



Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia)

Presence of antimicrobial resistant pathogens in oysters and mussels from Iguape Bay, Maragogipe (Bahia)

Norma Suely Evangelista-Barreto^[a], Adriana Freitas Pereira^[b], Rebeca Ayala Rosa da Silva^[c], Luiza Teles Barbalho Ferreira^[d]

^[a] Engenheira de Pesca, Doutora em Ciências Biológicas, Professora adjunta do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA - Brasil, e-mail: nsevangalista@yahoo.com.br

^[b] Engenheira de Pesca, Mestranda do Programa em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA - Brasil, e-mail: adri_pesca@yahoo.com.br

^[c] Discente do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA - Brasil, e-mail: rebecca_rosa@yahoo.com.br

^[d] Bacharel em Ciências Biológicas, Mestre em Ecologia e Biomonitoramento, Bióloga do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA - Brasil, e-mail: luizabarbalho@yahoo.com.br

Resumo

Ostras e sururus são bivalves filtradores que habitam em regiões estuarinas podendo bioacumular microrganismos patogênicos quando presentes na água. O consumo desses organismos tem sido frequentemente relacionado às toxinfecções de origem alimentar em humanos. Objetivou-se avaliar a qualidade bacteriológica da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e do sururu *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (*in natura*) provenientes da Baía do Iguape, Maragogipe, Bahia, através da quantificação de coliformes a 35 °C e a 45 °C e pela pesquisa de *Salmonella* spp., bem como avaliar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos microrganismos isolados. O Número Mais Provável (NMP.100 g⁻¹) de coliformes a 35 °C e a 45 °C nas amostras de ostra variou de 2,2 x 10³ a 1,3 x 10⁶ NMP.100 g⁻¹ e < 1,8 x 10² a 4,6 x 10⁵ NMP.100 g⁻¹, respectivamente. No sururu, os valores de coliformes a 35 °C foram de 3,3 x 10⁵ a > 1,6 x 10⁷ NMP.100 g⁻¹ e 1,7 x 10³ a 1,6 x 10⁷ NMP.g⁻¹ para os coliformes a 45 °C. As amostras de ostra e sururu analisadas foram consideradas impróprias para o consumo em 41,7% (5/12) e 66,7% (8/12) do total analisado, segundo a legislação do Brasil. A espécie *Escherichia coli* foi isolada em 75% (9/12) e em 100% (12/12) das amostras de ostra e sururu, respectivamente. *Salmonella* spp. foi confirmada em 8,3% (1/12) das amostras de ostras. Em relação à suscetibilidade antimicrobiana, 59,3% (16/27) das cepas de *E. coli* isoladas a partir do sururu, apresentaram resistência a pelo menos um dos 12 antimicrobianos testados, havendo maior resistência para a tetraciclina em 51,9%

(14/27) dos isolados. *Salmonella* spp. apresentou sensibilidade a 58,3% (7/12) dos antimicrobianos e resistência à ampicilina e à cefalotina.

Palavras-chave: Ostras. Sururu. Coliformes. *Salmonella*. Saúde pública.

Abstract

Oysters and mussels are filter-feeding mollusks that inhabit estuarine regions, capable of ingesting pathogenic microorganisms present in the water. Consumption of these mollusks is often related to foodborne diseases in humans. It was aimed to assess the microbiological quality of raw oysters *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) and mussels *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) from Iguape Bay, Maragogipe, Bahia. Coliform count at 35 °C and 45 °C and assessment of *Salmonella* spp. were performed, as well as the evaluation of antimicrobial susceptibility of the isolated strains towards 12 antibiotics. The Most Probable Number per gram (MPN.100 g⁻¹) of coliforms at 35 °C and 45 °C in oyster samples ranged from 2.2 x 10³ to 1.3 x 10⁶ and from < 1.8 x 10² to 4.6 x 10⁵, respectively. In mussels, the coliform counts ranged from 3.3 x 10⁵ to > 1.6 x 10⁷ MPN.100 g⁻¹ at 35 °C and from 1.7 x 10³ to 1.6 x 10⁷ MPN.100 g⁻¹ at 45 °C. According to the Brazilian legislation, the oysters and mussels were considered unsuitable for consumption in 41.7% (5/12) and 66.7% (8/12) of the samples, respectively. *Escherichia coli* were isolated in 75% (9/12) of the oysters and 100% (12/12) of the mussel samples. *Salmonella* spp. was isolated in 8.3% (1/12) of the oysters samples. In regards to the antimicrobial susceptibility, 59.3% (16/27) of the *E. coli* isolated from mussels showed resistance to at least one of the 12 antimicrobials tested, with a higher prevalence against tetracycline (51.9%: 14/27). The *Salmonella* spp. strains isolated showed susceptibility to 58.3% (7/12) of the antimicrobials and resistance to ampicillin and cephalothin.

Keywords: Oysters. Mussels. Coliforms. *Salmonella*. Public health.

Introdução

Doenças veiculadas por alimentos continuam sendo uma das principais causas de morte nos países latinos (SHINOHARA et al., 2008). No Brasil, no ano de 2009, as doenças infecciosas, parasitárias e do aparelho digestivo foram responsáveis por 17,29% do total de casos de internamento hospitalar, sendo as regiões do Norte e Nordeste brasileiro as mais afetadas (BRASIL, 2010).

As ostras e os sururus são moluscos bivalves marinhos que se alimentam de partículas e plânctons por filtração branquial, depurando as sujidades encontradas em seu habitat. São, consequentemente, bioacumuladores de contaminantes das águas costeiras (EVANGELISTA-BARRETO; SOUSA; VIEIRA, 2008). Um dos fatores que contribui para a contaminação de ostras e sururus é a qualidade sanitária do ambiente aquático onde são capturados (PEREIRA et al., 2010).

O consumo de bivalves marinhos, crus ou levemente cozidos, é uma prática crescente em todas as regiões litorâneas do Brasil. Apresentam consumo de alto risco, podendo causar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) (NASCIMENTO et al., 2011). Para o controle e a prevenção de intoxicações, o uso de indicadores de contaminação ambiental e fecal, tais como a enumeração de coliformes a 35 °C e a 45 °C e a pesquisa de patógenos como *Salmonella*, têm sido amplamente utilizados (VIEIRA et al., 2008). A presença dos coliformes termotolerantes nas ostras indica que o alimento apresenta contaminação microbiana de origem fecal, sendo 90% desses microrganismos pertencentes à espécie *Escherichia coli*. A bactéria, tipicamente encontrada no trato gastrointestinal (PEREIRA et al., 2006), indica condições sanitárias insatisfatórias, podendo causar quadros de toxinfecção (SILVA et al., 2004).

Salmonella spp. tem sido um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados de DTA's

(SHINOHARA et al., 2008). Segundo dados do MMWR (2012), nos Estados Unidos, dos 29.444 surtos relacionados a alimentos, a ingestão da *Salmonella* resultou em 49% das hospitalizações, seguida da *E. coli* O157 com 16%.

Em diversos países, a resistência microbiana bacteriana tem aumentado devido à prescrição excessiva de antimicrobianos por parte de médicos, ao seu uso indiscriminado pela população e ao emprego dessas drogas nas criações intensivas de animais (DIAS et al., 2010). A presença de resíduos de antimicrobianos no ambiente favorece a seleção de bactérias resistentes que podem se inserir na cadeia alimentar humana por meio do pescado contaminado, transferindo genes de resistência a bactérias da microbiota natural ou potencialmente patogênica para os seres humanos (CARNEIRO et al., 2007).

Pretendeu-se, assim, avaliar a qualidade bacteriológica da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e do sururu *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) por meio da quantificação do grupo coliforme e da pesquisa de *Salmonella* spp., bem como o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos microrganismos isolados.

Material e métodos

Coleta das amostras

As amostragens ocorreram no município de Maragogipe, Bahia (latitude 12°46'S e longitude 38°55'W), região localizada no Recôncavo Baiano. Mensalmente, no período de junho de 2010 a maio de 2011, foram realizadas coletas de ostra *Crassostrea rhizophorae* e de sururu *Mytella guyanensis in natura*, totalizando 12 amostras de cada molusco, para a avaliação da qualidade bacteriológica. As amostras foram obtidas por intermédio de uma marisqueira que coletava os bivalves na localidade do bairro da Comissão em Maragogipe. Em cada amostragem eram obtidos cerca de 2 kg dos moluscos, os quais eram acondicionados em caixa térmica com gelo e transportados, em um período máximo de quatro horas, para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA) na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) para o imediato processamento.

Análises microbiológicas

Foram estudados somente os espécimes com as valvas fechadas. No laboratório, as valvas foram escovadas e lavadas externamente em água corrente para a retirada de incrustações. Em seguida, foram abertas assepticamente, sendo posteriormente removidas as porções necessárias para as análises bacteriológicas.

Na preparação das amostras para determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C foram pesados 50 g das partes moles e do líquido intervalvar, homogeneizados em 450 mL de solução salina a 0,85% estéril, em liquidificador Mondial, modelo Power 2L, previamente sanitizado. A partir da diluição inicial 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais (até 10^{-5}) utilizando o mesmo diluente. Todas as análises seguiram a metodologia proposta por Silva et al. (2007).

A determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes foi realizada usando a técnica de fermentação dos tubos múltiplos, com série de cinco tubos por diluição. As análises foram realizadas em três etapas distintas: prova presuntiva, prova confirmatória e prova bioquímica. Na prova presuntiva, alíquotas de 1 mL foram inoculadas em Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLST), contendo tubos de Durhan invertidos e incubados por 48 horas a 35 °C. O resultado positivo da prova foi confirmado através da formação de gás nos tubos de Durhan e turvação do meio. Após esse período, um inóculo dos tubos positivos foi transferido com alça de níquel cromo para tubos contendo Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB) e Caldo *Escherichia coli* (EC), sendo incubados, respectivamente, a 35 °C por 48 horas e a 45 °C em banho-maria por 24 horas. A positividade da prova foi verificada através da turvação do meio e formação de gás nos tubos de Durhan. O resultado positivo de cada série foi anotado para posterior consulta à tabela de Hoskins. Decorrido o período de 24 horas dos tubos de EC positivos, um inóculo foi espalhado por esgotamento em placas de Petri contendo o meio Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubadas a 35 °C por 24 horas. Três colônias características de *Escherichia coli*, com diâmetro de 2 a 5 mm, centro negro, com ou sem brilho metálico esverdeado, foram isoladas em tubos de ensaio contendo Agar Triptose Soja (TSA) inclinado, sendo incubadas em estufa a 35 °C por 24 horas. As

cepas isoladas foram identificadas através de testes bioquímicos do IMViC (Indol, Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Citrato).

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada a partir de uma porção de 25 g do molusco, a qual foi transferida para um Erlenmeyer contendo 225 mL de Caldo Lactosado e incubada a 35 °C por 24 horas, visando à recuperação de células injuriadas. Posteriormente, foi inoculada uma alíquota de 1 mL em 10 mL de Caldo Tetracionato (TT) e 0,1 mL em 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis Modificado (RV) para seu enriquecimento seletivo. Os tubos foram incubados durante 24 horas a 35 °C, em estufa, e a 42 °C, em banho-maria, respectivamente. Em seguida, alíquotas foram retiradas e estriadas nos meios seletivos Agar MacConkey (colônias incolores ou translúcidas levemente amareladas), Agar *Salmonella-Shigella* (SS) (colônias transparentes com ou sem centro negro) e Agar Verde Brilhante (AVB) (colônias rosáceas a vermelhas) e incubadas por 24 horas a 35 °C. As colônias com morfologia característica de *Salmonella* foram, então, inoculadas em Agar Ferro Açúcar Triplo (TSI) e Agar Lisina Ferro (LIA), e incubadas por 24 horas a 35 °C. A partir do crescimento positivo (ácido na base e alcalino no ápice para o agar TSI; alcalino com ou sem produção de gás para o agar LIA), uma nova alíquota foi retirada e semeada em agar Triptona Soja (TSA) para posterior identificação bioquímica (teste de urease, indol, malonato e citrato). As cepas que apresentaram comportamento bioquímico característico do gênero *Salmonella* foram submetidas à prova de soroaglutinação rápida em lâmina, empregando-se soro polivalente somático e flagelar (Probac®).

Suscetibilidade antimicrobiana

A suscetibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pelo método de difusão em disco, seguindo a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2007). Para a realização dos testes, 27 cepas (16 de ostra e 11 de sururu) de *Escherichia coli* e duas cepas de *Salmonella* spp. (ostra) foram repicadas em placas de Petri contendo Agar Nutriente e incubadas a 35 °C por 18-24 horas. Após esse período, três a cinco colônias de cada placa foram transferidas para um tubo contendo 9 mL de solução salina a 0,85%, que, após

agitação, apresentou turvação da suspensão bacteriana, em comparação ao tubo padrão 0,5 da escala McFarland. Posteriormente ao ajuste do inóculo, mergulhou-se um swab de algodão estéril na salina turva, pressionando-o firmemente contra a parede interna do tubo a fim de ser retirado qualquer excesso. Em seguida, o swab foi espalhado na superfície da placa de Petri contendo Agar Mueller-Hinton e aplicaram-se os discos comerciais com os antimicrobianos da marca LABORCLIN® pertencentes às famílias: β -lactâmicos: ampicilina – AMP (10 μ g), cefalotina – CFL (30 μ g), ceftazidima – CAZ (30 μ g) e imipinem – IMP (10 μ g); Aminoglicosídeo: amicacina – AMI (30 μ g); Fenicol: cloranfenicol – CLO (35 μ g); Glicopeptídeo: vancomicina – VAN (30 μ g); Nitrofurano: nitrofurantoina – NIT (300 μ g); Quinolonas: ácido nalidíxico – NAL (30 μ g) e ciprofloxacina – CPF (05 μ g); Tetraciclina: tetraciclina – TET (30 μ g) e Sulfonamida: sulfametoxazol-trimetropin – SUT (25 μ g). Após a semeadura, as placas foram incubadas em estufa a 35 °C por 18 horas e em seguida tiveram seus halos de inibição medidos utilizando-se um paquímetro digital. Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios descritos pelo CLSI (2007). Como controle, foram utilizadas estirpes de referência de *Escherichia coli* ATCC 25922 e de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

O índice de Múltipla Resistência Antimicrobiana (MAR) foi utilizado para a determinação da múltipla resistência. Este índice, quando aplicado a um isolado bacteriano, é definido como a/b, ou seja, o número de antimicrobianos ao qual o isolado foi resistente (a) dividido pelo número de antimicrobianos ao qual o isolado foi exposto (b). Índice MAR acima de 0,17 caracteriza multirresistência (KRUMPERMAN, 1983).

Resultados e discussão

A quantificação de coliformes a 35 °C e a 45 °C nas amostras de ostras variou de $2,2 \times 10^3$ a $1,3 \times 10^6$ NMP.100 g⁻¹ e $< 1,8 \times 10^2$ a $4,6 \times 10^5$ NMP.100 g⁻¹, respectivamente. Em relação ao sururu, os valores oscilaram de $3,3 \times 10^5$ a $> 1,6 \times 10^7$ NMP.100 g⁻¹ para os coliformes a 35 °C e de $1,7 \times 10^3$ a $1,6 \times 10^7$ NMP.100 g⁻¹ para os coliformes a 45 °C (Tabela 1). Silva et al. (2004) e Pereira et al. (2006) encontraram em *Crassostrea gigas* do litoral de Florianópolis

índices de coliformes a 35 °C e a 45 °C, inferiores aos constatados no presente estudo. O elevado índice de coliformes em *Crassostrea rhizophorae* e *Mytella guyanensis* da Baía do Iguape mostra que a área vem sofrendo com a ação antrópica devido aos indícios de poluição constatados na região, oriundos de efluentes industriais e domésticos, além da ocupação desordenada de ribeirinhos no entorno da Baía. Segundo Pereira et al. (2006), baías e estuários localizados próximos a centros urbanos comumente recebem efluentes domésticos e industriais contendo resíduos fecais.

Conforme a Instrução Normativa Interministerial nº. 7, de 8 de maio de 2012, que institui o Programa Nacional de Controle

Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB) do Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2012), os organismos encontram-se classificados em três classes quanto a presença de coliformes a 45 °C: classe 1 (liberado < 230 NMP.100g⁻¹), classe 2 (liberada sob condições, 230 a 46.000 NMP.100g⁻¹) e classe 3 (suspensão > 46.000 NMP.100g⁻¹). De acordo com essa resolução, 41,7% (5/12) das ostras e 66,7% (8/12) dos sururus estariam impróprios para o consumo (Tabela 2). Embora a legislação brasileira não estabeleça valores de referência para a contagem de coliformes a 35 °C em moluscos bivalves, pesquisá-los é um importante indicativo da sua qualidade higiênico-sanitária e aptidão ao consumo humano.

Tabela 1 - Número Mais Provável (NMP.100g⁻¹) de coliformes a 35 °C e a 45 °C e pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de ostras e sururus coletadas na Baía do Iguape, Maragogipe-BA no período de junho de 2010 a maio de 2011

Amostras	Amostras de ostras			Amostras de sururus		
	Coliformes		<i>Salmonella</i>	Coliformes		<i>Salmonella</i>
	35 °C	45 °C		35 °C	45 °C	
1	2,3 x 10 ⁵	2,3 x 10 ⁵	Ausência	> 1,6 x 10 ⁷	1,6 x 10 ⁷	Ausência
2	2,8 x 10 ⁵	4,9 x 10 ⁴	Presença	4,9 x 10 ⁶	2,3 x 10 ⁶	Ausência
3	4,6 x 10 ⁵	4,6 x 10 ⁵	Ausência	9,4 x 10 ⁶	2,3 x 10 ⁶	Ausência
4	3,3 x 10 ⁴	4,5 x 10 ²	Ausência	4,9 x 10 ⁶	2,8 x 10 ⁵	Ausência
5	1,3 x 10 ⁶	4,7 x 10 ⁴	Ausência	1,7 x 10 ⁷	7,9 x 10 ⁶	Ausência
6	4,9 x 10 ³	< 1,8 x 10 ²	Ausência	7,9 x 10 ⁵	1,7 x 10 ³	Ausência
7	7,9 x 10 ⁵	7,0 x 10 ⁴	Ausência	4,6 x 10 ⁶	4,6 x 10 ⁶	Ausência
8	1,3 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁴	Ausência	3,3 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁴	Ausência
9	1,3 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁴	Ausência	3,3 x 10 ⁵	3,5 x 10 ⁴	Ausência
10	7,9 x 10 ⁴	1,4 x 10 ³	Ausência	7,0 x 10 ⁵	4,9 x 10 ³	Ausência
11	7,0 x 10 ⁴	1,4 x 10 ³	Ausência	7,9 x 10 ⁶	4,9 x 10 ⁶	Ausência
12	2,2 x 10 ³	4,0 x 10 ²	Ausência	1,2 x 10 ⁶	5,6 x 10 ⁵	Ausência

Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 2 - Classificação das amostras de ostra e sururu coletadas na Baía do Iguape, Maragogipe (BA), no período de junho de 2010 a maio de 2011, conforme a Instrução Normativa Interministerial de 2012 (PNCMB)

Categorias	Nº de amostras (%)	
	Ostra	Sururu
A (< 230 NMP.100 g ⁻¹)	1 (8,4)	0 (0,0)
B (230 a 46.000 NMP.100 g ⁻¹)	6 (50,0)	4 (33,3)
C (> 46.000 NMP.100 g ⁻¹)	5 (41,7)	8 (66,7)
Total	12 (100)	12 (100)

Fonte: Dados da pesquisa.

A contaminação por coliformes a 35 °C e a 45 °C e *Escherichia coli* nas amostras de sururu foi maior que nas de ostras. Conforme Furlan, Calijuri e Cunha (2007), o hábito escavador de *Mytella guyanensis* favorece uma maior concentração de coliformes, uma vez que a presença de nutrientes no sedimento contribui para a proliferação dos microrganismos.

A presença de *Escherichia coli* foi confirmada em 82% das amostras de ostras e em 100% das amostras de sururu. A bactéria é de grande importância para a saúde pública por provocar reações enterohemorrágicas, adquiridas basicamente por meio da ingestão de água e alimento contaminados (VILA et al., 2000). No período entre 1998 e 2007, os frutos do mar foram classificados em segundo lugar entre os alimentos mais envolvidos em surtos alimentares nos Estados Unidos (CSPI, 2009). No Brasil, a incidência de doenças transmitidas por frutos do mar não é bem conhecida, sendo a maioria dos casos não reportados. Entretanto, existem evidências de que o

pescado e seus subprodutos se encontram no topo da lista de alimentos associados a surtos alimentares (VIEIRA et al., 2006).

Salmonella spp. (duas cepas) foi isolada apenas em uma amostra de ostra, e sua ausência no sururu corrobora com a RDC nº 12 (BRASIL, 2001). Essa bactéria não é tolerante a condições adversas e tampouco competitiva, sofrendo injúrias em meio ácido e de elevada contaminação por coliformes, que, inclusive, dificultam o seu isolamento. Nessas condições, tais microrganismos podem desaparecer ou permanecer em números indetectáveis em alimentos muito contaminados (SANTOS-KOELLN; MATTANA; HERMES, 2009). Pereira et al. (2006) estudaram a qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea gigas*) provenientes de três áreas de cultivo no litoral de Florianópolis (SC) usando diversos bioindicadores, e relataram a ausência de *Salmonella* spp. nas amostras.

Tabela 3 - Percentual de suscetibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas em amostras de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e sururus (*Mytella guyanensis*) da Baía do Iguape, Maragogipe (BA) no período de junho de 2010 a maio de 2011

Antimicrobianos	Suscetibilidade % (nº. de cepas)		
	S	SI	R
Aminoglicosídeos			
- Amicacina	100 (27)	0 (0)	0 (0)
β-lactâmicos			
- Ampicilina	77,8 (21)	0 (0)	22,2 (6)
- Cefalotina	44,4 (12)	48,2 (13)	7,4 (2)
- Ceftazidime	100 (27)	0 (0)	0 (0)
- Imipenem	100 (27)	0 (0)	0 (0)
Fenicóis			
- Cloranfenicol	100 (27)	0 (0)	0 (0)
Glicopeptídeos			
- Vancomicina	77,8 (21)	18,5 (5)	3,7 (1)
Nitrofurânicos			
- Nitrofurantoína	92,6 (25)	7,4 (2)	0 (0)
Quinolonas			
- Ácido Nalidíxico	81,5 (22)	14,8 (4)	3,7 (1)
- Ciprofloxacina	100 (27)	0 (0)	0 (0)
Sulfonamidas			
- Sulfazotrim	77,8 (21)	0 (0)	22,2 (6)
Tetraciclina			
- Tetraciclina	44,4 (12)	3,7 (1)	51,9 (14)

Legenda: S – Sensibilidade; SI – Sensibilidade Intermediária; R – Resistência.

Fonte: Dados da pesquisa.

Os testes de resistência antimicrobiana mostraram que 27 estirpes de *Escherichia coli* apresentaram suscetibilidade a pelo menos um dos 12 agentes testados, sendo 16 cepas provenientes de ostras e 11 de sururus (Tabela 3). Antimicrobianos e bactérias resistentes são descartados em grandes quantidades no ambiente como resultado do uso indiscriminado de drogas antibióticas em práticas médicas, veterinárias e agrárias (FUENTEFRÍA et al., 2008).

Maior resistência foi verificada para a tetraciclina em 51,9% (14) dos isolados de *E. coli*, seguida de ampicilina (β -lactâmico) e sulfazotrim (sulfonamida) em 22,2% (6/27) das cepas para ambos os antimicrobianos. O elevado nível de resistência à tetraciclina, ampicilina e sulfazotrim demonstra como a mesma é estimulada pela utilização irrestrita de determinados agentes antimicrobianos, principalmente os de amplo espectro de ação (MOTA et al., 2005). Morelli et al. (2003), analisando cepas de *Escherichia coli* do músculo de ostras comercializadas em barracas de praia na cidade de Fortaleza (CE), observaram um padrão de resistência múltipla a diferentes antimicrobianos, como o de 70% à ampicilina. Ao passo que Vieira et al. (2008), estudando cepas de *Escherichia coli* isoladas de ostras *Crassostrea rhizophorae* do município de Eusébio (CE), relataram resistência à tetraciclina em 25% dos isolados. Resistência à tetraciclina tem sido observada em mais de 50% de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) isoladas em países tropicais e subtropicais devido ao seu uso extensivo (VILA et al., 2000). O fato tem reduzido o uso dessa droga na terapia humana (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Vasconcelos et al. (2010) observaram resistência ao sulfazotrim em 18,6% dos isolados de *E. coli* do açude Santo Anastácio (CE). A elevada frequência no isolamento de bactérias resistentes a esta droga do ambiente aquícola tem sido constatada em diversos estudos (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2006; CARNEIRO et al., 2007; VIEIRA et al., 2008).

Nenhuma das cepas apresentou resistência aos antimicrobianos amicacina, ceftazidime, ciprofloxacina, cloranfenicol, imipenem e nitrofurantoína. Guimarães, Momesso e Pupo (2010) relataram que os antimicrobianos pertencentes à classe dos aminoglicosídeos apresentam atividade melhorada em pH levemente alcalino (em torno de 7,4), que, por se apresentarem positivamente carregados, têm

penetração facilitada em bactérias Gram negativas. O fato de o pH da água salobra ser alcalino pode ter contribuído com a sua eficácia para a sensibilidade bacteriana (LIMA et al., 2011).

As duas cepas de *Salmonella* spp. testadas frente aos antimicrobianos foram suscetíveis à amicacina, à ceftazidime, à ciprofloxacina, ao cloranfenicol, ao imipenem, ao sulfazotrim e à tetraciclina. As cepas isoladas apresentaram resistência à ampicilina e à cefalotina. O fato de *Salmonella* ter apresentado elevada suscetibilidade é satisfatório visto que esse microrganismo respondeu por 30% dos surtos alimentares nos Estados Unidos, durante o período de 2009 a 2010 (MMWR, 2012). A sensibilidade à ciprofloxacina (quinolona de 2ª geração) é importante em cepas de *Salmonella*, pois a droga é utilizada no tratamento de pacientes com febre entérica, bacteremia, infecções metastáticas ou portadores assintomáticos de *Salmonella* (HOPKINS; DAVIES; THRELFALL, 2005).

Com relação ao perfil de multirresistência, foi observado que 25,9% (7) dos isolados de *E. coli* apresentaram resistência a mais de um agente antimicrobiano (Tabela 4). Vieira et al. (2011) relataram que 21% dos isolados de *E. coli* do Rio Cocó (CE) apresentaram perfil de multirresistência, principalmente para ampicilina e tetraciclina. O elevado percentual de cepas de *E. coli* resistentes e associada a dois ou mais antimicrobianos está ligado a fenômenos de pressão seletiva que atuam favorecendo a instalação, manutenção e propagação de características de resistência entre as populações bacterianas no ambiente (VASCONCELOS et al., 2010).

Ambas as cepas de *Salmonella* spp. apresentaram perfil de multirresistência, tendo uma delas apresentado índice MAR de 0,33, ou seja, resistência a quatro antimicrobianos (Tabela 4). Os antimicrobianos ciprofloxacina e cloranfenicol podem ser drogas de escolha para o tratamento de *Salmonella*, pois nenhum dos isolados apresentou resistência a estes fármacos. A ciprofloxacina tem sido a primeira escolha para o tratamento de salmonelose em seres humanos e animais (VAN et al., 2012).

O perfil de multirresistência observada serve de alerta por tornar reduzida a disponibilidade de novos agentes efetivos no tratamento de infecções. Segundo Baquero, Martínez e Cantón (2008), o estudo da resistência a agentes antimicrobianos em micro-organismos aquáticos indígenas é importante

Tabela 4 - Índice de múltipla resistência a antimicrobianos (MAR) de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. isoladas de moluscos bivalves da Baía do Iguape, Maragogipe (BA), no período de junho de 2010 a maio de 2011

Microrganismo	Origem	Cepas	Resistência	MAR
<i>Escherichia coli</i>	Ostra	EC1	TET, VAN	0,17
		EC7, EC22, E23	AMP, SUT, TET	0,25
		EC9	AMP, SUT	0,17
	Sururu	EC11	AMP, CFL, SUT, TET	0,33
		EC19	AMP, SUT, TET	0,25
<i>Salmonella</i>	Ostra	S1	AMP, CFL, NIT, VAN	0,33
		S2	AMP, CFL	0,17

Legenda: AMP – Ampicilina; CFL – Cefalotina; NIT – Nitrofurantoína; SUT – Sulfazotrin; TET – Tetraciclina; VAN – Vancomicina.

Fonte: Dados da pesquisa.

uma vez que indica o grau de extensão da alteração dos ecossistemas pela ação do homem, principalmente quando os antimicrobianos são liberados nos esgotos pela urina, fezes e eventualmente presença de carcaças animais. Gobel et al. (2005) relataram que os antimicrobianos sulfonamidas, macrolídeos, trimetropim, cefalosporinas ou fluoquinolonas podem ser encontrados em concentrações ativas em plantas de lodo ativado e que a carga do antimicrobiano varia com o consumo anual, aumentando no período do inverno.

A presença de elementos genéticos móveis no ambiente contribui para a disseminação da resistência aos antimicrobianos entre as espécies bacterianas presentes no ambiente aquático, filogeneticamente distintas, patogênicas ou não. Além disso, os organismos aquáticos podem albergar bactérias capazes de doar genes que codificam mecanismos de resistência às drogas para bactérias patogênicas ou da microbiota natural humana (CARNEIRO et al., 2007).

Conclusão

Os moluscos bivalves comercializados na Baía do Iguape, Maragogipe, representam um risco à saúde pública em virtude da elevada carga microbiana do grupo coliforme e presença de *Salmonella* spp. A múltipla resistência de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* isoladas dos moluscos aos antimicrobianos é preocupante, uma vez que os microrganismos podem passar a colonizar o trato intestinal do homem e dificultar a terapia de infecções alimentares.

Agradecimentos

Ao PPSUS/FAPESB no edital 004/2009 pelo apoio financeiro e aos pescadores e marisqueiras de Maragogipe pelas amostras de ostras gentilmente cedidas, entrevistas e conversas informais ao longo do projeto.

Referências

- BAQUERO, F.; MARTÍNEZ, J. L.; CANTÓN, R. Antibiotic and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, n. 3, p. 260-265, 2008. doi: 10.1016/j.copbio.2008.05.006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Indicadores de morbidade**. Brasília: Departamento de Informática do SUS (DATASUS), 2010. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2010/d13.def>>. Acesso em: 19 dez. 2011.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Instrução Normativa Interministerial nº7, de 8 de maio de 2012. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 09 mai. 2012, seção 1, p. 55.

- CARNEIRO, O. D. et al. Perfil de suscetibilidade 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. doi:10.1590/S0102-09352007000400008.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**: seventeenth informational supplement. Wayne, MI: CLSI, 2007.
- CENTER FOR SCIENCE IN THE PUBLIC INTEREST - CSPI. **Outbreak alert!** Analyzing foodborne outbreaks 1998 to 2007. Washington, DC: CSPI, 2009.
- DIAS, M. T. et al. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* Linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 319-324, 2010. doi:10.1590/S0101-20612010000200005.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. *Aeromonas* spp. isolated from oysters (*Crassostrea rhizophorea*) from a natural oyster bed, Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 48, n. 3, p. 129-133, 2006. doi:10.1590/S0036-46652006000300003.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, R. H. S. F. Moluscos bivalves: organismos bioindicadores da qualidade microbiológica das águas: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p. 17-29, 2008. doi:10.5935/1981-2965.20080007.
- FUENTEFRIA, D. B. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 470-473, 2008. doi:10.1590/S0037-86822008000500007.
- FURLAN, N.; CALIJURI, M. C.; CUNHA, C. A. G. Qualidade da água e do sedimento avaliada a partir da concentração de nutrientes totais. **Minerva**, v. 6, n. 1, p. 91-98, 2007.
- GÖBEL, A. et al. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 11, p. 3981-3989, 2005. doi:10.1021/es048550a.
- GUIMARÃES, O. D.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antimicrobianos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010. doi:10.1590/S0100-40422010000300035.
- HOPKINS, K. L.; DAVIES, R. H.; THRELFALL, E. J. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, n. 5, p. 358-373, 2005. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006.
- KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 165-170, 1983.
- LIMA, V. T. A. et al. **Análise da condutividade elétrica e do pH em água salobra no cultivo de tilápias**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/905670/1/66Valdivia.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2011.
- MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT - MMWR. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks - United States, 2009/2010. **Weekly**, v. 62, n. 3, p. 41-47, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6203a1.htm>>. Acesso em: 26 fev. 2013.
- MORELLI, A. M. et al. Indicadores de contaminação fecal para ostra-do-mangue (*Crassostrea rhizophorae*) comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza, Ceará. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 113, p. 81-88, 2003.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
- NASCIMENTO, V. A. et al. Qualidade microbiológica de moluscos bivalves - sururu e ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Revista Scientia Plena**, v. 7, n. 4, p. 1-5, 2011.
- PEREIRA, A. F. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do sururu do mangue, *Mytella guyanensis* na Baía do Iguape, Maragogipe - BA. In: Reunião Regional da SBPC, 1., 2010, Cruz das Almas. **Resumos...** Cruz das Almas, UFRB, 2010. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/reconcavo/resumos/930.htm>>. Acesso em: 30 jun. 2011.
- PEREIRA, M. A. et al. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis - Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 159-163, 2006. doi:10.1590/S1517-83822006000200012.

- SANTOS-KOELLN, F. T. S.; MATTANA, A.; HERMES, E. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.
- SHINOHARA, N. K. S. et al. *Salmonella* spp. importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008. doi:10.1590/S1413-81232008000500031.
- SILVA, A. I. M. et al. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó River estuary, Ceará state, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 1-2, p. 126-130, 2004. doi:10.1590/S1517-83822004000100021.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.
- VAN, T. T. H. et al. The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p. 98-106, 2012. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.032.
- VASCONCELOS, F. R. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do Açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Revista do Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 405-410, 2010.
- VIEIRA, D. M. et al. Características microbiológicas de carne de siri beneficiada em Antonina (PR) antes e após a adoção de medidas de boas práticas. **Scientia Agraria**, v. 7, n. 1, p. 41-48, 2006.
- VIEIRA, R. H. S. F. et al. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.
- VIEIRA, R. H. S. F. et al. Avaliação físico-química e análise microbiológica do perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas no Rio Cocó. **Magistra**, v. 23, n. 4, p. 200-206, 2011.
- VILA J. et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors in traveler's diarrhea strains. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 182, n. 6, p. 1780-1783, 2000. doi: 10.1086/317617.

Recebido: 26/03/2013

Received: 03/26/2013

Aprovado: 13/01/2014

Approved: 01/13/2014