essas também foram detectadas em 67,5% das amostras de queijo Minas Frescal colhido nas cidades de Jaboticabal- SP e Poços de Caldas-MG, confirmando a ocorrência desse microrganismo na cadeia do leite e o risco para a população consumidora (CARNEIRO & ROSSI JUNIOR, 2006).

Amostras de peixes frescos e congelados foram avaliadas e nelas constatadas a presença de aeromonas, confirmando sua recuperação mesmo após o congelamento. Os autores concluíram que essas bactérias podem contribuir para a deterioração de peixes frescos e congelados (GONZALEZ- SERRANO et al., 2001).

Em pesque-pague da região metropolitana de São Paulo, foram avaliadas amostras de água de viveiros e de peixes, sendo que 93% e 87%, respectivamente, apresentaram-se contaminados por aeromonas. Essas bactérias foram identificadas também em 11% das amostras de superfície corpórea de peixes, 19% de água de distribuição e em 70% de amostras de água do viveiro. Esse alto percentual de contaminação representa perigo à saúde pública, pois os peixes são capturados e consumidos pela população, às vezes, sem os devidos cuidados (AZEVEDO, et al., 2003; HISCH et al., 2006).

O gênero *Aeromonas* é considerado sinônimo de água e de ambientes aquáticos, sendo isolado de rios, lagos, viveiros, águas estuarinas, água potável, água do solo, água de esgoto em vários estágios de tratamento. Concentrações de *Aeromonas* sp., nesses sítios, variam de baixas (1UFC/ mL- água potável, água do mar) a altas (10^8 UFC/mL ou mais- esgoto bruto ou doméstico em suspensão). Além disso, a água tem sido apontada como uma das principais vias de transmissão de aeromonas (HOLMES, 1996; JANDA & ABBOTT, 2010).

A presença de aeromonas e de vários fatores de virulência foi constatada em água tratada. Em outra pesquisa realizada no estuário do Rio Bacanga, em São Luis-MA, foram verificadas elevadas populações de *Aeromonas* sp. com valores variando de $4,0 \times 10^1$ a $1,3 \times 10^8$ UFC/mL para a contagem em placas e de $2,3 \times 10^4$ a $1,6 \times 10^7$ para o NMP/100 mL (SEN & RODGERS 2004; MARTINS et al., 2009). A ocorrência de aeromonas, nessas águas constitui um grave problema para população que faz uso desse importante recurso natural.

Aeromonas spp. foram isoladas em 80% das amostras de água do pré-resfriamento de um abatedouro de frangos sob inspeção higiênico-sanitária permanente (COSTA & ROSSI JÚNIOR, 2002). Esse dado sugere que a água pode contaminar as carcaças de frango ainda no local da sua obtenção.

2.3 Bactérias do gênero *Aeromonas* associadas a patologias

2.3.1 *Aeromonas* spp. em seres humanos

Várias espécies de aeromonas são descritas como patógenos causadores de infecções intestinais ou extraintestinais no ser humano, assumindo destacada relevância epidemiológica em casos de infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos.

A gastroenterite é a mais prevalente forma de infecção humana causada por *Aeromonas* sp. No entanto, esses microrganismos já foram descritos como agentes causais de outras infecções, tais como: septicemias, endocardites, meningites e pneumonias, embora estas possam ocorrer com menor frequência e, normalmente, estejam associadas a pacientes imunodeprimidos. Outras infecções também têm sido associadas a bactérias desse gênero, como: infecções de pele, do trato urinário, oculares, síndrome urêmica hemolítica (JANDA et al., 1996; JANDA & ABBOTT, 1998; KO et al., 2000).

Das espécies conhecidas, *A. hydrophila*, *A. veronni* biovar *sobria* e *A. caviae* são as mais identificadas em infecções intestinais humanas. Juntas, essas espécies respondem por 85% dos isolados clínicos do gênero e são consideradas os maiores patógenos humanos. *A. jandaei*, *A. schurbetii* e *A. veronni* biovar *veronni* são também apontadas em infecções, mas em menores proporções (JANDA & ABBOTT, 1998).

Em comparação com outros grupos bacterianos, poucos surtos confirmando a presença de aeromonas são descritos na literatura. HOFER et al. (2006), descreveram um surto de diarreia ocorrido em São Bento do Una (PE), no qual foram isoladas várias espécies do gênero, dentre elas, 9,8% de *A. caviae*, 3,9% de *A. veronii* biovar *sobria* e 2,6% de *A. veronii* biovar *veronii*.

Foi também verificada a ocorrência de espécies de *Aeromonas* sp. em 27 pacientes internados com gastroenterite aguda em dois hospitais no Rio Grande do Sul. As espécies mais frequentes foram: *A. hydrophila* (51,8%), *A. caviae* (40,8%), e *A.*

veronii biovar *sobria* (7,4%). A mais alta prevalência da infecção ocorreu em crianças (GUERRA et al., 2007).

PEREIRA et al. (2008) avaliaram 2.323 amostras de *swabes* retais de neonatos hospitalizados na cidade do Rio de Janeiro e isolaram 56 cepas de *Aeromonas* spp. Dessas, a maioria foi de *A. caviae* (42,8%) e *A. hydrophila* apareceu em 9% das amostras. Os menores percentuais de ocorrência foram de *A. sobria*, *A. jandaei*, *A. schubertii*. Esses dados reforçam a importância desse agente como causador de diarreias agudas, principalmente em crianças, e sobre sua importância para o controle de infecções hospitalares.

Embora a dose infectante de aeromonas para o ser humano não seja conhecida e a cocção adequada provavelmente inative essas bactérias, a manipulação e a contaminação cruzada podem representar um perigo à saúde, principalmente para populações susceptíveis, tais como: crianças, idosos e imunocomprometidos (GONZALEZ- SERRANO et al., 2001).

Pessoas expostas ao contato direto com peixes, como exemplo, trabalhadores de pisciculturas, pescadores, comerciantes e processadores de peixes devem ser cuidadosas ao manipular esses produtos, pois os peixes podem estar infectados por cepas de aeromonas e algumas delas, como *A. hydrophila*, podem causar afecções de pele, principalmente em pessoas imunocomprometidas (GONZALEZ-SERRANO et al., 2002).

Boas práticas de manipulação, juntamente com procedimentos de sanitização adequados, podem ser úteis para prevenir a exposição do ser humano a essas doenças.

2.3.2 *Aeromonas* spp. móveis em peixes

No meio aquático, a alteração de parâmetros, além dos limites aceitáveis, pode predispor os peixes a enfermidades, quer sejam de origem natural ou antrópica. Esses parâmetros são: altas temperaturas e densidades de estocagem, mudanças bruscas de temperatura, traumatismos decorrentes de manejo, transferência de peixes, baixos

níveis de oxigênio dissolvido, condições nutricionais deficientes e infecções por fungos ou parasitas (MORAES & MARTINS, 2004; PILARSKI & SAKABE, 2009). Esses fatores levam ao desequilíbrio e expõem a ictiofauna à ação de patógenos.

A microbiota intestinal de peixes depende da colonização bacteriana durante os estágios iniciais de desenvolvimento, das mudanças na dieta e das condições ambientais. Essa microbiota pode ser composta por várias espécies de bactérias, incluindo as do gênero *Aeromonas*. Os peixes podem albergar microrganismos patogênicos e servir como seu reservatório (OLSSON et al., 1992; HOVDA et al., 2007).

Alguns estudos têm focado a importância de *Aeromonas* sp. como patógeno de animais homeotérmicos e poiquilotérmicos, incluindo peixes.

Trinta e quatro culturas de aeromonas provenientes de carpas (*Cyprinus carpio* L.) saudáveis e doentes e duas amostras de água dos viveiros desses peixes foram isoladas e identificadas cinco espécies: *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. veronii* biotipo *sobria*, *A. sobria*, *A. encheleia*. Desses, 76,9% foram de *A. salmonicida* e 63,6% de *A. veronii*, todos patogênicos para as carpas estudadas (KOZINSKA et al., 2002).

Trabalho realizado por HATHA et al. (2005) identificou espécies de *Aeromonas* spp. em intestino de várias espécies de peixes revelando que 61% dos isolados foram de *A. hydrophila*, 30% de *A. caviae*, 7% de *A. sobria* e 2% considerados atípicos. A maioria dos cultivos de *A. hydrophila* demonstrou atividade hemolítica, enquanto nas demais espécies essa atividade não foi verificada.

A atividade hemolítica de espécies de aeromonas isoladas de peixes de água doce foi investigada e todos os isolados de *A. hydrophila* foram beta-hemolíticos em sangue de coelho e alguns em sangue de carneiro. No entanto, aqueles de *A. caviae* e *A. jandaei* não apresentaram esse tipo de fator de virulência (SANTOS et al., 1999).

Foi identificada *A. hydrophila* em peixes com Síndrome da Doença Ulcerativa (SDU), sendo ainda isolado plasmídeo com o peso de 21Kb, determinando a sua importância na patogênese dessa enfermidade (MAJUMDAR et al., 2006).

Doenças causadas por aeromonas podem atingir qualquer espécie de peixe, pois é um agente tipicamente oportunista. Seu habitat natural é o material em decomposição

na água e no fundo dos viveiros. Além disso, pode estar presente na microbiota intestinal de peixes sãos (DUGENCI & CANDAN., 2003; POND et al., 2006).

Várias espécies de aeromonas estão associadas a doenças de peixes, dentre elas *A. hydrophila*, *A. veronni* biovar *sobria*, *A. allosaccharophila* e *A. salmonicida*. Destas, *A. hydrophila*, *A. veronni* biovar *sobria*, são as mais comumente relatadas em infecções intestinais em seres humanos (JACOBS & CHENIA, 2007).

Em 88% das amostras de tilápias cultivadas em Leon na Espanha, foram detectadas bactérias do gênero *Aeromonas*. No Brasil, de um total de 10 amostras de tilápias cultivadas na região de Paulo Afonso- BA, em três foi confirmada a presença de *A. hydrophila* (GONZALEZ-SERRANO et al., 2001; LEMOS et al., 2006).

Alta letalidade foi verificada em surto causado por aeromonas, em tilápias de várias pisciculturas nas Filipinas. Os peixes apresentaram desde descoloração da pele, lesões na pele, ulcerações, opacidade ocular, exoftalmia e morte (YAMBOT, 1998).

No Rio Grande do Sul, foram analisados jundiás (*Rhamdia quelen*) com lesões sugestivas de aeromonose. Foi confirmada, por meio de provas bioquímicas, a presença de *A. hydrophila* nas lesões (Figura 2). As lesões iniciaram-se com ulceração do pedúnculo caudal, evoluindo para descamação cutânea, formando-se lesões ulcerativas no corpo e barbilhões com exposição de musculatura (BARCELLOS et al., 2008).



Fonte: BARCELLOS et al. (2008).

Figura 2. Peixe com lesão ulcerativa de pele, causada por *A. hydrophila*.

No reservatório Três Irmãos, Estado de São Paulo, foi descrito um surto com alta mortalidade de tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede. Os exames bacteriológicos revelaram a presença de *A. caviae* nas amostras de fígado e rim. A manutenção dos peixes em sistema intensivo, o baixo nível de vitamina C na dieta e o manejo inadequado podem ter colaborado para o surgimento da infecção (MARTINS et al., 2008).

O contato íntimo existente entre a água e o peixe no ambiente aquático potencializa o risco de patologias causadas por bactérias, vírus e parasitas, no entanto o grau de infecção dependerá do estado fisiológico dos peixes.

2.4 Resistência a antimicrobianos em bactérias do gênero *Aeromonas*

A resistência antimicrobiana é frequentemente definida dentro de um contexto clínico e, mais raramente, como atributo epidemiológico. Assim, uma bactéria é dita resistente a determinado antibiótico quando o microrganismo é capaz de se desenvolver *in vitro* na presença da concentração que a droga atinge no sangue, de acordo com as recomendações terapêuticas (TAVARES, 1993; DAVISON et al., 2000).

A transferência de genes de resistência entre bactérias do meio ambiente e bactérias potencialmente patogênicas e uma possível conexão entre o uso de antibióticos em animais e o crescimento da resistência em patógenos de seres humanos tem sido relatada (TEUBER, 2001; SORUM & L'ABÉE-LUND, 2002).

Os antibióticos são administrados em animais profilaticamente e terapêuticamente contra agentes bacterianos e sub terapêuticamente como promotores de crescimento (VASEEHARAN et al., 2005).

A presença de bactérias patogênicas em fezes que poluem ambientes aquáticos pode contaminar peixes e outros organismos aquáticos que vivem nessas águas. Além disso, podem trocar facilmente plasmídeos, o que pode resultar no aumento da frequência de amostras multirresistentes. A pressão de seleção local pode influenciar o perfil de resistência aos antibióticos (HATHA et al., 2005).

Embora a maioria dos estudos sobre o desenvolvimento de resistência a antibióticos em bactérias sejam principalmente sobre bovinos, aves e suínos, a emergência de amostras de patógenos de peixes resistentes a antibióticos tem sido relatada em sistemas aquícolas de climas tropical e temperado.

A resistência de bactérias a antimicrobianos foi determinada em tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em viveiros de terra, sem utilização de antibióticos para profilaxia ou controle de doenças. Dos 89 isolados analisados, 83% apresentaram-se resistentes a dois ou mais antimicrobianos. Nesse ambiente, as frequências de resistência múltipla foram elevadas e maiores nos microrganismos isolados da ração do que aqueles da água dos viveiros e dos peixes (LIMA et al., 2006).

Vários trabalhos em todo mundo têm descrito padrões de resistência a antimicrobianos para bactérias do gênero *Aeromonas* em peixes ou ambientes de pisciculturas.

Isolados de aeromonas de amostras de peixes comercializados em mercados da Malásia apresentaram-se resistentes a três ou mais antibióticos testados e todos eles foram sensíveis à ceftazidima (RADU et al., 2003). Foi testada a susceptibilidade frente a 15 antimicrobianos de *Aeromonas hydrophila* isolada de peixes comercializados no maior mercado do Sul da Índia. Todos dos isolados foram resistentes à meticilina e à rifampicina, 90% à bacitracina e novobiocina e somente 3% dos isolados foram sensíveis ao cloranfenicol (VIVEKANANDHAN et al., 2002).

Todas as 104 aeromonas de ambiente de piscicultura avaliadas foram sensíveis à cefuroxima, kanamicina, ácido nalidíxico, tetraciclina e sulfametoxazole. Um maior número de isolados resistentes às drogas testadas foi proveniente das amostras de sedimento dos viveiros (HUDDLESTON et al., 2006).

O padrão de resistência a antimicrobianos de várias espécies de *Aeromonas* spp. móveis isoladas do intestino de peixes de água doce indicou que elas foram resistentes principalmente à oxitetraciclina, amoxicilina, ampicilina, novobiocina e polimixina B, sugerindo que esses altos níveis de resistência tenham surgido em

consequência da pressão de seleção pela utilização dessas drogas nesses sistemas aquícolas (HATHA et al., 2005).

AKINBOWALE et al. (2007) identificaram 90 isolados de *Aeromonas* sp. provenientes de criação de truta arco-íris na Austrália e testaram esses isolados frente à ação de 15 antimicrobianos. Todos os isolados de peixes e sedimentos foram sensíveis à cefotaxima, ácido oxolínico, ciprofloxacina e a gentamicina. Os níveis de resistência observados foram amoxicilina (85,7% e 97,9%); cefalotina (83,3% e 85,4%); ceftiofur (4,8% a 8,3%); oxitetraciclina (30,9% e 10,4%); florfenicol (4,8% e 2,1%) e sulfametoxazole (14,3 % e 18,8%).

As quinolonas são drogas utilizadas para o controle de enfermidades em peixes, e podem persistir por um longo período no ambiente. Na Espanha, o mecanismo de resistência á quinolona foi estudado em 33 isolados de *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas media*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas popoffii* e *Aeromonas veronii*, oriundos de amostras de humanos, água doce e enguias. Esse mecanismo foi descrito como mutações nas regiões QRDR do genes *gyrA* e *parC* (ALCAIDE et al., 2009).

O aumento dos níveis de resistência de isolados clínicos e ambientais de aeromonas, assim como também o aumento da prevalência de elementos genéticos móveis como importantes vetores do crescimento do espectro de resistência por bactérias do gênero *Aeromonas*, têm sido relatados (RADU et al., 2003).

O primeiro relato no Brasil da ocorrência de plasmídios em aeromonas associados com resistência a antibióticos foi feito por PALU et al. (2006). Os autores verificaram a presença de três plasmídios, isolados de amostras de vegetais. Um deles pode estar associado à resistência à tetraciclina e concluíram que eles podem carrear genes de resistência a antibióticos e constituem um risco, pois podem ser transferidos para outras bactérias patogênicas e dificultar a terapia das infecções causadas por *Aeromonas* sp.

De um modo geral, as espécies de aeromonas são sensíveis à tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol, sulfonamidas, amicacina, nitrofurantoína, tobramicina e

cefalosporina de terceira geração e apresentam-se resistentes à penicilina, ampicilina, carbenicilina, eritromicina e vancomicina (ALTWEGG, 1999). Entretanto, as espécies *A. trota* e *A. salmonicida* (subesp. *Smithia*) têm sido descritas como sensíveis à ampicilina.

CASTRO-ESCARPULLI et al. (2003) verificaram que a maioria dos isolados de *Aeromonas* sp. oriundos de peixe congelado, foram resistentes aos antibióticos β -lactâmicos, com exceção do imipenem e piperaciclina e apresentaram sensibilidade às quinolonas de primeira e de segunda geração e também às cefalosporinas de terceira geração.

De um modo geral, a resistência a antimicrobianos é uma preocupação quando se trata de bactérias do gênero *Aeromonas*, tendo em vista os elevados percentuais desses isolados resistentes aos mais diversos princípios ativos.

2.5 Coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas mesófilas e *Aeromonas* sp. em água de pisciculturas

Quando se pensa em aquicultura, a questão ambiental tem marcante destaque. Resíduos excretados pelos organismos aquáticos, contrariamente ao observado em animais terrestres, são de difícil coleta, dissolvendo-se ou permanecendo em suspensão na água de criação. Esses, somando-se aos resíduos de ração, contribuem para o aumento de matéria orgânica, o que deprecia a qualidade da água e, conseqüentemente, o rendimento e a qualidade dos organismos cultivados (ALVES et al., 2006).

O fluxo de água em piscicultura é extremamente importante, sendo responsável em parte pelo transporte de nutrientes, transporte de microrganismos, adição de oxigênio ao meio, entre outros. Dessa forma, cuidados devem ser tomados com o acúmulo de matéria orgânica e inorgânica no meio (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2007).

Em consequência do íntimo contato dos peixes com a água, a microbiota presente na superfície corporal, brânquias e no trato gastrointestinal desses animais está relacionada qualitativa e quantitativamente com aspectos microbiológicos do ambiente.

Assim, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos e fezes podem albergar microrganismos patogênicos e indicadores de poluição fecal. Alimentos oriundos desses ambientes têm sido associados a doenças em seres humanos (PAL & DAS GUPTA, 1992; GUZMÁN, et al., 2004).

É comum a utilização de microrganismos indicadores de poluição fecal (coliformes totais e termotolerantes) para monitorar a qualidade das águas, classificando e restringindo seu uso (MOLLERKE et al., 2002).

Os coliformes apontam a possibilidade da presença de contaminação fecal, ou seja, a possível presença de organismos que ocorrem em grande número na microbiota intestinal humana ou de animais homeotérmicos, visto que não fazem parte da microbiota do pescado (FRAZIER & WESTHOFF, 1988).

De acordo com a Resolução 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), BRASIL (2005), nas águas destinadas à aquicultura e à atividade de pesca, consideradas de Classe 2, a concentração de coliformes termotolerantes não deverá exceder 1000 coliformes termotolerantes /100mL.

NUNES (2009) relatou que as populações de coliformes termotolerantes na água de três dos cinco pesqueiros avaliados, apresentavam valores acima dos estabelecidos pela Legislação. De acordo com LOREZON (2009), dos cinco pesqueiros avaliados a água de três encontrava-se fora do padrão estabelecido pela Lei, com valores médios de $0,8 \times 10^3$, $2,0 \times 10^4$ e $2,5 \times 10^3$ NMP/100 mL de coliformes termotolerantes. Entretanto, a água dos viveiros avaliados por PILARSKI et al. (2004), na cidade de Chapecó-SC, encontrava-se dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela Legislação.

Bactérias heterotróficas mesófilas aeróbias ou facultativas viáveis podem indicar a existência de diversos grupos de microrganismos patogênicos e oportunistas que constituem risco aos peixes e à saúde pública, além de serem importantes para determinar a qualidade bacteriológica da água (CAHILL, 1990; AMARAL, et al., 1992).

Aeromonas sp. estão presentes em grandes quantidades em águas com qualidade alterada, especialmente com baixos níveis de oxigênio, altos níveis de matéria orgânica e poluentes (NEWMAN, 1993). NEVES et al. (1990) afirmaram que há

correlação entre a presença de *Aeromonas* sp. e de coliformes somente em águas com poluição fecal.

Diversos grupos bacterianos foram avaliados em uma estação de piscicultura, onde 67,2% dos isolados pertenciam ao gênero *Aeromonas*, sendo classificados em nove espécies (*A. veronii* biogrupo *sobria*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. trota*, *A. eucrenophila*, *A. veronii* biogrupo *veronii*, *A. media*, *A. caviae* e *A. jandaei*). Os viveiros apresentaram índices elevados de coliformes fecais com média de população >1800 NMP/100 ml (ESPOSTO et al., 2007).

As aeromonas podem ser bons indicadores de qualidade higiênica da água. A correlação entre a presença de aeromonas e coliformes termotolerantes foi positiva e significativa em amostras de água mineral e água do sistema público (MASSA et al., 2001; SCOARIS et al., 2008). Essa correlação foi altamente positiva, em amostras de água oriundas do Rio Búfalo nos Estados Unidos, principalmente na época do verão (PETTIBONE, 1998).

Alguns autores mostraram que o nível de poluição fecal desempenha importante papel na determinação da composição de espécies e na dinâmica populacional de aeromonas (SCHUBERT, 1991; ARAÚJO et al., 1989). *A. hydrophila* e *A. sobria* são consideradas as espécies mais virulentas, e o local e as condições podem favorecer a multiplicação e sobrevivência dessas bactérias.

O sucesso econômico da piscicultura depende de boa manutenção da qualidade da água. No entanto, em muitas situações, os estabelecimentos não têm dado a devida atenção a esse importante recurso natural, o que vem gerando diversos problemas, notadamente ambientais e até mesmo de saúde pública.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área do estudo

A microrregião da Baixada Maranhense ($1^{\circ}59'S$ - $4^{\circ}00'S$ e $44^{\circ}21'W$ - $45^{\circ}33'W$), pertence à mesorregião do Norte maranhense e está localizada a Oeste do Estado do Maranhão (Figura 3). Possui o maior conjunto de bacias lacustres do Nordeste, onde predominam terras planas, baixas e inundáveis, e vegetação de manguezais, campos aluviais e flúvio-marinhos (COSTA-NETO *et al.*, 2001/2002; GASPAR *et al.*, 2005). Sua população está estimada em 518.241 habitantes. A região está dividida em 21 municípios e possui uma área de 17.579, 366 km² (IBGE, 2006). Além disso, apresenta duas estações bem definidas: seca e chuvosa, com intervalos aproximados de seis meses cada uma (IBAÑEZ *et al.*, 2000). Um período de cheia, de janeiro a julho, quando os rios e lagos perenes transbordam inundando os campos e transformando-os em extensos lagos de pouca profundidade (Figura 4), e um período de seca, de julho a dezembro (Figura 5), quando os campos ficam secos e propiciam o aparecimento da vegetação, a qual é constituída principalmente por gramíneas e ciperáceas (COSTA-NETO *et al.*, 2001/2002).



Figura 3. Mapa de localização da Baixada Maranhense.

Fonte: Wikipedia, 2010.



Figura 4. Campos da Baixada Maranhense no período da cheia.

Foto: Rejeana Lima.



Figura 5. Campos da Baixada Maranhense no período da seca.

Foto: Rejeana Lima.

3.2 Caracterização e seleção das propriedades avaliadas

O trabalho foi realizado na microrregião da Baixada Maranhense, mais precisamente nos municípios de Pinheiro, Palmeirândia e Peri-mirim (Figura 6). Como não havia, nos órgãos públicos, relação atualizada das pisciculturas existentes na região, foi necessário fazer levantamento e cadastro próprios para o trabalho e, então, selecioná-las. Das propriedades existentes na região do estudo, 12 foram selecionadas para a pesquisa.

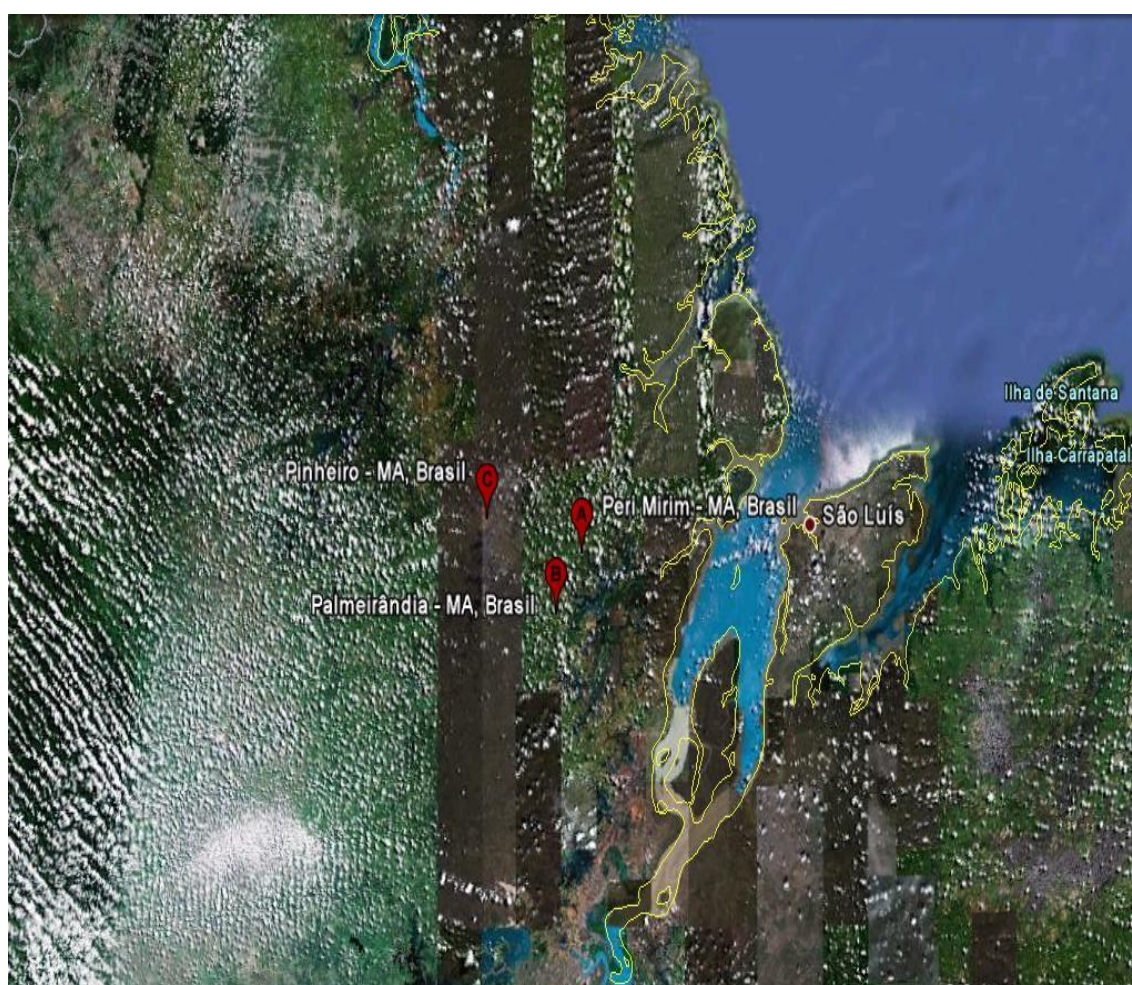


Figura 6. Mapa de localização dos municípios onde estavam situadas as pisciculturas avaliadas.

Fonte: Google, 2010.

De acordo com dados obtidos a partir do cadastro, verificou-se que as propriedades selecionadas apresentavam as seguintes características: viveiros escavados, no mínimo quatro e no máximo dez, com tamanhos que variavam de 200 a 1.000 m². As espécies de peixes encontradas foram: tambaqui, tilápia, tambacu e Curimatá. (Quadro 1)

	
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)
	
Tambacu (<i>C. macropomum</i> <i>x Piaractus mesopotamicus</i>)	Curimatá (<i>Prochilodus lineatus</i>)

Fonte: Viva terra (2009).

Quadro 1. Espécies peixes encontradas.

Nas propriedades nunca havia sido feito o uso de antimicrobianos e não houve registro de enfermidades durante o período experimental. Não havia controle da qualidade da água dos viveiros, sendo esta, na maioria das propriedades, proveniente do Rio Pericumã. Os peixes eram submetidos à arraçoamento com ração comercial e estavam na fase de engorda, com idade aproximada de quatro meses e peso entre 400 a 500g. Em algumas propriedades, havia existência de suínos, caprinos, ovinos e aves no entorno dos viveiros. Em apenas uma propriedade havia responsável técnico devidamente qualificado. Os peixes cultivados eram vendidos para feiras e mercados

das cidades. Uma propriedade eventualmente servia como pesque-pague e em outra havia venda de alevinos.

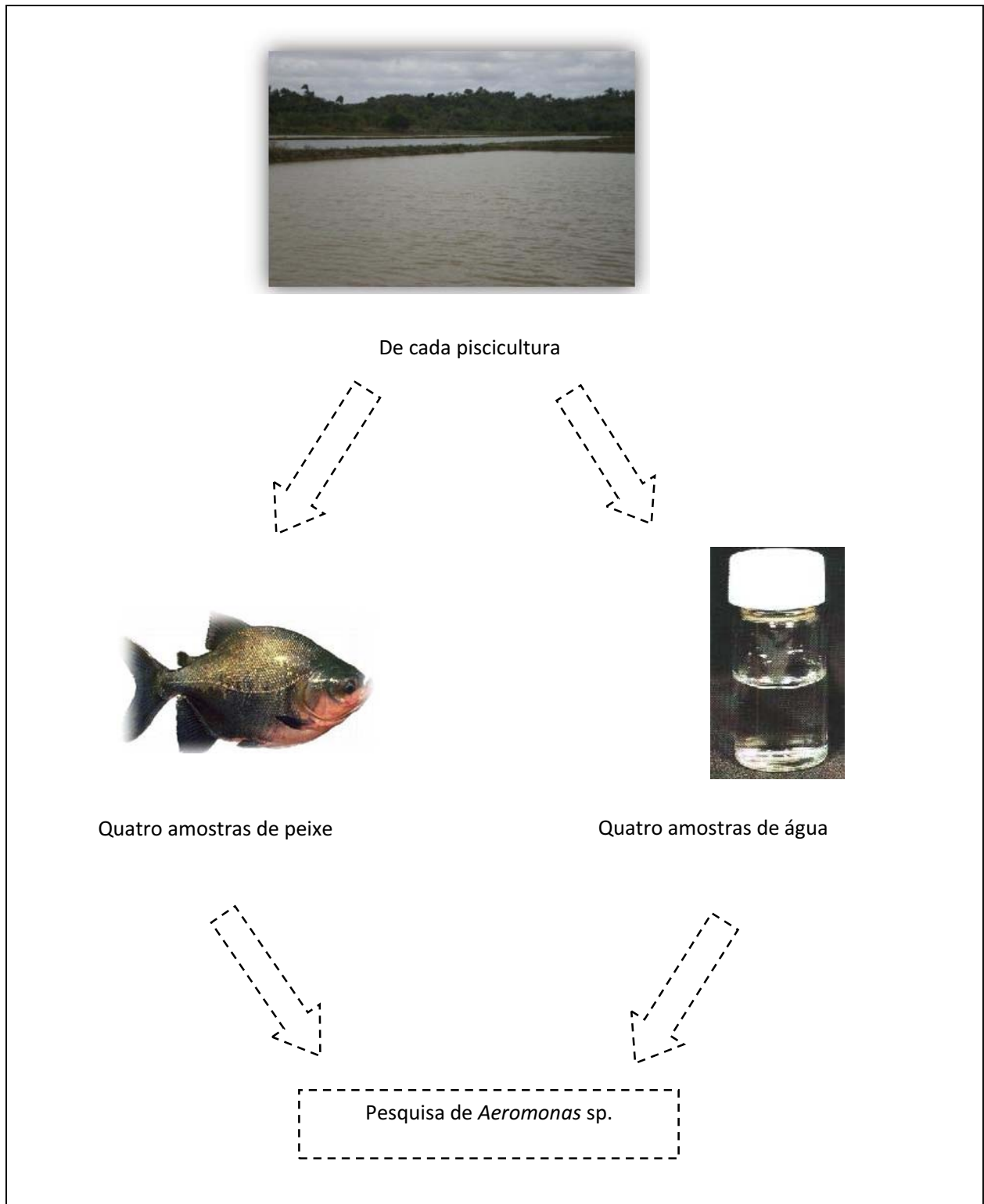
Os critérios para a seleção das pisciculturas foram: existência de animais em fase de recria, de viveiros escavados e ausência de enfermidades nos peixes no período das colheitas.

3.3 Colheita, acondicionamento e transporte das amostras para pesquisa de *Aeromonas* sp.

As colheitas foram realizadas no período de outubro de 2008 a março de 2009, totalizando seis meses, sendo três na época de seca (outubro, novembro e dezembro) e três na de chuva (janeiro, fevereiro e março). Mensalmente, duas pisciculturas foram avaliadas.

De cada uma das doze pisciculturas foram colhidas quatro amostras de água dos viveiros e quatro peixes. Dos peixes foi avaliada a superfície corpórea. Totalizando 96 amostras (48 de água e 48 de peixes) (Quadro 2).

As análises foram realizadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA.



Quadro 2. Resumo da colheita das amostras para pesquisa de *Aeromonas* sp.

3.3.1 Peixes

Os peixes foram capturados com auxílio de tarrafas das próprias pisciculturas, em seguida foram colocados em baldes com água do próprio viveiro e imediatamente transferidos para sacos de poliestireno estéreis, onde foram acrescentados 300 mL de caldo soja tripticase (TSB), adicionado de ampicilina na proporção de 10 mg por litro (ABEYTA JÚNIOR et al., 1990). Na própria piscicultura, por meio da técnica de enxaguadura, toda a superfície do peixe vivo foi massageada durante alguns segundos e então feita a desinfecção, com álcool a 70%, de uma das extremidades do saco, a qual foi cortada com tesoura previamente esterilizada. Dessa forma, o conteúdo resultante da lavagem superficial foi retornado para o interior do frasco que continha inicialmente o caldo. Os frascos com as amostras foram embalados e colocados em caixas isotérmicas com gelo e transportados até o laboratório para análise.

3.3.2 Água do sistema de criação

Uma amostra de água de superfície (500 mL) foi colhida de um único ponto de cada um dos quatro viveiros de onde foram capturados os peixes. Para tal, frascos previamente esterilizados foram mergulhados na água e só então abertos. Uma vez preenchidos com água foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados ao laboratório para análise.

3.4 Preparo das amostras e enriquecimento seletivo

No laboratório, para o enriquecimento seletivo, os frascos com as amostras de lavado de superfície foram imediatamente acondicionados em incubadora para BOD, à temperatura de 28°C por 24 horas,

Um total de 500 mL da água dos viveiros foi filtrado em membranas de nitrato celulose de 47 milímetros de diâmetro e poros de 0,45 micrômetros, estéreis. Após a filtração, as membranas foram picadas em pedaços pequenos e os fragmentos colocados em Erlenmeyer, contendo 100mL de TSB-ampicilina. Após esse procedimento, os frascos foram colocados em incubadora para BOD, à temperatura de 28°C por 24 horas.

3.5 Isolamento e identificação de *Aeromonas* sp.

3.5.1 Plaqueamento seletivo

Após o período de incubação, alíquotas das culturas com multiplicação bacteriana, indicada pelo aumento da turbidez do meio, foram semeadas com auxílio de alça de níquel-cromo, na superfície do ágar dextrina-ampicilina (HAVELLAR & VONK, 1988) e ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina (MAJEED et al., 1990; PALUMBO et al., 1991). A ampicilina foi adicionada aos meios de cultura na concentração de 10mg/L. As placas foram, então, colocadas em incubadora para BOD, à temperatura 28°C, por 24 horas.

3.5.2 Isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero *Aeromonas*

Foram selecionadas até cinco colônias sugestivas de *Aeromonas* sp. das culturas obtidas no plaqueamento seletivo para cada um dos meios. Essas foram escolhidas por apresentarem coloração amarelada com halo transparente em virtude da hidrólise do amido ou da dextrina presentes nos meios (Figura 7).

As colônias sugestivas foram semeadas em tubos com ágar soja tripticaseína (TSA) e incubadas à temperatura de 28 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foram realizados esfregaços e estes submetidos à coloração pelo método de Gram. As culturas que apresentaram-se Gram-negativas, na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas, foram repicadas em ágar tríplice-açúcar-ferro (TSI) e incubadas à temperatura de 28°C, por 24 horas (SAAD et al., 1995). As culturas que apresentavam reação ácida, tanto na base como no bisel, com ou sem a formação de gás e H₂S negativas, foram novamente repicadas em tubos contendo TSA inclinado e incubadas à temperatura de 28 °C por 24 horas.

Após incubação, as culturas foram submetidas à prova de catalase e oxidase. Os cultivos positivos nessas provas foram considerados como pertencentes ao gênero *Aeromonas*. Como provas complementares, foram submetidos aos testes de motilidade e de resistência ao agente vibriostático O/129.

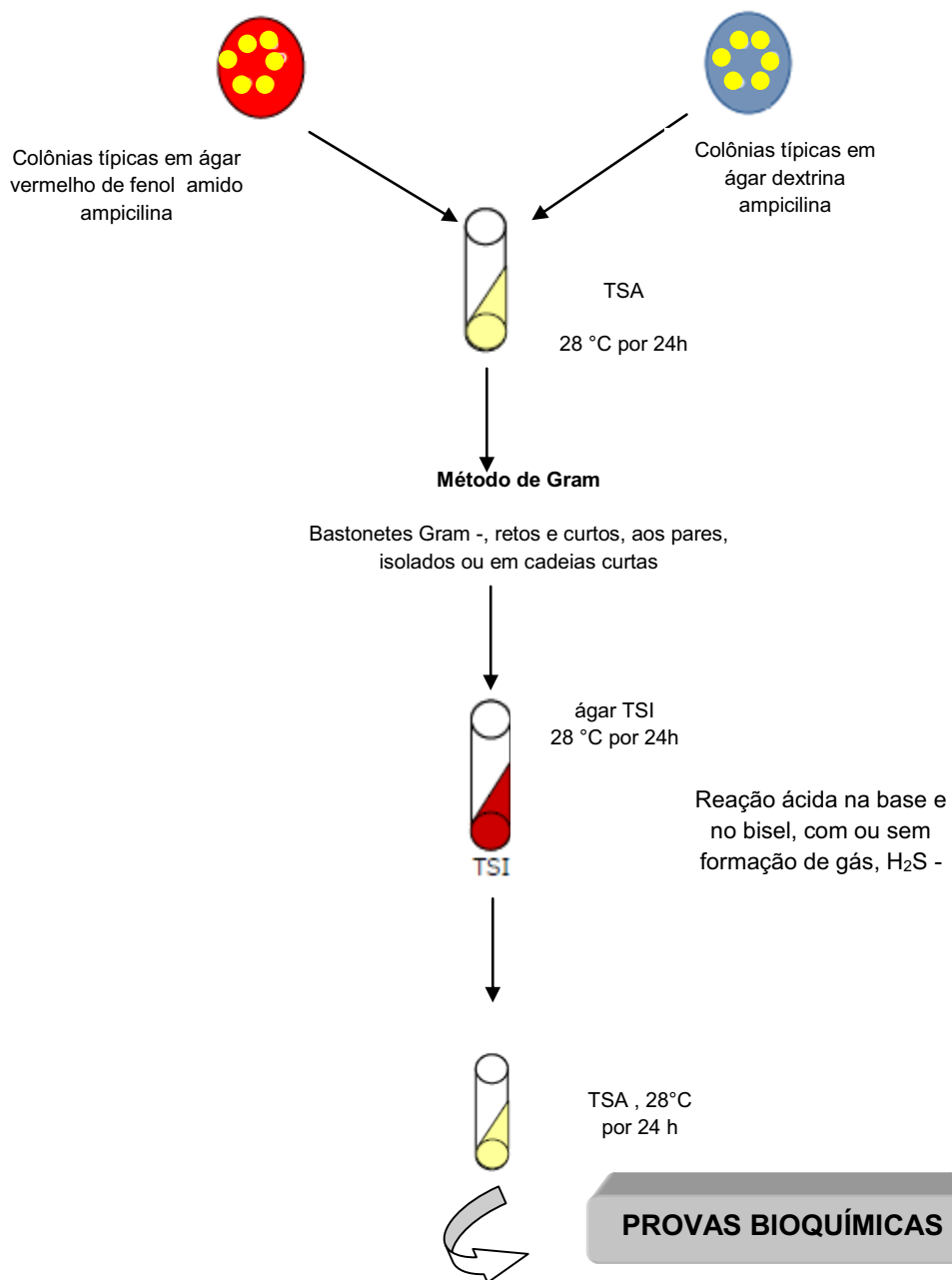


Figura 7. Fluxograma de identificação das colônias sugestivas de *Aeromonas* sp.

3.5.3 Identificação das espécies

A identificação bioquímica das espécies de *Aeromonas* spp. foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV, Campus de Jaboticabal-SP, UNESP.

Para tal, foi utilizada a chave de classificação Aerokey II (CARNARHAN et al., 1991), apresentada na Figura 8. Esse sistema tem se mostrado válido na identificação das sete espécies mais comuns de aeromonas móveis (*A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *veronii*, *A. veronii* biovar *sobria*, *A. trota*, *A. schubertii* e *A. jandaei*).

Antes da identificação das espécies, os isolados foram novamente submetidos à coloração de Gram, testes de oxidase, fermentação da glicose e de resistência ao agente vibriostático O/129.

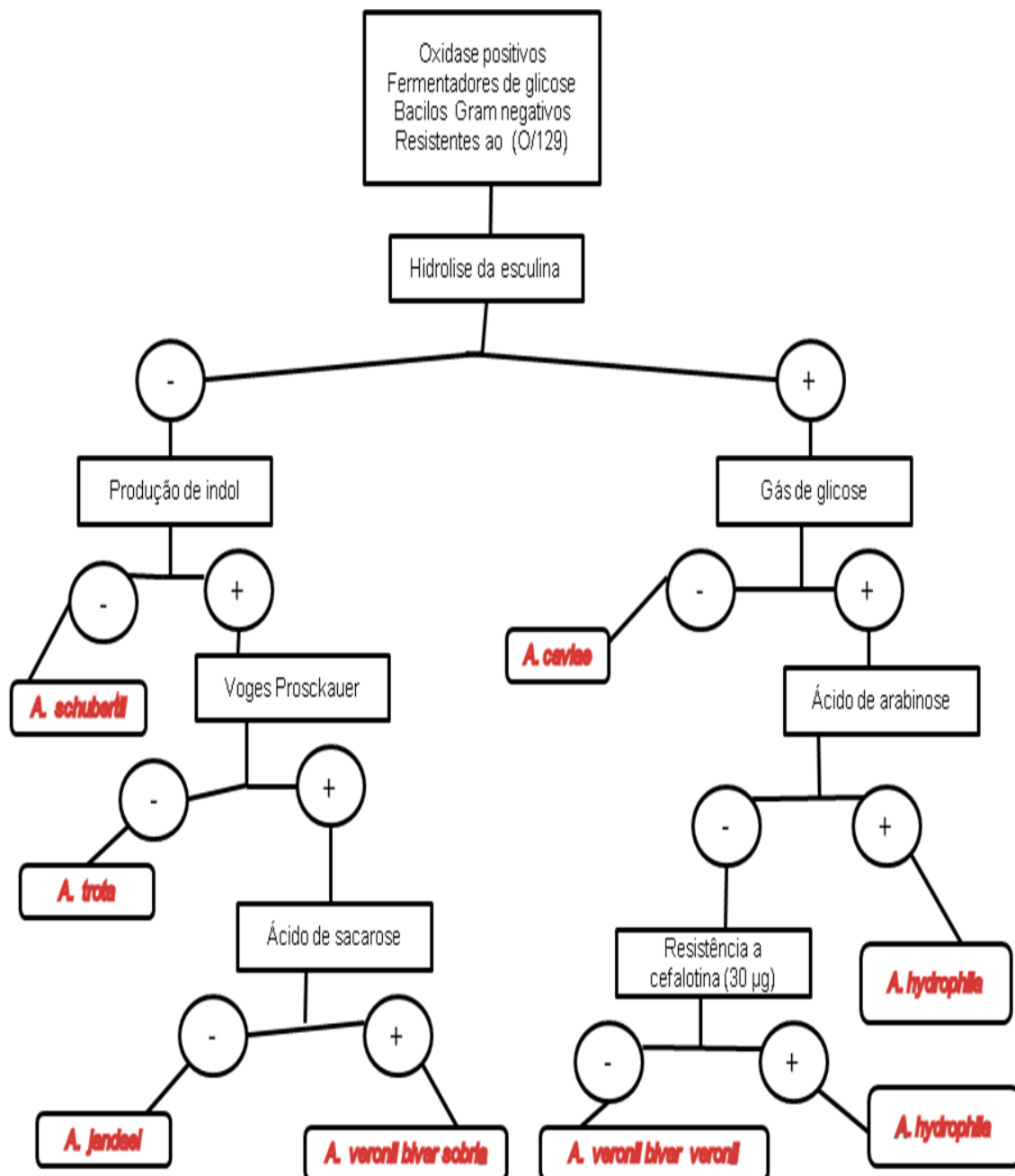


Figura 8. Chave de identificação Aerokey II. Provas bioquímicas e resistência à antibiótico utilizadas para classificação dos isolados do gênero *Aeromonas* sp. (adaptado de CARNAHAN et al., 1991).

As provas bioquímicas realizadas foram: hidrólise da esculina, produção de indol, produção de gás a partir da glicose, Voges Proskauer (VP), produção de ácido a partir da arabinose e da sacarose e resistência à cefalotina (30 µg).

3.6 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos

Para realização do teste de susceptibilidade a antimicrobianos, foram selecionados aleatoriamente 89 isolados, contemplando as diferentes espécies e amostras avaliadas, sendo 47 oriundos das amostras de água dos viveiros e 42 das de peixe. Desses, 71 de *A. hydrophila*, 10 de *A. caviae*, seis de *A. veronii sobria* e dois isolados de *A. schubertii*. Para tal, foi utilizado o método de difusão de discos com o ágar Mueller Hinton (NCCLS, 2004). Os agentes antibióticos e quimioterápicos escolhidos representaram diferentes classes dessas substâncias, além de terem relevante importância para a terapêutica na medicina humana e animal, conforme Quadro 3.

Antimicrobiano	Símbolo	Concentração	Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	AMP	10 µg	≤ 13 mm	14 a 16	≥ 17
Amicacina	AMI	30 µg	≤ 14 mm	15 a 16	≥ 17
Amoxicilina + Clavulonato	AMC	30 µg	≤ 13 mm	14 a 17	≥ 18
Ceftazidima	CAZ	30 µg	≤ 14 mm	15 a 17	≥ 18
Cefepime	CPM	30 µg	≤ 14 mm	15 a 17	≥ 18
Cefoxitina	CFO	30 µg	≤ 14 mm	15 a 17	≥ 18
Cefuroxima	u	30 µg	≤ 14 mm	15 a 17	≥ 18
Ciprofloxacina	CIP	5 µg	≤ 15 mm	16 a 20	≥ 21
Gentamicina	GEN	10 µg	≤ 12 mm	13 a 14	≥ 15
Meropenem	MER	10 µg	≤ 13 mm	14 a 15	≥ 16
Cefalotina	CFL	30 µg	≤ 14 mm	15 a 17	≥ 18
Sulfazotrin	SUT	25 µg	≤ 10 mm	11 a 15	≥ 16

Quadro 3. Padrão de interpretação do teste de susceptibilidade a antimicrobianos.

Inóculos dos isolados obtidos foram repicados em tubos contendo 5 mL de TSB e depois incubados a 28°C por 18 a 24 horas. Em seguida, foram semeados em placas contendo ágar Müller Hinton, por meio de swabes estéreis. Os multidiscos¹ com os princípios ativos foram então colocados na superfície do ágar e as placas colocadas em BOD, à temperatura de 28°C, por 18-24 horas. Após esse período, os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados com régua e comparados com a tabela padrão para testes de susceptibilidade a antimicrobianos e classificados como resistentes, intermediários ou sensíveis.

¹ Multidiscos 12- Laborclin

3.7 Quantificação de coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas na água das pisciculturas

Nos mesmos dias da colheita das amostras para pesquisa de *Aeromonas* sp., foram colhidas também quatro amostras de água dos viveiros de cada uma das pisciculturas estudadas para verificar as populações de microrganismos heterotróficos mesófilos e coliformes termotolerantes.

As amostras foram obtidas da mesma maneira que aquelas para pesquisa de aeromonas e analisadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão- UEMA.

3.7.1 Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (APHA, 2001).

Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, sendo três séries de cinco tubos cada. A primeira série formada por cinco tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração dupla e tubos de Durham invertidos; a segunda e a terceira, com LST em concentração simples. Foram inoculados 10; 1 e 0,1 mL da amostra nos tubos, respectivamente. Os tubos foram incubados em estufa a 35°C por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, alíquotas das amostras positivas (presença de gás no interior dos tubos de Durham) foram transferidas para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de Durham invertidos. Em seguida, incubados em banho-maria a 45°C por 24h. A presença de gás configurava a amostra como positiva e, então, foi calculado o número mais provável de coliformes termotolerantes por 100 mL da amostra, utilizando-se a tabela de NMP.

3.7.2 Contagem de microrganismos heterotróficos mesófilos (APHA, 2001).

Para a determinação do número de microrganismos mesófilos, foi realizado o procedimento de contagem de bactérias heterotróficas mesófilas em placas. O meio de cultura utilizado foi o ágar para contagem em placas (PCA), que produz uma alta contagem de colônias. Alíquotas de 1mL das diluições decimais das amostras de água foram depositadas, em duplicata, em placas de Petri esterilizadas, às quais foi adicionado o ágar padrão previamente fundido e resfriado até uma temperatura

aproximada de 42°C. Após a homogeneização e solidificação do meio em temperatura ambiente, as placas foram incubadas, à temperatura de $35 \pm 1^\circ\text{C}$, por 48 horas. As placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias foram utilizadas para contagens de bactérias em aparelho apropriado. A média do número de colônias por mL de água contadas nas placas de Petri, multiplicada pelo fator de diluição correspondente, expressou o número de unidades formadoras de colônias de microrganismos heterotróficos, mesófilos aeróbios ou facultativos viáveis.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. 1 Pesquisa de *Aeromonas* sp.

No decorrer dos seis meses de realização do trabalho, verificou-se que todas as 96 amostras analisadas (água e peixe), foram positivas para a presença de *Aeromonas* sp. Trezentas colônias, sugestivas de pertencerem ao gênero *Aeromonas* foram isoladas das amostras e submetidas à triagem, sendo 162 caracterizadas como *Aeromonas* sp. A Tabela 1 apresenta o número de isolados de *Aeromonas* sp. das amostras oriundas das pisciculturas avaliadas.

Tabela 1. Número de isolados de *Aeromonas* sp. da água dos viveiros e dos peixes, provenientes de 12 pisciculturas situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.

Propriedades	Nº de isolados		
	Água	Peixe	Total
P1	2	1	3
P2	2	3	5
P3	2	3	5
P4	4	6	10
P5	8	4	12
P6	12	11	23
P7	15	8	23
P8	15	4	19
P9	7	7	14
P10	13	6	19
P11	2	13	15
P12	7	7	14
Total	89	73	162

Em todas as 12 propriedades avaliadas, houve isolamento de bactérias do gênero *Aeromonas*. Dos 162 isolados, 89 foram oriundos das amostras de água e 73 de peixes, correspondendo a 55% e 45%, respectivamente, sendo a maioria proveniente das amostras de água.

Bactérias do gênero *Aeromonas* têm sido apontadas como agentes de gastroenterites e infecções de pele em seres humanos, principalmente em pacientes imunocomprometidos (JANDA & ABBOTT, 1998; KO et al., 2000). São também consideradas importantes patógenos de peixes (AUSTIN & ADAMS, 1996). Além disso, a possibilidade de deterioração de pescados por aeromonas foi confirmada por alguns autores (GIBSON, 1992; GONZALEZ- SERRANO, et al., 2001).

Dados do presente trabalho revelaram a ampla disseminação de *Aeromonas* sp. nas pisciculturas avaliadas, confirmando os achados de outros autores que destacaram a ocorrência desse agente bacteriano no ambiente aquático, principalmente em água doce e peixes (HATHA, et al., 2005; HIRSCH et al., 2006; AKINBOWALE, et al., 2007). Dessa forma, os resultados deste trabalho sugerem que tais propriedades representavam, no período da investigação, um importante reservatório natural de aeromonas, sugerindo possibilidade de risco para os animais cultivados e em caso surtos, prejuízos econômicos a essas propriedades.

A Figura 9 demonstra o percentual de *Aeromonas* sp. das amostras de água e peixe oriundas das pisciculturas estudadas.

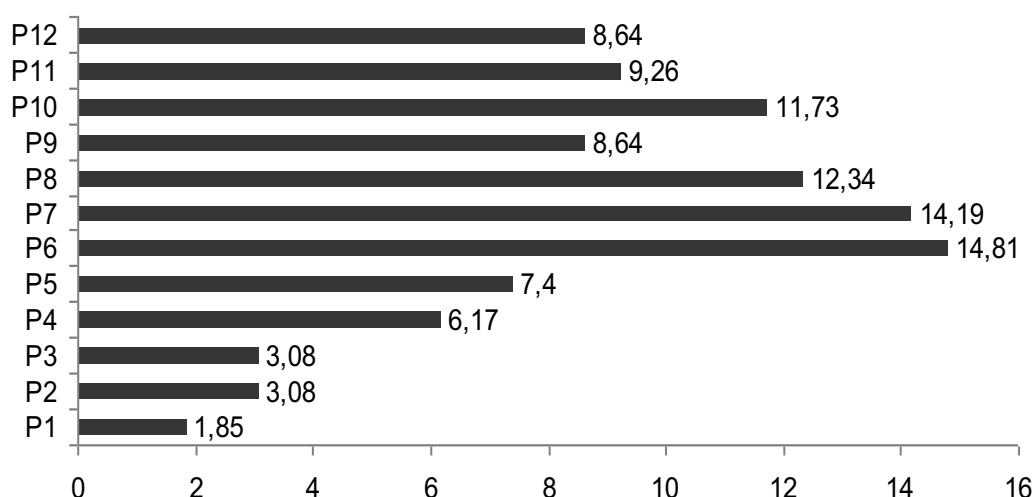


Figura 9. Percentual de *Aeromonas* sp. das amostras de água e peixe de 12 pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.

Das 12 pisciculturas pesquisadas, aquelas de número 6 e 7 concentraram o maior número de aeromonas, correspondendo juntas a um total de 29% dos isolados. As propriedades 1, 2 e 3 apresentaram os menores números de isolados confirmados, com apenas 4,93% dos isolados obtidos. As P6 e P7 estão entre as maiores pisciculturas da Região, sendo importantes pontos de distribuição de peixes para o comércio (feiras e mercados) e venda de adultos e alevinos para outras propriedades. Dessa forma, peixes contaminados provenientes dessas pisciculturas poderiam servir

de veículo de disseminação de aeromonas para outras fazendas e para o comércio varejista.

De um total de 48 amostras de peixes avaliadas, 50% pertenceram à espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*). De acordo com dados oficiais, essa é a espécie de peixes mais cultivada no Maranhão (IBAMA, 2007). Logo, houve maior número de isolamentos de aeromonas provenientes dessa espécie, correspondendo a 53% do total de isolados.

A Figura 10 apresenta a distribuição de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água e peixe das pisciculturas situadas na Baixada Ocidental Maranhense durante os meses de realização do trabalho.

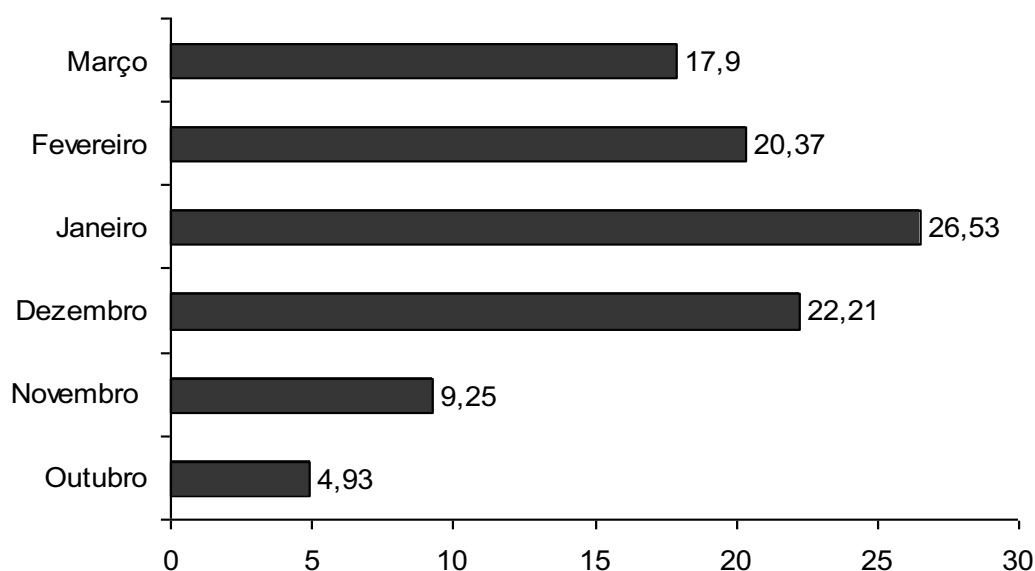


Figura 10. Percentual de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.

Durante o período do estudo, o maior número de isolamentos de aeromonas ocorreu nos meses de janeiro, dezembro e fevereiro, com percentuais de 26,53%, 22,21% e 20,37%, respectivamente. Nos meses de outubro e novembro, ocorreram os menores percentuais de bactérias isoladas (4,93% e 9,25%).

O efeito da sazonalidade em relação à ocorrência de aeromonas tem sido estudado por alguns autores (PETTIBONE, 1998; WANG & SILVA, 1999). PETTIBONE (1998) verificou, em seus estudos no Rio Búfalo (Estados Unidos), o aumento da ocorrência de aeromonas nas amostras de água durante o período de chuvas de verão. WANG & SILVA (1999) também afirmaram que a incidência desses patógenos em filés de *catfish* foi maior nos meses de verão do que nas outras estações.

Apesar de não terem sido feitas colheitas seriadas durante as estações seca e chuvosa, no presente estudo, os maiores percentuais de *Aeromonas* sp. coincidiram com o período de início de chuvas na região, que apresenta temperaturas elevadas (acima de 30°C). Dessa forma, esses resultados sugerem que a temperatura e a precipitação pluviométrica podem ter influência no aumento da ocorrência de aeromonas nessas pisciculturas.

A Figura 11 apresenta a ocorrência das diferentes espécies de *Aeromonas* spp. em relação às amostras analisadas.

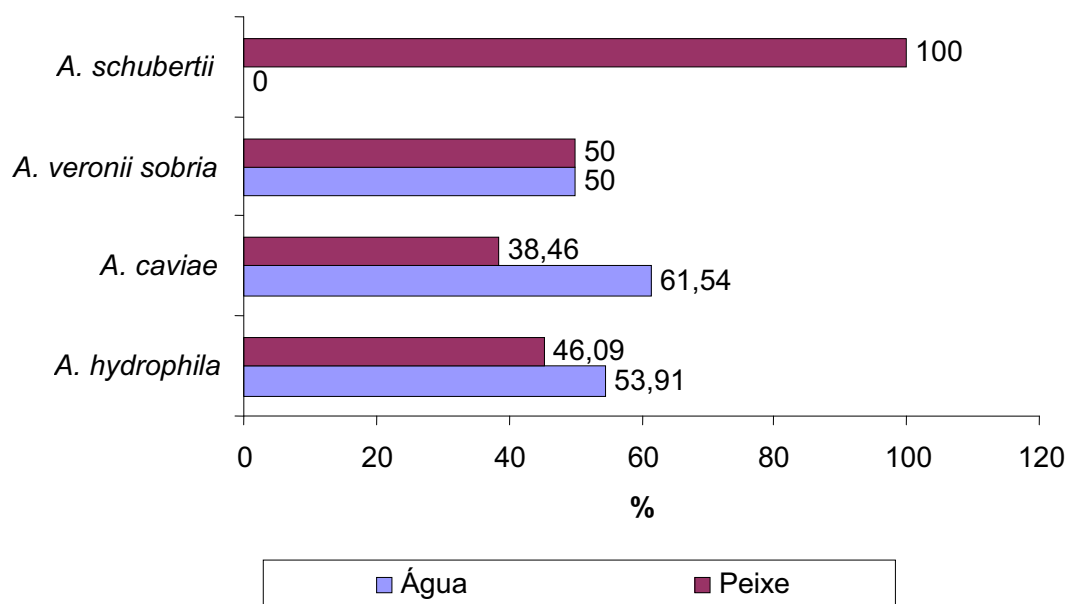


Figura 11. Percentual de espécies de *Aeromonas* spp. isoladas de amostras de água e peixes de pisciculturas, da Baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.

De acordo com a chave de identificação utilizada nesse estudo, verificou-se a ocorrência de quatro espécies de aeromonas entre as diferentes amostras e as 12 propriedades estudadas, sendo elas: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria* e *A. schubertii*. Do total de *Aeromonas* sp. identificadas, 141 (87,03%) foram de *A. hydrophila*, 13 (8,02%) de *A. caviae*, 6 (3,70%) de *A. veronii sobria* e 2 (1,23%) de *A. schubertii*.

As espécies *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii sobria* foram identificadas tanto na água quanto nos peixes. As espécies *A. hydrophila* e *A. caviae* predominaram nas amostras de água (53,90% e 61,54%). Já *A. veronii sobria* teve ocorrência igual nos dois tipos de amostras analisadas (50%), enquanto *A. schubertii* (100%) foi encontrada somente nas amostras de peixes.

Dois isolados de *A. schubertii* foram identificados nas amostras de peixes. JANDA & ABBOT (2010) evidenciam que essa espécie não tem ocorrência em água doce, fato este que corrobora com o dado do presente trabalho. No entanto, essa espécie já foi encontrada em amostra de água dos viveiros de piscicultura de Minas Gerais. Em pesque-pague de São Paulo, a espécie foi identificada tanto em amostras de peixe como de água (AZEVEDO et al., 2003; HIRSCH et al., 2006). Essas diferenças podem ser justificadas pelo fato dos isolados terem sido identificados em regiões geográficas diferenciadas e pela utilização de metodologias distintas.

Apesar de não ter sido realizada a pesquisa de fatores de virulência nos isolados de aeromonas deste estudo, as espécies identificadas (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria* e *A. schubertii*) são consideradas potencialmente patogênicas, tanto para o ser humano como para peixes (ABBOTT et al., 2003). Além disso, isolados de *A. hydrophila* da água (ambientais) e clínicos apresentaram os mesmos fatores de virulência associados à patogênese de infecções causadas por aeromonas, em estudo realizado no Sul da Itália (KROVACEK et al., 1994). O que reforça a importância da espécie para a saúde pública, seja ela de origem ambiental ou clínica.

Os isolados de *A. hydrophila*, no presente trabalho, foram obtidos de peixes sem nenhum tipo de sintomatologia, sugerindo que esses exemplares eram portadores

dessas espécies bacterianas. *A. hydrophila* foi a espécie mais frequentemente isolada em outro estudo com peixes também aparentemente saudáveis (SANTOS et al., 1988).

A. hydrophila é uma bactéria patogênica isolada com frequência em amostras de várias origens, incluindo água e peixes (HARNISZ & TUCHOLSKI, 2010). Essa espécie tem sido isolada principalmente de pescados. WANG & SILVA (1999) avaliaram 238 amostras de filés de *catfish* e encontraram *A. hydrophila* em 36,1% delas. Oitenta e dois isolados de aeromonas, sendo 2,6 % *A. hydrophila* e 5,2% de *A. veronii*, foram encontrados em amostras de peixes congelados comercializados na Cidade do México, além disso essas bactérias apresentaram fatores de virulência como aerolisinas, proteases, lipases (CASTRO-ESCARPULLI et al., 2003).

Trabalho realizado por GONZÁLEZ-SERRANO et al. (2002) avaliaram a ocorrência de fatores de virulência de *A. hydrophila* e *A. veronii sobria* oriundas de amostras de peixe e verificou que a sua expressão acontecia nessas espécies, mesmo em baixas temperaturas (4 °C), enfatizando o significado desses microrganismos para a saúde pública.

As mesmas espécies de aeromonas identificadas no presente trabalho foram isoladas de amostras de fezes de pacientes com diarreia (HOFER et al., 2006; GUERRA, et al., 2007; PEREIRA et al., 2008). Esses dados sugerem existir uma forte conexão entre os alimentos contaminados com aeromonas e os sintomas em pacientes hospitalizados.

PEREIRA et al. (2004), ao avaliarem a presença de aeromonas em mexilhões *in natura* e pré-cozidos, no Rio de Janeiro, sugeriram a possibilidade de contaminação cruzada por essas bactérias em suas amostras e alertam para a importância da adoção das boas práticas para minimizar a ocorrência de problema.

Os peixes cultivados nas pisciculturas avaliadas são comercializados nas cidades da região (nas feiras livres ou em mercados), nas quais as condições de higiene muitas vezes são precárias, representando um potencial risco para a população consumidora, caso estejam contaminados com aeromonas.

4.2 Perfil de resistência aos antimicrobianos

De acordo com a Tabela 2, de um modo geral, os isolados de *Aeromonas* sp., oriundos das pisciculturas avaliadas, apresentaram elevados percentuais de resistência aos 12 antimicrobianos testados. Além disso, também mostraram percentuais de resistência intermediária bastante expressivos.

TABELA 2. Comportamento de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água e peixe oriundas de pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, durante o período de outubro/2008 a março/2009, frente a ação de antimicrobianos.

Antimicrobianos	Número de isolados			
	Resistentes	Sensíveis	Intermediários	Total
Ampicilina	89 (100%)	0	0	89
Amicacina	32 (35,9%)	40 (44,9%)	17 (19,1%)	89
Amoxicilina				
+ Clavulonato	80 (89,9%)	4 (4,5%)	5 (5,6%)	89
Cefalotina	89 (100%)	0	0	89
Cefepime	69 (77,5%)	9 (10,1%)	11 (12,3%)	89
Cefoxitina	82 (92,1%)	2 (2,2%)	5 (5,6%)	89
Cefuroxima	70 (78,6%)	8 (8,9%)	11 (12,3%)	89
Ceftazidima	69 (77,5%)	14 (15,7%)	5 (5,6%)	89
Ciprofloxacina	11 (12,3%)	36 (40,4%)	42 (47,1%)	89
Gentamicina	12 (13,5%)	47 (52,8%)	30 (33,7%)	89
Meropenem	21 (23,6%)	50 (56,1%)	18 (20,2%)	89
Sulfazotrim	54 (60,7%)	29 (32,6%)	6 (6,7%)	89

De acordo com SCHMIDT et al. (2000), aeromonas móveis têm sido frequentemente isoladas em ambientes de pisciculturas que apresentam elevados percentuais de resistência aos mais diversos antimicrobianos, o que pode ser confirmado também neste estudo. Entretanto, em estudo realizado por HARNISZ & TUCHOLSKI (2010), as aeromonas isoladas de água e carpas de uma piscicultura apresentaram baixa resistência aos antibióticos testados, diferente dos resultados do presente trabalho.

Neste trabalho, todos os isolados mostraram-se resistentes aos antimicrobianos ampicilina e cefalotina. É importante relatar que a resistência à ampicilina é esperada na grande maioria das espécies de aeromonas, sendo esse antimicrobiano utilizado como seletivo nos meios de cultura. A resistência de aeromonas aos β -lactâmicos (penicilinas e muitas cefalosporinas) é explicada, visto que são produtoras naturais de β -lactamase ou induzem a atividade dessa enzima (JACOBS & CHENIA, 2007).

A resistência à cefalotina tem sido utilizada para diferenciar a espécie *A. veronii* biogrupo *veronii* de *A. hydrophila* (CARNAHAN et al., 1991). Esse fato que ocorreu neste estudo, visto que todas as aeromonas foram resistentes ao referido antimicrobiano, não havendo, portanto, nenhum isolado pertencente à espécie *A. veronii* biovar *veronii*.

As drogas em que as bactérias demonstraram menores percentuais de resistência foram ciprofloxacina (11,2%) e meropenem (22%). Em caso de enfermidades causadas por aeromonas, nas pisciculturas avaliadas na pesquisa, esses princípios ativos deveriam ser os produtos de eleição.

Os resultados desse trabalho foram semelhantes aos de PENDERS et al. (2008) que não encontraram aeromonas resistentes ao ciprofloxacina em amostras *catfish* oriundas de pisciculturas da Holanda. A baixa resistência de aeromonas ao ciprofloxacina foi também evidenciada por AKINBOWALE et al. (2007), quando analisaram amostras de truta em pisciculturas.

As quinolonas são substâncias de eleição para o tratamento de infecções causadas por *Aeromonas* sp. (SINHA et al., 2004). Há preocupação na sua utilização indiscriminada, pois a resistência a esse antibiótico tem origem no cromossomo (ALCAIDE et al., 2009). No entanto, esse medicamento ainda é muito pouco utilizado no Brasil, em virtude do seu alto custo. Isso talvez explique os baixos níveis de resistência dos isolados de aeromonas a essa droga, confirmados também no presente trabalho.

Em relação às elevadas frequências de aeromonas com resistência intermediária, é importante lembrar que, do ponto de vista clínico, essas bactérias seriam consideradas como amostras resistentes, tornando ainda menores as opções de substâncias disponíveis para o tratamento de pacientes com enfermidades causadas pelas bactérias aqui pesquisadas.

A Figura 12 apresenta os percentuais de resistência de *Aeromonas* sp. isoladas da água dos viveiros das pisciculturas estudadas.

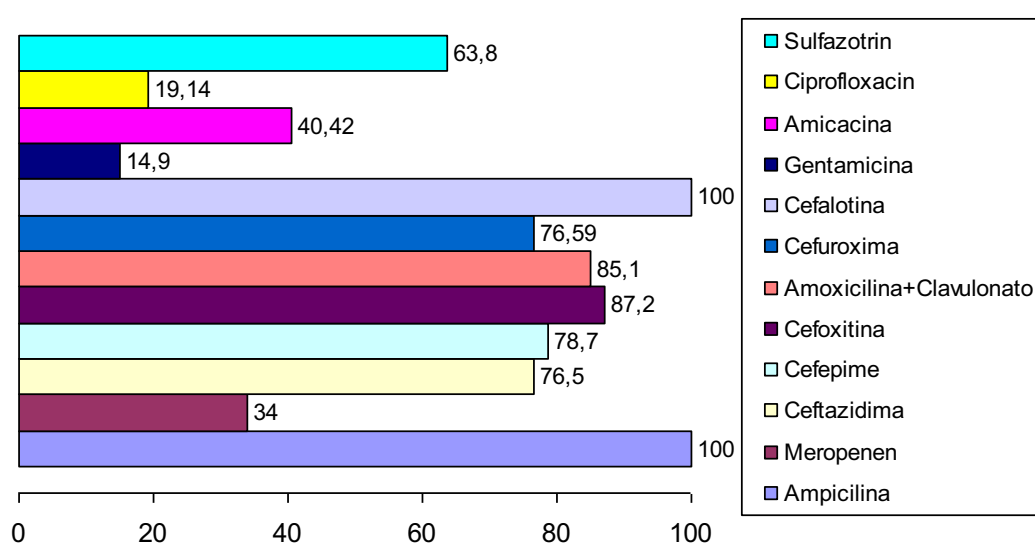


Figura 12. Comportamento de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água dos viveiros de pisciculturas, situadas na Baixada Maranhense, no período de outubro/2008 à março/2009, frente à ação de antimicrobianos

No presente trabalho, foi verificado que as aeromonas oriundas da água dos viveiros apresentaram altos percentuais de resistência às drogas testadas. 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 dos peixes, muitas vezes de forma indiscriminada (SAPKOTA et al., 2008). De acordo com HATHA et al. (2005), a pressão seletiva pode influenciar a resistência antimicrobiana. Entretanto, neste estudo, em nenhuma das propriedades havia sido utilizado algum tipo de antimicrobiano. Percentuais significativos de isolados

resistentes aos antimicrobianos testados foram verificados em amostras de água de viveiros oriundas de uma piscicultura de tilápia sem uso prévio dessas substâncias (LIMA et al., 2006). Esses resultados sugerem que outros fatores, tais como: troca de plasmídios de resistência entre bactérias, bactérias transferidas de outros nichos, entre outros, podem ser responsáveis pelos elevados percentuais de resistência aos antimicrobianos nas pisciculturas estudadas.

Em relação aos antibióticos cefoxitina e à associação amoxicilina e clavulonato, as bactérias mostraram percentuais mais elevados de resistência: 87% e 85%, respectivamente. Pouca resistência foi verificada frente à gentamicina (14,9%), ao ciprofloxacina (19,14%) e ao meropenem (34%).

A Figura 13 apresenta o percentual de resistência de *Aeromonas* sp. isoladas de peixes das pisciculturas avaliadas.

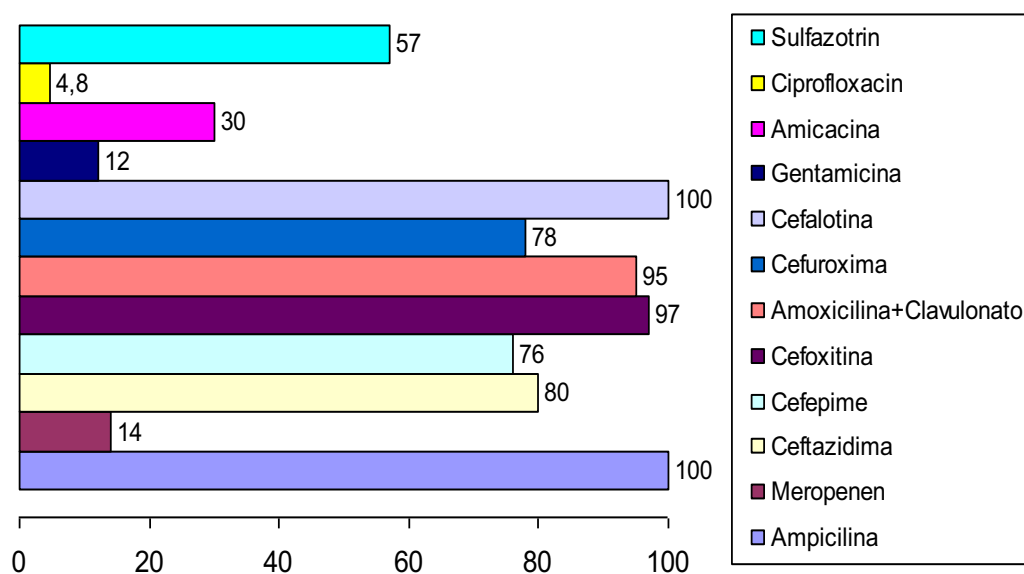


Figura 13. Comportamento de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de peixes de pisciculturas, situadas na Baixada Maranhense, no período de outubro/2008 à março/2009, frente a ação de antimicrobianos.

As aeromonas oriundas dos peixes também apresentaram isolados com elevados percentuais de resistência às drogas testadas. Assim como na água, foram

verificados altos percentuais de resistência em relação à cefoxitina (97%) e à associação amoxicilina e clavulonato (95%), só que, nessas amostras, os percentuais foram ainda maiores. Em relação à associação (amoxicilina e clavulonato), essa característica já era esperada, considerando a elevada prevalência de genes de β -lactamases nas bactérias do gênero *Aeromonas*, algumas das quais resistentes à inibição do ácido clavulônico (IACONIS & SANDERS, 1990; SEGATORE et al., 1993).

Os antimicrobianos, aos quais os isolados apresentaram menor resistência, foram o ciprofloxacina, a gentamicina e o meropenem, com percentuais de resistência de 4,8, 12 e 14%, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por AKINBOWALE et al. (2007), em pisciculturas da Austrália, em que todos os isolados de *aeromonas* oriundos de peixes foram sensíveis à gentamicina e ao ciprofloxacina.

4.2.1 Perfil de Multirresistência

As Tabelas 3 e 4 apresentam os perfis de multirresistência dos isolados de *Aeromonas* sp. de amostras de água e peixe das pisciculturas avaliadas.

Tabela 3. Perfil de multirresistência de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, durante o período de outubro/2008 a março/2009.

Nº de antimicrobianos aos quais as aeromonas apresentaram resistência	Nº de isolados		Total
	Água	Peixe	
3	1	0	1
5	5	3	8
6	3	8	11
7	10	9	19
8	13	13	26
9	8	6	14
10	4	3	7
11	1	0	1
12	2	0	2
Total	47	42	89

Tabela 4. Perfil de multirresistência das espécies de *Aeromonas* sp. isoladas de amostras de água e peixe de pisciculturas, situadas na Baixada Ocidental Maranhense, durante o período de outubro/2008 a março/2009.

Espécies	Nº de antimicrobianos aos quais as aeromonas apresentaram resistência									Total
	3	5	6	7	8	9	10	11	12	
<i>A. hydrophila</i>	1	8	10	14	19	10	6	1	2	71
<i>A. caviae</i>	0	0	1	2	5	1	1	0	0	10
<i>A. veronii sobria</i>	0	0	0	2	2	2	0	0	0	6
<i>A. schubertii</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
Total	1	8	11	19	26	14	7	1	2	89

Os isolados de aeromonas obtidos nessas pisciculturas foram resistentes a, no mínimo, três antimicrobianos (um isolado) e, no máximo, a 12 antimicrobianos (dois isolados), sendo 26 deles resistentes a oito antimicrobianos ao mesmo tempo. SCHMIDT et al. (2000) relataram a importância das aeromonas resistentes a antimicrobianos oriundas da aquicultura e sugerem que altos níveis de multirresistência indicam a possibilidade de difusão horizontal de genes de resistência. E ainda, segundo os autores citados, pelo fato dessas aeromonas serem encontradas nesse ambiente, a troca de plasmídeos entre elas pode ser facilitada e resultar no aumento da frequência de amostras multirresistentes.

Os isolados que apresentaram maiores índices de multirresistência, ou seja, que demonstraram resistência a todas as drogas testadas, foram provenientes da água e pertencentes à espécie *A. hydrophila*. Resultado semelhante ao do presente estudo foi encontrado em trabalho realizado em Kolkata na Índia. *A. hydrophila*, potencialmente patogênica e multirresistente a antimicrobianos, foi identificada em amostras de águas superficiais (BROWMIK et al., 2009).

Dentre as espécies de *Aeromonas* spp., esta apresenta grande importância para a saúde pública. Estudos com *A. hydrophila* indicam a existência de muitas amostras altamente resistentes a alguns antimicrobianos utilizados na prática clínica, dificultando a cura de doença causada por essa bactéria (DASKALOV et al., 2006).

Esses resultados indicam um risco potencial para a saúde pública e sugerem que as águas dos viveiros devem ser monitoradas constantemente com o objetivo de detectar a presença de aeromonas e reduzir os riscos para a saúde pública.

4.3 Quantificação de coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas em água de viveiros

As populações de coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas mesófilas, da água dos viveiros e número de isolados de *Aeromonas* sp. das pisciculturas avaliadas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Populações coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas mesófilas, e número de isolados de aeromonas em água de viveiros de pisciculturas, situadas da região da baixada Ocidental Maranhense, no período de outubro de 2008 a março de 2009.

Propriedades	Amostras	Coliformes termotolerantes NMP/100mL	Média NMP/100mL	Microorganismos heterotróficos/mesófilos UFC/mL	Média UFC/mL	Nº de isolados de <i>Aeromonas</i> sp.
P1	1	$9,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$	3
	2	$8,0 \times 10^2$		$9,0 \times 10^2$		
	3	$1,0 \times 10^3$		$5,0 \times 10^2$		
	4	$9,0 \times 10^2$		$1,2 \times 10^3$		
P2	1	$2,0 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$1,2 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	5
	2	$3,0 \times 10^2$		$1,6 \times 10^3$		
	3	$1,0 \times 10^2$		$1,2 \times 10^3$		
	4	$0,8 \times 10^2$		$1,2 \times 10^3$		
P3	1	$1,2 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	5
	2	$1,6 \times 10^3$		$1,0 \times 10^2$		
	3	$2,0 \times 10^3$		$5,0 \times 10^2$		
	4	$1,6 \times 10^3$		$4,0 \times 10^2$		
P4	1	$2,2 \times 10$	$2,3 \times 10$	$1,0 \times 10^3$	$6,5 \times 10$	10
	2	$0,3 \times 10$		$6,0 \times 10^2$		
	3	$0,3 \times 10$		$5,0 \times 10^2$		
	4	$0,1 \times 10$		$5,0 \times 10^2$		
P5	1	$2,4 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	$7,2 \times 10^3$	12
	2	$1,2 \times 10^3$		$8,0 \times 10^3$		
	3	$2,0 \times 10^3$		$1,0 \times 10^4$		
	4	$8,0 \times 10^2$		$4,8 \times 10^3$		
P6	1	$1,5 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	24
	2	$1,1 \times 10^3$		$1,8 \times 10^3$		
	3	$5,0 \times 10^2$		$2,0 \times 10^3$		
	4	$5,0 \times 10^2$		$1,8 \times 10^3$		
P7	1	$1,0 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$	23
	2	$1,8 \times 10^2$		$2,0 \times 10^3$		
	3	$3,0 \times 10^2$		$1,0 \times 10^3$		
	4	$1,0 \times 10^2$		$1,0 \times 10^3$		
P8	1	$1,0 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$8,6 \times 10$	$1,4 \times 10^3$	20
	2	$2,4 \times 10^3$		$2,0 \times 10^3$		
	3	$2,2 \times 10^3$		$1,6 \times 10^3$		
	4	$8,0 \times 10^2$		$1,3 \times 10^3$		
P9	1	$9,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	$2,8 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	14
	2	$1,2 \times 10^3$		$1,2 \times 10^3$		
	3	$1,0 \times 10^3$		$1,4 \times 10^3$		
	4	$5,0 \times 10^2$		$1,8 \times 10^3$		
P10	1	$6,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	$3,5 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	19
	2	$7,5 \times 10^2$		$4,4 \times 10^3$		
	3	$2,2 \times 10^2$		$1,3 \times 10^3$		
	4	$4,3 \times 10^2$		$2,4 \times 10^3$		
P11	1	$1,4 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$1,6 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	15
	2	$2,0 \times 10^3$		$1,2 \times 10^2$		
	3	$2,0 \times 10^3$		$1,2 \times 10^2$		
	4	$1,0 \times 10^3$		$1,5 \times 10^2$		
P12	1	$3,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	14
	2	$1,0 \times 10^2$		$1,3 \times 10^3$		
	3	$1,5 \times 10^2$		$1,1 \times 10^3$		
	4	$2,5 \times 10^2$		$1,6 \times 10^3$		

Bactérias heterotróficas mesófilas aeróbias ou facultativas viáveis podem indicar a existência de diversos grupos de microrganismos patogênicos e oportunistas que constituem risco aos peixes e a saúde pública.

As populações de bactérias heterotróficas mesófilas nas pisciculturas avaliadas variaram de 10^2 UFC/mL, na P3, a 10^4 UFC/mL, na P5. Esses resultados foram menores que os encontrados por HARNISZ & TUCHOLSKI (2010), que descreveram valor máximo de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL em água de viveiros de piscicultura de carpas na Polônia. As populações totais dessas bactérias em viveiros na Noruega variaram de 4×10^4 a 9×10^5 (ENGER et al., 1991) resultados esses mais próximos dos encontrados no presente estudo.

Em viveiros com contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas acima de 10^4 UFC/mL, pode haver risco de patógenos humanos penetrarem na musculatura dos peixes (MARA & CAIRNCROSS, 1989). O potencial de invasão do músculo aumenta com a duração da exposição do peixe à água contaminada (STRAUSS, 1985). Apesar de a maioria dos resultados do presente estudo estarem abaixo daquele valor, é necessário que todos os cuidados de higiene sejam tomados durante a manipulação do pescado proveniente desses viveiros, tendo em vista a possibilidade de aumento dessas populações ao longo da cadeia produtiva.

De acordo com a resolução do CONAMA 375/05 (BRASIL, 2005) para águas doces destinadas à aquicultura e atividade de pesca (classe 2), a população de coliformes termotolerantes não deverá exceder 1.000 coliformes termotolerantes /100mL, em 80% ou mais de pelo menos seis amostras coletadas durante um ano, com frequência bimestral.

Os resultados do presente estudo indicam que, das 48 amostras analisadas, 19 apresentaram populações de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação. E ainda, das 12 pisciculturas avaliadas, sete (P1, P3, P5, P6, P8, P9, P11), tiveram pelo menos uma amostra em desacordo com a lei. No entanto, seria necessário que fossem realizadas coletas bimestrais durante um ano e que 80% dessas amostras continuassem com essas populações.

Caso essas contaminações persistam, as águas dessas pisciculturas podem ser consideradas impróprias para uso. Os resultados do presente estudo reforçam a importância do monitoramento da qualidade microbiológica dessas águas ao longo do ano.

De acordo com GUZMÁN et al. (2004), *Escherichia coli* é capaz de penetrar nos órgãos dos peixes quando se encontra em concentrações de 10^3 NMP/mL e a microbiota do peixe é reflexo da qualidade microbiológica da água.

Dados do presente estudo corroboram os de NUNES (2009) e LOREZON (2009) que avaliaram amostras de água de pesque-pague e encontram mais da metade das propriedades pesquisadas com populações acima de 1.000 coliformes termotolerantes/100 mL. No Rio de Janeiro, a maioria das amostras de água de viveiros de uma estação de reciclagem de nutrientes onde são cultivadas tilápias, apresentou populações de coliformes termotolerantes > 1.800 NMP/100 mL (ESPOSTO et al., 2007).

Em decorrência do contato íntimo entre água e peixe no ambiente aquático, os dados do presente estudo são preocupantes. LOREZON (2009) relacionou as altas concentrações de coliformes na água dos viveiros com as do trato gastrointestinal e da pele dos peixes e evidenciou a preocupação com a manipulação do peixe, durante as etapas de abate e processamento, em virtude da possibilidade de contaminação cruzada.

Em contraste com os resultados do presente trabalho, a água dos viveiros de pisciculturas consorciadas com suínos, na cidade de Chapecó-SC, encontrava-se dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela Legislação (PILARSKI et al., 2004). É importante lembrar que, mesmo em baixas concentrações, a presença desses microrganismos indica risco potencial de transmissão de patógeno aos seres humanos, em razão da contaminação cruzada.

A contaminação dos viveiros por coliformes termotolerantes pode ser resultado do aporte de fezes de animais homeotérmicos. Durante a realização da pesquisa, foi

possível verificar, em várias das pisciculturas avaliadas, a presença de animais (suínos, caprinos, aves e cães) no entorno dos viveiros, sugerindo que possam servir de fonte de contaminação de coliformes para a água dos viveiros.

Muito embora o presente trabalho não tenha quantificado as populações de aeromonas na água dos viveiros, apenas evidenciou a presença dessas bactérias. É importante relatar que várias pesquisas têm realizado correlações entre as populações de aeromonas e de coliformes termotolerantes.

Trabalho realizado por PETTIBONE (1998) confirmou uma forte correlação entre a ocorrência de *Aeromonas* sp. e o indicador de contaminação fecal nas amostras de água do Rio Búfalo (EUA), principalmente nos meses de verão, apesar de que, nesse caso, a ocorrência de *Aeromonas* geralmente excedeu a contagem de coliformes fecais. ROCHA (2004) demonstrou não existir correlação entre *Aeromonas* sp. e *E.coli* em amostras de água de estação de tratamento de esgoto por lagoas de estabilização em Lins (SP), justificando que as duas espécies têm características e origens diferenciadas.

Embora as aeromonas sejam autóctones de água doce, elevados níveis de poluição ambiental podem resultar em aumento substancial desses microrganismos, afetando a sua distribuição (MARCEL et al., 2002). Além disso, a poluição fecal tem importante papel na determinação da composição das espécies e dinâmica da população de *Aeromonas* sp.

5 CONCLUSÕES

De acordo com as condições de realização do presente trabalho, foi possível concluir que:

- Bactérias do gênero *Aeromonas* foram identificadas em todas as amostras de peixe e água dos viveiros das propriedades avaliadas na Região da Baixada Maranhense;

- As espécies de *Aeromonas* spp., identificadas nas amostras de peixe e água das pisciculturas analisadas, foram *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronni sobria*, *A. schubertii*;

- Os isolados de aeromonas apresentaram elevados percentuais de resistência e multirresistência frente aos vários antimicrobianos testados, principalmente à ampicilina, cefalotina, cefoxitina e amoxicilina e clavulonato.

- As amostras de água dos viveiros de mais da metade das pisciculturas avaliadas apresentaram populações de coliformes termotolerantes acima do máximo estabelecido pela Legislação vigente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a importância da Região da Baixada Ocidental Maranhense, o seu potencial para atividades aquícolas, principalmente para piscicultura, e a inexistência de trabalhos dessa natureza na referida Região, torna-se relevante fazer algumas considerações acerca dos resultados do presente estudo.

Os resultados demonstraram a necessidade de um monitoramento constante e preocupação com a qualidade da água utilizada para o cultivo dos peixes da região do estudo, em virtude da ocorrência das bactérias pesquisadas e dos elevados percentuais de aeromonas multirresistentes aos antimicrobianos nesses ambientes. Os resultados obtidos evidenciaram o risco à saúde pública pela possibilidade de difusão dessas bactérias para outras pisciculturas e até para outros nichos ecológicos, incluindo o ambiente humano.

Torna-se urgente e necessário o esclarecimento e conscientização dos produtores sobre as boas práticas de manejo, principalmente relacionadas aos cuidados com animais no entorno dos viveiros, que podem servir de fonte de contaminação, das medidas profiláticas e do controle de qualidade da água utilizada para abastecimento dos viveiros.

Dessa forma, serão minimizados os problemas sanitários nas pisciculturas, trazendo benefícios econômicos com a melhora do desempenho produtivo dos peixes, uso racional de antibióticos, garantia de padrões sanitários nos ambientes aquáticos, o que determinará no final, o bemestar dos animais, do ser humano e preservação do meio ambiente.

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**, Washington, v.41, n.6, p. 2348-2357, 2003.

ABEYTA JÚNIOR , C. ; KAISNER WEKEL, M. M.; STOFF, R. F. Incidence of motile aeromonads from United States west coast shellfish growing estuaries. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.53, n.10, p.849-855, 1990.

AKINBOWALE, O. L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M. D. Antibiotic resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, n. 30, p. 177-182, 2007.

ALBERT, M. J.; ANSARUZZAMAN, M.; TALUKDER, K. A.; CHOPRA, A. K.; KUHN, I.; FARUQUE, A. S. G.; ISLAM, M. S., SACK, R. B.; MOLBY, R. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* sp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.38, p. 3785-3790, 2000.

ALCAIDE, E.; BLASCO, M. D; ESTEVE, C. Mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas* species isolated from humans, water and eels. **Research in Microbiology**, Paris, p. 1-6, 2009.

ALTWEGG, M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: MURRAY,P.R.; BARON, M.A.; PFALLER, E. J.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (Ed). **Manual Clinical Microbiology American Society Microbiology**, p. 507-516,1999.

ALVES, J. M. C.; FRASCA-SCORVO, C. M. D; SCORVO FILHO, J. D.; LARA, L. B.; CASEIRO, A.; ROMERO, S.; MELLO, R. F. Segurança alimentar na produção de organismos aquáticos, In: **Feed & Food- segurança alimentar para a saúde e bem-estar do homem**. v.1, n.4, p.16-23, 2006.

AMADOR , L. V. **Estudio taxonômico de aeromonas móviles y salicilina naegativas**.2006. Tese (Doutorado) Facultad de Ciencias Biológicas da Universitat de Valencia, Valência, 2007.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; ROSSSI JÚNIOR, O. D. Redução dos números de bactérias indicadoras de poluição e microrganismos mesófilos nas diferentes fases de tratamento da água na Estação de tratamento de água da cidade de Jaboticabal/SP. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v. 6, p. 08-09, 1992.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. 2001. Committee on Microbiological for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association,. 676p.

ARAÚJO, R. M.; ARRIBAS, R. M.; LUCENA, F.; PERES, R. Relations between aeromonas and faecal coliforms in fresh waters. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 67, p. 213-217, 1989.

AZEVEDO, V. M.; MORITA, M.; DROPA, M.; CABIANCA, M. A. A.; ESTEVES, K. E.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e *Vibrio cholerae* em pesque-pagues da Região Metropolitana de São Paulo. **REVNET DTA**, São Paulo, v. 3, n. 4, p. 114- 119, 2003.

AUSTIN, B.; ADAMS, C. Fish pathogens. In: AUSTIN, B.; ALTWEGG, M.; GOSLING, P.J.; JOSEPH, S. (Eds): **The genus Aeromonas**– J. Wiley & Sons, Ltda, p. 197-244, 1996.

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 Instituto Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 3: p. 355 - 363, 2008.

BARRETO, J. P. A indústria brasileira de processamento de pescado. **Revista Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 17, n.102,p. 55-59, 2007.

BARROS, G. C.; MENDES, E. S.; SANTOS, F. L. DOS. Patologia dos peixes. **Revista CFMV**, Brasília, v. 26, p. 44-56, 2002.

BHOWMIK, P.; BAG, P. K.; HAJRA, T. K.; DE, R.; SARKAR, P.; RAMAMURTHY, T. Pathogenic potential of *Aeromonas hydrophila* isolated from surface waters in Kolkata, India. **Journal Medical Microbiology**, Spencer Wood, v.58, p. 1549-1558, 2009.

BORGUETTI, J. R.; SILVA, U. A. T. Principais sistemas produtivos empregados comercialmente. IN: OSTRENSKI, A.; BORGHETTI, J.R; SOTO, D.(Eds): **Estudo Setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**- Curitiba: GIA, 2007, 279p.

BOSCARDIN, N. R. A produção aquícola brasileira. IN: OSTRENSKI, A.; BORGHETTI, J. R; SOTO, D.(Eds): **Estudo Setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**- Curitiba: GIA, 2007, 279p.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. O diagnóstico da pesca extrativa no Brasil. Disponível em:< [http:// www.presidencia.gov.br](http://www.presidencia.gov.br),> Acesso em: 20/12/2009.

_____.Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente

CONAMA (2005). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/>>. Acesso em 15 out. 2009.

BRAUN, P.; SUTHERLAND, J. P. Predictive modeling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of selected *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.125, p. 257-266, 2005.

CAHILL, M. M. Bacterial flora of fishes: a review. **Microbial Ecology**, v.19, p. 21-14, 1990.

CARNAHAN, A. M. *Aeromonas* taxonomy: sea of change. **Medical Microbiology Letters**, v. 2, p. 206-211, 1993.

CARNAHAN, A. M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *aeromonas* species. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.29, p. 2843-2849, 1991.

CARNAHAN, A. M.; JOSEPH, S. W. *Aeromonadaceae*. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T.; GARRITY, G.M. (Eds): **The proteobacteria, Part B, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2nd edition, v.2, Springer-Verlag, New York, NY. 2005.

CARNEIRO, M. S.; ROSSI JUNIOR, O. D. Bactérias do gênero *Aeromonas* no fluxograma de beneficiamento do leite tipo A e seu comportamento frente a ação de antimicrobianos . **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.3, p.271-276, jul./set., 2006.

CASTRO-ESCARPULLI, G.; FIGUERAS, M. J.; AGUILERA-ARREOLA, G.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-RENDÓN, E.; APARICIO, G. O.; GUARRO, J.; CHACÓN, M. R. Characterization of *Aeromonas spp.* isolated from frozen fish intended for consumption in México. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 84, p.41-49, 2003.

CHEN, L.; DANIEL, R. M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milkpowders. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.7, p.255-275, 2003.

COLWELL , R. R.; MACDONELL, M. R.; DELEY, J. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae*. fam. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**. New York, v. 36, p. 473-477, 1986.

COSTA, F. N.; ROSSI JÚNIOR, O. D. Bactérias do gênero *Aeromonas* em abatedouro de frangos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.54, n.3, p.534-535. 2002.

COSTA-NETO, J. P.; BARBIERI, R. IBÁÑEZ, M. S. R.; CAVALCANTE, P. R. S.; PIORSKI, N. M. Limnologia de três ecossistemas aquáticos característicos da Baixada Maranhense. **Boletim Laboratório de Hidrobiologia**, São Luis, n. 14/15, p. 19-38, 2001/2002.

CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. 533p.

DAILY, O. P.; JOSEPH, S. W.; COOLBAUGH, J. C.; WALKER, R. I.; MERRELL, B. R.; ROLLINS, D. M.; SEIDLER, R. J.; COLWELL, R. R.; LISSNER, C. R. Association of *Aeromonas sobria* with human infection. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, n.13, p. 769-767, 1981

DASKALOV, H. The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. **Food Control**, v. 17, p. 474- 483, 2006.

DAVISON, H. C.; LOW, C.; WOOLHOUSE, M. E. J. What is antibiotic resistance and how can we measure it? **Trends in Microbiology**, London, v. 8, n.12, p. 554- 559, 2000.

DEMARTA, A.; KU" PFERA, M.; RIEGELB, P.; HARF-MONTEILB , C.; TONOLLA, M.; PEDUZZI, R.; MONERA, A.; SAAVEDRA, M. J.; MARTI'NEZ-MURCIA, A. *Aeromonas tecta* sp. nov., isolated from clinical and environmental sources. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, n. 31, p. 278–286, 2008.

DUGENCI, S. K.; CANDAN, A. Isolation of *Aeromonas* sp. strains from the intestinal flora of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L. 1758) turk. **Journal Veterinária Animal Science**. v.27, p. 1071-1075. 2003.

ENGER, O.; HUSEVAG, B.; GOKSOYR, J. Seasonal variation in presence of *Vibrio salmonicida* and total bacterial counts in Norwegian fish-farm water. **Canadian Journal of Microbiology**. v.37, p. 618-623, 1991.

EPA, Environmental Protection Agency. 2006. *Aeromonas*: human health criteria document. Washington, 2006.

ESPOSTO E. M.; SILVA, W. C. P.; REIS, C. M. F.; REIS, E. M. F. RIBEIRO, R. V.; RODRIGUES, D. P, LÁZARO, N. S. Enteropatógenos bacterianos em peixes criados em uma estação de reciclagem de nutrientes e no ecossistema relacionado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 4, n. 27, p. 144-148, 2007.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. Database on Introductions of Aquatic species. Disponível em: <http://www.fao.org/fi/website/> Acesso: 05 jan. 2009.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food microbiology**, New York: Mc Graw - Hill, 1988. 681 p.

GASPAR, S. M. F. S.; NUNES, G. S.; PINHEIRO, C. U. B., AMARANTE JUNIOR, O. P. A. Avaliação de riscos de pesticidas aplicados no município de Arari, Maranhão, Brasil: base para programa de controle ambiental do rio Mearim. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, n.15, p.43-54, 2005.

GHATAKA, S.; AGARWALB, R. K.; BHILEGAONKARA, K. N. Comparative study of cytotoxicity of *Aeromonas* spp. on four different cell lines Comparative **Immunology Microbiology and Infectious Diseases**. Oxford, n. 29, p. 232–240, 2006.

GIBSON, D., **Personal communication**. Torry Research Station. Aberdeen Scotland. 1992.

GONZALEZ-SERRANO, C. J.; SANTOS, J. A.; GARCIA-LOPEZ, M. L. GONZALEZ, N.; OTERO, A. Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n.5, p. 687-691, 2001.

GONZALEZ-SERRANO, C. J.; SANTOS, J. A.; GARCIA-LOPEZ, M. L. GONZALEZ, N.; OTERO, A. Virulence markers in *A. hydrophila* and *A. veronii* biovar *sobria* isolates from freshwater and from a diarrhea case. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 93, n.3, p. 414-419, 2002.

GOOGLE, Mapa de localização dos municípios da baixada ocidental maranhense Disponível em; <<http://www.google.com.br>> Acesso em: 06 jan. 2010.

GUERRA, I. M. F.; FADANELLI, R.; FIGUEIRÓ, M.; SCHREINER, F.; DELAMARE, A. P. L.; WOLLHEIM, C; COSTA, S. O. P.; ECHEVERRIGARAY, S. *Aeromonas* associated diarrhoeal disease in South Brasil: prevalence, virulence factors and antimicrobial resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, n. 38, p. 638-643, 2007.

GUZMÁN, M. C.; BISTONI, M. A.; TAMAGNINI, L. M.; GONZÁLEZ, R. D. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. **Water Research**, Exeter, v. 38, p. 2368–2374, 2004.

HÄNNINEN, M. L.; OIVANEN, P.; HIRVELÄ-KOSKI, V. *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimps and freshwater. **Food Microbiology**, London, v. 34, p. 17-26, 1997.

HARNISZ, M.; TUCHOLSKI, S. Microbial quality of common carp and pikeperch fingerlings cultured in a pond fed treated wastewater. **Ecological Engineering**, v. 36, p. 466-470, 2010.

HATHA, A. A. M.; VIVEKANANDHAN, A. A.; JOICE, G. J.; CHISTOL.; Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.98, p. 131-134, 2005.

HAVELLAR, A. H.; VONK, M. The preparation of ampicilin dextrin agar for the enumeration of aeromonas in water. **Letters Applied Microbiology**, Oxford, v.7, p.169-171, 1988.

HIRSCH, D.; PEREIRA JÚNIOR, D. J.; PICCOLI, R. H.; LOGATO, P. V. R.; FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1211-1217, 2006.

HOFER, E.; REIS, C. M. F.; THEOPHILO, G. N. D; CAVALCANTI, V. O.; LIMA, N. V.; HENRIQUES, M. F. C.M. Envolvimento de *Aeromonas* em surto de doença diarréica aguda em São Bento do Una, Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, n. 39, v. 2, p. 217-220, mar-abr, 2006.

HOLMES, P.; NICCOLLS, L. M.; SARTORY, D.P. The ecology of mesophilic *Aeromonas* in the aquatic environmental. In: AUSTIN, B.; ALTWEGG, M.; GOSLING, P.J.; JOSEPH, S. (Eds): **The genus *Aeromonas***– J. Wiley & Sons, Ltda, 1996, p.127-150.

HOVDA, M. B; LUNESTAD, B. T.; ROSNES, R. F. J. T.; A Molecular characterization of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, Amsterdam, n. 272, p. 581–588, 2007.

HUDDLESTON, J. R.; ZAK, J. C.; JETER, R. M. Antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* sp. isolated from environmental sources. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 11, p. 7036- 7042, 2006.

IACONIS, J. P.; SANDERS, C. C. Purification and characterization of inducible betalactamases in *Aeromonas* spp. **Antimicrobians Agents Chemotherapy**, v. 34, p. 44-51, 1990.

IBGE, SENSO 2006. Brasília, 2006

IBAMA. **ESTATÍSTICAS DA PESCA 2005**, Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Brasília, 2007.

IBAÑEZ, M. S. R.; CAVALCANTE, P. R. S.; COSTA-NETO, J. P.; BARBIERI, R.; PONTES, J. P.; SANTANA, S. C. C.; SERRA, C. L. M.; NAKAMOTO, N.; MITAMURA, O. Limnological characteristics of three aquatic systems of the pré-amazonian floodplain, Baixada Maranhense (Maranhão, Brasil). **Aquatic Ecosystem Health and Management**, The Netherlands, n. 3. p. 521-531, 2000.

JANDA, J. M. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.4, p. 397–410, 1991.

JANDA, J. M. & ABBOTT, S. L. Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama the species, diseases presentations, and unanswered questions. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 27, p. 332-344, 1998.

JANDA, J. M. & ABBOTT, S. L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 23, p. 35–73, 2010.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L.; KHASHE, G. H.; KELLOGG, G. H.; SHIMADA, T. Further studies on biochemical characteristics and serologic properties of the genus *Aeromonas*. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, p. 1930-1933, 1996.

JACOBS, L.; CHENIA, Y. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. Isolated from South African aquaculture systems. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 114, p- 295-306, 2007.

KO, W. C., LEE, H. C., CHUANG, Y. C., LIU, C. C., WU, J. J. Clinical features and therapeutic implications of 104 episodes of monomicrobial *Aeromonas* bacteraemia. **Journal of Infectology**. n. 40, p. 267-273, 2000.

KIROV, S. M. The public health significance of *Aeromonas* sp. in food. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.20, n.4, p.179-198, 1993.

KOZINSKA, A.; FIGUERAS, M. J.; CHACON, M. R.; SOLER, L. Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Journal of Applied Microbiology**, Amsterdam, n. 93, 1034-1041, 2002.

KROVACEC, K., PASQUALE, V., BALODA, S. B., SOPRANO, V., CONTE, M., DUMONTET, S. Comparison of putative virulence factors in *Aeromonas hydrophila* strains isolated from marine environment and human diarrhoeal cases in south Italy. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, n.60, p. 1379-1382,1994.

KUBITZA, F; LOPES, T. G. G. Com palavra, os consumidores. **Revista Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, v.12, n.69. p.48-53, 2002.

LE MOS, J. B.; RODRIGUES, M. E .B.; LOPES, J. P. Diagnóstico de ectoparasitas e bactérias em tilápias (*Oreochromis niloticus*), cultivadas na região de Paulo Afonso, Bahia. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, São Luis, v.1. n.1, p. 75-89, 2006.

LIMA, R. M. S.; FIGUEIREDO, H. C. P.; FARIA, F. C. PICOLLI, R. H. ; BUENO FILHO, J. S. S; LOGATO; P. V. R. Resistência a antimicrobianos de bactérias oriundas de ambiente de criação e filés de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 126-132, 2006.

LOREZON, C. S. **Perfil microbiológico de peixes e água de cultivo em pesque-pagues situados na Região Nordeste do Estado de São Paulo..** 2009. Dissertação (mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura. Jaboticabal, 2009.

MAJUMDAR, T.; GHOSH, S.; PAL, J.; MAZUMDER, S. Possible role of a plasmid in the pathogenesis of a fish disease caused by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, Amsterdam, n. 256 p. 95–104, 2006.

MAJEED, K. N.; EGAN, A. F.; MacRAE, I. C. Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal. **Journal of Applied bacteriology**, Oxford, v.67, p.165-170, 1990.

MANUEL PABLOS, J. M.; RODRÍGUEZ-CALLEJA, J. A.; SANTOS, A. O., GARCÍA-LÓPEZ, M. L. Occurrence of motile *Aeromonas* in municipal drinking water and distribution of genes encoding virulence factors. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, n. 135, p. 158–164, 2009.

MARA, D.; CAIRNCROSS, S. **Guidelines for the safe use of wastewater and excreta in agriculture and aquaculture: measures for public health protection.** Wold Health Organization, Geneva, 1989.

MARCEL, K. A.; ANTOINETTE, A. A.; MIREILLE, D. Isolation and characterization of *Aeromonas* species from an eutrophic tropical estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.1341-1344, 2002.

MARTINS, A. G. L. A.; NASCIMENTO, A. R.; VIEIRA, R. H. S. F.; SERRA, J. L.; ROCHA, MARIA M. R. M. Quantificação e identificação de *Aeromonas* spp. em águas de superfície de estuário do rio Bacanga em São Luís / MA (BRASIL). **Boletim CEPPA**, Curitiba v. 27, n. 1, p. 107-118, 2009.

MARTINS, C. V.; VAZ, S. K. Aspectos sanitários de pescados comercializados em pesque pagues de Toledo- Pr. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, n. 16, p. 51-56, 2002.

MARTINS, L. M.; MARQUEZ, R. F.; YANO, T. Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, ,v. 32, n.3, p.237-242, 2002.

MARTINS, M. L. MIYAZAKI , D. M. Y.; MOURIÑO, J. L. P. *Aeromonas caviae* Durante surto de mortalidade em tilápia do Nilo e suplementação com vitamina C na dieta. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 34, n.4: p.585 - 590, 2008.

MASSA, S.; ALTIERI, C.; D'ANGELA, A. The occurrence of *Aeromonas* spp. in natural water and well water. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.55, p. 169-173, 2001.

MOLLERKE, R. O.; WIEST, J. M.; CARVALHO, H. H. C. Colimetrias como indicadores de qualidade de pescado artesanal do lago Guaíba, em Porto Alegre, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 99, p. 102-106, 2002.

MORAES, F. R.; MARTINS, M. L. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleostéos em piscicultura intensiva. In: POSSEBON, et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. 533p.

NAMDARI, H.; BOTTONE, E. J. Microbiology evidence supporting the role of *Aeromonas caviae* as a pediatric pathogen. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, n. 28, p. 837-840, 1990.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STUDIES. PERFORMANCE STANDARDS FOR ANTIMICROBIAL DISK SUSCEPTIBILITY TESTS. 4TH ed. NCCLS document M2-A4. Villanova, USA, 2004.

NEVES, M. S., NUNES, M. P., RICCIARDI, I. D. Incidence of motile *Aeromonas* species in aquatic environments of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.53, p.78-80, 1990.

NEWMAN, S. G. Bacterial vaccines for fishers. **Annual Review of Fish Diseases**, New York, v.3, p.145-185, 1993.

NUNES, A. P. **Análise do potencial de impacto no meio ambiente como ferramenta para educação e proteção ambiental em pesqueiros**. 2009. Dissertação (mestrado)-Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura. Jaboticabal, 2009.

OLSSON, J. C.; WESTERDAHAL, A.; CONWAY, P.L.; KJELLEBERG, S. Intestinal colonization potencial of turbot (*Scophthalmus maximus*) and dab (*Limanda limanda*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. **Applied Environmental Microbiology**, Amsterdam, v.58, p.551-556, 1992.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília: MPA, 2008. 276 p.

PAL, D.; DAS GUPTA, C. Microbial pollution in water and its effect on fish. **Journal of Aquatic Animal Health**, Bethesda, v.4, p.32-39, 1992.

PALU, A. P.; GOMES, L. M.; MIGUEL, M. A. L.; BALASSIANO, I. T.; QUEIROZ, M. L. P.; FREITAS-ALMEIDA, A. C.; OLIVEIRA, S. S. Antimicrobial resistance in food and clinical *Aeromonas* isolates. **Food Microbiology**, Oxford, v.27, p. 504-509, 2006.

PALUMBO, S. A.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; PHILLIPS, J.G. Model for anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. **Journal of Food Protection**. Amsterdam, v.55, n.4, p.260-265, 1991.

PENDERS, J.; STOBBERINGH, E. E. Antibiotic resistance of motile aeromonads in indoor "catfish" and eel farms in the southern part of Netherlands. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 31, p. 261-265, 2008.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos no Rio de Janeiro, RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p. 562-566, 2004.

PEREIRA, C. S.; AMORIM, S. D.; SANTOS, ANDRÉ F. M.; REIS, C. M. F.; THEOPHILO, G. N. D.; RODRIGUES, D. P. Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de neonatos hospitalizados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 2, p. 179-182, 2008.

PESTANA, D.; OSTRENSKY, A. Aspectos da viabilidade econômica da aquicultura em pequena e média escala. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. (Editores). **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável**, Curitiba: GIA, 2007, 279p.

PETTIBONE, G. W. Population dynamics of *Aeromonas* spp. in an urban river

Watershed. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, n. 85, p. 723–730, 1998.

PILARSKI, F.; TOMAZELLI JUNIOR, O.; CASACA, J. M.; GARCIA, F. R. M.; TOMAZELLI, I. B.; SANTOS, I. R. Consórcio suíno-peixe: aspectos ambientais e qualidade do pescado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, n. 2, p.267-276, 2004.

PILARSKI, F.; SAKABE, R. **Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: Profilaxia ou Tratamento?** In: PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M.; CYRINO, J. E. P.; FERNANDES JÚNIOR, A.C. (Ed). Anais do 3º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes, Botucatu, 2009, p.101-130.

POND, M. J.; STONE, D. M.; ALDERMAN, D. J. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the flora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v.261, p.194-203, 2006.

POPOFF , M. Genus III. *Aeromonas* Kluwer and Van Niel 1936. In: DRIEG, N. R. (Ed). **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Baltimore: Willians and Wilkins, 1984. v.1, p.545- 584.

RADU, S.; AHMAD, N.; LING, F.H.; REEZAL, A. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.81, p. 261-266, 2003.

ROCHA, S. M. **Estudo da ocorrência do gênero *Aeromonas* em sistemas de tratamento de esgotos por lagoas de estabilização no município de Lins-SP**. 2004. Tese (doutorado)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2004.

RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V.; *Aeromonas*. In: VIEIRA, R. H. F. **Microbiologia , higiene e qualidade do pescado- teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004, 380 p.

SAAD, S. M. I.; IARIA, S. T.; FURLANETTO, S. M. P. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 22-27, 1995.

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

SANTOS, Y.; TORANZO, A.E.; BARJA, J.L.; NIETO, T.P. VILLA, T.G. Virulence properties and enterotoxin production of *Aeromonas* strains isolated from fish. **Infectology and Immunology**, v. 56, p. 3285-3293, 1988.

SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A. R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environment International**, v.34, n.8, p.1215–1226, 2008.

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**, Amsterdam, v. 66, p. 4908- 4915, 2000.

SCHUBERT, R. H. W. Aeromonads and their significance as potencial pathogens in water. **Journal of Applied bacteriology Symposium Supplement**, London, n. 70, p. 131S- 135S, 1991.

SCOARIS, D. O.; BIZERRA, F. C.; YAMADA-OGATTA, S. F.; ABREU FILHO, B.A.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. The ocurrence of *Aeromonas* spp. in bottled mineral water, well water and tap water from the municipal supplies. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n.5, p. 1049-1055, 2008.

SCORVO-FILHO, J. D. **Agronegócio da aquicultura: perspectivas e tendências**. Textos técnicos do Instituto de Pesca de São Paulo. 2004. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br/textostécnicos.php>, Acesso em 13/01/2010.

SEGATORE, B; MASSIDDA,O.; SATTA, G.; SETACCI, D.; AMICOSANTE, G. T. High specificity of cphA- encoded metallo-beta-lactamase from *Aeromonas hydrophila* AE036 for carbapenems and its contribution to beta-lactam resistance. **Antimicrobians Agents Chemotherapy**, v. 37, p. 1324-1328, 1993.

SEN, K; RODGERS M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 97, p.1077- 1086, 2004.

SHIROTA, R.; SONADA, D. Y. Comercialização de pescados no Brasil: caracterização dos mercados. In: CYRINO, et al, **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004, 533p.

SINHA, S.; SHIMADA, T.; RAMAMURTHY, T.; BATTACARYA, S.K.; YAMASAKY, S.; TAKEDA, Y.; NAIR, G.B. Prevalence, serotype distribution, antibiotic susceptibility and genetic profiles of mesophilic *Aeromonas* species isolated from hospitalized diarrhoeal cases in Kolkata, India. **Journal of Medical Microbiology**, London, v.53, p. 527 -534, 2004.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; GUARIGLIA, C T. S.; BRAGA, F. M. S. Effects of rainfalls on water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v.67, n.4, p.643-649, 2007.

SORUM, H.; L' ABÉE- LUND, T. M. Antibiotic resistance in food-related bacteria- a result of interfering with the global web of bacterial genetics. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.78, p. 43-56, 2002.

STRAUSS, M. Health aspects of nightsoil and sludge in agriculture and aquaculture. Part II. Pathogen Survival. **International Reference Center of Waste Disposal**, n. 4, 87p, 1985.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. São Paulo: Atheneu, 1993. 770p.

TEUBER, M. Veterinary use and antibiotic resistance. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, n. 4, p. 493-499, 2001.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2005, 718p.

VASEEHARAN B., RAMASAMY, P.; MURUGAN T., CHEN J.C. In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v 26, p. 285–291, 2005.

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

VIVEKANANDHAN, G.; HATHA, A. A .M.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish and prawns from the seafood market of Coimbatore. **Food Microbiology**, Oxford, v. 22, p. 133-137, 2005.

VIVA TERRA, **Espécies de peixes de água doce**. 2009. Disponível em; <<http://www.vivaterra.com.br>> Acesso em: 10 jan. 2010.

YAMBOT, A. V. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from *Oreochromis niloticus* during fish disease outbreaks in the Philippines. **Asian Fisheries Science**, n.10, p.347-354, 1998.

WANG, C.; SILVA, J.L. Prevalence and characterization of *Aeromonas* species isolated from processed channel “catfish”. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 1, p. 30-34, 1999.

WATSON, I. M.; ROBINSON, J. O.; BURKE, V.; GRAVEY, M. Invasiveness of *Aeromonas* sp. In relation to biotype, virulence factors and clinical features. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v.22, p.48-51, 1985.

WIKIPEDIA, 2010.