

Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* em ostras de dois estuários do Baixo Sul, Bahia, Brasil**Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from oysters from two estuaries in Baixo Sul, Bahia, Brazil**

DOI:10.34117/bjdv6n3-264

Recebimento dos originais: 06/03/2020

Aceitação para publicação: 17/03/2020

Noely Marques Ferreira Grise

Mestre em Microbiologia Agrícola

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Campus Universitário de Cruz das Almas, S/N, Cruz das Almas, BA, Brasil

E-mail: noelymf3@yahoo.com.br

Elizabeth Amélia Alves Duarte

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Santa Cruz

Pós-doc da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Campus Universitário de Cruz das Almas, S/N, Cruz das Almas, BA, Brasil

E-mail: elizabethaad@gmail.com

Thiago Alves Santos de Oliveira

Doutor em Fitopatologia pela Universidade de Brasília

Pós-doc da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Campus Universitário de Cruz das Almas, S/N, Cruz das Almas, BA, Brasil

E-mail: oliveira.tas@gmail.com

Vaneza Cardoso Leal

Mestre em Microbiologia Agrícola

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Campus Universitário de Cruz das Almas, S/N, Cruz das Almas, BA, Brasil

E-mail: nessaveja@gmail.com

Norma Suely Evangelista Barreto

Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco

Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Campus Universitário de Cruz das Almas, S/N, Cruz das Almas, BA, Brasil

E-mail: nsevelista@ufrb.edu.br

RESUMO

Foram estudadas cepas de *Escherichia coli* isoladas de ostras de cultivo e extrativismo em dois estuários do Baixo Sul, Bahia, Brasil. O perfil de resistência microbiana foi verificado a 15 antimicrobianos de 6 diferentes classes, e os genes que produzem betalactamases *bla*TEM-1, *bla*CTX-M e *bla*SHV foram sequenciados. A área de extrativismo (estuário T2) apresentou maior densidade de coliformes a 45 °C quando comparado com a área de cultivo (estuário T1). As cepas de *E. coli* isoladas da área T1 apresentaram apenas perfil intermediário de resistência

(57,14%), e na área T2, resistência em 60% dos isolados, principalmente aos β -lactâmicos (71,42%), com índice de múltipla resistência antimicrobiana (MAR) de 0,13-0,20 (50%). Resistência mediada por plasmídeo-R foi observada em maior número nas *E. coli* isoladas na área T1 (62,50%). Os genes *bla*TEM-1 e *bla*CTX-M foram observados em 83,33% e 8,33% das cepas, respectivamente, com ausência do gene *bla*SHV. A veiculação de bactérias resistentes para o homem por meio de alimentos crus como ostras, vem agravar a problemática da resistência antimicrobiana em bactérias, como *E. coli*.

Palavras-Chave: Moluscos bivalves, ostreicultura, β -lactamases

ABSTRACT

The characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from oysters for cultivation and extraction from two estuaries in Baixo Sul, Bahia, Brazil were studied. The microbial resistance profile of the strains was verified against 15 antimicrobials from 6 different classes. Additionally, genes producing beta-lactamases, *bla*TEM-1, *bla*CTX-M, and *bla*SHV were sequenced. The extractivism area (estuary T2) showed a higher density of coliforms at 45 °C when compared to the cultivation area (estuary T1). *E. coli* strains isolated from area T1 showed an intermediate profile of antimicrobial resistance (57.14%) while strains from area T2 had showed resistance in 60% of isolates, mainly to β -lactams (71.42%), with a multiple antimicrobial resistance index (MAR) of 0.13-0.20 (50%). Resistance mediated by the R-plasmid was observed in greater numbers in *E. coli* isolated from area T1 (62.50%). The *bla*TEM-1 and *bla*CTX-M genes were found in 83.33% and 8.33% of the strains, respectively, while *bla*SHV was always absent. The transmission of antimicrobial-resistant bacteria to humans through raw foods, such as oysters, aggravates the problem of antibiotic resistance of bacteria such as *E. coli*

Keywords: Bivalve molluscs, oyster culture, β -lactamases

1 INTRODUÇÃO

Dentre os produtos da pesca, os mariscos são uma importante fonte de renda para muitas famílias de pescadores e um alimento essencial para quem busca uma alimentação saudável devido sua importância nutricional. No entanto, a ingestão de ostras pode ser um risco devido ao hábito cultural de algumas regiões brasileiras consumi-las cruas, como é o caso da região nordeste, principalmente por indivíduos debilitados ou com o sistema imune comprometido.

O processo de alimentação dos moluscos bivalves por filtração além de acumular fitoplâncton que compõe seu principal alimento, também acumula substâncias como metais traços, pesticidas, biotoxinas e enterobactérias como *Salmonella* e *Escherichia coli*, amplamente relacionadas em surtos alimentares (SANDE et al., 2010). No Brasil, o número real de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) não é conhecido por se tratar de doenças

autolimitadas. No período de 2000 a 2017 do total de alimentos envolvidos em DVA, 46,82% não tiveram sua origem conhecida, e dos agentes etiológicos identificados *E. coli* foi o segundo microrganismo mais isolado (SINAN, 2018). *E. coli* é mundialmente reconhecida como indicador de outros patógenos, de natureza bacteriana, viral ou parasitária, além de apresentar estirpes patogênicas como *E. coli* O157:H7 (ANDERSEN et al., 2015).

O uso de antimicrobianos humano e veterinário tem se tornado um sério problema nos últimos anos (SONGE et al., 2017), pois ao ser excretado pelas fezes e urina ainda apresenta uma parcela significativa da droga em sua forma inalterada e ativa que ao atingir os estuários contribuem para a alteração da microbiota autóctone, disseminando genes de resistência móveis entre as bactérias (MIRANDA et al., 2018). O acúmulo de resíduos de antimicrobianos no ambiente aquático, especialmente em sedimentos marinhos, pode persistir por meses, favorecendo a seleção de microrganismos resistentes afetando a atividade microbiana natural e os processos biogeoquímicos (HOLLIS; AHMED, 2014).

A presença de resíduos de antimicrobianos no ambiente marinho tem como consequências negativas, ação sobre microrganismos não-alvo, contaminação dos alimentos e água potável, além de contribuir com o aumento da resistência microbiana (ZHANG et al., 2015). Dentre os antimicrobianos mais utilizados na medicina humana estão os β -lactâmicos, cuja resistência microbiana está relacionada a produção de enzimas capazes de hidrolisarem o anel β -lactâmico, como as β -lactamases de Espectro Estendido (ESBL) que hidrolisam penicilinas e cefalosporinas de terceira geração (BUSH, 2010).

Tendo em vista que a presença de bactérias resistentes de origem fecal em ambientes aquáticos, principalmente em áreas de colheita de ostras tem sido um risco para a saúde dos consumidores devido a ingestão de ostras cruas, este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de *E. coli* em amostras de ostras de cultivo e extrativismo em dois estuários do Baixo Sul da Bahia e verificar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana dos isolados, com a presença de genes betalactamases.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO E COLETA DAS AMOSTRAS

O estuário de Taperoá (T2) que abriga um banco natural de ostras se localiza no município de Taperoá, Baixo Sul da Bahia, e banhado pelo rio das Almas (13°32'17"S 39°05'55"W). O estuário (T1) na localidade de Torrinhos recebe vários braços de rios, tendo como principal o rio Una (13°33'54.84"S 39°0'29.99"W). Nesta área é realizado um cultivo

de ostras em sistema de lanterna. Durante o período de seis meses foram realizadas seis coletas de ostras e água no estuário T1, com as três primeiras coletas bimestralmente e as demais mensalmente. As coletas de água ocorreram em três pontos distintos: ponto P1 (13°34'39.576"S 39°1'22.800"W) após o cultivo (sentido píer-cultivo), ponto P2 (13°34'23.196"S 39°0'41.652"W), no cultivo e ponto P3 (13°34'23.664"S 39°1'2.640"W), antes do cultivo (sentido píer-cultivo). A área de extração de ostras (T2) ficava a aproximadamente 6 km de distância da área de cultivo (T1).

A análise de água (P1, P2 e P3) consistiu em uma amostra composta (1 L litro de água em cinco pontos equidistantes), homogêneos e retirado 1 L de volume. As variáveis temperatura, pH e salinidade foram verificadas in loco usando sonda multiparâmetro portátil modelo HI 9828. As amostras de ostras foram compostas por 36 ostras escolhidas aleatoriamente, totalizando 216 ostras. Para as ostras de extrativismo foram analisadas um total de 720 ostras. Todo o material coletado foi acondicionado em caixa térmica contendo gelo e encaminhadas para análise imediata. As ostras foram lavadas em água corrente, secas e abertas em condições assépticas para a retirada do líquido e músculo intervalvar.

2.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI*

A quantificação de coliformes a 45 °C foi realizada usando a técnica de fermentação em tubos múltiplos com série de cinco tubos conforme o manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água (SILVA et al., 2010).

2.3 SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA

A suscetibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de difusão de disco em placas segundo a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010). Para o antibiograma, o inóculo (10^8 UFC mL⁻¹) foi espalhado em agar Mueller-Hinton e adicionado os discos de antimicrobianos: ácido nalidíxico (30 µg), amoxicilina (10 µg), gentamicina (10 µg), cefalotina (30 µg), ceftazidime (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), cloranfenicol (30 µg), imipenem (10 µg), azetronam (30 µg), sulfazotrim (25 µg), tetraciclina (30 µg), amicacina (30 µg), estreptomicina (10 µg), cefoxitina (30 µg) e ceftriaxona (30 µg), todos da marca Laborclin.

O índice de múltipla resistência antimicrobiana (MAR) foi calculado como o número de antimicrobianos ao qual determinado isolado foi resistente sobre o número total de antimicrobianos testados e multiplicado por 100 (HIRSCH et al., 2006).

As cepas de *E. coli* que apresentaram perfil de resistência foram submetidas a testes de cura do plasmídeo-R (MOLINA-AJA et al. 2002) usando o agente mutagênico laranja de acridina ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$). Após o teste de cura o antibiograma foi repetido e verificado se a característica de resistência era mediada por enzimas codificadas em plasmídeo ou cromossomo.

2.4 PRESENÇA DE GENES ESBL

Foi realizada a extração do DNA total das cepas de *E. coli* usando kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega®), segundo recomendações do fabricante. A integridade e a quantidade do DNA foram verificadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8% e com o Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen), respectivamente. As amplificações por PCR foram realizadas com os *primers* SHV, TEM-1 e CTXGP1 multiplex (incluindo grupo filogenéticos 1 e 2) designados aos estudos de genes de resistência descritos por Ellington et al. (2007), para detecção dos genes *bla*SHV, *bla*TEM-1 e *bla*CTX-M. Para cada reação foram utilizados os seguintes reagentes e concentrações: 60 ng de DNA de cada amostra; 1x de tampão da enzima Taq DNA polimerase; 3,7 mM de MgCl_2 ; 0,6 pmol/ μL de dNTPs; 0,4 pmol/ μL de cada primer; 1U de Taq DNA polimerase, com volume final ajustado para 50 μL com água ultra pura. Os ciclos de amplificações de cada *primer* foram realizados no Veriti Thermal Cycler PCR (Applied Biosystems) seguindo a metodologia das citações supramencionadas. Todos os reagentes utilizados foram do kit (Promega®).

Os produtos amplificados (amplicons) foram visualizados em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio, visualizados sobre luz ultravioleta e fotodocumentados. Os amplicons foram purificados utilizando o kit Illustra® GFX PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare Life Sciences, São Paulo, Brasil). A identificação nucleotídica foi realizada com sequenciador automático *ABI-Prism 3500 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Califórnia, EUA). A edição e montagem foram realizadas no programa Sequencher 4.1.4 (Gene Code Corporation). Os resultados foram comparados com seqüências depositadas no banco de dados públicos NCBI's BLAST (basic local alignment search tool) program (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.)

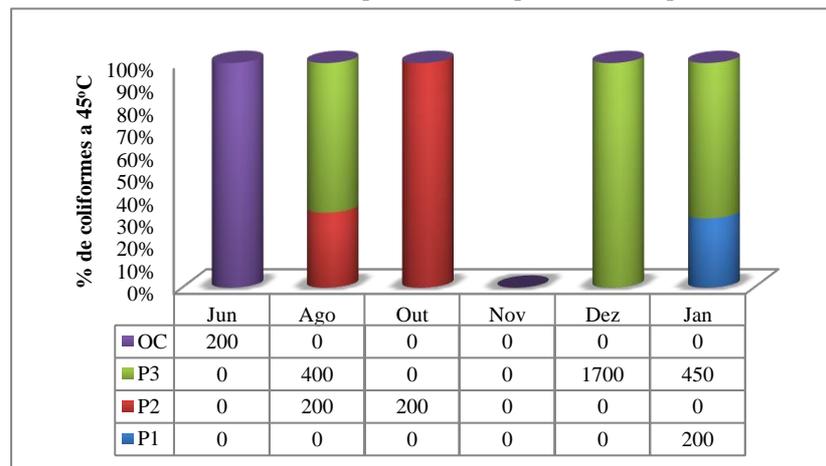
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na área de cultivo (T1) a quantificação de coliformes a 45 °C na água em ordem crescente foi $P1 < P2 < P3$ (Figura 1). Os pontos P1 e P2 apresentaram menor densidade de

bactérias porque se encontravam mais afastados da área de povoamento, sofrendo menor influência de esgotos quando comparado ao ponto P3, área de embarque e desembarque de turistas e moradores da comunidade. Outro fator que contribuiu para a menor quantificação de coliformes nos pontos P1 e P2 era a influência de um braço de rio na altura do ponto P2 (cultivo), que diluía a carga microbiana de coliformes trazida pela correnteza do ponto P3.

Durante as coletas (T1) não foi observado grandes variações dos parâmetros físico-químicos da água, sendo as médias de temperatura, pH e salinidade de 27,5 °C, 7,5 e 20 ppm, respectivamente. A baixa variação de temperatura é uma característica do ambiente litorâneo baiano, que apresenta apenas duas estações no ano (seca e chuvosa). Apesar dos diversos canais de rios que desembocam no estuário, a influência do mar é grande, mantendo a salinidade constante. O pH na faixa neutra, não compromete a atividade de filtração das ostras. Este fenômeno tem sido observado em valores abaixo de 6,72 (PEREIRA et al., 2001).

Figura 1 - Número Mais Provável (NMP 100 mL⁻¹/ 100 g⁻¹) de coliformes a 45 °C em amostras de água e ostras no estuário T1, Baixo Sul, Bahia. P1: ponto P1, P2: ponto P2, P3: ponto P3, OC: ostras.



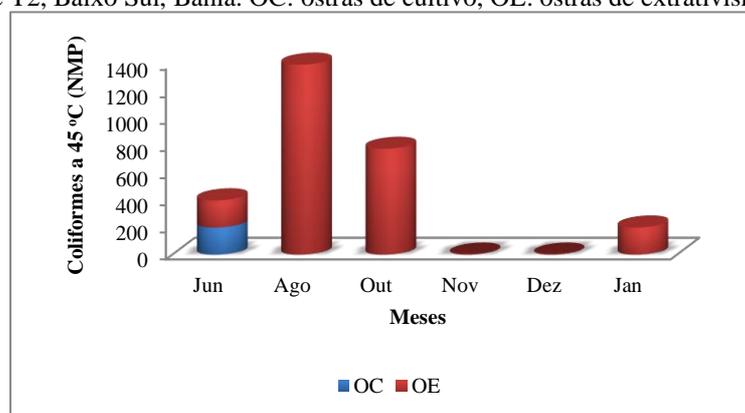
De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2005), a área de cultivo é adequada para a atividade de ostreicultura, com média geométrica de 41,80 NMP 100 mL⁻¹ para coliformes a 45 °C (valor limite 43 NMP 100 mL⁻¹). *E. coli* foi isolada em 50% das amostras de água, principalmente no ponto P3, com maior densidade nos meses de dez./15 e jan./16 (Figura 1), período em que o fluxo de pessoas é intenso na comunidade. A comunidade de Torrinhas serve de saída para a ilha de Boi Peba, ilha paradisíaca procurada por turistas nacionais e internacionais.

Quando se tem baixa densidade microbiana em tecidos de ostras, a ação de enzimas lisozimas sintetizadas nos hemócitos e presente na hemolinfa também contribui para

minimizar a presença de *E. coli*, uma vez que estas enzimas atuam no rompimento da parede celular do microrganismo, como mecanismo de defesa contra a invasão de bactérias patogênicas (XUE et al., 2010). Isto faz com que as bactérias fiquem descaracterizadas, não sendo possível identificar colônias típicas em meio de cultura, mesmo ocorrendo o crescimento do microrganismo. Assim, a análise de moluscos bivalves apresenta melhor segurança microbiológica quando comparada a análise da água, uma vez que nas ostras se tem a interação da água e o molusco por um período de tempo maior, enquanto na água representa a condição ambiental no momento da coleta (SANDE et al., 2010).

Nas ostras de extrativismo (T2) a densidade de coliformes a 45 °C foi maior do que nas ostras de cultivo, principalmente nos meses de ago./15 e out./15 (Figura 2). Nesse período era forte a incidência de chuvas na região. *E. coli* foi isolada em 67% das ostras. A presença da bactéria nas ostras se deve a proximidade das áreas de mariscagem com diversos municípios e comunidades que vivem as margens do estuário. Neste trecho o estuário é estreito, sofrendo maior impacto com o lançamento de esgotos domésticos. Mesmo havendo ligação entre as águas dos dois estuários devido à transição de maré cheia para maré vazante, a distância entre as áreas de estudo, aproximadamente 6 km, minimiza a presença de bactérias entéricas no estuário T1.

Figura 2 - Número Mais Provável (NMP 100 g⁻¹) de coliformes a 45 °C em amostras de ostras nos estuários T1 e T2, Baixo Sul, Bahia. OC: ostras de cultivo, OE: ostras de extrativismo.



A mudança do cultivo de ostras (T1), anteriormente localizado no estuário T2, ocorreu em virtude do estudo de Santos et al. (2015) que relataram elevados índices de *E. coli* e presença de *Salmonella* spp. no entorno do cultivo, devido o deságue do emissário do município diretamente no estuário (T2).

De acordo com o Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (BRASIL, 2012) que estabelece parâmetros da densidade de coliformes a 45 °C em áreas de cultivo e comercialização, duas amostragens (T2) apresentaram classificação II, ou seja, só deveriam ser comercializadas após passarem por um processo de depuração ou tratamento térmico (Tabela 1).

Tabela 1 - Categorias para retirada de moluscos bivalves de acordo com o Programa Nacional de Controle Higiênicossanitário de Moluscos Bivalves (BRASIL, 2012).

Categorias	% (n° de amostras)	
	OC	OE
I. Liberada (<230 NMP.100 g ⁻¹)	100 (6)	66,67 (4)
II. Liberada sob condição (>230 e <46.000 NMP.100 g ⁻¹)	0	33,33 (2)
III. Retirada suspensa (>46.000 NMP.100 g ⁻¹)	0	0

OC: ostra de cultivo. OE: ostra de extrativismo.

O monitoramento microbiológico em áreas de pesca deve ser contínuo devido a falta de saneamento básico e o hábito da ingestão de ostras cruas. Nas áreas de estudo, a atividade de pesca tem grande importância para a economia local, com o efetivo trabalho de pescadores artesanais que utilizam os recursos da pesca para o sustento de suas famílias, com a retirada de peixes e mariscos, além da produção em cativeiro de ostras (IBGE, 2010).

Foram identificadas 19 cepas de *E. coli*, 05 isoladas de ostras (T2) e 14 da água (T1). Desse total, 12 cepas de *E. coli* apresentaram perfil de resistência intermediária ou resistência a cinco dos antimicrobianos testados (Tabela 2). As cepas de *E. coli* da área de cultivo (água) apresentaram apenas perfil intermediário de resistência (57,14%), e as cepas de ostras (T2) apresentaram 20% de resistência intermediária e 60% de resistência (Tabela 2).

As cepas de *E. coli* apresentaram maior resistência aos β -lactâmicos (71,42%). Dos sete antimicrobianos testados, as cepas se mostraram resistentes a cinco, com maior resistência a amoxicilina (Tabela 2). A resistência de bactérias da família Enterobacteriaceae aos antimicrobianos, especialmente aos β -lactâmicos tem sido cada vez mais frequente devido a mobilização de genes que codificam enzimas eficientes modificando sítios de ação dos fármacos. A forte pressão de seleção tem contribuído para que elementos genéticos móveis determinem em grande parte a epidemiologia da resistência aos antibióticos modernos (IREDELL et al., 2016).

Tabela 2 - Percentual de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água e ostras nos estuários de Torrinhas e Taperoá, Baixo Sul, Bahia.

Antimicrobianos	<i>Escherichia coli</i> (%)					
	Ostras (n=5)			Água (n=14)		
	S	I	R	S	I	R
Aminoglicosídeos						
- Amicacina	100	0	0	100	0	0
- Gentamicina	100	0	0	100	0	0
- Estreptomicina	100	0	0	100	0	0
β-lactâmicos						
- Amoxicilina	40	20	40	71,43	28,57	0
- Aztreonam	80	0	20	100	0	0
- Cefalotina	80	0	20	71,43	28,57	0
- Ceftazidima	80	0	20	0	0	0
- Cefoxitina	100	0	0	100	0	0
- Ceftriaxona	80	0	20	0	0	0
- Imipenem	100	0	0	100	0	0
Fenóis						
- Cloranfenicol	100	0	0	100	0	0
Quinolonas						
- Ác. nalidíxico	100	0	0	100	0	0
- Ciprofloxacina	100	0	0	100	0	0
Sulfonamidas						
- Sulfazotrim	100	0	0	100	0	0
Tetraciclina						
- Tetraciclina	100	0	0	100	0	0

Sensível (S). Intermediário (I). Resistente (R).

A resistência de bactérias a amoxicilina em áreas ambientais é preocupante, uma vez que *E. coli* resistentes podem chegar ao homem por meio da ingestão de ostras cruas, e por conjugação conferir resistência a cepas de *E. coli* comensais do trato intestinal (YANG et al., 2012). Mesmo o Brasil buscando minimizar o uso abusivo de antimicrobianos ao limitar sua utilização por meio de prescrição médica, os resíduos dessas drogas excretados em fezes e urina podem chegar aos corpos hídricos, devido falhas no tratamento residual de sólidos, não detectados nas estações de tratamento (CAMPOS et al., 2013).

E. coli isoladas na área T1 apresentaram perfil de multirresistência (40%), com índice MAR variando de 0,13 a 0,20 (Tabela 3). A origem gênica da resistência foi equivalente entre plasmidial e cromossômica (50%), com as cepas isoladas da água apresentando maior percentual de resistência plasmidial (62,50%) (Tabela 3). Os plasmídeos contribuem para a disseminação da resistência aos antimicrobianos entre as espécies bacterianas presentes no ambiente aquático, patogênicas ou não (BRAHMI et al., 2015).

Tabela 3 - Perfil de multirresistência, resistência plasmidial e presença de genes de resistência em cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água e ostras em dois estuários do Baixo Sul, Bahia.

Origem	N°	Resistência	MAR	Resistência	Genes de Resistência		
				plasmidial	TEM-1	CTX-M	SHV
Água	1, 5	CFL	-	CFL	+	-	-
	2, 3, 4	AMO	-	AMO	+	-	-
	6	AMO	-	-	+	-	-
	7, 8	CFL	-	-	+	-	-
Ostras	9	AZT, CRO, CAZ	0,20	-	-	-	-
	10	AMO, CFL	0,13	-	+	-	-
	11	AMO	-	-	+	+	-
	12	AMO	-	AMO	-	-	-

N° (número de cepas). MAR (múltipla resistência antimicrobiana). AMO (amoxicilina). CFL (cefalotina). CAZ (ceftazidima). CRO (ceftriaxona). AMT (aztreonam). (+) presença. (-) ausência.

A presença do gene *bla*TEM-1 foi observada em 83,33% dos isolados resistentes (Tabela 3). Embora esse gene seja responsável pela expressão da enzima TEM-1 de espectro restrito, mutações pontuais podem ocorrer ocasionando alterações específicas na sequência de aminoácidos, resultando em uma variedade de enzimas com espectro estendido. Este fato tem sido um problema para a saúde pública, por se tratar de enzimas que podem conferir resistência a certos antimicrobianos, como ceftazidima e cefotaxima (NAAS et al., 2008).

O gene *bla*CTX-M foi detectado em 8,33% das cepas quando utilizado o primer que identifica enzimas do grupo filogenético 1 e 2 (Tabela 3). Dallenne et al. (2010) analisando a presença desse gene em espécies da família Enterobacteriaceae relataram a presença dos mesmos grupos filogenéticos 1 e 2, sendo que a maior prevalência de ESBLs do tipo CTX-M foi observada para o grupo filogenético 1.

O gene *bla*TEM-1 quando detectado de forma isolada pode não estar necessariamente associado a produção de enzimas β -lactamases, porém quando em associação ao gene *bla*CTX-M a expressão de genes pode ser potencializada, com o microrganismo produzindo enzimas β -lactamases com maior expressão (TAYH et al., 2016).

A cada ano tem aumentado relatos da presença de bactérias resistentes e produtoras de ESBL em rios e efluentes, inclusive o Brasil (IREDELL et al., 2016; SINGH et al., 2016). Segundo Horton et al. (2011) *E. coli* portando o gene *bla*CTX-M isoladas de amostras de fezes de bovinos, suínos e aves tem sido associado a disseminação de bactérias produtoras de enzimas ESBL para os seres humanos a partir de fontes de alimentos de origem animal, assim

como a contaminação do ambiente aquático devido o carreamento de matéria orgânica pelas chuvas.

Mesmo com a ausência do gene *blaSHV* nos isolados do presente estudo, a sua pesquisa deve ser incluída por apresentar resistência aos antimicrobianos da classe β -lactâmicos, comprometendo ou limitando o tratamento de infecções que necessitam do uso desses fármacos (SINGH et al., 2016). Korzeniewka et al. (2013) relataram a presença de *E. coli* em esgotos municipais de Olsztyn na Polônia e verificaram a presença dos genes *blaCTX-M*, *blaSHV* e *blaTEM* em plasmídeos, demonstrando o risco da disseminação dessas bactérias para o ambiente aquático e o problema de infraestrutura enfrentado por muitos municípios. Brahmi et al. (2015) também detectaram a presença de enzimas CTX-M e TEM em isolados de *E. coli* em organismos aquáticos, fortalecendo a hipótese de que os ambientes naturais são potentes reservatórios de bactérias multirresistentes e genes associados.

A presença de enterobactérias portando genes responsáveis por codificarem enzimas β -lactamases na região do Baixo Sul da Bahia não pode ser negligenciada, pois demonstra o risco do consumo in natura de moluscos bivalves na região, uma vez que este estudo é o primeiro relato de caso realizado nas localidades.

4 CONCLUSÃO

Apesar da quantificação de *E. coli* estar de acordo com a legislação brasileira em áreas de cultivo de moluscos bivalves, a detecção de genes *blaCTX-M* e *blaTEM-1* responsáveis por conferir resistência microbiana aos β -lactâmicos demonstra o risco da ingestão de ostras cruas, devido a disseminação de resistência entre as bactérias comensais.

A presença de *E. coli* resistente a diferentes fármacos reforça a necessidade de saneamento básico na região, assim como a importância de consumir moluscos bivalves após passarem por processo de depuração ou tratamento térmico a fim de eliminar a carga microbiana e o risco de infecções alimentares.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e ao Programa CAPES/PNPD. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, J. L.; HE, G.-X.; KALARLA, P.; RANJANA, K. C.; KUMAR, S.; LAKRA, W. S.; MUKHERJEE, M. M.; RANAWEERA, I.; SHRESTHA, U.; TRAN, T.; VARELA, M. F. Multidrug efflux pumps from Enterobacteriaceae, *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus* bacterial food pathogens. **International Journal Environmental Research Public Health**, v. 12, p. 1487-1547, 2015.

BRAHMI, S.; DUNYACH-RÉMY, C.; TOUATI, A.; LAVIGNE, J. P. CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 3, p. 18-20, 2015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a qualidade dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 17 mar. 2005.

BRASIL. Ministério da pesca e aquicultura, Instrução normativa interministerial n. 7 de 08 de maio de 2012. Institui o programa nacional de controle higiênico-sanitário de moluscos bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 mar. 2012.

BUSH, K. Bench-to-review: The role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. **Critical Care**, v. 14, n. 3, p. 224, 2010.

CAMPOS, C. J. A.; ACORNLEY, R.; MORGAN, O. C.; KERSHAW, S. Trends in the levels of *Escherichia coli* in commercially harvested bivalve shellfish from England and Wales, 1999-2008. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 223-227, 2013.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). **Methods for broth dilution susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals**. Approved Guideline, M49-A, 26, 50, 2010.

DALLENNE, C.; COSTA, A. D.; DECRE, D.; FAVIER, C.; ARLET, G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 3, p. 490-495, 2010.

ELLINGTON, M. J.; KISTLER, J.; LIVERMORE, D. M.; WOODFORD, N. L. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 321-2, 2007.

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

HOLLIS, A.; AHMED, Z. The path of least resistance: paying for antibiotics in non-human uses. **Health Policy**, v. 118, n. 2, p. 264-270, 2014.

HORTON, R. A.; RANDALL, L. P.; SNARY, E. L.; COCKREM, H.; LOTZ, S.; WEARING, H.; DUNCAN, D.; RABIE, A.; MCLAREN, I.; WATSON, E. L. A.; RAGIONE, R. M.; COLDHAM, N. G. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 11, p. 3715-3719, 2011.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. (2010). Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

IREDELL, J.; BROWN, J.; TAGG, K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. **British Medical Journal**, v. 352, p. 6420, 2016.

KORZENIEWSKA, E.; KORZENIEWSKA, A.; HARNISZ, M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 91, p. 92-106, 2013.

MIRANDA, C. D.; GODOY, F. A.; LEE, M. R. Current status of the use of antibiotics and the antimicrobial resistance in the Chilean salmon farms. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1-14, 2018.

MOLINA-AJA, A.; GARCÍA-GASCA, A.; ABREU-GROBOIS, A.; BOLÁN-MEJÍA, C.; ROQUE, A.; GOMEZ-GIL, B. Plasmid profile and antibiotic resistance of *Vibrio* strains isolated from cultured penaeid shrimp. **FEMS Microbiology Letters**, v. 213, n. 1, p. 7-12, 2002.

NAAS, T.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Minor extended-spectrum beta-lactamases. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 42-52, 2008.

PEREIRA, O. M.; MACHADO, I. C.; HENRIQUES, M. B.; YAMANAK, N. Crescimento da ostra *Crassostrea brasiliana* semeada sobre tabuleiro em diferentes densidades na região estuarina-lagunar de Cananéia-SP (25°S, 48°W). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 27, n. 2, p. 85-95, 2001.

SANDE, D.; MELO, T. A.; OLIVEIRA, A. S.; BARRETO, L.; TALBOT, T.; BOEHS, G.; ANDRIOLI, J. L. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SANTOS, S. S.; BARRETO, L. M.; SILVEIRA, C. S.; REIS, N. A.; LIMA, K. A.; DE SOUZA, J. S.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. **Actapesca**, v. 3, p. 49-60, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 632p, 2010.

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação (2018). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica,

Coordenação Geral de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Brasília. Disponível em: < <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf> > Acesso em: 23 de jul. 2019.

SINGH, G.; VAJPAYEE, P.; RANI, N.; AMOAH, I. D.; STENSTROM, T. A.; SHANKER, R. (2016). Exploring the potential reservoirs of non specific TEM beta lactamase (*bla*TEM) gene in the Indo-Gangetic region: A risk assessment approach to predict health hazards. **Journal of Hazardous Materials**, v. 314, p. 121-128, 2016.

SONGE, M. M.; HANGOMBE, B. M.; KNIGHT-JONES, T. J. D.; GRACE, D. Antimicrobial resistant enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in houseflies infesting fish in food markets in Zambia. **International Journal Environmental Research Public Health**, v. 14, p. 1-10, 2017.

TAYH, G.; SALLEM, R. B.; YAHIA, H. B.; GHARSA, H.; KLIBI, N.; BOUDABOUS, A.; SLAMA, K. B. First report of extended-spectrum b-lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* in Gaza Strip, Palestine. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 6, p. 17-21, 2016.

XUE, Q.; HELLBERG, M. E.; SCHEY, K. L.; ITOH, N.; EYTAN, R. I.; COOPER, R. K.; LA PEYRE, J. F. A new lysozyme from the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, and a possible evolutionary pathway for i-type lysozymes in bivalves from host defense to digestion. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 213, p. 2-17, 2010.

ZHANG, Q.-Q.; YING, G.-G.; PAN, C.-G.; LIU, Y.-S.; ZHAO, J.-L. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. **Environmental Science & Technology**, v. 49, p. 6772-6782, 2015.

YANG, B.; XI, M.; CUI, S.; ZHANG, X.; SHEN, J.; SHENG, M.; QU, D.; WANG, X.; MENG, J. Mutations in gyrase and topoisomerase genes associated with fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars from retail meats. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 935-939, 2012.