

OCORRÊNCIA DE *Aeromonas* spp. EM ABATEDOURO BOVINO

MARTINELLI, T.M.^{1*}; CERESER, N.D.¹; CARDOZO, M.V.¹; NESPOLO, N.M.¹;
PINTO, F.R.¹; KAMIMURA, B.A.¹; ROSSI JUNIOR, O.D.¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal/SP- CEP 14884-900.

*e-mail: thaismartineli@yahoo.com

INTRODUÇÃO

O gênero *Aeromonas* compreende espécies consideradas importantes patógenos para os seres humanos causando septicemias primárias e secundárias em pessoas imunocomprometidas, sérias feridas em indivíduos saudáveis e um número de enfermidades pouco relatadas tais como peritonite, meningite e infecções nos olhos, articulações e ossos (ABBOTT et al., 2003). As gastroenterites são as infecções mais comumente atribuídas às aeromonas que provocam desde uma diarreia aquosa moderada, auto-limitante a uma disenteria mais severa, invasiva semelhante àquela decorrente de infecção por *Shigella* (JANDA & DUFFEY, 1988). Segundo KINGOMBE et al. (1999), estudos indicam que *Aeromonas* spp. podem atuar tanto como patógenos infecciosos como enterotoxigênicos. As três aeromonas mesofílicas consideradas mais importantes e causadoras de várias enfermidades em humanos são *A. hydrophila*, *A. veronii* biovar *sobria* e *A. caviae* que correspondem a 85% de todas as espécies clínicas (JANDA, 1991; GAVÍN et al., 2002).

CHALLAPALLI et al. (1988), em um estudo prospectivo de 27 meses conduzido em Chicago, nos Estados Unidos, definiram *Aeromonas* spp. como os únicos enteropatógenos potenciais isolados de crianças (entre um e 27 meses de idade) com diarreia.

No Brasil, em um estudo com a finalidade de isolar espécies de aeromonas produtoras de toxinas, foram analisadas 194 amostras (99 de alimentos e 95 de fontes clínicas). Das amostras clínicas, as porcentagens de cepas toxigênicas, hemolíticas e citotoxigênicas encontradas foram, respectivamente, de 29,4%, 43,1% e 89,0%. Dentre as amostras de alimentos, 18,2% eram enterotoxigênicas, 17,1% eram hemolíticas e 72,7% eram citotoxigênicas, sendo que *A. sobria* e *A. veronii* produziram mais enterotoxinas e citotoxinas do que as demais espécies isoladas (MARTINS et al., 2002).

Ainda, as aeromonas são capazes de produzir várias lecitinas e adesinas que permitem à bactéria aderência a glicoconjugados específicos nas superfícies epiteliais, nos eritrócitos ou na mucina da mucosa gástrica (CHOPRA & HOUSTON, 1999).

A água é uma fonte de contaminação potencial e um veículo de disseminação das cepas de aeromonas. As feridas ocasionadas por estas bactérias ocorrem devido ao contato direto da pele lesionada com a água, enquanto que, as doenças entéricas resultam da ingestão de água não tratada ou alimentos contaminados, particularmente vegetais e carne crua e/ou mal cozida (BAUAB et al., 2003).

Diante do exposto e da importância da carne bovina e seus produtos na alimentação humana, objetivou-se avaliar a ocorrência das bactérias do gênero

Aeromonas em abatedouro bovino destinado à exportação e ao fornecimento interno de carne.

METODOLOGIA

Foram colhidas 15 amostras de 19 pontos de colheita, em dias normais de trabalho, totalizando 285 amostras. Os pontos de colheita incluem: pele seca; superfície da pele úmida das regiões dianteira e traseira; superfície muscular das regiões dianteira e traseira durante a fase de toailete; superfície muscular das regiões dianteira e traseira da carcaça resfriada; superfície das mãos dos manipuladores antes e durante o trabalho; superfície das mãos dos manipuladores da câmara de resfriamento; superfície das facas, da parede da câmara de resfriamento, do piso e ralo da câmara de resfriamento; água sem tratamento (não clorada); água de abastecimento da indústria (clorada); água residuária da lavagem das carcaças; carne pronta para comercialização; conteúdo intestinal e ambiente da sala de abate. As amostras da água dos currais e de abastecimento foram colhidas em frascos de vidro esterilizados contendo 0,4 mL de tiosulfato de sódio em solução a 10%, em quantidade aproximada de 400 mL. As amostras da água de abastecimento foram colhidas em um ponto da sala de abate. As amostras da água residuária da lavagem das meias carcaças foram colhidas em seguida à lavagem das mesmas. As amostras de carne foram colhidas na sala de desossa e, as de conteúdo intestinal, na seção de bucharia e triparia, no momento da abertura do aparelho digestivo. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno. As amostras do ambiente da sala de abate foram tomadas através da exposição de placas de Petri contendo os meios seletivos específicos para o gênero em estudo (ágar dextrina-ampicilina e ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina), que permaneceram abertas por quinze minutos. As demais amostras foram colhidas através de suabes esterilizados, em uma área de 100 cm², que foram colocados em tubos de ensaio contendo quatro mililitros de água peptonada a 0,1%. Para a colheita de material das facas e mãos, foi utilizado um suabe para cada amostra, sendo colhido de toda a superfície da lâmina da faca e espaços interdigitais e palma das mãos. Após a colheita, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo blocos de gelo e encaminhadas ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Unesp, para a realização das análises. No estudo foi realizada a quantificação de forma direta em meio seletivo - ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina - e, após o enriquecimento seletivo em caldo tripticase-soja (TSB) adicionado de ampicilina (30mg/L), foi realizado o plaqueamento em ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina (PALUMBO et al., 1985) e ágar dextrina-ampicilina, segundo HAVELAAR & VONK (1988), adicionados com ampicilina (10 mg/L) e incubadas 28°C por 24h. Destes meios, foram selecionadas entre seis e oito colônias características que, após serem consideradas bastonetes gram negativos foram cultivadas em ágar tríplice-açúcar-ferro (TSI) (SAAD et al., 1995) e submetidas às provas de motilidade, oxidase, catalase e resistência ao agente vibriostático O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) para determinação do gênero. A caracterização das espécies foi realizada seguindo o esquema proposto por POPOFF (1984) e FURUWATARI et al. (1994) complementado com provas adotadas por ABOTT et al. (2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível realizar a quantificação direta e posterior confirmação do gênero em apenas sete amostras, sendo o menor valor populacional de $0,5 \times 10^0$ UFC/cm² para uma amostra da superfície da pele úmida da região dianteira, para uma amostra da superfície muscular da região traseira da carcaça resfriada e para uma amostra da superfície muscular da região traseira durante a fase de toalete e $7,0 \times 10^0$ UFC/mão em uma amostra de mão durante a jornada de trabalho; o maior valor populacional foi de $9,2 \times 10^0$ UFC/cm² para uma amostra da superfície do piso e ralo da câmara de resfriamento, sendo que duas amostras ainda apresentaram $1,2$ e $3,2 \times 10^0$ UFC/cm².

No que se refere às populações de *Aeromonas* spp. encontradas nas amostras analisadas neste estudo, foi possível realizar a contagem destas bactérias a partir da semeadura direta em meio para contagem em um número reduzido de amostras. Embora houvesse uma dificuldade em realizar a contagem das aeromonas na semeadura direta, após o enriquecimento seletivo, ocorreu conseqüente aumento na população bacteriana, facilitando o isolamento das mesmas. A partir de 43 amostras colhidas, 263 cultivos (colônias) foram analisados. Somente não ocorreu o isolamento nas amostras de pele seca, superfície das mãos dos manipuladores antes da jornada de trabalho, superfície das mãos dos manipuladores da câmara de resfriamento, superfície das facas, parede da câmara de resfriamento e água clorada.

Também no Brasil, ROSSI JUNIOR et al. (2006) determinou a população de aeromonas em abatedouro bovino e também apresentou um número reduzido de amostras em que foi possível realizar a contagem populacional destas bactérias. Nas amostras de pele úmida da região traseira, este autor encontrou população variando entre $0,2 \times 10$ e $1,5 \times 10^2$ UFC/cm², sendo estes valores superiores ao encontrado na mesma região para o atual trabalho. Em relação à contagem de aeromonas na superfície muscular durante a fase de toalete das carcaças, esses autores encontraram população um pouco inferior e superior que do presente estudo, entre $0,2 \times 10^0$ e $3,0 \times 10^2$ UFC/cm² na superfície muscular da região dianteira de duas carcaças. Para o resultado encontrado na superfície muscular da carcaça resfriada, apesar de ser um valor muito pequeno, é importante ressaltar a característica psicrotrófica de algumas espécies de aeromonas, o que permite que esta população possa se elevar durante o armazenamento até o momento do consumo da carne.

Dentre as amostras de mão colhidas durante a jornada de trabalho, sete (46,7%) permitiram o isolamento da bactéria. Diferentemente, o trabalho de ROSSI JUNIOR et al. (2000) encontrou aeromonas em duas (6,7%) das mãos antes do início das atividades no abatedouro e em sete (23,3%) das amostras durante as atividades, sendo este, um valor inferior ao encontrado no presente estudo. Este fato indica a possibilidade de os manipuladores constituírem-se em fonte de contaminação da carne bovina durante o processo de abate, sugerindo a adoção de melhoria nas condições higiênico-sanitárias do estabelecimento.

Para a contagem de aeromonas a partir da superfície do piso e ralo da câmara de resfriamento, muito embora, nenhuma amostra de superfície de parede estava contaminada por aeromonas, a presença destas bactérias na superfície de piso e ralo adquire importância no momento da higienização da câmara, pois é realizada utilizando-se água sob alta pressão. Este fator é

importante porque pode ocasionar a transferência da bactéria do piso para as paredes da câmara onde, dependendo da localização, consiste em um ponto de contato da carcaça no momento em que são encaminhadas para esta sala.

Quanto à presença de aeromonas nas amostras de água, muito embora a mesma seja considerada habitat natural destas bactérias, somente duas amostras de água não clorada apresentaram tais microrganismos. Este fato evidencia um provável número muito reduzido destes microrganismos ou ausência dos mesmos nesta água, que é proveniente de um poço artesiano. Este resultado pode ser corroborado pelo trabalho de MASSA et al. (2001), na Itália, que pesquisaram a ocorrência de *Aeromonas* spp. em água de poços e a isolaram em apenas cinco dentre os 20 poços testados.

Em relação à determinação das espécies, dentre os 263 cultivos selecionados, foi possível caracterizar 43 (93,4%) cultivos de *A. caviae*, um (2,2%) de *A. schubertii*, um (2,2%) de *A. trota* e um (2,2%) de *A. sobria*. O cultivo considerado *A. sobria* pertence a um dos cultivos da amostra de superfície muscular durante a fase de toalete das carcaças; o cultivo considerado *A. schubertii* pertence a um dos cultivos provenientes de uma amostra de água residuária da lavagem das carcaças e o cultivo de *A. trota* é proveniente de um dos cultivos de uma amostra de água sem tratamento. Os cultivos de *A. caviae* pertencem aos demais tipos de amostras.

ROSSI JUNIOR et al. (2006) analisaram 30 amostras de diversos pontos de um abatedouro bovino e isolou *A. hydrophila* (3,3%) de amostras de água não clorada, mãos antes e durante a jornada de trabalho, pele úmida da região dianteira, superfície muscular de dianteiro e traseiro, água residuária da lavagem das carcaças, carne desossada e conteúdo intestinal; *A. caviae* (21,8%) foi isolada de todas estas amostras, mas também superfície úmida da pele do traseiro, superfície de facas e ambiente da sala de matança; e aeromonas atípicas (13%) foram isoladas nos mesmos locais de *A. caviae*, exceto água residuária da lavagem das carcaças e ambiente da sala de abate. Assim como no presente estudo, a maioria das amostras deste autor pertence à espécie de *A. caviae* que, apesar de não apresentar a virulência de *A. hydrophila*, é considerada uma das mais patogênicas do gênero *Aeromonas*.

CONCLUSÕES

O isolamento de *A. caviae* na maioria das amostras é importante sob o ponto de vista da saúde do consumidor, pois esta é considerada em uma das espécies mais patogênicas dentro do gênero *Aeromonas*. Ainda, o fato de ter sido isolada, principalmente, nas amostras de carne e/ou superfície muscular elevam a necessidade de melhores condições higiênico-sanitárias dentro da indústria, uma vez que foram isoladas das mãos dos funcionários da sala de abate, e estes podem atuar na contaminação das carcaças.

BIBLIOGRAFIA

ABBOTT, S. L.; CHEUNG, W. K. W.; JANDA, J. M. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 6, p. 2348-2357, 2003.

BAUAB, T. M.; LEVY, C. E.; RODRIGUES, J.; FALCÃO, D. P. Niche-specific association of *Aeromonas* ribotypes from human and environmental origin. **Microbiology Immunology**, Tokyo, v. 47, n. 1, p. 1-16, 2003.

CHALLAPALLI, M.; TESS, B. R.; CUNNINGHAM, D. G.; CHOPRA, A. K.; HOUSTON, C. W. *Aeromonas* associated diarrhea in children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Baltimore, v. 7, p. 693-698, 1988.

CHOPRA, A. K.; HOUSTON, C. W. Enterotoxins in *Aeromonas*-associated gastroenteritis. **Microbes and Infection**, Paris, v. 1, p. 1129-1137, 1999.

FURUWATARI, C.; KAWAKAMI, Y.; AKAHANE, T.; HIDAKA, E.; OKIMURA, Y.; NAKAYAMA, J.; FURIHATA, K.; KATSUYAMA, T. Proposal for an Aeroschem (modified Aerokey II) for the identification of clinical *Aeromonas* species. **Medical Science Research**, v.22, p. 617-619, 1994.

GAVÍN, R.; RABAAN, A. A.; MERINO, S.; TOMÁS, J. M.; GRYLLOS, I.; SHAW, J. G. Lateral flagella of *Aeromonas* species are essential for epithelial cell adherence and biofilm formation. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 43, n. 2, p. 383-397, 2002.

HAVELAAR, A. H.; VONK, M. The preparation of ampicillin dextrin agar for the enumeration of *Aeromonas* in water. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 7, p. 169-171, 1988.

JANDA, J. M. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 4, n. 4, p. 397-410, 1991.

JANDA, J. M.; DUFFEY, P. S. Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification, and infectious disease spectrum. **Review of Infectious Diseases**, Washington, v. 10, p. 980-997, 1988.

KINGOMBE, C. I. B.; HUYS, G.; TONOLLA, M.; ALBERT, J. M.; SWINGS, J.; PEDUZZI, R.; JEMMI, T. PCR detection, characterization, and distribution of virulence genes in *Aeromonas* spp **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, p. 5293-5302, 1999.

MARTINS, L. M.; MARQUEZ, R. F.; YANO, T. Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 32, p. 237-242, 2002.

MASSA, S.; ALTIERI, C.; D' ANGELA, A. The occurrence of *Aeromonas* spp. in natural water and well water. **International Journal of Food Microbiology**, v.63, p.169-173, 2001.

PALUMBO, S. A.; MAXINO, F.; WILLIAMS, A. C.; BUCHANAN, R. L.; THAYER, D. W. Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, p. 1027-1030, 1985.

POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyver and Van Niel. In: DRIEG, N. R. (Ed.). **Bergey's Manual of systematic bacteriology**. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1984. p. 545-548.

SAAD, S. M. I.; IARIA, S. T.; FURLANETTO, S. M. P. Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 22-27, 1995.

ROSSI JÚNIOR, O. D.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A. Bactérias do gênero *Aeromonas* em água de matadouro bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 549-553, 2000.

ROSSI JUNIOR, O. D.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A. Bacteria of the genus *Aeromonas* in different locations throughout the process line of beef slaughtering. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 101, n. 557-558, p. 125-129, 2006.