

ARTIGO DE REVISÃO

AEROMONAS SPP.: FATORES DE VIRULÊNCIA E PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E METAIS PESADOS

L.J.S. Peixoto¹, M.C.A. Sá², L.A. Gordiano², M.M. Costa²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Estrado do Tamboril, s/nº, CEP 56200-000, Ouricuri, PE, Brasil. E-mail: lucianajatoba@hotmail.com

RESUMO

As bactérias do gênero *Aeromonas* spp. são considerados como patógenos oportunistas carreadores de múltiplos fatores de virulência. O fenômeno da resistência aos antimicrobianos e metais pesados constitui outro problema, podendo ocorrer por diferentes fatores, dentre eles o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, poluição ambiental e a presença de mecanismos de resistência, como bombas de efluxo, sendo que muitos destes podem ser transmitidos por elementos genéticos móveis como os plasmídeos. O objetivo desse artigo é fazer uma revisão bibliográfica sobre os fatores de virulência, resistência a antimicrobianos e metais pesados, bem como os mecanismos que podem intervir nessa resistência e sua transferência entre bactérias do gênero *Aeromonas*. Os estudos dos fatores envolvidos no mecanismo de surgimento da resistência, aliado aos estudos de biologia molecular, fornecem subsídios para elaboração de métodos de controle e profilaxia dessas enfermidades de impacto aos organismos aquáticos, seres humanos e meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Micro-organismos, fatores de virulência, plasmídeo, bomba de efluxo.

ABSTRACT

AEROMONAS SPP.: VIRULENCE FACTORS AND RESISTANCE PATTERNS TO ANTIMICROBIAL AND HEAVY METALS. Bacteria from *Aeromonas* spp. genus are considered as opportunistic pathogens that can carry many virulence factors. The resistance phenomenon to antimicrobial drugs and heavy metals is another problem and may occur by several factors, as the indiscriminate usage, environmental pollution and the presence of resistance determinants as efflux pumps, being many of them transmitted by genetic mobile elements as plasmid. The purpose of this article is to review about the virulence factors, antimicrobial and heavy metal resistance, as well as the mechanisms that can help its transfer among *Aeromonas* genus bacteria. Studies of the resistance mechanisms associated to molecular biology could produce information about control and prophylaxis methods to this disease of impact on aquatic organisms, man and environment.

KEY WORDS: Microorganisms, virulence factors, plasmid, efflux pump.

O aumento na prevalência de enfermidades bacterianas em peixes leva a perdas significativas na produção aquícola, afetando o desenvolvimento econômico do setor em muitos países. As bactérias do gênero *Aeromonas* são um dos principais causadores de perdas na piscicultura constituindo-se em importante patógeno encontrado na água, solo, alimentos, fezes humanas e animais (GRAM *et al.*, 1999). Estas bactérias são importantes agentes de gastroenterites transmitidas aos seres humanos pelo contato e consumo de carne e água contaminadas (ABDULLAH *et al.*, 2003).

Por muitos anos, a taxonomia de *Aeromonas* foi desconhecida e depois de significativas revisões foi esclarecida. A técnica de amplificação do DNA por

PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase) fornece uma ferramenta altamente sensível e específica para a detecção destes micro-organismos através de seus produtos de secreção (CASCÓN *et al.*, 1996).

As espécies de *Aeromonas* secretam muitas proteínas extracelulares, incluindo amilase, quitinase, elastase, aerolisina, nuclease, gelatinase, lecitinase, lipase e protease. Estas proteínas são conhecidas como fatores de virulência que causam doenças em peixes e humanos (NAM; JOH, 2007).

O uso indiscriminado de antimicrobianos para o controle de doenças ou como promotores de crescimento aumenta a pressão da seleção sobre os micro-organismos, levando naturalmente ao aumento da resistência bacteriana. Em muitos sistemas

²Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, Brasil.

aquáticos, resíduos de metais contaminantes possui significância, ocasionado em parte pelas atividades industriais e de mineradoras (MATYAR *et al.*, 2009). A grande contaminação do meio ambiente com metais funciona como agente seletivo na proliferação de resistência a antibióticos. Diferentes níveis e tipos de contaminações por metais sugerem mecanismos no processo de co-seleção dessa resistência (BAKER-AUSTIN *et al.*, 2006).

As bactérias possuem diferentes mecanismos de resistência antimicrobiana, dentre esses, a bomba de efluxo, que são proteínas integrantes da membrana plasmática que agem bombeando as drogas do meio intracelular para o meio extracelular, antes mesmo que elas exerçam sua função (PIDDOCK, 2006).

Além da proliferação das bactérias resistentes após a morte das consideradas sensíveis às drogas, há também a possibilidade da transferência dos genes de resistência a outras bactérias que nunca foram expostas a tal antibiótico (VERSCHUERE *et al.*, 2000). Ressalta-se que no ambiente aquático a troca de genes de resistência é estimulada devido à fácil movimentação dos micro-organismos e elementos genéticos móveis como os plasmídeos (SMITH *et al.*, 2008). Assim, diversos genes para resistência a metais pesados são codificados em plasmídeos, sendo relatada a existência de uma associação direta da resistência bacteriana aos antimicrobianos e metais pesados. Tal fato poderia ser explicado pela vantagem ambiental da co-seleção destas informações em um único plasmídeo, especialmente quando a bactéria estiver num ambiente poluído (YATES *et al.*, 2004).

Gênero *Aeromonas* e sua importância em saúde pública

Aeromonas spp. são bastonetes gram-negativos, de vida livre, anaeróbios facultativos, sendo antes classificadas junto ao *Vibrio* spp. e *Plesiomonas shigelloides* na família Vibrionaceae, porém, estudos genéticos evidenciaram a necessidade de sua reclassificação em uma família própria, Aeromonadacea (GHENGHESH *et al.*, 2008). COLWELL *et al.* (1986) propuseram esta reclassificação do gênero *Aeromonas*, uma vez que estas apresentam características filogenéticas distintas daquelas encontradas na família Vibrionaceae.

A identificação de espécies de *Aeromonas* spp. tem sido uma questão de discussão devido à sua diversidade fenotípica e genotípica. Neste sentido, a amplificação do gene rRNA 16S através da PCR é uma forma boa e rápida de avaliar a identidade de todas as espécies conhecidas (BORRELL *et al.*, 1997). BEAZ-HIDALGO *et al.* (2010) comprovaram que os testes moleculares são mais sensíveis que os métodos bioquímicos de identificação de bactérias deste gênero, em particular o sequenciamento de genes constitutivos, como *rpoD*, o qual se mostra como uma

importante ferramenta para o futuro em particular para confirmar a identificação de *A. hydrophila*. CASTRO-ESCARPULLI *et al.* (2003) confirmaram a identificação fenotípica de 82 isolados de *Aeromonas* de peixes destinados ao consumo humano no México por PCR, através da amplificação do rRNA 16S, como também GHATAK *et al.* (2007) identificaram 53 cepas de *Aeromonas* de múltiplas origens de importância médica através da sua amplificação e em um estudo objetivando avaliar presença de fatores de virulência e sensibilidade antimicrobiana os 19 isolados de água mineral também foram identificados por PCR com amplificação deste gene (SCOARIS *et al.*, 2008).

NAWAZ *et al.* (2006) fizeram a caracterização taxonômica de *Aeromonas* spp. isolada de peixes através de provas moleculares pela técnica de PCR-RFLP (Análise de Polimorfismo de Fragmentos de Restrição) e, dos 81 isolados, 23 foram identificados como *A. hydrophila*, 7 *A. trota*, 6 *A. caviae*, 42 *A. veronni* e 3 *A. jandaei*.

Para os peixes, as bactérias do gênero *Aeromonas* spp. são consideradas bactérias oportunistas, organismos patogênicos facultativos e manifestam-se em hospedeiros enfraquecidos e/ou atacados por outros agentes etiológicos, sendo considerados invasores secundários, estabelecendo-se ao mesmo tempo em que outras infecções bacterianas, virais, parasitárias ou em decorrências de problemas nutricionais ou de estresse (PAVANELLI *et al.*, 2008). Cinco são as espécies de importância clínica: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. veronii* e *A. schubertii*. Podem ser isoladas de répteis, anfíbios, peixes e de algumas aves. As espécies *A. hydrophila* e *A. salmonicida* são importantes agentes patogênicos para peixes e para a saúde pública, por multiplicar-se e produzir exotoxinas em temperaturas de refrigeração.

Existem controvérsias sobre a patogenicidade da *Aeromonas* em humanos, mas o seu isolamento em fezes de indivíduos com diarreia e ausência de outro patógeno sugere seu papel como causador da doença, bem como nos casos de infecções generalizadas (FOOD..., 2004). ALTWEGG; GEISS (1989) associaram *Aeromonas* a uma diversidade de infecções como septicemia, meningite, celulite, ectima gangrenoso, pneumonia, peritonite, conjuntivite, úlcera de córnea, osteomielite, artrite supurativa, miosite, infecção do trato urinário, endocardite, entre outros. Em indivíduos saudáveis os sintomas mais comuns são gastroenterites e os imunocomprometidos podem apresentar severos quadros de septicemia.

A. hydrophila foi o único patógeno isolado de fezes diarreicas de uma criança de um ano de idade no México, sendo a cepa identificada por provas bioquímicas e métodos genéticos e confirmada sua capacidade de produção de enzimas extracelulares relacionadas com virulência, proteases, lipases e hemolisinas (AGUILERA-ARREOLA *et al.*, 2009). A grande

dispersão da *Aeromonas* spp. no meio ambiente pode ser a hipótese mais provável de infecções por consumo de alimentos e água contaminada, mesmo sem grandes surtos terem sido relatados. *Aeromonas* é um patógeno que produz vários fatores de virulência, por esse motivo a infecção pode se apresentar complexa e multifatorial (CHOPRA; HOUSTON, 1999).

A presença de bactérias do gênero *Aeromonas* nos alimentos tem sido demonstrada. Normalmente destacam-se os alimentos que durante sua industrialização entraram em contato com a água, a qual é tida como habitat natural das diversas espécies e principal fonte de contaminação (BIZANI; BRANDELLI, 2001). Esses microorganismos são cada vez mais reconhecidos como patógenos entéricos e possuem fatores de virulência que contribuem para o desencadeamento da doença (NIHAL; SEDA, 2010). Estes autores isolaram 73 cepas de origem ambiental e alimentar com a finalidade de comparar suas características fenotípicas e de patogenicidade, sendo identificadas cepas potencialmente patogênicas, demonstrando ser um risco significativo para a saúde pública. RALL *et al.* (1998) relataram que 48% das amostras de peixe pintado coletado em São Paulo estavam contaminadas com *Aeromonas* spp., tendo uma maior frequência de *A. caviae*, seguida de *A. hydrophilla* e *A. sobria*.

Fatores de virulência

As hemolisinas, citotoxinas, fosfolipases, DNase e habilidade de aderência às células epiteliais são diferentes produtos extracelulares biologicamente ativos presentes em espécies do gênero *Aeromonas* importantes como fatores de virulência (SCOARIS *et al.*, 2008). As suas enterotoxinas produzem várias proteases que causam danos teciduais e auxiliam no estabelecimento da infecção. O trato gastrointestinal parece ser a principal fonte de infecção de *Aeromonas* spp. em humanos, acarretando uma doença com diarreica de curta duração variando desde diarreia aquosa, semelhante a cólera, até um quadro clínico de disenteria típico com fezes sanguinolentas e com muito muco, podendo ocasionar síndrome hemolítica urêmica esporadicamente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

A virulência das *Aeromonas* é multifatorial, incluindo fatores de aderência, como S-layer e lipopolissacarídeos, sideróforos e uma matriz de exoenzimas e exotoxinas, ou seja, aerolisina/hemolisina, lipases, proteases, entre outros (WONG *et al.*, 1998). SEN; RODGERS (2004) avaliaram a presença de seis fatores de virulência de cepas de *Aeromonas* isoladas na água de tratamento municipal nos Estados Unidos encontrando elastase (*ahyB*), lipase (*pla/lip/lipH3/alp-1*) flagelina A e B (*flaA* e *flaB*), e a presença de enterotoxinas, *act*, *alt* e *ast*, identificando uma grande variedade de combinações desses genes em diferentes linhagens da mesma espécie e um isolado de

A. hydrophilla foi positivo para a presença dos seis fatores analisados.

SCOARIS *et al.* (2008), em estudos realizados no Estado do Paraná/Brasil, isolaram a partir de água de torneira, água mineral e de poço artesiano, 19 cepas de *Aeromonas* spp. para investigar sua capacidade de produção de diferentes fatores de virulência tais como, hemolisinas, formação de biofilme e produção de adesinas. A maioria dos isolados apresentou atividade hemolítica e, no geral, os isolados apresentaram-se hábeis para invadir células epiteliais. O consumo de água sem tratamento adequado pode ser considerado como um possível veiculador de *Aeromonas* spp., bem como os fatores de virulência presentes podem agravar o quadro da doença.

De 408 pacientes admitidos com gastroenterite aguda em dois hospitais do Rio Grande do Sul, em 27 (6,6%) foram isolados *Aeromonas* com maior prevalência em lactantes e crianças. Genes (*aerA*-aerolisina/hemolisina, *ahpA*-serina-protease, *satA*-glicerofosfolipídio-colesterol aciltransferase, *lipA*-lipase, e *ahyB*-elastase) e fatores de virulência (atividade hemolítica, proteolítica, lipolítica e formação de biofilme) foram identificados na maioria dos isolados de *A. hydrophilla* e *A. veronii* biotipo *sobria*, com frequências menores em *A. caviae* (GUERRA *et al.* 2007).

BIZANI; BRANDELLI (2001) identificaram que espécies de *A. hydrophilla* e *A. sobria* isoladas a partir de água de abatedouro bovino foram positivas nas reações de hemólise e hemoaglutinação. As amostras de água foram provenientes de abastecimento e escoamento, sendo considerado como um fator contaminante, já que a água de abastecimento é utilizada na lavagem das carcaças.

CASTRO-ESCARPULLI *et al.* (2003) avaliaram 82 isolados de *Aeromonas* spp. a partir de 250 amostras de peixes congelados quanto a presença de fatores de virulência importantes para o desenvolvimento de uma infecção bacteriana, por meio da PCR, sendo observada a presença dos genes aerolisina/hemolisina, lipases extracelular (*lip*, *lipH3*, *pla*, *plc* e GCAT), protease e DNase. Para identificação fenotípica foram realizadas as provas de vermelho congo, aderência celular (HEp-2), bem como a atividade hemolítica, proteolítica, lipolítica, atividade de nuclease, sendo as amostras positivas.

KINGOMBE *et al.* (2010) usaram um novo método de PCR multiplex para detecção de três genes de virulência (*act/alt/ast*) em 537 isolados de *Aeromonas* a partir de alimentos e os isolados apresentaram-se com aspecto multifatorial para genes de virulência, evidenciando assim contaminante de risco a saúde pública.

Resistência aos antimicrobianos

Na atual situação não existe uma relação de antimicrobianos adequados para tratar as condições

específicas das doenças dos peixes. As diferenças fisiológicas entre as espécies de peixes e ambientes aquáticos são muito maiores do que para os animais terrestres. Isto interfere na forma de desenvolvimento da doença e de seu quadro clínico que pode variar de uma espécie pra outra ou na mesma espécie em diferentes condições ambientais, com necessidades farmacocinéticas específicas (SMITH *et al.*, 2008).

Em virtude da grande diversidade do setor aquícola, o uso de agentes antimicrobianos não pode ser generalizado em todas as situações. Devem-se considerar os aspectos do antimicrobiano, tais como dosagens, uso racional, espécies cultivadas, bem como a farmacodinâmica e a farmacocinética da droga a ser utilizada. Em relação aos agentes empregados na aquicultura mundial existem diferenças nos dados de um país para outro, mesmo com essas variações os agentes antimicrobianos mais utilizados pertencem ao grupo das tetraciclina, das sulfonamidas e das quinolonas de primeira e segunda geração (GUARDABASSI *et al.*, 2010).

O uso indiscriminado de antibióticos na aquicultura leva ao desenvolvimento de bactérias com característica de múltipla resistência aos antimicrobianos (FRAPPAOLA; GUEST, 1986). Mutações e outras alterações genéticas no genoma bacteriano geram a base da resistência antimicrobiana. Essas alterações genéticas podem ocorrer de diversas maneiras, incluindo mutação espontânea e aquisição de elementos genéticos móveis, tais como plasmídeos e integrons (GUARDABASSI *et al.*, 2010).

ČÍZEK *et al.* (2010) verificaram que os isolados de *Aeromonas* de duas espécies de carpas mostraram alta resistência à oxitetraciclina, usando a técnica de PCR para avaliar a presença do gene *tet* que confere resistência à tetraciclina, sendo detectado em 40% (48/121) dos isolados. ISHIDA *et al.* (2010) identificaram a presença de genes de resistência à tetraciclina em 26,3% (72/274) de bactérias gram-negativas isoladas de água de sistemas de piscicultura no norte do Egito. Nawaz *et al.* (2006), após identificarem espécies de *Aeromonas* por PCR-RFLP, avaliaram a presença de 5 tipos de gene *tet* (A-E) por PCR multiplex; o gene *tetE* apresentou-se dominante sobre os demais, sendo identificado em 90% dos isolados (73/81).

Aeromonas spp. isoladas a partir de sistemas de aquicultura na África do Sul apresentaram resistência a betalactâmicos, porém, sensibilidade às cefalosporinas de segunda e terceira geração. 78,3% foram resistentes às tetraciclina, com a amplificação do gene *tet* ABC em 70,3% e o gene *tet* DEH em 54,1% dos isolados (JACOBS; CHENIA, 2007).

MEJDI *et al.* (2010) determinaram a sensibilidade *in vitro* de *Vibrio* spp. e *Aeromonas* spp. isoladas de água do mar e mexilhões, frente a 12 antimicrobianos usando o método de Kirby-Bauer, e a maioria dos isolados mostrou-se resistente a pelo menos dois

agentes e a ampicilina apresentou a maior porcentagem de resistência.

EVANGELISTA-BARRETO *et al.* (2010) isolaram sete espécies diferentes de *Aeromonas* no Rio Cocó no Ceará/Brasil e testaram a resistência frente a oito antibióticos, sendo que 60% apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano. Múltipla resistência a antibióticos também foi observada em *A. caviae*, *A. sobria* e *A. veronii* bv. *sobria* e a *A. caviae* apresentou o maior índice de múltipla resistência, sendo resistente a quatro antibióticos.

Entre os patógenos entéricos, esse é um problema grave nos países em desenvolvimento, onde existe uma alta taxa de gastroenterites e uso inadequado de antibióticos. Essa resistência é particularmente relevante na patogenicidade da *Aeromonas* spp. que, além da clássica aos β -lactâmicos, múltiplas resistências vêm sendo observadas (GUERRA *et al.*, 2007). A maioria das *Aeromonas* spp. é resistente à penicilina, ampicilina e carbenicilina. Em geral, são sensíveis às cefalosporinas, aminoglicosídeos, tetraciclina, cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim e quinolonas. Como as síndromes diarreicas são autolimitantes, a terapêutica antimicrobiana é questionável e indicada nos casos mais graves, envolvendo pacientes imunodeprimidos ou com septicemias (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

BIZANI; BRANDELLI (2001) testaram 32 antibióticos em quinze isolados de *Aeromonas* a partir de água de abatedouro de bovinos e a *A. hydrophilla* mostrou-se menos sensível aos antibióticos testados. Todos os isolados apresentaram resistência aos betalactâmicos, sozinho ou em combinação com outro antimicrobiano. SCOARIS *et al.* (2008) observaram que 18 de 23 *Aeromonas* isoladas a partir de água mineral apresentaram múltipla resistência a três ou mais antibióticos testados, tendo a ampicilina 91% de resistência e a ciprofloxacina 100% de sensibilidade.

As populações bacterianas são heterogêneas, cada uma com sua própria sensibilidade a determinado antimicrobiano. O uso de antimicrobianos exerce pressão seletiva sobre elas e o uso de concentrações reduzidas das drogas eliminou as subpopulações mais sensíveis, levando ao crescimento excessivo da subpopulações menos sensíveis (GUARDABASSI *et al.*, 2010).

Resistência aos metais pesados

Um dos principais problemas ambientais é a contaminação de águas por metais como Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Hg e Co (DIELS *et al.*, 2003). Atividades industriais e agrícolas podem liberar metais tóxicos no ambiente, constituindo um grave perigo para o ecossistema, bem como à saúde humana. Em muitos sistemas aquáticos, resíduos de metais contaminantes são de grande significância, ocasionado em

parte pelas atividades industriais e de mineradoras (MATYAR *et al.*, 2009).

A grande contaminação do meio ambiente com metais funciona como agente seletivo na proliferação de resistência a antibióticos. Diferentes níveis e tipos de contaminações por metais sugerem mecanismos no processo de co-seleção dessa resistência (BAKER-AUSTIN *et al.*, 2006).

HASSEN *et al.* (1998) observaram cepas de *Pseudomonas* que apresentavam resistência a metais pesados (Cu, Zn, Cr, Cd, Co e Hg), tendo alta concentração mínima inibitória e largo espectro de resistência antibiótica, concluindo que a *P. aeruginosa* pode ser utilizada como modelo para estudos ecotoxicológicos.

AKINBOWALE *et al.* (2007) determinaram alta resistência de isolados de *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. frente a sete metais pesados (Cu, Pb, Cr, Mn, Zn, Cd, Co), por meio do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM). PATHAK; GOPAL (2005) avaliaram a CIM visando a identificar a resistência de bactérias isoladas de peixes frente a metais pesados (Cu, Pb, Mn, Cd e Cr), sendo evidenciada a tolerância em diferentes concentrações, com máxima para o manganês e mínima para o cromo.

O cromo é um metal largamente utilizado em processos industriais têxteis e curtumes, quando liberado no meio aquático acaba se depositando também nos peixes, dessa maneira as atividades celulares apresentam-se alteradas e os patógenos de peixes passam a ter alta resistência quando desafiados de forma crônica pelo cromo (STEINHAGEN *et al.*, 2004).

MATYAR *et al.* (2009) avaliaram a sensibilidade de *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas* spp. frente a 15 antibióticos e seis metais pesados (Cd, Cu, Cr, Pb, Mn e Zn), sendo observado um elevado índice de resistência dos micro-organismos, sugerindo que as bactérias tenham a capacidade de transferência do gene de resistência via plasmídeos. A presença de plasmídeos e a sua transferência entre as bactérias proporcionam a estes micro-organismos uma transferência de caracteres essenciais à sua sobrevivência como, por exemplo, os plasmídeos responsáveis pela resistência antimicrobiana, degradação de metais pesados, ou mesmo aqueles que codificam toxinas bacterianas (ADAMS *et al.*, 1998).

Mecanismo genético de transmissão de resistência

A transferência de genes entre as bactérias foi primeiramente descrita por Griffith em 1928, em estudos de virulência de pneumococos em camundongos. Muitos dos genes adquiridos desta forma podem carrear informações deletérias às bactérias receptoras, reduzindo sua população, outras informações são neutras, enquanto que algumas conferem uma vantagem seletiva aos micro-organismos, ou são carregadas por vetores que tem sua própria maquinaria

de manutenção com potencial para se disseminar rapidamente numa população bacteriana (THOMAS; NIELSEN, 2005). Os plasmídeos podem carrear genes com diferentes funções: como fatores de virulência, adesinas e toxinas, resistência a metais pesados e genes de metabolismo de substratos incomuns (SHERLEY *et al.*, 2004).

Embora alguns pesquisadores acreditem que a resistência somente ocorra após o uso das drogas antimicrobianas, a grande diversidade dos genes envolvidos atribui uma origem antiga. Esta resistência pode ser devida provavelmente para proteção de compostos antibióticos produzidos por organismos do meio ambiente com *Streptomyces* spp., ou mutações de genes *housekeeping* (DCOSTA *et al.*, 2006). Uma nova teoria propõe que os antibióticos possuem um duplo papel no meio ambiente e, além da inibição de crescimento, bem estudada no meio acadêmico e clínico, estes seriam importantes como moléculas sinalizadoras podendo interagir com DNA do próprio micro-organismo como de seus vizinhos (FAJARDO; MARTÍNEZ, 2008). Este papel se torna claro quando se avaliam outros compostos antimicrobianos não clássicos como as bacteriocinas, bem como pela relação entre *quorum sensing* e a produção de compostos antimicrobianos por bactérias como a *Burkholderia thailandensis* (FAJARDO; MARTÍNEZ, 2008; DUERKOP *et al.*, 2009).

O ambiente aquático costuma reunir a água de ambientes próximos e com isto aproximar micro-organismos de diferentes origens (SENGELØV; SØRENSEN, 1998). O incremento no número de relatos da multirresistência entre isolados de ambientes aquáticos, como a *Aeromonas* spp., consideradas patógenos oportunistas e emergentes de peixes e humanos, tem sido observado em todo o mundo. Isto pode ser atribuído à transferência horizontal de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e integrons (PLOY *et al.*, 2000; LEVERSTEIN-VAN-HALL *et al.*, 2002).

A conjugação envolve a troca de DNA por plasmídeos via a formação de pili sexual ou F. A pili comunica o citoplasma de duas células e permite tanto a passagem de plasmídeos, como de segmentos de DNA cromossomal. Os integrons são pequenos plasmídeos que utilizam os maiores para a sua replicação e transmissão, enquanto que os transposons são sequências de DNA de replicação e transmissão autônoma. Estas duas moléculas são muito importantes para o desenvolvimento de resistência múltipla as drogas antimicrobianas (SHERLEY *et al.*, 2004). Plasmídeos contendo determinantes para resistências múltiplas aos antimicrobianos podem potencialmente transmitir essas características das bactérias dos peixes aos seres humanos, o que tem sido reportado para tetraciclina (RODHES *et al.*, 2000). Vários plasmídeos e transposons têm sido

encontrados em associação nos isolados clínicos e ambientais de *Aeromonas* spp. (RODHES et al., 2000; JACOBS; CHENIA, 2007), sendo descrita ainda a associação dos integrons com resistência múltipla aos antimicrobianos (LEVERSTEIN-VAN-HALL et al., 2002). A conjugação via plasmídeos é considerada importante no solo e ambiente aquático (TREVORS et al., 1987). No ambiente aquático a troca de plasmídeos entre bactérias de famílias diferentes pode ocorrer, o que explica a existência de bactérias multirresistentes em ambientes onde não exista uma grande pressão de seleção (KRUSE; SØRUM, 1994).

A transformação é um processo pelo qual o DNA é captado diretamente do ambiente de onde a bactéria reside (solos, plantas, animais, outros micro-organismos). Este processo já foi comprovado para organismos patogênicos e ambientais como *E. coli*, *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp. (BAUR et al., 1996; VRIES et al., 2001). DNA puro pode ser obtido de diferentes fontes como solo, fezes, água, silagem, saliva humana, alimentos e rações (THOMAS; NIELSEN, 2005).

A identificação de vários genes de resistência antibiótica (Tabela 1) (ČÍZEK et al. 2010; ISHIDA et al., 2010; VERNER-JEFFREYS et al. 2009) em *Aeromonas* spp. evidencia o risco dessas bactérias servir como reservatório desses genes, que podem ser transferidos para outras bactérias na aquicultura (JACOBS; CHENIA, 2007). Múltiplos mecanismos de resistência antimicrobiana tornam-se uma ameaça à saúde pública, bem como se fazem necessários tratamentos mais onerosos (ISHIDA et al., 2010).

Considerações finais

A contaminação de sistemas de produção pesqueira, peixes, meio ambiente, água e alimentos constitui potencial veículo de infecções causadas por *Aeromonas* spp. Salientam-se ainda os diversos mecanismos de virulência e resistência que podem ser transferidos para outros indivíduos com potencial patogênico.

O uso indiscriminado e não autorizado de antimicrobianos é um fator agravante na seleção de bactérias resistentes, bem como a contaminação do meio ambiente por dejetos hospitalares e industriais.

É de fundamental importância a sensibilização dos piscicultores com relação ao uso racional de antimicrobianos, bem como de toda a população com o descarte do lixo e a preservação do meio ambiente, visto que a contaminação dos rios e lagos por metais e dejetos tem sido um dos fatores de grande importância para a co-seleção de bactérias resistentes.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, A.I.; HART, C.A.; WINSTANLEY, C. Molecular characterization and distribution of virulence associated genes amongst *Aeromonas* isolates from Libya. *Journal of Applied Microbiology*, v.95, p.1001-1007, 2003.
- ADAMS, C.A.; AUSTIN, B.; MEADEN, P.G.; McINTOSH, D. Molecular Characterization of Plasmid-Mediated Oxytetracycline Resistance in *Aeromonas salmonicida*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.64, n.11, p.4194-4201, 1998.
- AGUILERA-ARREOLA, M.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. H.; CASTRO-ESCARPULLI, G. Molecular and phenotypic characterization of *A. hydrophila*-like HG3 isolated of an infant with diarrhea in Mexico. *Bioquímica*, v.34, n.4, p.183-189, 2009.
- AKINBOWALE, O.L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M.D. Antibiotic and heavy metal resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.30, p.177-182, 2007.
- ALTWEGG, M.; GEISS, H. K. *Aeromonas* as a human pathogen. *Critical Reviews in Microbiology*, v.16, n.4, p.253-286, 1989.
- BAKER-AUSTIN, C.; WRIGHT, M. S.; STEPANAUSKAS, R.; McARTHUR, J. V. Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in Microbiology*, v.14, n.4, p.176-182, 2006.
- BAUR, B., HANSELMANN, K., SCHLIMME, W., JENNI, B. Genetic transformation in freshwater: *Escherichia coli* is able to develop natural competence. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, p.3673-3678, 1996.

Tabela 1 - Integron/gene que confere resistência a antimicrobianos descritos em isolados do gênero *Aeromonas*.

Antimicrobiano	Integron/gene resistência	Referência
Tetraciclina	Tet	ČÍZEK et al. (2010)
Streptomicina	Aad	ISHIDA et al. (2010)
Trimetoprim	Dfr	ISHIDA et al. (2010)
Cloranfenicol	Cat	ISHIDA et al. (2010)
Quinolona/Fluorquinolona	Qnr	VERNER-JEFFREYS et al. (2009)
Florfenicol	Flor	ISHIDA et al. (2010)
Betalactamases	Bla	VERNER-JEFFREYS et al. (2009)

- BEAZ-HIDALGO, R.; ALPERI, A.; BUJÁN, N.; ROMALDE, J.L.; FIGUEIRAS, M.J. Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. *Systematic and Applied Microbiology*, v.33, p.149-153, 2010.
- BIZANI, D.; BRANDELLI, A. Antimicrobial susceptibility, hemolysis, and emagglutination among *Aeromonas* spp. isolated from water of a bovine abattoir. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.32, p.334-339, 2001.
- BORRELL, N.; ACINAS, S. G.; FIGUEIRAS, M. J.; MURCIA, A. J. M. Identification of *Aeromonas* Clinical Isolates by Restriction Fragment Length Polymorphism of PCR-Amplified 16S rRNA Genes. *Journal of Clinical Microbiology*, v.35, n.7, p.1671-1674, 1997.
- CASCÓN, A.; ANGUITA, J.; HERNANZ, C.; SÁNCHEZ, M.; FERNÁNDEZ, M.; NAHARRO, G. Identification of *Aeromonas hydrophila* hybridization group 1 by PCR assays. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, n.4, p.1167-1170, 1996.
- CASTRO-ESCARPULLI, G.; FIGUEIRAS, M. J.; AGUILERA-ARREOLA, G.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-RENDÓN, E.; APARICIO, G. O.; GUARRO, J.; CHACÓN, M. R. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *International Journal of Food Microbiology*, v.84, p.41-49, 2003.
- CHOPRA, A.K.; HOUSTON, C.W. Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. *Microbes and Infection*, v.1, n.13, p.1129-1137, 1999.
- ČÍŽEK, A.; DOLEJSKÁ, M.; SOCHOROVÁ, R.; STRACHOTOVÁ, K.; PIAČKOVÁ, V.; VESELÝ, T. Antimicrobial resistance and its genetic determinants in *Aeromonads* isolated in ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio koi*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Microbiology*, v.142, n.3/4, p.435-439, 2010.
- COLWELL, R. R.; MACDONELL, M. T.; LEY, J. Proposal to Recognize the Family Aeromonadaceae fam. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.36, n.3, p.473-477, 1986.
- DCOSTA, V.M., MCGRAM, K.M., HUGHES, D.W., WRIGTH, G.D. Sampling the antibiotic resistome. *Science*, v.311, n.5759, p.374-377, 2006.
- DIELS, L.; SPAANS, P. H.; ROY, S. V.; HOOYBERGHS, L.; RYNGAERT, A.; WOUTERS, H.; WALTER, E.; WINTERS, J.; MACASKIE, M. L.; FINLAY, J.; PERNFUSS, B.; WOEBKING, H.; PUMPEL, T.; TSEZOS, M. Heavy Metals removal by sand filters inoculated with metal sorbing and precipitating bacteria. *Hidrometallurgy*, v.71, p.235-241, 2003.
- DUERKOP, B.A.; VARGA, J.; CHANDLER, J.R.; PETERSON, S.B.; HERMAN, J.P.; CHURCHILL, M.E.A.; PARSEK, M.R.; NIERMAN, W.C.; GREENBERG, E.B. Quorum-Sensing control of antibiotic synthesis in *Burkholderia thailandensis*. *Journal of Bacteriology*, v.191, n.12, p.3909-3918, 2009.
- EVANGELISTA-BARRETO, N.S.; CARVALHO, F.C.T.; VIEIRA, R.H.S.F.; REIS, C.M.F.; MACRAE, A.; RODRIGUES, D.P. Characterization of *Aeromonas* species isolated from an estuarine environment. *Brazilian Journal Microbiology*, v.41, n.2, p.452-460, 2010.
- FAJARDO, A.; MARTÍNEZ, J.L. Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current Opinion in Microbiology*, v.11, p.161-167, 2008.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US). *Bad bug book: foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. 1.ed. [Chapter:] *Aeromonas hydrophila*. [data Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm070523.htm>>. Acesso em: 8 nov.2010.
- FRAPPAOLA, P.J.; GUEST, G.B. Regulatory status of tetracyclines, penicillin and other antibacterial drugs in animal feeds. *Journal Animal Science*, v.62, p.86-92, 1986.
- GHATAK, S.; AGARWAL, R.K.; BHILEGAONKAR, K.N. Species identification of clinically important *Aeromonas* spp. by restriction fragment length polymorphism of 16S rDNA. *Letters in Applied Microbiology*, v.44, p.550-554, 2007.
- GHENGHESH, K.S.; AHMED, S.F.; EL-KHALEK, R.A.; AL-GENDY, A.; KLENA, J. *Aeromonas*-associated infections in developing countries. *Journal Infect Developing Countries*, v.2, n.2, p.81-98, 2008.
- GRAM, L.; MELCHIORSEN, J.; SPANGGAARD, B.; HUBER, I.; NIELSEN, T. F. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Applied and Environmental Microbiology*, v.65, n.3, p.969-973, 1999.
- GUARDABASSI, L.; JENSEN, L.B.; KRUSE, H. *Guia de antimicrobianos em veterinária*. Porto Alegre: Artmed, 2010. 267p.
- GUERRA, I.M.F.; FADENELLI, R.; FIGUEIRÓ, M.; SCHREINER, F.; DELAMARE, A.P.L.; WOLLHEIM, C.; COSTA, S.O.P.; ECHEVERRIGARAY, S. *Aeromonas* associated diarrhoeal disease in south Brazil: prevalence, virulence factors and antimicrobial resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.38, n.4, p.638-643, 2007.
- HASSEN, A.; SAIDI, N.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. *Bioresource Technology*, v.65, n.1/2, p.73-82, 1998.
- ISHIDA Y.; AHMED, A.M.; MAHFOUZ, N.B.; KIMURA, T.; EL-KHODERY, S.A.; MOAWAD, A.A.; SHIMA-

- MOTO, T. Molecular analysis of antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria isolated from fish farms in Egypt. *Journal of Veterinary Medical Science*, v.72, n.6, p.727-734, 2010.
- JACOBS, L.; CHENIA, H.Y. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems. *International Journal of Food Microbiology*, v.114, p.295-306, 2007.
- KINGOMBE, C.I.B.; D'AOUST, J.; HUYS, G.; HOFMANN, L.; RAO, M.; KWAN, J. Multiplex PCR method for detection of three *Aeromonas* enterotoxin genes. *Applied and Environmental Microbiology*, v.76, n.2, p.425-433, 2010.
- KRUSE, H.; SØRUM, H. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied and Environmental Microbiology*, v.60, n.11, p.4015-4021, 1994.
- LEVERSTEIN-VAN-HALL, M.A.; PAAUW, A.; BOX, A.T.A.; BLOK, H.E.M.; VERHOEF, J.; FLUIT, A.C. Presence of integron-associated resistance in the community is widespread and contributes to multidrug resistance in the hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, v.40, n.8, p.3038-3040, 2002.
- MATYAR, F.; AKKAN T.; UÇAK, Y.; ERASLAN, B. *Aeromonas* and *Pseudomonas*: antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). *Environmental Monitoring Assessment*, v.167, p.309-320, 2009.
- MEJDI, S.; EMIRA, N.; ALI, M.; HAFEDH, H.; AMINA, B. Biochemical characteristics and genetic diversity of *Vibrio* spp. and *Aeromonas hydrophila* strains isolated from the Lac of Bizerte (Tunisia). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v.26, p.2037-2046, 2010.
- NAM, I.Y.; JOH, K. Rapid detection of virulence of *Aeromonas* isolated from a trout by hexaplex-PCR. *Journal of Microbiology*, v.45, n.4, p.297-304, 2007.
- NAWAZ, M.; SUNG, K.; KHAN, S.A.; KHAN, A.A.; STEELE, R. Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from Catfish. *Applied and Environmental Microbiology*, v.72, n.10, p.6461-6466, 2006.
- NIHAL, Y.; SEDA, E. Virulence properties and characterization of *Aeromonas* isolated from foods of animal origin and environmental sources. *Journal of Food Protection*, v.73, n.5, p.855-860, 2010.
- PATHAK, S.P.; GOPAL, K. Occurrence of antibiotic and metal resistance in bacteria from organs of river fish. *Environmental Research*, v.98, p.100-103, 2005.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3.ed. Maringá: Eduem, 2008. 311p.
- PIDDOCK, L.J.V. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacterial. *Clinical Microbiology Reviews*, v.19 p.382-402, 2006.
- PLOY, M.; LAMBERT, T.; COUTY, J.; DENIS, F. Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. *Clinical and Chemistry Laboratory Medicine*, v.38, p.483-487, 2000.
- RALL, V.L.M.; IARIA, S.T.; HEIDTMANN, S.; PIMENTA, F.C.; GAMBA, R.C.; PEDROSO, D.M.M. *Aeromonas* species isolated from pintado fish (*Pseudoplatystoma* sp.): virulence factors and drug susceptibility. *Revista de Microbiologia*, v.29, n.3, p.222-227, 1998.
- RHODES, G.; HUYS, G.; SWINGS, J.; MEGANN, P.; HINEY, M.; SMITH, P.; PICKUP, R. W. Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: Implication of Tn/721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Applied and Environmental Microbiology*, v.66, p.3883-3890, 2000.
- SCOARIS, D.O.; COLACITE, J.; NAKAMURA, C.V.; UEDA-NAKAMURA, T.; ABREU FILHO, B.A.; DIAS FILHO, B.P. Virulence and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* spp. isolated from drinking water. *Antonie van Leeuwenhoek*, v.93, p.111-122, 2008.
- 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*, v.97, p.1077-1086, 2004.
- SENGELØV, G.; SØRENSEN, S. J. Methods for detection of conjugative plasmid transfer in aquatic environments. *Current Microbiology*, v.37, p.274-280, 1998.
- SHERLEY, M.; GRODON, D.M.; COLLIGNON, P.J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*, v.150, p.1539-1546, 2004.
- SMITH, P. R.; BRETON, A. L.; HORSBERG, T. E.; CORSIN, F. Guidelines for antimicrobial use in aquaculture. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. (Ed.). *Guide to antimicrobial use in animals*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2008. p.207-216.
- STEINHAGEN, D.; HELMUS, T.; MAURER, S.; MI-CHAEL, R.D.; LEIBOLD, W.; SCHARSACK, J.P.; SKOURAS, A.; SCHUBERTH, H. Effect of hexavalent carcinogenic chromium on carp *Cyprinus carpio* immune cells. *Diseases of Aquatic Organisms*, v.62, p.155-161, 2004.
- THOMAS, C.M.; NIELSEN, K.M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews*, v.3, p.711-721, 2005.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 718p.

TREVORS, J.T.; BARKAY, T.; BOURQUIN, A.W. Gene Transfer among bacteria in soil and aquatic environments: a review. *Canadian Journal of Microbiology*, v.33, p.191-198, 1987.

VERNER-JEFFREYS, D.W.; WELCH, T.J.; SCHWARZ, T.; POND, M.J.; WOODWARD, M.J.; HAIG, S.J.; RIMMER, G.S.; ROBERTS, E.; MORRISON, V.; C-BAKER, A. High prevalence of multidrug-tolerant bacteria and associated antimicrobial resistance genes isolated from ornamental fish and their carriage water. *PLoS ONE*, v.4, n.12, p.2194-2206, 2009.

VERSCHUERE, L.; ROMBAUT, G.; SORGELOOS, P.; VERSTRAETE, W. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v.64, n.4, p.655-671, 2000.

VRIES, B.J.; MEIER, P.; WACKERNAGEL, W. The natural transformation on the soil bacteria *Pseudomonas*

stutzeri and *Acinetobacter* sp. by transgenic plant DNA strictly depends on homologous sequences in the recipient cells. *FEMS Microbiology Letters*, v.195, p.211-215, 2001.

WONG, C.Y.F.; HEUZENROEDER, M.W.; FLOWER, R.L.P. Inactivation of two haemolytic toxin genes in *Aeromonas hydrophila* attenuates virulence in a suckling mouse model. *Microbiology*, v.144, p.291-298, 1998.

YATES, C.M.; PEARCE, M.C.; WOOHOUSE, M.E.J.; AMYES, S.G.B. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.54, n.2, p.534-537, 2004.

Recebido em 25/4/11

Aceito em 2/7/12