

# OCORRÊNCIA DE *Aeromonas* spp. EM SALMÃO (*Salmo salar*) COMERCIALIZADO EM SUPERMERCADOS DE ALGUMAS CIDADES DA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO-SP

NESPOLO, N. M.<sup>1</sup>; MARTINELI, T. M.<sup>1\*</sup>; ROSSI JR., O. D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento 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: natinespolo@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

A atividade da pesca sempre foi utilizada pelo homem para seu sustento e de sua família. Globalmente, milhões de toneladas de frutos do mar são capturados e consumidos por ano. Nos Estados Unidos, o consumo per capita passou de 4,5 kg no ano de 1960 para 7 kg em 2002 (BUTT et al. 2004). No Brasil, apenas 10% da população inclui pescados em sua alimentação. Entretanto, por ser considerado fonte de proteínas de alto valor biológico e ácidos graxos poliinsaturados, ocorreu um aumento da procura por este produto nos últimos anos (SOUZA, 2003; YUAN et al. 2001).

Por sua vez, a composição protéica do pescado e seu alto teor de umidade são excelentes para o desenvolvimento microbiano, sendo os alimentos passíveis de contaminação por microrganismos patogênicos, que podem levar ao desenvolvimento de doenças, afetando a saúde humana. Os peixes podem ser transmissores de vários microrganismos, entre eles *Aeromonas* sp., que pode ser encontrada no solo, água doce e salgada, água clorada e fezes de animais (SOUZA, 2003).

As *Aeromonas* spp. possuem vários fatores de virulência que justificam sua ameaça como patógeno humano, pois são causadoras de diarreia, infecções extraintestinais, e em imunocomprometidos, septicemia, meningite e óbito (YAMADA et al. 1997). Ainda, foram identificadas como agentes deteriorantes de carne crua, de salmão cru embalado a vácuo ou em atmosferas modificadas e de peixes provenientes de águas tropicais (FAO, 2008).

HOZBOR et al. (2006) pesquisaram mudanças na microbiologia do salmão cru (*Pseudoperca semifasciata*) e a correlação com o índice de qualidade durante sua estocagem em gelo, e relataram presença de *Aeromonas* spp. no músculo do salmão, como seu alto potencial de deterioração do pescado.

Na Alemanha, um estudo com 84 amostras de pescado, incluindo salmão, isolou 134 cepas de *Aeromonas* spp. Dessas, 67,9% eram *Aeromonas hydrophila*, 26,1% *Aeromonas caviae* e 6,0% *Aeromonas sobria* (ULLMANN et al. 2005).

Na análise de 86 mexilhões, no Rio de Janeiro, foram encontradas *Aeromonas* spp. na seguinte proporção: *Aeromonas media* (37,10%), *Aeromonas hydrophila* (15,50%), *Aeromonas caviae* (14,80%), *Aeromonas sobria* (4,20%), *Aeromonas trota* (4,20%), *Aeromonas schubertii* (1,31%) e *Aeromonas jandaei* (1,31%) (PEREIRA et al. 2004).

*Aeromonas* spp. também foi encontrada em ostras na costa da Turquia; de 127 amostras, 84 carregavam a bactéria (COLAKOGLU et al. 2006).

O hábito de consumir peixes crus vem aumentando gradativamente, principalmente sob a forma de *sushi* e *sashimi*, conseqüentemente, a preocupação com a qualidade higiênico-sanitária deste alimento também se eleva (SATO et al. 2005).

Neste contexto, torna-se imprescindível o controle de qualidade cada vez mais rigoroso na produção e manipulação dos pescados, de forma a garantir ao consumidor um produto de boa qualidade microbiológica.

## **OBJETIVOS**

Diante do exposto, o presente trabalho visa estabelecer a ocorrência de *Aeromonas* spp. em salmão (*Salmo salar*) comercializado em supermercados da região de Ribeirão Preto, SP, bem como avaliar o perigo de veiculação desta bactéria através da carne de salmão, verificar o efeito da temperatura sobre o microrganismo nas amostras resfriadas e congeladas e fornecer subsídios técnicos para atualização da legislação de pescado brasileira, no sentido de incorporar este gênero de bactérias dentre aqueles que devem ser controlados e pesquisados na avaliação das características higiênico-sanitárias do pescado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram analisadas 31 amostras de salmão de 500 gramas, sendo 16 refrigeradas e 15 congeladas, adquiridas no comércio varejista, acondicionadas em bandejas de isopor envolta por filme plástico. As mesmas foram acondicionadas em caixas isotérmicas sob 4 °C e encaminhadas para análise ao laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da FCAV/Unesp.

Foi realizado enriquecimento seletivo das amostras em caldo tripticase-soja (TSB) adicionado de ampicilina (30 mg/L) após a homogeneização em aparelho Stomacher, de 25 gramas da amostra com 225 mL do referido caldo. Estas culturas foram semeadas em placas contendo ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina (PALUMBO et al. 1985; MAJEED et al. 1990) e ágar dextrina-ampicilina, segundo HAVELAAR & VONK (1988), adicionadas com ampicilina (10mg/L) e incubadas (28°C por 24 h).

Para isolamento das colônias e identificação presuntiva do gênero, foram tomadas até cinco colônias (amareladas circundadas por halo transparente) das culturas obtidas do plaqueamento seletivo, para cada um dos meios utilizados. Estas colônias foram semeadas em ágar tripticase-soja (TSA) inclinado e incubadas (28°C por 24 h). Após a incubação, foi realizada coloração pelo método de Gram e as culturas na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas foram repicadas em ágar tríplice-açúcar-ferro (TSI) (SAAD et al. 1995). Após incubação (28°C por 24 h), as culturas positivas foram submetidas às provas de motilidade, oxidase, catalase e resistência ao agente vibriostático O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) para caracterização do gênero (POPOFF, 1984), HAVELAAR et al. (1987) e HUDSON & LACY (1991).

A caracterização das espécies foi realizada seguindo o esquema proposto por POPOFF (1984) e FURUWATARI et al. (1994) complementado com provas adotadas por ABBOTT et al. (2003) que consiste na realização dos seguintes testes: produção do indol; hidrólise da esculina e da arginina; descarboxilação da lisina e da ornitina; fermentação do inositol, da salicina, da sacarose, do manitol e

da arabinose; produção de acetoina a partir da glicose (VP); produção de gás a partir da glicose; crescimento em caldo nutriente a 37°C com 0%, 3% e 6% de cloreto de sódio e redução do nitrato. As provas bioquímicas para caracterização das espécies foram realizadas seguindo metodologia de Mac FADDIN (1976).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 31 amostras de salmão, 13 (42%) foram positivas para *Aeromonas* spp. (figura 1), resultado semelhante ao obtido por JEYASEKARAN et al. (2006) que foi de 38%, ao estudarem a qualidade bacteriológica de camarões brancos (*Penaeus indicus*) na Índia.

Amostras refrigeradas atingiram um percentual de 32,3%, enquanto que amostras congeladas 9,7%, mostrando a importância de manter o produto estocado em temperatura adequada. BOARI et al. (2007) pesquisaram efeitos do congelamento lento e armazenamento em congeladores domésticos sobre a microbiota de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Estes autores constataram uma redução das contagens de *Aeromonas* spp. em um período de 30 dias e ainda, associaram a presença da bactéria com a deterioração do pescado mantido à temperatura ambiente, comprometendo a vida-de-prateleira do produto.

Na caracterização das espécies das 31 amostras do presente estudo, a de maior prevalência foi *Aeromonas caviae* (38,7%), seguida de *Aeromonas sobria* (6,45%) e *Aeromonas trota* (3,22%). Das 16 amostras resfriadas, foram identificadas 29% de *Aeromonas caviae*, 6,45% de *Aeromonas sobria* e 3,2% de *Aeromonas trota*, enquanto que nas amostras congeladas apenas a espécie *Aeromonas caviae* foi caracterizada em três (9,7%) das 15 amostras (figura 2).

Resultados inferiores a estes foram encontrados por OTTAVIANI et al. (2006) no relato da ocorrência e caracterização de *Aeromonas* sp. em ostras colhidas do mar Adriático, sendo que 32 (22,2%) das 144 amostras analisadas eram positivas para *Aeromonas* spp. e 6,2% identificadas como *Aeromonas caviae*.

PEREIRA et al. (2004) pesquisaram *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de 86 mexilhões (*Perna perna*) “in natura” e pré cozidos em Niterói (RJ), e obtiveram resultados superiores apenas para espécie *Aeromonas trota* (4,2%), encontrando ainda, 7,36% de *Aeromonas* sp., 14,8% de *Aeromonas caviae* e 4,2% de *Aeromonas sobria* no total de amostras. Já em mexilhões in natura, quando comparados às amostras refrigeradas, obtiveram resultados inferiores, sendo 4,73% de *Aeromonas* sp., 5,8% de *Aeromonas caviae*, 2,63% de *Aeromonas trota* e 2,4% *Aeromonas sobria*.

ULLMANN et al. 2005 encontraram resultados semelhantes para *Aeromonas sobria* (6,0%), porém encontraram maior porcentagem de *Aeromonas caviae* (26,1%) em 84 amostras de pescado resfriados e defumados na Alemanha.

Na Malásia, um estudo de prevalência de *Aeromonas* spp., mostrou a presença da bactéria em 69% de 87 amostras de cinco tipos de peixes obtidos em mercados, sendo 3,3% de *Aeromonas caviae* (RADU et al. 2003), resultados superiores e inferiores, respectivamente, aos obtidos neste projeto.

Figura 1 – Porcentagem de *Aeromonas* spp. encontrada no total de amostras.

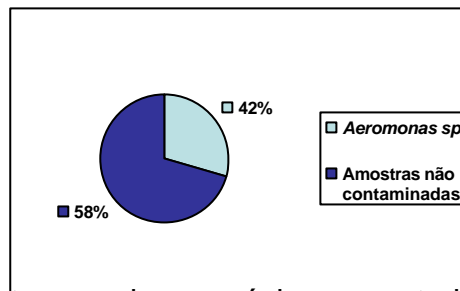
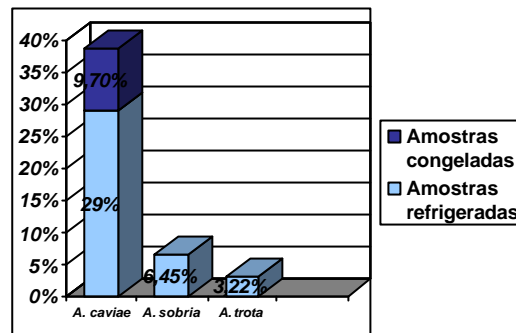


Figura 2 – Porcentagem das espécies caracterizadas em amostras refrigeradas e congeladas.



## CONCLUSÕES

Por se tratar de bactéria causadora de infecções gastroentéricas e extraintestinais, a detecção de *Aeromonas* spp. em carne de salmão, produto em franca expansão de consumo, principalmente cru, pode ser considerada fator de risco para saúde do consumidor. O isolamento de *Aeromonas* spp. em amostras tanto congeladas quanto refrigeradas é alarmante, visto que algumas espécies, como *Aeromonas caviae*, são importantes agentes patogênicos.

Por meio da pesquisa realizada, pode-se concluir que a captura, processamento, estocagem em temperatura adequada, manipulação correta do produto e tempo de preparação do prato até o consumidor são pontos essenciais para se controlar a contaminação da carne, enfatizando assim, a importância das baixas temperaturas na conservação do produto.

Portanto, espera-se que os dados obtidos no presente trabalho possam contribuir significativamente para os serviços de saúde pública, assim como para uma mudança nas diretrizes que permeiam a legislação de pescado, de forma a incorporar as principais espécies de aeromonas dentre as bactérias presentes na avaliação das características higiênico-sanitárias do pescado.

## REFERÊNCIAS

ABOTT, 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.

BOARI, C. A.; MORAES, V. M.; FERRUA, F. Q.; PICCOLI, R. H. Efeitos do congelamento lento e armazenamento em congeladores domésticos, sobre a microbiota associada a filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n.153, p. 97-101, 2007.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDERS, C. V. Infections related to the ingestion of seafood. Part I: viral and bacterial infections. **The Lancet Infectious Diseases**, Baltimore, v.4, n.4, p.201-212, 2004.

COLAKOGLU, F. A.; SARMAŞIK, A.; KOŞEOGLU, B. Occurrence of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. in shellfish harvested off Dardanelles coast of Turkey. **Food Control**, v.17, n.8, p.648-652, 2006.

FAO. Food and agriculture organization of the United Nation: 2004, Rome. **Aspectos da qualidade associados ao pescado**. Disponível em: <[www.fao.org/DOCREP/003/T1768P03/T1768P03.htm](http://www.fao.org/DOCREP/003/T1768P03/T1768P03.htm)>. Acesso em: 15 agost. 2008.

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

HAVELAAR, A. H.; DURING, M.; VERSTEEGH, J. F. M. Ampicillin-dextrin agar medium for the enumeration of *Aeromonas* species in water by membrane filtration. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.62, p.279-287, 1987.

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.

HOZBOR, M. C.; SAIZ, A. I.; YEANNES, M. I.; FRITZ, R. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). **LWT-Food Science and Technology**, London, v. 39, n. 2, p. 99-104, 2006.

HUDSON, J. A.; LACY, K. M. Incidence of motile Aeromonads in New Zealand retail in foods. **Journal of Food Protection**, Ames, v.54, n.9, p.696-699, 1991.

JEYASEKARAN, G.; GANESAN, P.; ANANDARAJ, R.; JEYA SHAKILA, R.; SUKUMAR, D. Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. **Food Microbiology**, London, v.23, n. 6, p. 526-533, 2006.

Mac FADDIN, J. F. **Biochemical tests fro identification of medical bacteria**. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1976, 312p.

MAJEED, K. N.; EGAN, A. F.; Mac RAE, I. C. Production of exotoxins by *Aeromonas* spp at 5°C. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.69, n.3, p.332-337, 1990.

OTTAVIANI, D.; SANTARELLI, S.; BACCHIOCCHI, S.; MASINI, L.; GHITTINO, C.; BACCHIOCCHI, I. Occurrence and characyerization of *Aeromonas* spp. In mussels from the Adriatic sea. **Food Microbiology**, London, v.23, n.5, p.418-422, 2006.

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, n.4, p. 1027-1030, 1985.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* isoladas a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos no Rio de Janeiro, RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p. 562-566, 2004.

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.

RADU, S.; AHMAD, N.; LING, F. H.; REEZAL, A. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.81, n.3, p. 261-266, 2003.

RODRIGUES, M. S. M.; RODRIGUES, L. B.; CARMO, J. L.; JUNIOR, W. B. A.; PATEZ, C. **Aproveitamento integral do pescado com ênfase na higiene, manuseio, cortes, salga e defumação**. In: Congresso Brasileiro de extensão universitária, 2, 2004, Belo Horizonte. Disponível em: <[www.ufmg.br/congrent/Tecno/Tecno.7.pdf](http://www.ufmg.br/congrent/Tecno/Tecno.7.pdf)>. Acesso em: 7 dez. 2006.

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.

SATO, N. H.; USUI, K.; KOBAYASHI, T.; IMADA, C.; WATANABE, E. Quality assurance of raw fish base don HACCP concept. **Food Control**, Guildford, v.16, n.4, p.301-307, 2005.

SOUZA, A. T. S. Certificação da qualidade de pescados. **Biológico**, São Paulo, v.65, n.1, p.11-13, 2003.

ULLMANN, D.; KRAUSE, G.; KNABER, D.; WEBER, H.; BEUTIN, L. Isolation and characterization of potentially human pathogenic, cytotoxin producing *Aeromonas* strains from retailed seafood in Berlin, Germany. **Journal of Veterinary Medicine**, Hamburg, v. 52, n. 2, p. 82-87, 2005.

YAMADA, S.; MATSUSHITA, S.; DEJSIRILERT, S.; KUDOH, Y. Incidence and clinical symptoms of *Aeromonas* associated traveller's diarrhea in Tokyo. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.119, n.2, p.121-126, 1997.

YUAN, J. M.; ROSS, R. K. R.; GAO, Y. T.; YU, M. C. Fish and shellfish consumption in relation to death from myocardial infarction among men in Shanghai, China. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 154, n. 9, p. 809-816, 2001.