



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**SUSCEPTIBILIDADE DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI*, ISOLADAS DE
ÁGUA, CAMARÃO E SEDIMENTO DE VIVEIROS DE TRÊS FAZENDAS DO
ESTADO DO CEARÁ, A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho

FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
FEVEREIRO/2006



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C322s Carvalho, Edirsana Maria Ribeiro de.
Susceptibilidade de cepas de escherichia coli, isoladas de água, camarão e sedimento de viveiros de três fazendas do estado do Ceará, a diferentes antimicrobianos / Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho. – 2006.
42 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2006.
Orientação: Prof. Dr. Regina Helena dos Fernandes Vieira.
1. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof^a. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, PhD.
Orientador/Presidente

Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, M. Sc.
Membro

Oscarina Viana de Sousa, D.Sc
Membro

VISTO:

Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Prof^a. Artamizia Maria Nogueira Montezuma, M.Sc
Coordenadora do Curso de Engenharia de Pesca



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**SUSCEPTIBILIDADE DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI*, ISOLADAS DE
ÁGUA, CAMARÃO E SEDIMENTO DE VIVEIROS DE TRÊS FAZENDAS DO
ESTADO DO CEARÁ, A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS.**

Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
FEVEREIRO/2006**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus que tem me acompanhado fielmente durante cada dia de minha vida e ter me dado à oportunidade de estar no mundo. Aos meus pais, Antônio Edson de Carvalho e Ana Benvinda Ribeiro de Carvalho, por existirem e as minhas tias, agradeço todo o amor, carinho e compreensão.

As minhas irmãs, Andrea Ribeiro de Carvalho Sousa e Ana Cláudia Carvalho de Miranda, por todo apoio e estímulo dado no meu crescimento científico.

Aos meus cunhados, Emílio Paulo dos Santos Sousa e Erlano Silva de Miranda, por terem me ajudado nas compras dos livros que compõem a bibliografia deste trabalho e pelo incentivo dado nesta pesquisa.

Ao meu namorado, Alexandre Santiago Freire, que sempre ajudou com seu apoio me estimulando profissionalmente e com todo carinho, amor e dedicação participando em todas as etapas deste trabalho.

As minhas colegas Rosa, Rakel, Cláudia e Carol, que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

As minhas companheiras e amigas do laboratório, Anahy, Gleire, Karla, Susy e Dannielle, que me presentearam com suas amizades e com seus ensinamentos, tornado-me uma pessoa apaixonada por esses microrganismos.

A Cristiane, onde estive presente em toda a realização desta pesquisa, onde com toda sua paciência, apoio, conselhos, contribuíram muito para a finalização deste trabalho. É a ela que agradeço pela força e o estímulo, por ter me ensinado o “B a Ba” da Microbiologia.

A minha Orientadora, Profª Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, que me deu a oportunidade de poder estar no laboratório; pelo seu apoio; proporcionando as condições necessárias para a realização deste trabalho. Agradeço, principalmente, pela confiança depositada, no meu trabalho.

Faço neste espaço uma homenagem especial para a senhora professora que escreve tantas poesias lindas e que as coloca em nossas monografias e teses tornando-as mais fascinantes.

Professora

Mãos que auxiliam
as primeiras letras,
a primeira nota,
o primeiro tom.

Mãos que moldam
mente, caráter e coração.
Pintam na tela da vida,
acordes da perfeição.

Mãos que despertam
a curiosidade,
o pesquisador,
a inovação.

Mãos que constroem
sociedades, culturas e pontes.
Coração a coração.
Delineiam a eternidade
na vida de seus alunos.

Mãos que aprendem
amar e servir
mãos de sabedoria,
mãos que transformam o mundo.
MÃOS DE PROFESSOR
(Autor Desconhecido)

O canto de aflição

Regine Limaverde

Não temo a resistência.

Sou.

Não temo competições.

Vivo.

Não quero concorrentes

Ataco.

Desafiem-me

e eu lhes darei um troco.

Sou poderosa,

Sou a rainha

Resisto vivo e ataco.

Sabem quem sou?

Escherichia coli resistente

a diferentes antimicrobianos.

SUMÁRIO

Resumo	i
Listas de Figuras.....	ii
Lista de Tabelas	iii
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Histórico dos antibióticos	3
2.2 Classificação dos antibióticos de acordo com sua geração.....	4
2.3 Métodos de Ação dos Antibióticos.....	4
2.4 Resistência Bacteriana	7
2.5 Resistência à β -Lactamase por presença de ESBL.....	10
2.6 Fatores que afetam a atividade antimicrobiana	11
2.7 Perigos do uso Indiscriminado dos Antibióticos.....	12
2.8 Controle da resistência bacteriana.....	13
2.9 Grupo coliforme	13
2.9.1 <i>Escherichia coli</i>	14
2.10 Parede celular das Gram – negativas.....	15
2.11 Plasmídios em <i>Escherichia coli</i>	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Obtenção das Amostras	17
3.2 Preparação das Amostras.....	17
3.3 Coloração de Gram.....	17
3.4 Método de Difusão: (Teste de Kirby – Bauer).....	18
3.4.1 Metodologia	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5. CONCLUSÃO.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

Os antibióticos são substâncias naturais, sintéticas ou semi - sintéticas, que inibem o crescimento bacteriano. Estes medicamentos são classificados como bactericidas ou bacteriostáticos. Os bactericidas matam o microrganismo diretamente e os bacteriostáticos impedem seu crescimento. A utilização desses medicamentos ao longo dos anos acarretou o surgimento de bactérias resistentes, o que está preocupando a comunidade médica uma vez que, o tratamento realizado com estes fármacos não obtém eficácia. Faz – se necessário realizar novas pesquisas para desenvolver novos medicamentos para assim obter um excelente resultado contra estas bactérias.

O presente trabalho teve como objetivo testar a susceptibilidade de cepas de *Escherichia coli*, isoladas de água, camarões de cultivo e de amostras de sedimento de viveiros de fazendas de carcinicultura a diferentes antibióticos.

Em laboratório, os testes de antibiograma foram realizados através do método de difusão (Teste de Kirby-Bauer) e os antibióticos utilizados foram: ampicilina (AMP), tetraciclina (TET), imipenem (IMP), ciprofloxacina (CIP), nitrofurantoína (NIT), sulfazotrim (SUT), cefoxetina (CFO) e ácido nalidíxico (NAL).

Os antibióticos que apresentaram maior eficiência para as 35 cepas de *Escherichia coli* analisadas foram: SUT (100%), NAL (97,14 %), CIP (91,43%), IMP (85,71%), CFO (82,86%), TET (80,00%), NIT (77,14%) e a AMP (62,86%).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Seqüência de Resistência Transferível.....	9
Figura 2: Demonstração da quebra da β -lactamase pela Penicilina.....	10
Figura 3: Representação esquemática da Parede Celular das Gram-negativas. .	15
Figura 4: Fluxograma do Método de Difusão, Teste Kirby-Bauer.....	19
Figura 5: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de <i>E. coli</i> isoladas de água de cultivo de camarão <i>Litopenaeus vannamei</i>	20
Figura 6: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de <i>E. coli</i> isoladas de sedimento de viveiro de cultivo de camarão <i>Litopenaeus vannamei</i>	21
Figura 7: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de <i>E. coli</i> isoladas de camarão <i>Litopenaeus vannamei</i> cultivado em fazendas do Ceará.	22
Figura 8: Percentual total de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de <i>E. coli</i> isoladas de água de viveiro, sedimento e camarão de cultivo <i>Litopenaeus vannamei</i> cultivado em fazendas do Ceará.....	23
Figura 9: Percentual total da sensibilidade de cepas de <i>E.coli</i> isoladas de água de viveiro, sedimento e camarão de cultivo a diferentes antimicrobianos.	26

LISTA DE TABELA

Tabela 1-. Tabela padrão de interpretação do teste de difusão..... 18

Tabela 2- Perfil de sensibilidade e resistência de 35 cepas de *E.coli* isoladas de água de viveiro, sedimento de viveiro e camarão de cultivo e testadas a diferentes antimicrobianos.25

Susceptibilidade de cepas de *Escherichia coli*, isoladas de água, camarão e sedimento de viveiros de três fazendas do Estado do Ceará, a diferentes antimicrobianos.

Edirsana Maria Ribeiro de Carvalho

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de camarões marinhos vem se intensificando no mundo, sendo implantado com sucesso em países como Equador, México, Panamá, Tailândia e Estados Unidos. No Brasil este tipo de cultivo é encontrado na Região Nordeste, basicamente nos Estados do Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Piauí. Em 2003, às margens do Rio Jaguaribe, no Ceará, a carcinicultura ocupava uma área de 350, 48 hectares, numa região sem influência de água salina, onde a água também é utilizada para a irrigação de arroz e banana (VALENÇA; MENDES, 2004).

Devido ao crescimento da atividade, garantir a boa qualidade do camarão que chega à mesa dos consumidores é de extrema importância para os carcinicultores. Esta qualidade está diretamente ligada à qualidade da água utilizada no cultivo, proveniente de estuários, rios, lagos, que podem sofrer constantes contaminações por resíduos domésticos e industriais e por microrganismos (TORTORA et al., 2000).

Um dos agentes etiológicos das infecções entéricas é a bactéria *Escherichia coli* que, presente em águas ou alimentos, indica uma contaminação de origem fecal e um possível risco à saúde (TÔRRES, 2004). Sendo a principal representante do grupo dos coliformes fecais, *Escherichia coli* é uma bactéria indicadora de contaminação fecal recente e da eventual presença de organismos patogênicos (TÔRRES, 2004; BRASIL, 2005) sendo bastante estudada. Segundo Tôrres, (2004) e Campos & Trabulsi, (1999), *E.coli* está dividida em seis categorias: *E coli* enteropatogênica (EPEC), *E coli* enterotoxigênica (ETEC), *E coli* enteroinvasora (EIEC), *E coli* enterohemorrágica (EHEC), *E coli* enteroagregativa (EAaggEC ou EAEC) e *E coli* difusamente aderente (DAEC).

Enquanto a maioria das cepas de *E coli* não causa doenças ao homem, algumas possuem fatores de virulência e podem ser uma ameaça à vida (TÔRRES, 2004; GRANT et al., 1996).

A resistência crescente das bactérias patogênicas aos antimicrobianos tem causado preocupação ao mundo científico. É dito que o uso generalizado de agentes antimicrobianos na produção animal pode promover o desenvolvimento de bactérias resistentes ou de genes resistentes que possam ser transferidos para bactérias causadoras de doenças ao homem (WEGENER et al, 1997).

O índice de cepas bacterianas resistentes a antibióticos no ambiente aquático tem aumentado desde a década de 70 do século passado. Este é resultante do uso indiscriminado dos mesmos na profilaxia ou terapêutica humana e animal ou ainda para implementar a produção de alimento. Esse aumento é consequência também da disseminação de plasmídios, que possuem genes de resistência, proporcionando uma maior flexibilidade genética em populações microbianas para adaptações e sobrevivência em ambientes hostis (CARDONHA, et al., 2005).

Dentro deste contexto o objetivo desta pesquisa é testar a suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli*, isoladas de água, de camarão de cultivo e de sedimento de viveiro a diferentes antimicrobianos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico dos antibióticos

O início da história dos antibióticos data do século XIX. O primeiro termo aplicado a esses medicamentos foi usado no ano de 1889, quando Vuillemin os denominou de “antibiose” o que definia o antagonismo dos seres vivos em geral. O nome antibiótico foi utilizado por Waksman em 1942, e meio século depois, Vuillemin redefiniu o termo antibiótico como substância produzida por microrganismos (bactérias, fungos, actinomicetos). Alguns autores dividem a história dos antibióticos em três grandes eras. A primeira está relacionada com a era dos alcalóides em 1619 de onde provém os primeiros registros do sucesso do tratamento da malária com extrato de chiconha e do tratamento de disenteria amebiana com raiz de ipecacuanha. A segunda era, conhecida como a era dos compostos sintéticos, foi marcada pela descoberta do salvarsan por Paul Ehrlich (Alemanha) em 1909 para o tratamento de tripanossomas e outros protozoários. Um ano depois (1910), Ehrlich testou o composto arsênio e viu que ele era ativo contra o treponema causador da sífilis. O composto foi utilizado para esse tratamento até 1940, quando foi substituído pela penicilina (SERRA, 2004).

Em 1929, o microbiologista Alexander Fleming, notou um fenômeno estranho em uma placa de ágar inoculada com *Staphylococcus aureus*. A placa tinha sido contaminada com um fungo e Fleming observou que havia uma grande zona clara ao redor da colônia do fungo, indicando que este tinha produzido uma substância que inibiu o crescimento da bactéria. A partir daí o pesquisador se dedicou ao isolamento e a identificação do fungo e ao estudo de sua ação. Ele denominou a substância produzida pelo fungo como penicilina (PELCZAR et al., 1996).

Muitos estudos feitos com a penicilina, durante a Segunda Guerra Mundial, perderam – se, pois circulavam de forma secreta e obscura. Dessa forma, a penicilina descoberta em 1929 e com seu uso clínico definido em 1940, deu origem a mais variada e mais utilizada classe de antibióticos: os – lactâmicos.

A terceira era ficou conhecida como a era moderna dos antibióticos, marcada pelo controle das infecções por estreptococos e pneumococos com o uso que já vinha sendo feito das sulfanamidas. Alguns autores marcam a entrada dessa era como, o início do uso clínico das sulfonilamidas, em 1936. No final da década de 1940, começaram a surgir cepas resistentes a sulfonamida de estreptococos hemolíticos, gonococos e pneumococos (SERRA, 2004).

2.2 Classificação dos antibióticos de acordo com sua geração

Segundo Strohl & Rouse (2004), os antibióticos são classificados de acordo com sua geração. Temos por exemplo as Cefalosporinas, as da primeira geração são primariamente contra os organismos gram – positivos e apresentam atividade limitada para as bactérias gram – negativas; os da segunda geração apresentam uma elevada atividade contra as gram – positivas; já os da terceira geração, apresenta atividade significativamente aumentada para bacilos gram-negativos e os da quarta geração, possuem um grande espectro de atividade tanto contra organismo gram-negativos como gram- positivos.

2.3 Métodos de Ação dos Antibióticos

A essência da quimioterapia é a toxicidade seletiva – matar ou inibir o microrganismo sem afetar o hospedeiro. Os antibióticos e os quimioterápicos interferem em diferentes atividades da célula bacteriana, causando a morte ou somente inibindo o crescimento. Os primeiros são chamados de bactericidas e os segundos de bacteriostáticos. Existem alguns antibióticos que se enquadram nas duas categorias, isto é tanto podem ser bacteriostáticos como também bactericidas para determinadas espécies de bactérias (TRABULSI; ALTTERTHUM, 2005).

Um fator que interfere na toxidade seletiva de ação das drogas antimicrobianas ocorre ao nível da camada externa de lipopolissacarídeo das bactérias gram – negativas e nas porinas, que formam canais de abastecimento de água através desta camada (TORTORA et al., 2000).

Segundo Trabulsi e Alterthum (2005) as interações dos antibacterianos podem ocorrer ao nível de parede (estrutura e biossíntese), na membrana citoplasmática (estrutura e função), na síntese de proteínas e na síntese dos ácidos nucleicos. Os mecanismos de ação são os seguintes:

- Antibacterianos que atuam na parede:

Os antibióticos que atuam neste nível são os β – lactâmicos. A síntese da camada peptidoglicano pode ser dividida em três etapas: uma ocorrendo no citoplasma, a outra na membrana citoplasmática e a terceira, externamente na membrana. É nesta terceira etapa que esse tipo de antibiótico atua. Antigamente, pensava-se que esses antibióticos impediam apenas a união das cadeias peptídicas, competindo para isto com as transpeptidases responsáveis pela sua união. Hoje sabemos que esta ação, embora realmente exista e seja importante, é apenas uma entre várias outras. Estes novos conhecimentos surgiram com a descoberta das chamadas proteínas fixadoras de penicilinas, em consequência de estudos sobre algumas enzimas bacterianas, denominadas autolisinas.

- Antibacterianos que atuam ao nível da membrana citoplasmática:

Os antibióticos encarregados desta função assemelham – se aos detergentes catiônicos, pois possuem em sua molécula um agrupamento básico (NH_3^+) e de uma cadeia lateral de ácido graxo. Quando este tipo de medicamento atinge a membrana citoplasmática, o ácido graxo mergulha na sua parte lipídica e a porção básica permanece na superfície. A partir daí, ocorre uma intercalação das moléculas do antibiótico com a membrana provocando assim sua desorganização, com a saída dos componentes celulares e a morte da bactéria.



- Antibacterianos que interferem na síntese de proteínas:

Esses antibióticos agem ao nível dos ribossomos, impedindo a síntese protéica por diferentes mecanismos.

Segundo Tavares, (2001), a síntese protéica pode sofrer interferência em várias fases do seu desenvolvimento: na formação dos RNA (RNA-mensageiro, RNA-ribossomo e RNA de transporte); na fixação do RNA-m ao ribossomo, por alterações no ribossomo; na fixação do RNA-t ao ribossomo.

Alguns antibióticos como a tetraciclina, bloqueiam a síntese de proteínas, pois atuam se fixando à subunidade 30S, impedindo a fixação dos RNA transportadores (t-RNA) ao ribossomo. Assim, não ocorre incorporação de novos aminoácidos e a cadeia peptídica não se forma.

Já outros antibióticos como cloranfenicol, impedem a união dos aminoácidos pela a inibição da peptidiltransferase (Trabulsi; Alterthum, 2005); outros se fixam na subunidade 50S, impedindo os movimentos de translocação.

- Antibacterianos que interferem na síntese de DNA:

Os antibióticos que agem ao nível de síntese de DNA combinam-se com o RNA-polimerase, bloqueando a transcrição do DNA. Estudos mais recentes têm mostrado que os derivados quinolônicos também interferem com a síntese de DNA, inibindo a ação das girases. A função destas enzimas é promover o enrolamento e desenrolamento da molécula de DNA para que ocupe o menor espaço dentro da célula

2.4 Resistência Bacteriana

A resistência bacteriana é um fenômeno genético que relaciona a existência de genes contidos nos microrganismos. Esses codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação de uma droga (Tavares, 2001). Segundo Pelczar et al. (1996), os genes de resistência a antibióticos estão localizados nos plasmídios R, em *E.coli*. Os plasmídios podem ser facilmente transferidos para outras células através da conjugação. Segundo Tavares (2001) os tipos de resistências são as seguintes: natural, adquirida, por mutações cromossômicas, transferíveis e induzida.

- Resistência natural

Esse tipo de resistência também é conhecido como intrínseca, e caracteriza-se por ter um caráter hereditário. Ela é transferida verticalmente para células-filhas, comandada por genes cromossômicos. Estes determinam na célula a ausência de receptores para a ação dos antibióticos ou se deve à existência de estruturas e mecanismos que impedem a ação da droga.

- Resistência adquirida

Esse tipo de resistência resulta na modificação da estrutura do funcionamento da célula bacteriana, as quais são decorrentes de fatores genéticos adquiridos por mecanismos que alteram os cromossomos bacterianos ou afetam elementos extracromossômicos formados por segmentos de DNA, denominados de plasmídios. Pode ser adquirida através de mutações ou pela transferência de genes de resistência de uma célula para outra.

- Resistência por mutação ou cromossômica

A resistência de bactérias as drogas pode ocorrer devido ao surgimento do fenômeno de mutação espontânea sendo geralmente simples (isto é, para um tipo de drogas). Isso ocorre na divisão celular, acarretando um erro de cópia na sequência de bases (códon) do DNA, responsável pelo código genético. Esse tipo de resistência é transferido verticalmente pela célula-mãe às suas descendentes, apresentando um mutante resistente ao nível de resistência variável a um dado antibiótico.

- Resistência transferível

Esse tipo de resistência pode ocorrer por quatro mecanismos básicos: transformação, transdução, conjugação, transposição. A transformação é um mecanismo de captação de resistência, onde uma célula receptora, do DNA solúvel proveniente de uma parte ou de todo cromossomo ou plasmídio liberado no meio por uma bactéria doadora, sendo parte transferida incorporada ao cromossomo ou plasmídio da célula. Dessa maneira, a bactéria torna-se resistente ao antibiótico. Já a transdução, consiste na transferência de material genético de uma bactéria para outra por meios dos bacteriófagos. Só ocorre em bactérias de uma mesma espécie. Na conjugação a transferência ocorre através de um contato físico entre elas, sendo realizado pela fímbria sexual ou diretamente pelo contato de uma célula com a outra (Figura 1). Na transposição é a transferência de um plasmídio para outro, para um cromossomo ou para um bacteriófago, dentro de uma célula. Essa transferência é papel dos transposonos a existência deles explica a possibilidade dos plasmídios apresentarem múltiplos genes de resistência, ao captarem genes de diferentes fontes.

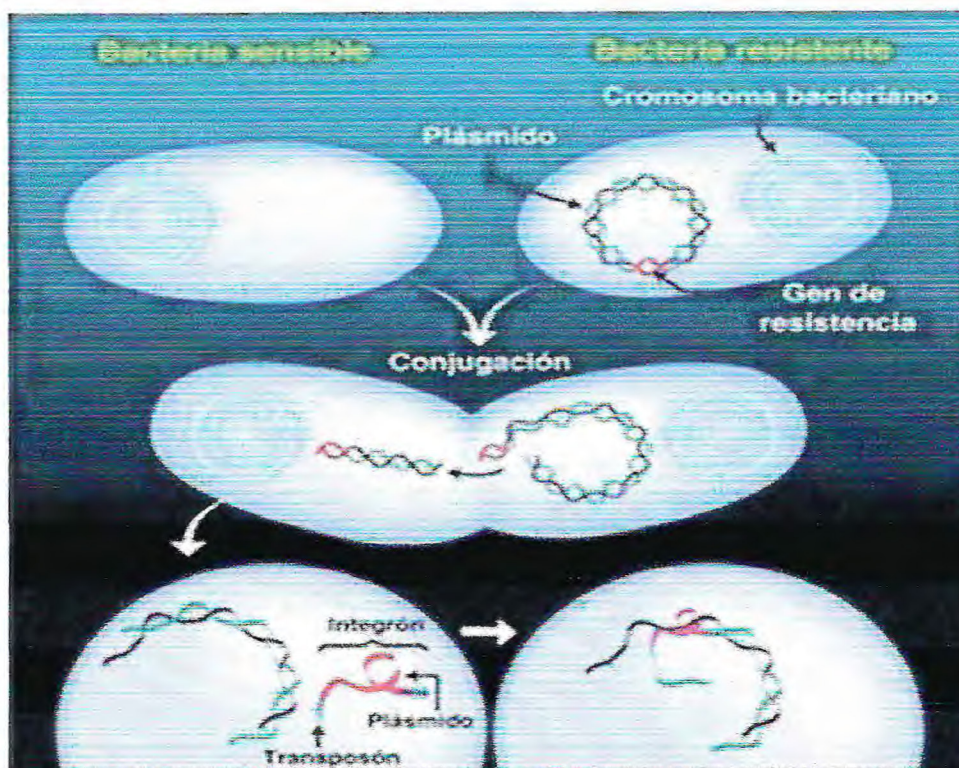


Figura 1: Sequência de Resistência Transferível.

Fonte: <http://www.lladiba.com/upr/1997/No81997/htm/micro4.asp>

- Resistência induzida

Um tipo particular de resistência é a induzida pelo uso de antibióticos. Este tipo resulta de genes presentes no cromossomo bacteriano e que normalmente não expressam sua característica devido a presença na célula de substâncias repressoras. Ela se manifesta geralmente por indução de enzimas, que é provocada ou aumentada pela presença do antimicrobiano (TAVARES, 2001).

2.5 Resistência à β -Lactamase por presença de ESBL

A resistência a antibióticos β -lactâmicos na família Enterobacteriaceae, tem aumentado tanto no ambiente hospitalar quanto na comunidade. A inativação desses antimicrobianos por enzimas β -lactamases, é o principal mecanismo de resistência em bacilos Gram-negativos (ROCHA; DARINI, 2002).

Segundo Jea (2005), existe uma grande variedade de mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos, o mecanismo mais importante neste tipo de resistência é a produção de β -lactamases. Essas são enzimas capazes de hidrolisar o anel β -lactâmico de penicilinas, como mostra a Figura 2, cefalosporinas e outros antibióticos, deixando estes inativos. As ESBL (Beta – lactamases de Espectro Estendido) são encontradas mais freqüentemente em algumas bactérias Gram-negativas, principalmente em amostras de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, e constituem um problema cada vez mais comum, trazendo sérias conseqüências terapêuticas. Trata-se de uma potente enzima mediada por genes localizados em plasmídios e, portanto com facilidade de se disseminar rapidamente para outras bactérias da família Enterobacteriaceae.

A detecção dos organismos produtores dessas enzimas pode ser de difícil realização, quando se utiliza a concentração inibitória mínima (MIC) ou a técnica de difusão de discos, uma vez que a presença de ESBL (Beta – lactamases de Espectro Estendido) na célula bacteriana pode não produzir uma resistência fenotípica (SANTOS, 2003).

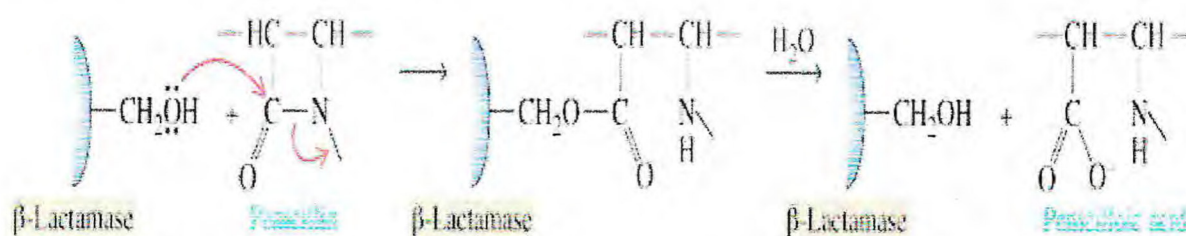


Figura 2: Demonstração da quebra da β -lactamase pela Penicilina.

Fonte: cwx.prenhall.com/.../media_portfolio/23.html

Atualmente, existe grande preocupação a respeito da crescente resistência que muitas bactérias exibem a diversos antibióticos. Dentre os

mecanismos que levam à resistência bacteriana, a inativação dos antimicrobianos por enzimas, é a principal. Neste contexto, considera-se que a produção de enzimas denominadas de β -lactamases seja a maior causa de resistência aos antimicrobianos β -lactâmicos.

2.6 Fatores que afetam a atividade antimicrobiana:

Segundo Brook et.al. (1995), existem alguns fatores que afetam a atividade antimicrobiana, devido a isto é necessário considerar os seguintes aspectos uma vez que influenciam significativamente nos resultados dos testes.

- a) **pH do Meio Ambiente:** Existem alguns fármacos que são mais ativos em pH ácido, já outros exibem maior eficiência em pH alcalino.
- b) **Estabilidade do Fármaco:** Na temperatura da estufa, vários agentes microbianos perdem sua atividade. A clorotetraciclina é rapidamente inativada; as penicilinas sofrem inativações mais lentas, enquanto os aminoglicosídeos, o cloranfenicol e a ciprofloxacina mostram-se muito estáveis por longos períodos de tempo.
- c) **Tamanho do inóculo:** Em geral, quanto maior o inóculo bacteriano, menor a “sensibilidade aparente do microrganismo”. Além disso, é mais provável o aparecimento de um mutante resistente em grandes populações.
- d) **Tempo de Incubação:** Em muitos casos, os microrganismos não são destruídos, mas apenas inibidos após a curta exposição aos agentes antimicrobianos. Quanto mais prolongada a incubação, maior a probabilidade de desenvolvimento de mutantes resistentes ou da multiplicação de membros menos suscetíveis da população antimicrobiana.
- e) **Atividade Metabólica dos Microrganismos:** Os microrganismos em crescimento ativo e rápido são mais sensíveis à ação farmacológica do que na fase de repouso. Os microrganismos metabolicamente inativos que sobrevivem à exposição prolongada dos antibióticos produzem progênie ao mesmo.

2.7 Perigos do uso Indiscriminado dos Antibióticos

Há grande preocupação da comunidade médica em relação a automedicação, pois as pessoas usam os antibióticos de forma indiscriminada. Cada infecção é necessária um determinado antibiótico e o uso incorreto desses medicamentos, acarretam o surgimento de bactérias resistentes (LEÃO,1999).

Segundo Pelczar et al, (1996), atualmente o desenvolvimento de resistência pode ser minimizado da seguinte maneira:

- a) Evitar o uso indiscriminado de antibióticos que têm provavelmente pouco ou nenhum valor terapêutico;
- b) Utilizar dosagens suficientemente altas de um antibiótico apropriado para dominar a infecção rapidamente. Quanto menor a capacidade de um patógeno multiplicar-se, menor a chance de surgir um mutante resistente.
- c) Utilizar uma combinação de antibióticos de eficiência comprovada para dominar uma infecção rapidamente. É muito mais difícil um microrganismo tornar-se resistente contra dois antibióticos simultaneamente do que apenas contra um;
- d) Mudar para um antibiótico diferente tão logo um organismo mostre sinais de resistência.

2.8 Controle da resistência bacteriana

Segundo Wannmacher (2004), existem algumas medidas que podem evitar ou até mesmo diminuir a resistência bacteriana:

- a) Desenvolvimento de novos medicamentos;
- b) Desenvolvimento de vacinas;
- c) Detecção do perfil de resistência microbianas nos hospitais;
- d) Implementação de medidas de controle em hospitais;
- e) Uso de antibióticos somente por prescrição médica;
- f) Manutenção da qualidade de laboratórios de análises microbiológicas.

2.9 Grupo coliforme:

O grupo coliforme fecal é restrito aos organismos que crescem no trato intestinal do homem e de animais de sangue quente. Fazem parte desse grupo pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (TÔRRES,2004).

Segundo Vieira (2004), as bactérias do grupo coliforme são consideradas como indicadoras de contaminação fecal em águas. São bastonetes gram – negativos não esporulados de metabolismo aeróbio ou facultativamente anaeróbios, e pertencentes à família das Enterobacteriaceae.

O grupo dos coliformes totais apresenta a característica de fermentar a lactose com produção de gás, e de produzir aldeídos intermediários a partir da lactose que reage com certos corantes.

2.9.1 *Escherichia coli*

Em 1885, Theodor von Escherich, descreveu um organismo isolado de fezes de crianças, denominado *Bacterium coli commune*, também chamado de *Bacillus coli*. Em sua homenagem foi finalmente denominado de *Escherichia coli*. A principal causa das doenças diarreicas é devido a ingestão de alimentos e/ou águas contaminadas por microrganismos patogênicos. Um dos agentes etiológicos das infecções entéricas é a bactéria *Escherichia coli* e sua presença em águas ou alimentos, indica uma contaminação de origem fecal e um provável risco à saúde (TÔRRES, 2004).

A bactéria *Escherichia coli*, pertence à família Enterobacteriaceae, apresentando – se sob forma de bastonetes retos de tamanho aproximadamente 1,1 a 1,5 μm x 2,0 a 6,0 μm . podendo ser isolados ou agrupados aos pares. São microrganismos gram-negativos, não esporogênico, anaeróbio facultativo, e sua temperatura ótima de crescimento é de 37°C. Seu habitat primário é o trato intestinal do homem e de animais de sangue quente (TÔRRES, 2004); (FRANCO; LANDGRAF, 1996). *E.coli* não faz parte da microbiota de pescados. Considera-se então, quando isto acontece, que seja um reflexo da poluição fecal das águas das quais esse pescado foi capturado (LEITÃO, 1988).

A bactéria *E. coli* possui fímbrias ou pili que freqüentemente são importantes para sua aderência na superfície das mucosas do hospedeiro, e as cepas diferentes podem ser móveis e imóveis. A maioria das cepas é capaz de fermentar a lactose (ou seja, são Lac+), o que constitui uma diferença dos patógenos intestinais mais importantes, que são *Salmonella* e *Shigella*, os quais não fermentam a lactose (STROHL & ROUSE, 2004).

2.10 Parede celular das Gram – negativas

Segundo Tortora et al, (2000), as paredes celulares das bactérias diferem a nível de composição e características. No caso das Gram - negativas, possuem uma ou algumas camadas de peptidoglicano, ligadas a lipoproteínas. A membrana externa fornece uma barreira para certos tipos de antibióticos, como por exemplo, a penicilina. Nesta camada também existem canais de transportes, que são as porinas, que permitem a passagem de moléculas, como também podem tornar a bactéria vulnerável ao ataque, fornecendo locais de fixação de vírus e substâncias nocivas.

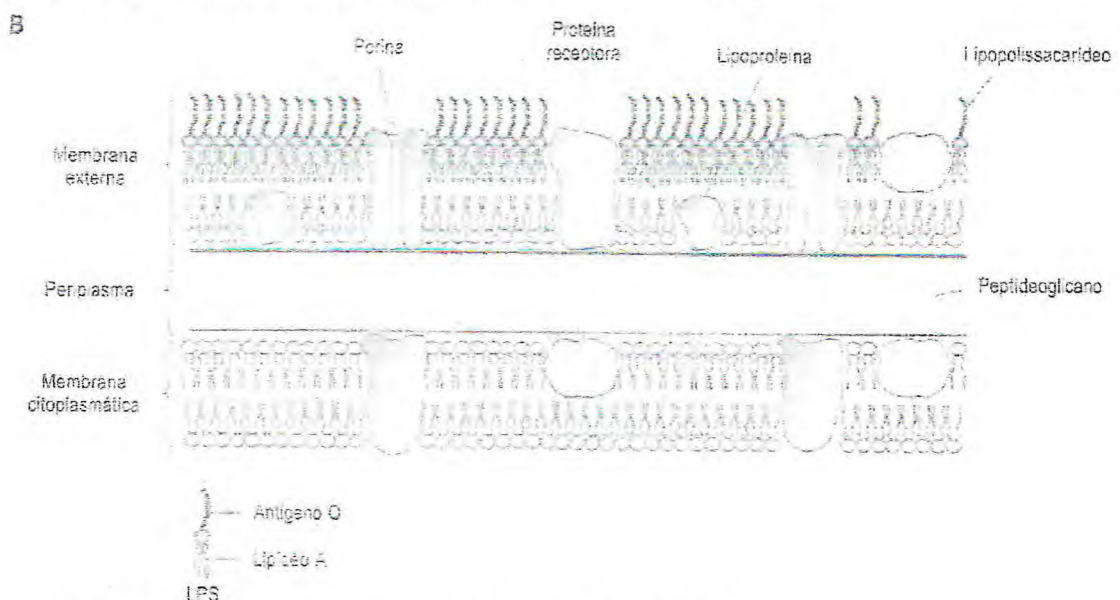


Figura 3: Representação esquemática da Parede Celular das Gram-negativas.

Fonte: Trabulsi & Alterthum (2005).

2.11 Plasmídios em *Escherichia coli*

Segundo Brock et al. (1994), os plasmídios são elementos genéticos ou moléculas extra-cromossomais circulares de ácido desoxiribonucléicos (DNA) que se replicam de uma forma autônoma. Não são essenciais à célula, mas podem se tornar extremamente úteis em algumas situações.

O primeiro plasmídio identificado em *E.coli*, foi o fator de fertilidade F, conjugativo, e foi descoberto por sua habilidade em mediar a transferência de marcadores cromossômicos de uma cepa para outra (BLACK, 1990).

Segundo Trabulsi & Alterthum (2005), as bactérias podem ter diferentes tipos de plasmídios. As enterobactérias, como *E. coli*, possuem um ou dois plasmídios conjugativos por cromossomo podendo transportar de dez a quinze plasmídios não-conjugativos por cromossomo. Quando dois ou mais são herdados em forma estável, são considerados compatíveis.

A resistência a antibióticos se dá em muitos microrganismos devido à presença de plasmídios que contêm a informação para a síntese de enzimas que inativam antibióticos específicos.

Segundo Brooks et al.(1995), os fatores R constituem uma classe de plasmídios que transportam os genes de resistência. Estes genes plasmidiais para resistência antimicrobiana freqüentemente controlam a formação da enzima destruidora desses agentes antimicrobianos. Assim, os plasmídios determinam a resistência às penicilinas e cefalosporinas, transportando genes na formação de β -lactamase .

Os plasmídios R têm dois componentes: o determinante de resistência R e o fator de transferência de resistência: RTF. O RTF é necessário para a transferência dos determinantes e este contém informação para a formação do *pilus*, um requecimento de transferência de DNA por conjugação em bactérias gram-negativas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005)

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das Amostras

As cepas trabalhadas nesta pesquisa foram isoladas de amostras de água, camarões de cultivo e sedimentos de viveiros de três fazendas de carcinicultura do Estado do Ceará.

3.2 Preparação das Amostras

No laboratório as cepas estavam mantidas em Ágar Stock em estufa B.O.D. a 23° C. Portanto, fez-se necessário renová-las em caldo Triptcase Soja (TSB) e incubá-las por 35°C/ 24h. Os tubos que apresentaram crescimento neste meio foram inoculados no Ágar Tripticase Soja (TSA), para, a partir daí, serem realizados os testes.

3.3 Coloração de Gram

O método de coloração de Gram foi utilizado para verificação da pureza das cepas de *Escherichia coli*. Esta bactéria é um bastonete Gram – negativo.

3.4 Método de Difusão: (Teste de Kirby - Bauer)

O meio utilizado foi o Ágar MUELLER - HINTON, indicado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS, (2005). Os discos antimicrobianos utilizados foram mantidos sob refrigeração numa temperatura de aproximadamente entre 2°C e 8°C e utilizados dentro do prazo de validade. Estes, antes de serem utilizados, foram deixados à temperatura ambiente por aproximadamente duas horas.

O inóculo foi preparado após o crescimento bacteriano em meio Ágar TSA. Uma alçada foi transferida para salina esterilizada a 0.85% até que se alcançasse uma turvação comparável ao tubo 0,5 da escala de McFarland. Esta turvação representa uma concentração bacteriana de 5×10^5 Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/ mL) (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005). Uma vez o inóculo preparado, com auxílio de um SWAB estéril ele era espalhado de maneira uniforme na superfície da placa de Petri com Ágar Mueller-Hinton. Os discos impregnados de antibióticos foram então aplicados com o auxílio de uma pinça estéril e pressionados levemente no meio. Os antibióticos utilizados foram: ampicilina (AMP), tetraciclina (TET), imipenem (IPM), ciprofloxacina (CIP), nitrofurantoína (NIT), sulfazotrim (SUT), cefoxetina (CFO) e ácido nalidixico (NAL). Passados 15 minutos após a colocação dos discos, as placas eram invertidas e incubadas a 35 °C por 24h. Após este tempo, realizou-se a leitura com auxílio de um paquímetro, medindo – se o diâmetro da zona de inibição e comparando-se com uma tabela padrão (Tabela 1), classificando as cepas como sensíveis, intermediárias ou resistentes.

Tabela 1- Tabela padrão de interpretação do teste de difusão.

Antibiótico	Símbolo	Conc. do Disco	Zona de Inibição em (mm)			
			Resistente	Intermediário	Moder. Sensível	Sensível
Ácido Nalidixico	NAL	30 mcg	13 ou +	14 a 18	-	19 ou +
Ampicilina	AMP	10 mcg	11 ou +	12 a 13	-	14 ou +
Cefoxetina	CFO	30 mcg	14 ou +	15 a 17	-	18 ou +
Ciprofloxacina	CIP	5 mcg	15 ou +	-	16 a 20	21 ou +
Imipenem	IMP	10 mcg	13 ou +	14 a 15	-	16 ou +
Nitrofurantoína	NIT	300 mcg	14 ou +	15 a 16	-	17 ou +
Sulfazotrim	SUT	25 mcg	10 ou +	11 a 15	-	16 ou +
Tetraciclina	TET	30 mcg	14 ou +	15 a 18	-	19 ou +

3.4.1 Metodologia

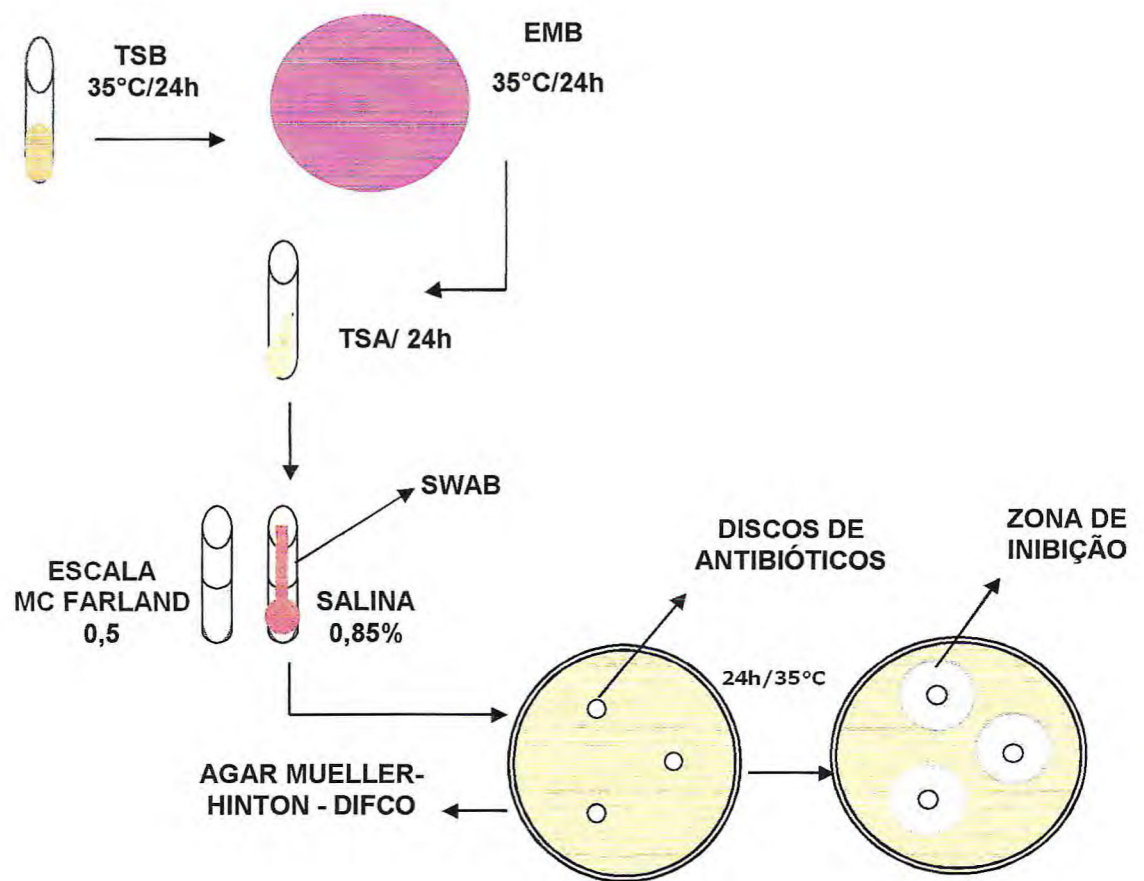
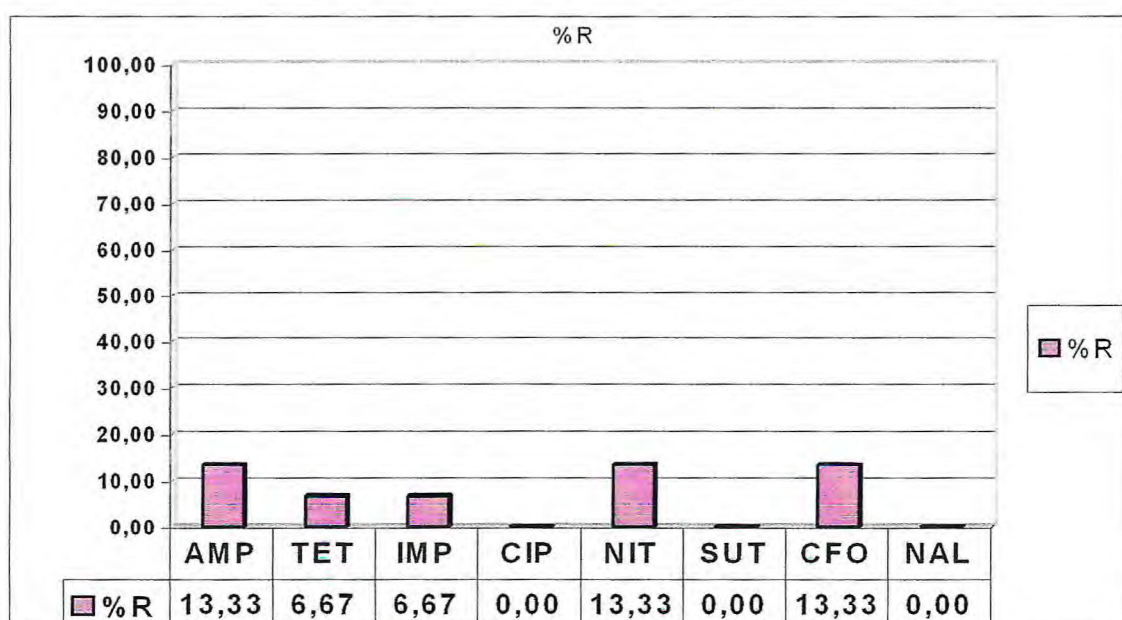


Figura 4: Fluxograma do Método de Difusão, Teste Kirby-Bauer.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quinze cepas de *E.coli* isoladas de água de viveiro das fazendas de camarão foram sensíveis a ciprofloxacina (CIP), sulfazotrim (SUT), ácido nalidíxico (NAL) e resistentes a ampicilina (AMP) (13,33%), tetraciclina (TET) (6,67%), imipenem (IMP) (6,67%), nitrofurantoína (NIT) (13,33%) cefoxetina (CFO) (13,33%) (Figura 5).



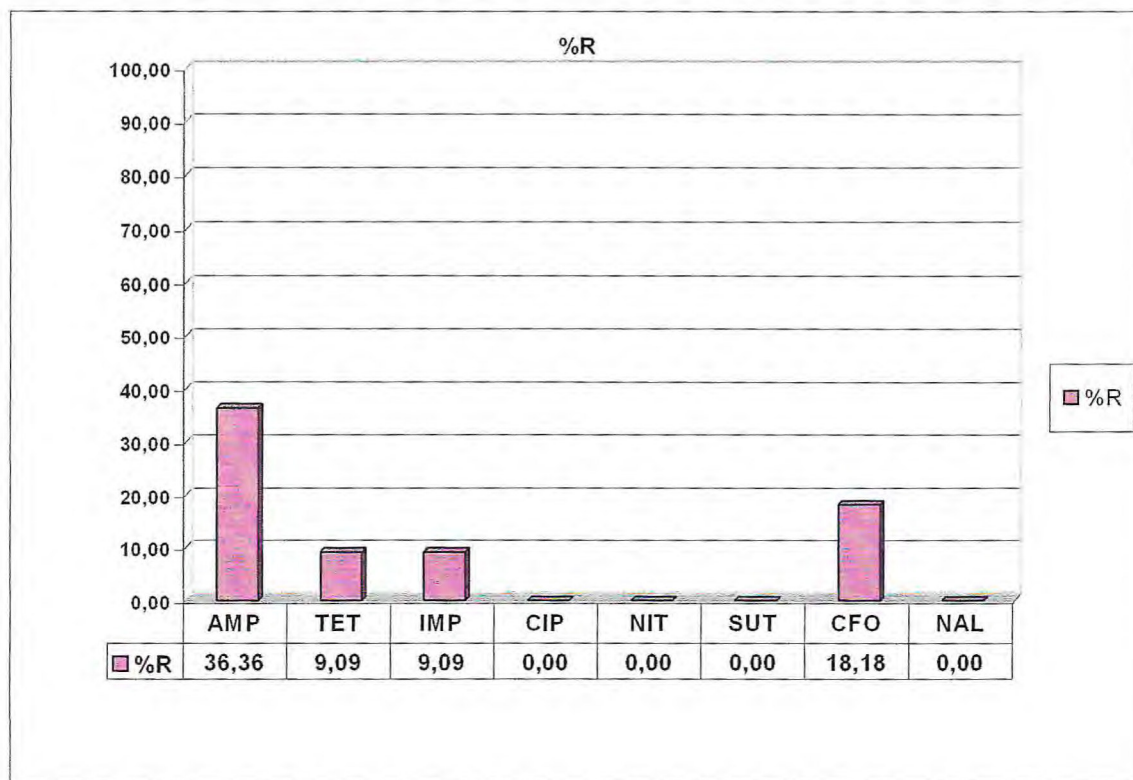
Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacina (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidíxico (NAL).

Figura 5: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de água de cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei*.

As cepas de *E.coli* isoladas da água dos viveiros apresentaram resistência aos antimicrobianos: ampicilina, nitrofurantoína e cefoxetina. Estes dados concordam com o trabalho realizado por Cardonha et al. (2005), que testaram a sensibilidade de noventa e oito cepas de *E. coli*, oriundas de água do mar e de galerias pluviais a 12 diferentes antibióticos. Vinte e oito cepas apresentaram resistência a: AMP, TET, NIT.

É interessante que cepas clínicas sejam testadas em relação a sensibilidade a antimicrobianos para que o médico saiba a droga de escolha. Tal procedimento pode auxiliar o clínico de saúde no acompanhamento terapêutico e na orientação do pacientes.

As onze cepas isoladas do sedimento de viveiros foram sensíveis a CIP, NIT, SUT, NAL e resistentes a AMP (36,36%), TET (9,09%), IMP (9,09%), CFO (18,18%) (Figura 6).



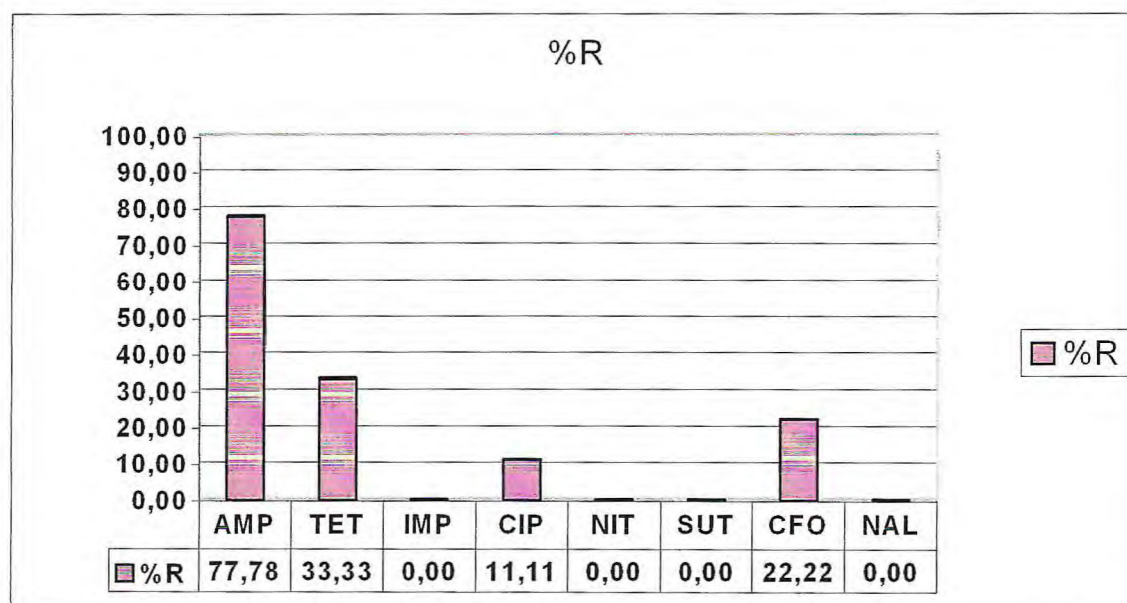
Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacina (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidixico (NAL).

Figura 6: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de sedimento de viveiro de cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei*.

Observa-se que a *E. coli* mostrou-se resistente a Ampicilina (36,36%). Esse antibiótico é derivado das Penicilinas e são antibacterianos β -lactâmicos que agem inibindo a síntese da parede celular. Esse tipo de antibiótico é muito utilizado na prática médica, o que resulta em uma preocupação dada a observância de elevadas taxas de resistência a ele por parte de microrganismos patogênicos (SHAELS et. al., 1997).

Segundo Santos et al. (2003), o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos β -lactâmicos tem sido associado, em grande parte, à disseminação das ESBL (Beta -lactamases de Espectro Estendido). A resistência bacteriana decorrente da produção de ESBL (Beta -lactamases de Espectro Estendido) pode também ser induzida durante a terapêutica, criando-se um problema independente do procedimento laboratorial.

As nove cepas de *E.coli*, isoladas de camarão, apresentaram sensibilidade aos seguintes antibióticos: IMP, SUT, NAL e resistência a AMP (77,78%), TET (33,33%), CIP (11,11%), CFO (22,22%) (Figura 7). Nossos dados concordam com os de Pessanha & Gontijo Filho (2001), que testando o uso de antibióticos como promotores de crescimento e resistência em *Escherichia coli* isoladas da microflora normal de frangos de corte, comprovaram que a ampicilina (42%) era o menos eficiente dos antimicrobianos testados, além de ter encontrado altas taxas de resistência aos seguintes antibióticos: ácido nalidíxico, cefalotina e cloranfenicol. Os mesmos autores relatam que, a monitorização de resíduos de antibióticos em alimentos tem sido uma preocupação crescente em função do impacto em potencial na saúde humana.



Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacina (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidíxico (NAL).

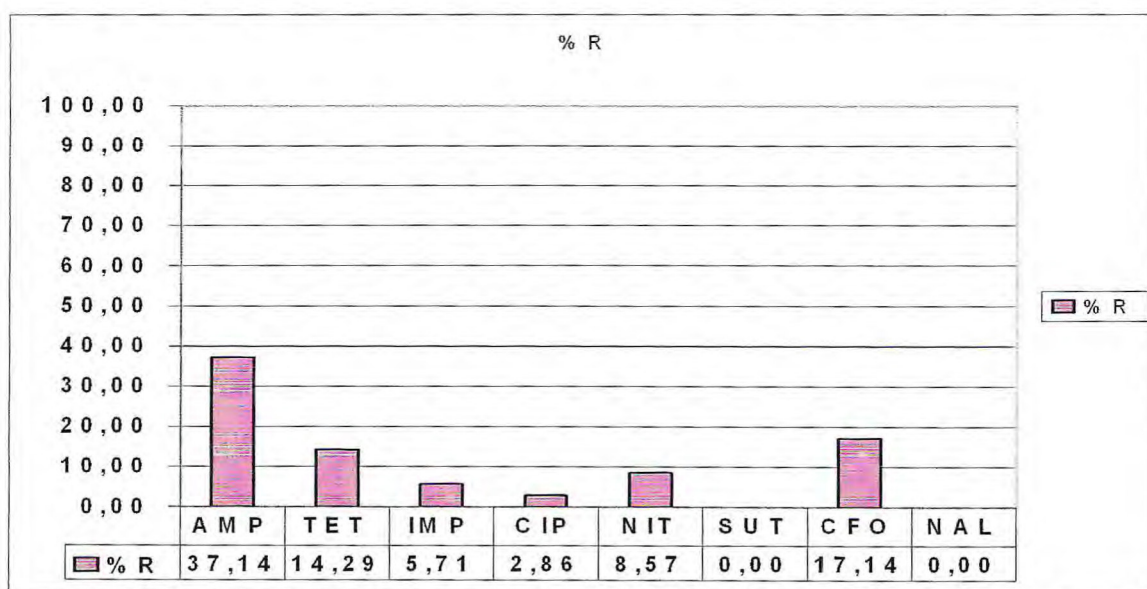
Figura 7: Percentual de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado em fazendas do Ceará.

Barros et al. (2005) analisando a contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada em duas barracas da Praia do Futuro – Ce, isolaram 115 cepas de *E. coli*. Todas as cepas apresentaram sensibilidade a cloranfenicol e a tetraciclina, e seis delas apresentaram resistência a cefalotina e a nitrofurantoína. Os autores concluíram que a ingestão das ostras pode ser prejudicial à saúde dos consumidores e que a

resistência apresentada por algumas cepas a antimicrobianos pode ser devido a circulação de genes de resistência no meio de onde as ostras procedem.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera o uso de antibióticos na produção de animais um risco crescente para a saúde do consumidor. As bactérias dos animais tratados com antibióticos que recebem constantemente um mesmo medicamento podem naturalmente se adaptar, tornando-as resistentes a este antimicrobiano. Há a probabilidade dessas bactérias contaminarem o homem através da ingestão da carne ou pelos dejetos dos animais. Por fim, o tratamento desta pessoa pode ficar comprometido quando a bactéria invasora já tem resistência ao medicamento administrado pelo clínico (BOTTEZINE et al., 2001).

Das trinta e cinco cepas de *Escherichia coli* originadas de água dos viveiros, sedimento dos viveiros e de camarões de cultivo, treze foram resistentes a pelo menos um antibiótico, a AMP (37,14%). (Figura 08)



Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacina (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidíxico (NAL).

Figura 8: Percentual total de resistência a diferentes antimicrobianos de cepas de *E. coli* isoladas de água de viveiro, sedimento e camarão de cultivo *Litopenaeus vannamei* cultivado em fazendas do Ceará.

A Ampicilina pertence à família das penicilinas, antibióticos que possuem uma estrutura central contendo o anel β -lactâmico. Os microrganismos tornam-se resistentes às penicilinas por um ou mais dos seguintes mecanismos:

redução na permeabilidade da membrana externa e, conseqüentemente, uma menor capacidade do antibiótico atingir as proteínas ligantes apropriadas; alteração ou diferenças estruturais nas proteínas ligantes à penicilina (MENEZES, et. al., 2002).

A tabela 2 mostra a resistência múltipla que as cepas de *E.coli* apresentaram aos seguintes antibióticos: AMP, TET, NIT e CFO. Cardonha et al.(2005) testando 98 cepas de *Escherichia coli* isoladas das águas das galerias e de praias da zona costeira da cidade de Natal – RN, encontraram 28 cepas que apresentaram resistência múltipla aos seguintes antibióticos: Ácido Nalidíxico, Tetraciclina, Sulfametoxazol-trimetoprim. Segundo a autora *op.cit.* a presença de cepas de *E.coli* com resistência a fármacos no ambiente aquático deve ser avaliada tomando-se por princípio o fato de que tais microrganismos são produtos de uma seleção previamente ocorrida no ambiente(CARDONHA, et al. 2005).

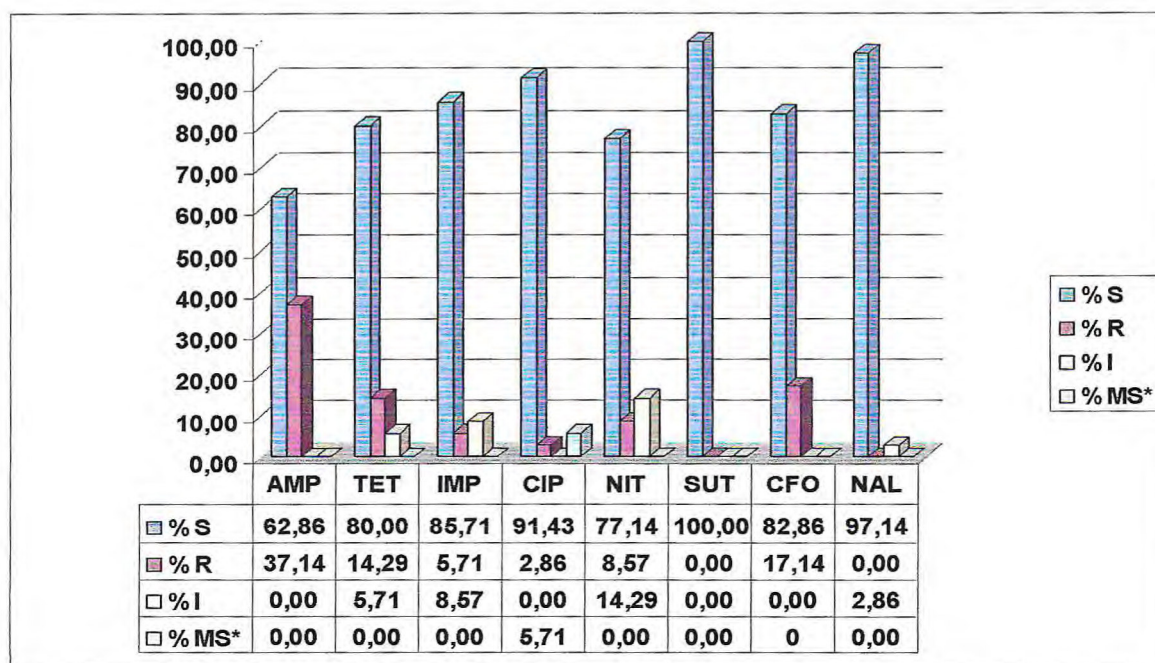
Tabela 2- Perfil de sensibilidade e resistência de 35 cepas de *E.coli* isoladas de água de viveiro, sedimento de viveiro e camarão de cultivo e testadas a diferentes antimicrobianos.

	Amostras	AMP	TET	IMP	CIP	NIT	SUT	CFO	NAL
Água de cultivo	1	S	S	S	S	S	S	S	S
	2	S	S	S	S	S	S	S	S
	3	S	S	S	S	S	S	S	S
	4	S	S	S	S	S	S	S	S
	5	R	S	S	S	S	S	S	S
	6	S	S	S	S	S	S	S	S
	7	R	S	S	S	S	S	S	S
	8	S	S	S	S	R	S	R	S
	9	S	S	S	S	S	S	S	S
	10	S	S	R	S	S	S	R	S
	11	S	S	S	S	S	S	S	S
	12	S	S	S	S	S	S	S	S
	13	S	S	S	S	S	S	S	S
	14	S	S	S	S	S	S	S	S
	15	S	R	S	S	R	S	S	S
Camarão de cultivo	16	S	R	S	R	I	S	S	S
	17	S	R	S	MS ^R	I	S	S	S
	18	R	S	S	S	I	S	S	S
	19	R	S	S	S	S	S	S	S
	20	R	S	S	S	I	S	S	S
	21	R	S	S	S	I	S	S	S
	22	R	R	S	S	R	S	R	I
	23	R	S	S	S	S	S	R	S
	24	R	S	S	S	S	S	S	S
Sedimento de viveiro	25	S	R	S	MS ^R	S	S	S	S
	26	R	S	I	S	S	S	R	S
	27	R	S	S	S	S	S	S	S
	28	S	S	S	S	S	S	S	S
	29	S	S	I	S	S	S	S	S
	30	S	S	S	S	S	S	S	S
	31	S	I	S	S	S	S	S	S
	32	S	I	I	S	S	S	S	S
	33	R	S	R	S	S	S	R	S
	34	R	S	S	S	S	S	S	S
	35	S	S	S	S	S	S	S	S

R-resistente; I-Intermediário; MS-Moderadamente Sensível; S-Sensível.

Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacim (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidíxico (NAL).

Do total de 35 cepas de *Escherichia coli* isoladas de água, sedimento e camarão, analisadas apresentaram sensibilidade aos seguintes antibióticos SUT (100 %); NAL (97,1%); CIP (91,4 %); IMP (85,71%); CFO (82,8%); TET (80,0%); NIT (77,1%); AMP (62,86%). Foram resistentes: AMP (37,1%), CFO (17,14%), TET (14,29%), NIT (8,5%), IMP (5,71%) e CIP (2,86%) (Figura 9).



Ampicilina (AMP), Tetraciclina (TET), Imipenem (IMP), Ciprofloxacina (CIP), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), Cefoxetina (CFO) e Ácido Nalidíxico (NAL).

Figura 9: Percentual total da sensibilidade de cepas de *E.coli* isoladas de água de viveiro, sedimento e camarão de cultivo a diferentes antimicrobianos.

Baseado nestes dados pode-se observar que apesar do grande percentual de sensibilidade frente aos antibióticos testados, as cepas analisadas também demonstraram resistência a esses fármacos.

Vários fatores podem ter contribuído para que elas se tornassem resistentes; mutações causadas por influência de fatores ambientais e/ou modificações genéticas intrínsecas da própria bactéria, que a partir de um determinado momento da sua multiplicação muda o seu genoma e passa por uma série de processos diferentes. No entanto, esses são processos raros que ocorrem em cada um bilhão ou um trilhão de multiplicações, O que determina essa predominância, de maneira geral, é a seleção que elas sofrem pelo uso dos antimicrobianos, e isso é mais constante em hospitais quando doses altas

desses medicamentos são administradas por tempo prolongado, muitas vezes de maneira inadequada.(LEÃO, 1999).

5 CONCLUSÃO

Das 35 cepas de *E.coli* isoladas de fazendas de carcinicultura e testadas aos diferentes antimicrobianos constatou-se que 13 eram resistentes a pelo menos um dos antibióticos usados na pesquisa, o que nos leva a supor que em alguma etapa desse cultivo os animais tiveram contato com esses medicamentos. Por outro lado, o que ficou provado é que há circulação de genes de resistências nas fazendas de carcinicultura.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, L. M. O. et al. **Contaminate fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na praia do futuro Fortaleza – Ceará.** Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 285 – 289, 2005.

BOTTEZINI, I. M. P.; CORSO, M. P., VIET, V. M. O Uso de Antibióticos na Produção de Frangos. **Revista Nacional da Carne.** 309 ed. Chapecó, 2001. disponível em: <http://www.dipemar.com.br/carne/309/materia_arttec_carne.htm>. Acesso em: 20 de ago. de 2005.

BLACK, J. G.; **Microbiology: principles and applications.** 2. ed.. New Jersey: Prentice Hall, 1990.

BROCK, T. D., MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., PARAKER, J. **Biology of Microorganisms.** 7. ed. Pretice Hall: New Jersey:, 1994. 909p.

BROOKS, G. F., BUTEL, J. S., JOWETZ, E., ORNSTON, L.N., MELNICK, J. L., ALDELBERG, E. A.; **Microbiologia Médica.** 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 1995. p. 611.

CAMPOS, L. C.; TRABULSI, L. R.; *Escherichia.* P. 215 – 228 In TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F., COMPERZTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 718 p

CARDONHA, A. M. S., VIEIRA, R. H. S. F., PEIRANO, G., RODRIGUES, D. P.; Resistência a antibióticos e a metais pesados de *Escherichia coli* isoladas de água do mar e galerias pluviais. **Acta Cirúrgica Brasileira.** São Paulo, v. 20, nº. 1. p. 253 -256, 2005.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M.; **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. p. 182.

GRANT, S. J.; PENDROY, C. P., MAYER, C. L., BELLIN, J.K., PALMER, C. J. P.; Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in raw and treated municipal sewage. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 62, n°.9. p 3.466 -3.469, 1996.

JEA, A. H. Y.; **Resistência à β – Lactamase por presença de ESBL**. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/htmls/mednws/301/mdcontfcb0302.htm>>. Acesso em: 20 de jul. de 2005.

LEÃO, I., **Antibióticos: A luta contra as bactérias**. São Paulo, 1999. Disponível em: <http://www.usp.br/jorusp/arquivo/1999/jusp496/manchet/rep_res/pesqui1.html> Acesso em: 12 de ago. de 2005.

LEITÃO, M. F. F.; Microrganismos patogênicos em alimentos. In: ROITMAN, I., TRAVASSO, L. R. ; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1988. p. 30 –31

MENEZES, A., AQUINO, A. C. F., BELLO, R.; **Guia de Medicamentos Teuto**. Goiás: Gráfica Terra, 2002. p. 560.

BRASIL. Ministério da Saúde .Portaria MS nº. 1.496, de 20 de dezembro de 2000. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle de vigilância da qualidade da água para consumo humano e o seu padrão de potabilidade**. D. O.U., Brasília, DF, 2 de janeiro de 2001. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469_00.htm>. Acesso em: 20 de ago. de 2005.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORIAL STANDARDS (NCCLS) 2005. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**, v. 25, n.1, M100-S14.

PELCZAR, M. J., CHAN, E. C. S., KRIENG, N. R.; **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. p. 929.

PESSANHA, R. P., GONTIJO, P. P. F.; **Uso de antimicrobianos como promotores de crescimento e resistência em isolados de *Escherichia coli* e de Enterobacteriaceae lactose – negativa da microflora fecal de francos de corte**. Belo Horizonte: Arq. Bras. Med. Zootec., 2001. v. 53. n. 1. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352001000100018&lng=pt&nrm=iso&tIng=pt>. Acesso em: 20 de jul. de 2005.

ROCHA, L. A. . DARINI, A. L. C. . **Análise do perfil de resistência de enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) isoladas em serviço da rede privada em Minas Gerais**. In: Congresso Sul-Brasileiro de Microbiologia Clínica, 1; Simpósio de Resistência Bacteriana, 2, 2002, Paraná. Resumos do Congresso Sul-Brasileiro de Microbiologia Clínica, 1 e I Simpósio de Resistência Bacteriana, 2. p. T-13.

SANTOS, R. C. V., HOERLLE, J. L., AQUINO, A. R. C., MORESCO, R.M.; Prevalência de *Escherichia coli*, *Kebsiella pneumoniae* e *Kebsiella oxytoca* produtoras de β – Lactamases de espectro estendido (ESBL) em pacientes do Hospital Divina Providencia, Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Porto Alegre, 2003v. 35. p. 55 -57. Disponível em: <http://sbac.org.br/docs/revista35_2/prevalencia%20de%20escherichia%20coli%20klebisiella%20pneumoniae%20e%20klebisiella%20oxytoca.pdf>. Acesso em: 15 de ago. de 2005.

SERRA, H. A.; **A história dos antibióticos**. Medstudents: Artigos-História da medicina. São Paulo, 2004. Disponível em:

<http://www.medstudents.com.br/historia_medicina_conteudo.asp?regid=4> Acesso em: 25 de ago. de 2005.

SHLAES, D.M., GERDING, D. N., CRAIG, W. A.; **Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the prevention of antimicrobial resistanci in hospitals.** Clinical. Infectious Diseases . v. 25. p. 584 – 599. Chicago, 1997.

Disponível em:

<http://www.journals.uchicago.edu/IDSA/guide/SE39_584.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2005.

STROHL, W. A., ROUSE, H.; **Microbiologia Ilustrada.** Porto Alegre: Artemed, 2004. p. 531.

VALENÇA, A. R., MENDES, G.N.; Importância da composição iônica da água oligahalina e “doce” no cultivo de *Litopenaeus vannamei*. **Panorama da aquicultura.** Rio de Janeiro, v. 14, n 86, 2004

VIEIRA, H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado.** São Paulo: Varela, 2004. p. 380.

TAVARES, W.; **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antifecciosos.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 816.

TÔRRES, R. C. O.; *Escherichia coli*. In: Vieira, R. H. S. F., **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado.** São Paulo: Varela, 2004. p.125 – 139.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L.; **Microbiologia.** 6. ed Porto Alegre: Artemed, 2000. p. 827.

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

WANNMACHER, L.; **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida?** *Uso Racional de Medicamentos: Temas Seleccionados*. Brasília, v. 1. n°.4. p. 1 – 6, 2004. Disponível em:

<http://www.opas.org.br/medicamentos/docs/HSE_URM_ATB_0304.pdf>.

Acesso em: 15 de jan. de 2006.

WEGENER, H. C.; BAGER, F.; ARESTRUP, F. M.; **Vigilância da resistência aos antimicrobianos no homem, nos produtos alimentares e no gado da Dinamarca.** *Surveillance report*. Dinamarca, v.2, n° 3. p 17 -19, 1997.

Disponível em: < <http://www.eurosurveillance.org/em/v02n03/0203-421.asp>>

Acesso em: 13 de mar. de 2005.