

OCORRÊNCIA DE *Escherichia coli* PATOGÊNICAS EM PESQUE-PAGUES

Mayhara Martins Cordeiro Barbosa¹, Fernanda de Rezende Pinto², Laryssa Freitas Ribeiro², Helen Lira Henriques Torres Zanini³, Luiz Augusto do Amaral²

¹. Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) - Jaboticabal, SP

². Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal, SP

³. Doutora em Microbiologia Agropecuária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal, SP

OCCURRENCE OF PATHOGENIC *Escherichia coli* IN FEE FISHING FARMS

The occurrence of *Escherichia coli* (EPEC and EHEC) in water and fish (skin, gastrointestinal tract and muscle) samples was surveyed in five fee fishing farms situated in Córrego Rico microbasin, Jaboticabal, São Paulo/Brazil. *E. coli* isolates were identified serologically as EPEC and EHEC and performed tests of antimicrobial susceptibility. It was found that among 115 strains of *E. coli* isolated, 81 were classified as EPEC and 5 (4%) as EHEC. The most common serogroups were O125 (13.9%) and O126 (11.3%). From the 115 bacterial isolates, 60 were resistant to two antimicrobials. Probably, the isolation of EPEC serogroups in this study indicates contamination by pathogens coming from animals, human and/or contaminated water, constituting a potential risk to the consumer's health.

Keywords: water, fish, contamination, serogroup.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma alternativa para incrementar os índices de consumo de proteínas de origem animal e o desenvolvimento socioeconômico de um país. Além desses fatores, a busca por uma melhor qualidade de vida, por meio de práticas alimentares mais saudáveis e controle do peso, dentre outros, também contribuem para que o consumo de peixes tenha aumentado nos últimos anos. Atualmente, apesar da crise econômica, a aquicultura é considerada um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce no mundo e que poderá contribuir, significativamente, com a crescente demanda mundial por pescado neste milênio (NAYLOR et al., 2009).

De acordo com DIAZ (2004), peixes e outros produtos aquícolas representam um terço do consumo mundial de proteína. Segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura, o consumo anual brasileiro de pescado é, em média, 7,0 kg/hab.ano (OSTRENSKY et al., 2007).

Dentre as atividades aquícolas, surgem os pesque-pagues que alia a busca por lazer ao consumo do pescado. Estes empreendimentos desenvolveram-se bastante em regiões com alto número de nascentes e fontes de água. De acordo com PEZZATO e SCORVO FILHO (2000), na região Sudeste, os pesque-pagues são importantes canais de comercialização de peixes produzidos em cativeiro. Estes estabelecimentos armazenam espécies de peixes consideradas esportivas, nativas e exóticas, em lagos e oferecem a pesca como principal atrativo.

Porém, se o manejo destes sistemas aquícolas for realizado de forma incorreta, excretas animais podem poluir as águas e prejudicar a saúde dos animais e seres humanos, com a presença de patógenos indesejáveis. Os peixes podem ser vias de transmissão de agentes patogênicos aos seres humanos, como qualquer fonte de proteína de origem animal, pois a água, salgada ou doce, constitui ambiente natural de uma variedade de bactérias capazes de originar infecções no ser humano, embora o potencial para isso dependa de fatores, como: sobrevivência, latência e dose infectante do organismo e suscetibilidade do hospedeiro.

A microbiota natural do peixe é relativamente uniforme, porém sofre forte influência das condições físicas, químicas e biológicas da água e das variações de temperatura. A microbiota do peixe vivo está diretamente relacionada à microbiota da água onde ele vive. No muco que recobre a superfície externa do seu corpo, guelras e intestino encontram-se uma ampla variedade de gêneros bacterianos (MÖLLERKE, 2002).

Segundo MURATORI et al. (2004) a microbiota de peixes recém capturados reflete o ambiente terrestre próximo aos ambientes hídricos e as condições microbiológicas do local de captura. Por estarem

em contato com a água os peixes podem albergar naturalmente alguns patógenos (MATTÉ et al., 2007). Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se aqueles pertencentes às famílias *Aeromonadaceae* e *Enterobacteriaceae*, cuja presença nesse ambiente pode ser reconhecida pela sua detecção na pele, brânquias e intestinos dos peixes e, quando há desequilíbrio do sistema bactéria-hospedeiro-ambiente, podem estar envolvidos como agentes etiológicos primários, inclusive desencadeando epizootias em piscicultura (HUBER et al., 2004).

A penetração e estabelecimento de bactérias em diferentes tecidos e órgãos de peixes, como o aparelho digestivo, brânquias, músculo, rim, fígado e bexiga, foram relatados em ambientes aquáticos poluídos (PAL e DASGUPTA, 1992). Embora *Escherichia coli* não seja habitante natural da microbiota de peixes, essa bactéria tem sido isolada, com frequência, do estômago e intestinos desses animais (GUZMÁN et al., 2004).

A presença de patógenos é identificada como um dos principais perigos que comprometem a qualidade dos produtos aquícolas. A sua ocorrência está relacionada a práticas impróprias de criação, poluição ambiental e hábitos culturais no preparo do alimento. Além disso, ao manejo indevido, tais como: má qualidade da água, ração inadequada, falta de cuidados higiênicos com os peixes, com os tanques, com os viveiros e equipamentos e falta de treinamento de funcionários (ALEXANDRINO, 1998). MORITA et al. (2006) ressaltam que a contaminação da água em sistemas pesqueiros também pode ocorrer pela entrada direta de fezes advindas de animais (aves, suínos, bovinos, cães e gatos) próximos aos lagos de pesca.

Os alimentos e a água podem servir como veículos de agentes patogênicos ao seres humanos. Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), cerca de 88% dos casos de diarreia que ocorrem nos países em desenvolvimento são transmitidas por águas contaminadas (WHO, 2004). Pois a água está presente em quase todas as atividades da vida humana, direta ou indiretamente.

Escherichia coli é a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da microbiota intestinal de animais homeotérmicos. O significado da sua presença nos alimentos deve ser avaliado sob dois ângulos: indica contaminação microbiana de origem fecal e, portanto condições sanitárias insatisfatórias; e outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens são comprovadamente patogênicas aos seres humanos e animais. Assim, a pesquisa laboratorial de *Escherichia coli* auxilia na detecção do real risco de uma toxinfecção alimentar por meio da água e dos alimentos fornecidos ao consumo (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Existem vários estudos mostrando a evolução da *Escherichia coli* como um importante patógeno gastrintestinal, no que diz respeito à transferência horizontal de genes, que traz como consequência diversidade biológica quanto aos seus fatores de virulência. Estudos comprovam que amostras isoladas de animais saudáveis podem ser potencialmente patogênicas para seres humanos, por possuírem fatores de virulência característicos para tal hospedeiro, mostrando ser um grande risco para a saúde pública.

Poucos estudos abordam a presença de microrganismos diarreio gênicos nas atividades aquícolas. Além disso, a presença de *Escherichia coli* neste ambiente é avaliada, principalmente, quantitativamente, como indicadora de contaminação fecal em relação a qualidade da água de cultivo, esquecendo que mesmo em baixas concentrações a presença desse microrganismo indica risco de transmissão de patógeno aos seres humanos.

É necessário enfatizar que os agentes patogênicos transmitidos pelo peixe ao ser humano, frequentemente, não causam prejuízos na produção aquícola. Portanto, o produtor não se sente estimulado a buscar controle sanitário adequado para assegurar a qualidade do produto. Entretanto, o peixe contaminado, quando consumido, pode servir de via de transmissão desses agentes para o ser humano bem como contaminar outros alimentos e superfícies.

Outro fator importante a considerar no tocante a criação de peixes, é o uso indiscriminado de antimicrobianos para prevenir a disseminação de doenças. Não se tem o conhecimento deste manejo sobre o impacto ao meio ambiente e à saúde do ser humano. Os resíduos destes podem permanecer na carne do peixe destinado ao consumo humano, e levar ao aparecimento, na cadeia alimentar de bactérias resistentes a antibióticos (HEUER et al., 2009).

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).

O uso de antibióticos na aquicultura resulta no surgimento de reservatórios de bactérias resistentes aos antimicrobianos em peixes e outros animais aquáticos, bem como no ambiente aquático (AKINBOWALE et al., 2006). Segundo PIDDOCK (2006) tem-se observado aumento considerável no número de bactérias resistentes aos antimicrobianos, inclusive resistentes a mais de um, simultaneamente.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi estudar e identificar *E. coli* diarreio gênicas presentes em água e peixes de pesque pagues situados na microbacia do Córrego Rico/SP, por meio da sorologia e sensibilidade a antimicrobianos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, colheita e transporte das amostras de água e peixe

As amostras de água dos viveiros e dos peixes foram colhidas entre abril e junho de 2008, durante o período da manhã. Foram utilizados para amostragem cinco pesque-pagues localizados na região da microbacia do Córrego Rico, região Nordeste do Estado de São Paulo (Figura 1).

As amostras de água do viveiro foram colhidas, em cinco pontos distintos dos mesmos, em frascos estéreis para análise e transportadas em caixa isotérmicas com gelo, perfazendo um total de 25 amostras de água.



Figura 1. Localização dos cinco pesque-pagues situados na microbacia do Córrego Rico, região nordeste do Estado de São Paulo. Fonte: Google Earth, 2009.

Em relação às amostras de peixe, foram colhidas, aleatoriamente, dez exemplares de peixes adultos da espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) em todos os pesque-pagues, com o auxílio de tarrafas e/ou varas de pescas, totalizando 50 amostras de peixe. Em seguida os peixes capturados foram colocados em sacos plásticos esterilizados e expostos a imersão em gelo para serem sacrificados e analisadas as diferentes partes.

O preparo das amostras e a análise foram realizados no Laboratório de Microbiologia localizado no Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP-FCAV).

2.2 Preparo das amostras de peixe

2.2.1 Enxaguadura da pele

Foram adicionados 200 mL de água peptonada 0,1% esterilizada no saco plástico contendo um peixe. Em seguida o peixe foi massageado durante um minuto para transferir os microorganismos da pele para a água peptonada. Desta maneira foi obtida uma amostra de enxaguadura para análise (APHA, 2001).

2.2.2 Tecido muscular

Antes de serem dissecados, a pele do peixe foi lavada com álcool 70% para evitar contaminação do seu interior. Em seguida os peixes foram dissecados dentro de um fluxo laminar e com o auxílio de instrumentos esterilizados, tomando o devido cuidado para que não ocorresse rompimento do trato gastrointestinal. Foram utilizados 25g de músculo de cada peixe, pesados em placas de Petri estéreis, realizando a diluição da mesma com a adição de 225 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . A partir dessa solução homogeneizada foram realizadas diluições seriadas até 10^{-3} para análise (APHA, 2001).

2.2.3 Trato gastrointestinal

Todo o conteúdo do trato gastrointestinal do peixe foi retirado e pesado. Para a obtenção da diluição 10^{-1} , foi adicionada água peptonada 0,1% em volume proporcional. Novas diluições decimais foram realizadas transferindo-se 1 mL da diluição anterior para tubos contendo 9 mL do diluente até obter a diluição 10^{-4} (APHA, 2001).

2.3 Isolamento de *Escherichia coli*

Após a diluição seriada da água, dos lavados superficiais, do tecido muscular e do trato gastrointestinal, alíquotas das diluições foram semeadas em Caldo Lauril Sulfato de Sódio e incubadas por 24-48h a 37°C. Em seguida, 100µl das amostras foram inoculados em 5 mL de caldo EC e incubadas por 24h a 44,5°C. As amostras positivas no caldo EC foram semeadas em ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24 horas. De cada amostra, foram colhidas três colônias sugestivas de *E. coli* e identificadas bioquimicamente como pertencentes à espécie *E. coli* com base nos testes de produção de indol, reações de vermelho de metila e Voges-Proskauer e utilização de citrato. Posteriormente, as colônias positivas para *E. coli* foram identificadas sorologicamente e realizados testes de atividade hemolítica e de susceptibilidade a antimicrobianos.

2.4 Detecção dos sorogrupos de *E. coli* por aglutinação em lâmina

Para determinação dos sorogrupos EHEC foi utilizado o soro anti *E. coli* O157 Para determinação dos sorogrupos EPEC foi utilizado o soro polivalente anti *E. coli* enteropatogênica clássica: Polivalente A: Anti O26, O55, O111, O119; Polivalente B: Anti O114, O125, O142, O158; Polivalente C: Anti O86, O126, O127, O128; e seus respectivos monovalentes. A suspensão bacteriana usada foi bastante espessa e a proporção suspensão/anti-soro foi de uma alçada de cultura para uma gota normal dos soros PROBAC, seguindo recomendações do fabricante. A presença de aglutinação, verificada em aglutinoscópio, foi considerada resultado positivo para essa prova.

2.5 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos

Para a realização do teste de susceptibilidade a antimicrobianos, as estirpes de *E. coli* foram inoculadas em tubos contendo 5mL de caldo tripicase soja e incubadas a 37°C por 18 a 20 horas. Após a incubação, alíquotas das culturas foram gotejadas de forma asséptica em tubos contendo 4mL de solução salina esterilizada. A seguir, as culturas diluídas na concentração $\frac{1}{2}$ da escala de MacFarland foram semeadas com o auxílio de swabs estéreis, em placas contendo ágar Mueller-Hinton e, após 3 minutos, tempo necessário para a secagem da superfície do meio, foram colocados os polidiscos contendo os antimicrobianos. A leitura foi realizada após 18 a 24 horas de incubação a 37°C por meio da medida dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada (BAUER et al., 1966) e descrito pelo National Commite for Clinical Standards (NCCLS, 2003).

Os antimicrobianos testados foram: ampicilina (10µg), cefalotina (30µg), eritromicina (15µg), estreptomicina (10µg), gentamicina (10µg), neomicina (30µg), novobiocina (5µg), cotrimoxazol (25µg), tetraciclina (30µg), trimetropim (5µg).

3. RESULTADOS

Através das provas bioquímicas foram identificados 115 isolados de *E. coli*, sendo 19 da água e 96 do peixe, dos quais 26 foram isolados da superfície corpórea (pele), 65 do trato gastrointestinal e 5 do músculo.

Em relação à sorologia, cinco (4%) isolados apresentaram aglutinação positiva para EHEC, sendo 2 isolados da água e da pele e um isolado do trato gastrointestinal. Enquanto oitenta e um (70%) isolados mostraram aglutinação positiva para EPEC. Os sorogrupos mais frequentes na água foram O125 e O126; na pele O125, O128 e O86; no trato O125, O126 e O55; e no músculo O119 e O158 (Tabela 1).

Em relação aos sorogrupos EPEC, os resultados foram heterogêneos, sendo O125, O126, O128, O158 e O55 os mais frequentes. CAMPOS et al. (2004) observaram que os sorogrupos O126 e O128 não apresentaram fatores de virulência em isolados obtidos de crianças com diarreia. Já o sorogrupo O55, o segundo mais frequente no trato gastrointestinal, é considerado um dos mais importantes sorogrupos de EPEC, devido sua frequência de isolamento e por ser um dos mais encontrados em diarreias infantis no Brasil (TRABULSI et al., 1996). Contudo, estudos baseados nas propriedades de virulência e nas características sorológicas mostraram que sorogrupos EPEC são heterogêneos e, embora a maioria das estirpes pertencentes a estes sorogrupos sejam realmente EPEC, muitos deles não possuem características de virulência (CAMPOS, 1996).

O sorogrupo EHEC apenas não foi encontrado no músculo de peixe. Esse sorogrupo já foi isolado de várias fontes de alimento, porém o bovino é o principal reservatório de O157 (PATON e PATON, 2002). Entretanto, ORSI et al. (2007) encontraram genes de EHEC produtoras de shigatoxinas em águas utilizadas como balneários no Brasil e LICENCE et al. (2001) observaram contaminação da água de abastecimento por O157 na Escócia.

O antibiograma apontou que todos os isolados mostraram resistência a novobiocina. Enquanto os antimicrobianos tetraciclina, trimetropim e cotrimoxazol, 89,5% dos isolados obtidos da água apresentaram sensibilidade e 10,5% de resistência. A ampicilina foi o único antimicrobiano cujos isolados foram 100% sensíveis. Já para eritromicina e estreptomicina, 63,2% e 10,5% dos isolados da água foram resistentes, respectivamente.

Tabela1. Sorogrupos EPEC isolados de amostras de peixe e água de pesque-pagues, microbacia do Córrego Rico/SP.

Fontes	Sorogrupos
	EPEC
Água	4 (O125); 3 (O126); 1 (O128); 2 (O158); 1 (O114); 2 (O142)
Pele	6 (O125); 1 (O126); 3 (O128); 2 (O158); 1 (O114); 1 (O55); 3 (O86)
Trato gastrointestinal	6 (O125); 9 (O126); 5 (O128); 5 (O158); 5 (O114); 8 (O55); 3 (O86); 2 (O119); 3 (O142)
Músculo	3 (O158); 2 (O119)

Dos 26 isolados da pele do peixe, apenas para neomicina não foi observado resistência, porém 61,5% apresentaram perfil intermediário de resistência. Para ampicilina, estreptomicina e tetraciclina, 11,5% dos isolados foram resistentes, enquanto 15,4% apresentaram resistência para cefalotina. Semelhante aos isolados da água, o maior número de isolados com perfil de resistência foi para eritromicina (53,9%).

Em relação aos isolados do trato gastrointestinal do peixe, 100% apresentaram sensibilidade para tetraciclina, trimetropim e cotrimoxazol e 70,8% foram resistentes a eritromicina. Apesar de poucos isolados do trato gastrointestinal apresentar perfil de resistência, 78,5%, 47,7% e 27,7% apresentaram perfil intermediário de resistência para neomicina, estreptomicina e cefalotina, respectivamente.

Nos isolados do músculo, apenas para os agentes antimicrobianos eritromicina, cefalotina e gentamicina foram observados isolados com perfil de resistência. Enquanto 100% dos isolados apresentaram sensibilidade para ampicilina, tetraciclina, trimetropim e cotrimoxazol.

A Tabela 2 apresenta a quantidade de isolados que apresentaram múltipla resistência aos antimicrobianos avaliados. Assim, observou-se que dos 115 isolados analisados, 60 (52,0%) apresentaram resistência a dois antimicrobianos e 30 (26,0%) apresentaram resistência a um antimicrobiano.

Em relação aos isolados da água, 47,4% apresentaram resistência a dois antimicrobianos. Enquanto 26,3% e 21,0% apresentaram resistência a um e dois antimicrobianos, respectivamente.

Os isolados da pele apresentaram maiores perfis de resistência, pois 11,5% isolados apresentaram resistência a quatro antimicrobianos e 23,1% resistência a três antimicrobianos.

Apesar do maior número de isolados do trato gastrointestinal, apenas 9 (13,8%) apresentaram resistência a três antimicrobianos. Sendo que a maioria dos isolados (60,0%) apresentaram resistência a dois antimicrobianos. Entre os isolados do músculo, 60,0% e 40,0% apresentaram resistência a um e dois antimicrobianos, respectivamente.

Os antimicrobianos testados representam classes de drogas importantes para a terapêutica na medicina humana e veterinária. A elevada proporção de bactérias resistentes principalmente à eritromicina, à cefalotina e à estreptomicina sugere que outros fatores, além da utilização de antimicrobianos nesses pesque-pagues, favorecem a manutenção de bactérias resistentes no ambiente aquático. Esses fatores podem estar relacionados às práticas inadequadas de manejo nos ambientes aquícolas estudados. Antimicrobianos como eritromicina e estreptomicina são utilizados para tratar e prevenir enfermidades na aquicultura, assim tem-se observado, recentemente, maior frequência no isolamento de bactérias resistentes a essas drogas oriundas dessa atividade (AKINBOWALE et al., 2006).

No presente trabalho o maior número de isolados com características de resistência foram para os antimicrobianos eritromicina e novobiocina. Resultados semelhantes foram obtidos por CARNEIRO et al. (2007) quando estudaram o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias da família *Enterobacteriaceae* isoladas de água e de peixe de tanques de piscicultura. Por outro lado, SATER et al. (2007) encontraram maior resistência à ampicilina e cloranfenicol em *E. coli* isoladas de peixes de viveiros.

Apesar do trato gastrointestinal de peixes apresentar maior número de isolados, a frequência de multirresistência foi menor quando comparados aos demais isolados, como também houve maior correspondência entre trato gastrointestinal e resistência a dois antimicrobianos. LIMA et al. (2006) também observaram esse fato e sugeriram que o sistema gastrointestinal de peixes pode não ser a principal fonte de

bactérias multirresistentes. Porém, mesmo com número menor de isolados com múltipla resistência do trato gastrointestinal de peixes, pode ser possível a troca de resistência entre essas bactérias e aquelas da microbiota do peixe e meio aquático. A transferência de múltipla resistência a antimicrobianos é um dos principais problemas decorrentes do uso de antimicrobianos na aquicultura, visto que a pressão de seleção favorece as trocas de genes de resistência entre bactérias do ambiente (MIRANDA e ZEMELMAN, 2002).

Outro aspecto importante a ser considerado, é o fato dos isolados apresentarem alto número de multirresistência. Todos os isolados do grupo EHEC apresentaram múltipla resistência aos antimicrobianos avaliados. Segundo MORA et al. (2005) cepas EHEC multirresistentes oriundas de alimentos e seres humanos foram isoladas em vários países, principalmente a estreptomicina e tetraciclina. Apesar de alguns estudos mostrarem maior taxa de resistência antimicrobiana entre isolados EHEC de bovinos em comparação com os isolados humanos. SCHROEDER et al. (2002) relatou prevalência de resistência semelhantes entre essas fontes. Apesar de ZIEBELL et al., (2008) relatarem que a resistência antimicrobiana também varia entre as diferentes linhagens.

Em geral, bactérias aquáticas não diferem de outras bactérias quando expostas a agentes antimicrobianos, sendo capazes de transferir genes de resistência antimicrobiana para outras bactérias. Provavelmente, o fato de infecções em peixes e nos seres humanos serem causadas por bactérias pertencentes aos mesmos gêneros, a probabilidade de propagação de resistência à antimicrobianos de bactérias oriundas da aquicultura para o ser humano pode aumentar. Estudos demonstraram que plasmídeos determinantes de resistência são transferidos de agentes patogênicos de peixes e bactérias aquáticas, não só para outras bactérias dentro do mesmo gênero, mas também para *E. coli* (AKINBOWALE et al., 2007).

Tabela 2. Número de isolados com múltipla resistência antimicrobiana de isolados de *E. coli* obtidos de amostras de peixe e água em pesque-pagues, microbacia do Córrego Rico/SP.

Fontes	Número de isolados com múltipla resistência antimicrobiana (%)			
	1	2	3	4
Água	5 (26,3)	9 (47,4)	4 (21,0)	1 (5,3)
Pele	8 (30,8)	9 (34,6)	6 (23,1)	3 (11,5)
Trato gastrointestinal	17 (26,2)	39 (60,0)	9 (13,8)	0 (0,0)
Músculo	0 (0,0)	3 (60,0)	2 (40,0)	0 (0,0)
Total	30 (26,0)	60 (52,0)	21 (18,0)	4 (4,0)

Portanto, a presença de muitos isolados de *E. coli* resistentes e multirresistentes no ambiente aquícola geram implicações ecológicas e de saúde pública, além de enfatizar a necessidade de novos estudos, principalmente em relação aos determinantes de resistência, assim como sobre a possibilidade de transferência de genes de resistência a patógenos humanos mediante o consumo de pescado (MIRANDA e ZEMELMAN, 2001). De acordo com SAPKOTA et al. (2008) o desenvolvimento de bactérias resistentes à antibióticos no ambiente aquícola pode contribuir ou influenciar a ocorrência dessa característica em bactérias presentes na população humana.

Além disso, o consumo de carnes cruas contaminadas induz a contaminação cruzada e a ingestão de bactérias resistentes a antimicrobianos. Assim, as opções de tratamentos poderão ficar limitadas se estirpes de bactérias multirresistentes a antimicrobianos são transferidas de alimentos contaminadas aos seres humanos (HAMMERUM e HEUER, 2009).

Faz-se necessária a conscientização dos produtores e empresários desta atividade em relação a existência de contaminação de origem fecal, incluindo-se a presença de enteropatógenos, pois a manutenção desta forma de produção pode trazer prejuízos ao consumidor. Visto que a presença de um alto número de isolados EPEC nesse estudo possivelmente indica contaminação por enteropatógenos advindos de excretas humanas e/ou animais, representando risco à saúde dos consumidores, principalmente aos mais suscetíveis como crianças, idosos e adultos imunodeprimidos.

Diante do exposto, pode-se observar que o consumo do pescado adequadamente preparado e cozido, a educação dos consumidores e produtores sobre os fatores de contaminação cruzada, a

conscientização da população no consumo inadequado de peixes crus e outras medidas no preparo podem reduzir alguns problemas relacionados ao consumo de peixes oriundos de pesque-pagues.

Do ponto de vista da saúde pública, torna-se importante e necessária uma campanha educacional dirigida aos produtores e frequentadores de pesque-pagues para conscientização sobre a boa prática de manejo nestes ambientes, principalmente relacionada à existência de outros animais próximos aos tanques de cultivo, às medidas profiláticas incorretas, à alimentação imprópria dos peixes, à utilização de iscas inadequadas e às condições da água utilizada para abastecimento dos tanques.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINBOWALE, O. L.; PENG, H.; BARTON, M. D. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. **Journal Applied in Microbiology**, v.100, n.5, p.1103–1113, 2006.

AKINBOWALE O. L.; PENG, H.; BARTON M. D. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia. **Journal Applied in Microbiology**, v.103, n.5, p.2016–2025, 2007.

ALEXANDRINO, A. C. Prevenção de doenças em piscicultura. **Boletim Técnico do Instituto de Pesca**, n.23, p.45, 1998.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4^aed, 2001. 676 p.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v 45, n.4, p.493-496, 1996.

CAMPOS, L. C.; FRANZOLIN, M. R.; TRABULSI, L. R. Diarrheagenic *Escherichia coli* Categories among the Traditional Enteropathogenic *Escherichia coli* O Serogroups - A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.6, p.545-552, 2004.

CAMPOS, L. C. Conventional methods for the diagnosis of enteropathogenic *Escherichia coli* infections. **Brazilian Journal Microbiology**, v.27, n.1, p.50-53, 1996.

CARNEIRO, D. O.; FIGUEIREDO, H. C.; PEREIRA-JÚNIOR, D. J.; LEAL, C. A. G.; LOGATO, P. V. R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.869-876, 2007.

DIAZ, J. H. Is fish consumption safe? **Journal of the Louisiana State Medical Society**, v.156, n.1, p.42-49, 2004.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF M. **Microbiologia dos alimentos**. Ed. Atheneu, São Paulo. 2002. 182 p.

HAMMERUM, A. M.; HEUER, O. E. Human health hazards from antimicrobial resistant *Escherichia coli* of animal origin. **Clinical Infectious Diseases**, v.48, n.7, p.916–921, 2009.

HEUER, O. E.; KRUSE, A. H.; GRAVE, B. K.; COLLIGNON, P.; KARUNASAGAR, I.; ANGULO, F. J. Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. **Food Safety**, v.49, n.88, p.1248-1253, 2009.

HUBER I., SPANGGAARD B., APPEL K. F., ROSSEN L., NIELSENAND T.; GRAM L. Phylogenetic analysis and *in situ* identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). **Journal Applied Microbiology**, v.96, n.1, p.117-132, 2004.

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

LICENCE, K.; OATES, K.R.; SYNGE, B.A.; REID, T.M. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection with evidence of spread from animals to man through contamination of a private water supply. **Epidemiology and Infection**, v.126, n.1, p.135-138, 2001.

MATTÉ, M. H.; BALDASSI, L.; BARBOSA, M. L.; MALUCELLI, M. I. C.; NITRINI, S. M. O.; MATTÉ, G. R. Virulence factors of *Vibrio metschnikovii* strains isolated from fish in Brazil. **Food Control**, v.18, n.6, p.747-751, 2007.

MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepción Bay, Chile. **Marine Pollution Bulletin**, v.42, n.11, p.1096-1102, 2001.

MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. **Aquaculture**, v.212, n.1, p.31-47, 2002.

MORA, A.; BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; M. ALONSO, P.; DHABI, G.; ECHEITA, A.; GONZÁLEZ, E. A.; BERNÁRDEZ, M. I.; BLANCO, J. Antimicrobial resistance of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 strains isolated from humans, cattle, sheep and food in Spain. **Research in Microbiology**, v.156, n.1, p.793-806, 2005.

MORITA, M.; MATTÉ, G. R.; DROPA, M.; MARQUES-AZEVEDO, V.; MATTÉ, M. H. Utilização de indicadores bacterianos e a pesquisa de *Salmonella* spp na avaliação da qualidade sanitária de águas de pesqueiros. In: ESTEVES, K. E.; SANT'ANNA, C. L. **Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde pública e manejo**. 1 ed. São Carlos: RiMa, 2006, p. 91-104.

NAYLOR, R. L.; HARDY, R. W.; BUREAU, D. P.; CHIU, A.; ELLIOTT, M.; FARRELLE, A. P.; FORSTER, I.; GATLIN, D. M.; GOLDBURG, R. J.; HUA, K.; NICHOLS, P. D. Feeding aquaculture in an era of finite resources. **PNAS**, v.106, n.36, p.15103-15110, 2009.

ORSI, R. H.; STOPPE, N. C.; SATO, M. I. Z.; GOMES, T. A. T.; PRADO, D. P. I.; GILSON, P. M.; OTTOBONI, L. M. M. Genetic variability and pathogenicity potential of *Escherichia coli* isolated from recreational water reservoirs. **Research in Microbiology**, v.158, n.5, p.420-427, 2007.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais. **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**. Curitiba, 2007. 279p.

PAL D.; DASGUPTA, C. H. Microbial pollution in water and its effect on fish. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.4, n.1, p.32–39, 1992.

PATON, A.W.; PATON, J.C. Reactivity of Convalescent-Phase Hemolytic-Uremic Syndrome Patient Sera with the Megaplasmid-Encoded TagA Protein of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* O157. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, n.4, p.1395–1399, 2002.

PEZZATO, L. E.; SCORVO FILHO, O. J. D. Situação atual da aquicultura na região sudeste. In: **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq, Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000, p. 303-323.

PIDDOCK, L. J. V. Multidrug-resistance efflux pumps-not just resistance. **Natural Review Microbiology**, v.4, n.8, p.629-635, 2006.

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.

SCHROEDER, C. M.; ZHAO, C.; DEBROY, C.; TORCOLINI, J.; ZHAO, S.; WHITE, D. G.; WAGNER, D. D.; MCDERMOTT, P. F.; WALKER, R. D.; MENG, J. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.2, p.576–581, 2002.

TRABULSI, L. R.; CAMPOS, L. C.; WHITTAM, T. S.; GOMES, T. A. T.; RODRIGUES, J.; GONÇALVES, A. G. Traditional and non - traditional enteropathogenic *Escherichia coli* serogroups. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 27, n.1, p.1-6, 1996.

WHO. World Health Organization. Water, sanitation and hygiene links to health. 2004. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/facts2004/en/index.html. Acesso em 28 out 2009.

ZIEBELL, K.; STEELE, M.; ZHANG, Y.; BENSON, A.; TABOADA, E. N.; LAING, C.; MCEWEN, S.; CIEBIN, B.; JOHNSON, R.; GANNON, V. Genotypic characterization and prevalence of virulence factors among Canadian *Escherichia coli* O157:H7 strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.14, p.4314–4323, 2008.