

***Aeromonas* spp. EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL E EM ÁGUA DE CONSUMO DE GOIÂNIA-GO¹**

Albenones José de Mesquita,² Iolanda Aparecida Nunes,²
Antonio Nonato de Oliveira,² Moacir Evandro Lage² e
Edson Marden Bonifácio e Souza³

ABSTRACT

Aeromonas spp. In Products of Animal Origin and Drinking Water of Goiânia-GO

A total of 53 samples of products animal origin and drinking water was examined for the presence of *Aeromonas* spp. *Aeromonas* occurred in 26,41% (14/53) of the samples. The raw products showed high frequency of contamination and relatively high count. *Aeromonas hydrophila* was the dominating species, 57,5%, being followed of *A. veroni* (22,5%), *A. sobria* (17,5%) and *A. media* (2,5%). None of the *Aeromonas* spp. was isolated from chlorinated or unchlorinated drinking water.

KEY WORDS: *Aeromonas*, animal origin products, drinking waters.

RESUMO

Um total de 53 amostras de produtos de origem animal e água de consumo foi examinado para se verificar a presença de *Aeromonas* spp. Desse total, 14/53 (26,41%) amostras foram positivas para *Aeromonas*. Os produtos crus apresentaram maior frequência de contaminação e contagem relativamente elevadas. A espécie *Aeromonas hydrophila* foi a mais freqüente (57,5%), seguida pelas espécies *A. veroni* (22,5%), *A. sobria* (17,5%) e *A. media* (2,5%). Nenhuma amostra de água de consumo, clorada ou não clorada, mostrou-se positiva para *Aeromonas* spp.

PALAVRAS-CHAVE: *Aeromonas*, produtos de origem animal, água de consumo.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, *Aeromonas* spp. tem sido isolada de uma grande variedade de alimentos (Palumbo *et al.* 1985, Okrend *et al.* 1987, Knchel e Jeppensen 1990, Krovacek *et al.* 1992, Freitas *et al.* 1993, Gobat e Jemmi 1993, Saad *et al.* 1995). Nos últimos anos, a observação de similaridade entre cepas isoladas de alimentos e de casos de gastroenterite humana aumentou a importância desses microrganismos. Contudo, o papel

1 Entregue para publicação em agosto de 1995

2 Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. C.P. 131, CEP 74.001-970. Goiânia-GO.

3 Pesquisador Associado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

das aeromonas como microrganismos potencialmente capazes de causarem intoxicação alimentar, até o momento, não está totalmente claro (Krovacek *et al.* 1992).

Ainda que a ligação entre o alimento e a doença no homem não esteja definitivamente estabelecida, existem estudos visando caracterizar as reações bioquímicas e os fatores de virulência de organismos isolados de alimentos de origem animal e comparar suas propriedades com aqueles isolados de espécimes clínicos (Palumbo *et al.* 1989, Pin *et al.* 1995). Existem também estudos que tentam associar casos de diarreia com a presença de aeromonas nas fezes (Pitarangsi *et al.* 1982, Morgan e Wood 1988, Nishikawa e Kishi 1988). No entanto, infecções experimentais em primatas e em voluntários humanos (Morgan *et al.* 1985) não têm sido bem sucedidas.

Atualmente, sabe-se que no homem as patologias mais comuns causadas pelas *Aeromonas* são gastroenterite, septicemia em pacientes imunodeprimidos e infecções cutâneas. Sabe-se também que entre os fatores de virulência produzidos por esses microrganismos que poderiam explicar a patogênese da infecção estão as exotoxinas (enterotoxinas, citotoxinas, hemolisinas) e a habilidade para aderir e invadir células epiteliais (Janda 1991).

Majeed *et al.* (1990) sugeriram que a gastroenterite por *Aeromonas* pode, possivelmente, ser causada pela ingestão de toxina pré-formada no alimento contaminado. Krovacek *et al.* (1992) observaram que a maioria das cepas isoladas de diferentes tipos de alimentos foi capaz de produzir uma variedade de fatores de virulência como hemolisinas, citotoxinas, toxinas citotônicas e proteases, à temperatura de 4°C. Majeed e Mac Rae (1991) também detectaram a produção de fatores de virulência como enterotoxinas e hemolisinas por cepas de *Aeromonas hydrophila* a 4°C.

O objetivo do presente trabalho foi investigar qualitativa e quantitativamente a ocorrência de *Aeromonas* spp. em produtos de origem animal e em água de consumo da cidade de Goiânia-GO, por serem esses microrganismos agentes potenciais de doenças de origem alimentar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas no mercado varejista de Goiânia, em geral, 33 amostras de produtos de origem animal, sendo dez de carne bovina moída, dez de leite cru, dez de leite pasteurizado, duas de carne de suíno e uma de peixe. Paralelamente, foram colhidas também vinte amostras de água de consumo, sendo dez de água mineral e dez de água clorada, em diferentes pontos do sistema de abastecimento da cidade.

Foram pesados assepticamente 25g de cada amostra dos produtos sólidos, homogeneizados durante um a dois minutos, com 225 ml de caldo de soja tripticase ampicilina (CSTA), na proporção de 0,1 ml de antibiótico a 1% para cada 100 ml do caldo. A partir desta solução 10^{-1} foram realizadas diluições decimais seriadas.

Visando ao isolamento e à identificação de *Aeromonas*, o frasco contendo o homogeneizado foi incubado a 30°C por 18-24 h, em incubadora para B.O.D. A seguir, a cultura de enriquecimento foi estriada em ágar Mac Conkey ampicilina (AMA₁) e ágar manitol ampicilina (AMA₂) e as placas, incubadas em B.O.D. a 30°C por 24h. De cinco

a oito colônias, suspeitas de pertencerem a esse gênero bacteriano, foram purificadas em ágar soja tripticasase + 0,6% de extrato de levedura a 30°C por 24h. As colônias puras foram submetidas às provas de catalase, oxidase, Gram em solução de KOH a 3% e microscopia de contraste de fase. Aquelas que apresentaram características do gênero foram submetidas a testes para verificar o comportamento bioquímico como: motilidade, Voges Proskauer, vermelho de metila, produção de indol, comportamento em ágar triplice açúcar ferro, utilização da glicose, manitol, sacarose, salicina, arabinose, esculina, inositol e amido, descarboxilação da lisina, ornitina e arginina, segundo Mac Faddin (1976).

Para a contagem de *Aeromonas*, alíquotas de 0,1 ml foram retiradas de cada diluição decimal e espalhadas, com auxílio de alça de Drigalski, na superfície do ágar manitol ampicilina (AMA₂). Após a semeadura, as placas foram incubadas a 30°C por 48h. A confirmação das colônias suspeitas foi realizada empregando-se o mesmo procedimento do isolamento e identificação.

Os dados obtidos no presente trabalho foram analisados empregando-se estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Tabela 1 que, do total de amostras analisadas, 14/53 (26,41%) foram positivas para *Aeromonas*. Esse resultado encontra-se em plena concordância com o obtido, na Suíça, por Gobat e Jemmi (1993), 24,1%, embora esses autores tenham trabalhado somente com carnes e produtos cárneos. No entanto, difere dos 42% encontrados na Suécia por Krovacek *et al.* (1992). Essa diferença pode ser atribuída, em parte, ao emprego de metodologias distintas, uma vez que não existe técnica padrão para contagem, nem para isolamento e identificação de *Aeromonas* em alimentos e, em parte, à composição da amostragem.

Tabela 1: Ocorrência de *Aeromonas* spp. em produtos de origem animal e em águas de consumo da cidade de Goiânia-GO, 1995

Produtos	Amostras examinadas	Amostras positivas (%)	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. veroni</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. media</i>	Valor máximo ¹
Carne bovina moida	10	6 (60)	9 (50)	3 (16,6)	6 (33)		3,0x10 ⁵
Leite cru	10	5 (50)	13 (86,6)	2 (13,3)			9,3x10 ⁴
Leite pasteurizado	10	1 (10)		2			6,5x10 ³
Carne suína	2	2	1 (25)	1 (25)	1 (25)	1 (25)	9,0x10 ⁵
Peixe fresco	1	1		1			1,0x10 ⁴
Água mineral	10	0					<1,0x10 ²
Água clorada da rede de abastecimento	10	0					<1,0x10 ²
Total	53	14 (26,41)	23 (57,5)	9 (22,5)	7 (17,5)	1(2,5)	

1 - Unidades formadoras de colônia (UFC/g ou ml).

Pode-se também observar que os produtos crus apresentaram maior frequência de contaminação (variando de 50 a 60% de amostras positivas) e, algumas vezes, contagens de colônias relativamente elevadas ($9,3 \times 10^4$ - $3,0 \times 10^5$ UFC/g ml). Resultados semelhantes foram obtidos por Knockel e Jeppesen (1990), Kirov et al. (1990), Gobat e Jemmi (1993). Isto pode ser devido, provavelmente, às condições de higiene pouco adequadas durante a obtenção de produtos e às manipulações excessivas no processamento. Atenção especial deve ser dada à carne suína e à carne de peixe, pois, mesmo tendo sido analisada poucas amostras, todas foram positivas e também apresentaram contagens relativamente elevadas.

Em contraste, o leite pasteurizado apresentou baixo nível de contaminação. Esse achado encontra-se em concordância com Palumbo et al. (1987) e Condon et al. (1991), que verificaram ser as aeromonas mesofílicas pouco resistentes ao calor, nisto se assemelhando aos patógenos Gram-negativos encontrados em alimentos. Em função desse resultado, suspeitou-se que a amostra positiva tenha sofrido recontaminação. Entretanto, deve-se mencionar que muitas cepas de *Aeromonas* são psicrotróficas (Beuchat 1991) e podem proliferar durante a estocagem em temperatura de refrigeração.

As espécies de aeromonas mais frequentes em produtos de origem animal podem também ser observadas na Tabela 1. Nota-se que a *A. hydrophila* (57,5%) foi a mais isolada, seguida pela *A. veroni* (22,5%) e pela *A. sobria* (17,5%). Resultados semelhantes foram obtidos por Kirov et al. 1990, Gobat e Jemmi 1990, Krovacek et al. 1992 e Hänninen 1993. A importância desses achados torna-se evidenciada no trabalho de Majeed et al. 1990. Estes autores investigando a habilidade de 60 cepas de *Aeromonas* em produzir enterotoxinas e hemolisinas, após cultivo a 5°C, durante 7-10 dias, verificaram que a *A. hydrophila* e *A. sobria* foram capazes de produzir enterotoxinas e hemolisinas a 5°C, mas nenhuma *A. caviae* produziu os dois fatores. De 30 cepas de *A. hydrophila* testadas, 25 e 27 foram enterotoxigênicas e hemolíticas, respectivamente e, de 24 de *A. sobria*, os valores foram 16 e 18. Segundo os autores, certas espécies de *Aeromonas*, em particular a *A. hydrophila* e a *A. sobria*, apresentaram risco potencial para a saúde pública e carnes estocadas sob temperatura de refrigeração.

De acordo com diversos pesquisadores, *Aeromonas* spp. ocorrem largamente no solo e nas águas de superfície, tendo sido isoladas, em vários países, da água de consumo não clorada (Burke et al. 1984) e da clorada (Le Chevallier et al. 1982). Embora, ultimamente, algumas cepas tenham apresentado resistência à cloração, geralmente as contagens obtidas revelaram-se baixas. Nenhuma amostra de água de consumo analisada na presente investigação mostrou-se positiva. Isto revela a boa qualidade da água consumida em Goiânia em relação à presença de *Aeromonas* spp.

CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos pode-se concluir que:

- espécies de *Aeromonas* podem ser facilmente isoladas de produtos de origem animal em Goiânia-GO, principalmente dos alimentos crus.

- contagens de *Aeromonas* spp. relativamente altas foram observadas em produtos de origem animal crus, o que recomenda especial atenção quanto à higiene da matéria-prima e do processamento, pois a existência de aeromonas pode representar um alerta para a existência de outros patógenos.
- as espécies *A. hydrophila* e *A. sobria* mostraram-se bastante freqüentes em produtos de origem animal, 57,5% e 17,5%, respectivamente. Isto pode constituir-se num risco potencial à saúde do consumidor, pois, de acordo com a literatura, a grande maioria das cepas dessas espécies é enterotoxigênica e hemolítica.
- em relação à presença de *Aeromonas* spp. e nas condições da investigação, a água de consumo, clorada ou não, da cidade de Goiânia-GO pode ser considerada de boa qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beuchat, L. R.** 1991. Behavior of *Aeromonas* species at refrigeration temperatures. *Int. J. Food Microbiol.*, 13: 217-24.
- Burke, V., J. Robinson, M. Gracey, D. Peterson, N. Meyer & V. Haley.** 1984. Isolation of *Aeromonas* spp grown unchlorinated domestic water supply. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48(2): 367-70.
- Condon, S., M.L. Garcia, A. Otero & F.S. Sala.** 1991. Effect of culture age, pre-incubation at low temperature and pH on the thermal resistance of *Aeromonas hydrophila*. *J. Appl. Bacteriol.*, 72: 322-6.
- Freitas, A.C., M.P. Nunes, A.M. Milhomem, & I.D. Ricciardi.** 1993. Occurrence and characterization of *Aeromonas* species in pasteurized milk and white cheese in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Food Prot.*, 56: 62-5.
- Fricker, C.R., S. Tompsett.** 1989. *Aeromonas* spp in foods: a significant cause of food poisoning? *Int. J. Food. Microbiol.*, 9: 17-23.
- Gobat, P.F., T. Jemmi.** 1993. Distribution of mesophilic *Aeromonas* species in raw and ready-to-eat fish and meat products in Switzerland. *Int. Food Microbiol.*, 20: 117-20.
- Hänninen, M.L.** 1993. Occurrence of *Aeromonas* spp in samples of ground meat and chicken. *Int. J. Food Microbiol.*, 18: 339-42.
- Ibrahim, A.; I.C. Mac Rae.** 1991. Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp in red meat and milk samples in Brisbane, Australia. *Int. J. Food Microbiol.*, 12: 263-70.
- Janda, J.M.** 1991. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 4: 397-410.
- Kirov, S.M., M.J. Anderson, T.A. Mc Meekin.** 1990. A note on *Aeromonas* spp from chickens as possible food-borne pathogens. *J. Appl. Bacteriol.*, 68: 327-34.
- Knochel, S., C. Jeppesen,** 1990. Distribution and characteristics of *Aeromonas* in food and drinking water in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.*, 10: 317-22.

- Krovacek, K., A. Faris, S.B. Baloba, M. Peterz, T. Lindberg, I. Mansson. 1992.** Prevalence and characterization of *Aeromonas* spp isolated from foods in Uppsala, Sweden. *Food Microbiol.*, 9: 29-36.
- Le Chevallier, N.W., T.M. Evans, R.J. Seidler, O.P. Daily, B.R. Merrel, D.M. Rollins, S.W. Joseph. 1982.** *Aeromonas sobria* in chlorinated drinking water supplies. *Microbiol. Ecol.*, 8: 325-33.
- Mac Faddin, J.F., 1976.** Biochemical tests for identification of medical bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins, 312p.
- Majjed, K.N., A.F. Egan, I.C. Mac Rae. 1990.** Production of exotoxins by *Aeromonas* spp at 5°C. *J.Appl. Bacteriol.*, 69: 327-32.
- Majjed, K.N., I.C. Mac Rae. 1991.** Experimental evidence for toxin production by *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* in a meat extract at low temperatures. *Int. J. Food Microbiol.*, 12: 182-8.
- Morgan, D.R., P.C. Johnson, H.L. Dupont, T.K. Satterwhite, L.V. Wood. 1985.** Lack of correlation between known virulence properties of *Aeromonas hydrophila* and enteropathogenicity for humans. *Infect. Immun.*, 50: 62-5.
- Morgan, D.R., L.V. Wood. 1988.** Is *Aeromonas* spp a food-borne pathogen? Review of the clinical data. *J. Food Saf.*, 9: 59-72.
- Nishikawa, Y., T. Kishi. 1988.** Isolation and characterization of motile *Aeromonas* from human, food and environmental specimens. *Epidemiol. Infect.*, 101: 213-23.
- Okrend, A.J.G., B.E. Ruse, B. Bennett. 1987.** Incidence and toxigenicity of *Aeromonas* species in retail poultry, beef and pork. *J. Food Prot.*, 50(6): 509-13.
- Palumbo, S.A., M.M. Bencivengo, F. Del Corral, A.C. Williams, R. L. 1989.** Characterization of the *Aeromonas hydrophila* group isolated from retail foods of animal origin. *J. Clin. Microbiol.*, 27(5): 854-9.
- Palumbo, S.A., F. Maximo, A.C. Williams, R.L. Buchanan, J. P. Phillips. 1987.** Thermal resistance of *Aeromonas hydrophila*. *J. Food Prot.*, 50(9): 761-4.
- Pin, C., M.L. Marin, D. Selgas, M.L. Garcia, J. Tormo, C. Casas. 1995.** Differences in production of several extracellular virulence factor in clinical and food *Aeromonas* spp strains. *J. Appl. Bacteriol.*, 78: 175-9.
- Pitarangsi, C. P. Echeverria, R. Whitmire, C. Tirapat, S. Formal, J. G. Dammin, M. Tingtalapong. 1982.** Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: prevalence among individual with and without diarrhea in Thailand. *Infect Immun.*, 35(2): 666-73.
- Saad, S.M.I., S. Timo Iaria, S.M.P. Furlanetto. 1995.** *Aeromonas* spp. in retail vegetables from São Paulo, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 26(1): 22-7.