



## ASSOCIAÇÃO ENTRE O ISOLAMENTO DE *AEROMONAS* SPP. EM ÁGUA E LEITE CRU

CERESER, Natacha Deboni<sup>1</sup>; ROSSI JÚNIOR, Oswaldo Durival<sup>2</sup>; NOSKOSKI, Ludmila<sup>3</sup>; CAMERA, Leticia<sup>4</sup>;  
BOHRZ, Daniela Ávila da Silva<sup>5</sup>

Palavras-chave: Boas Práticas de Produção. Propriedades Rurais

### Introdução

A qualidade microbiológica é um dos principais indicadores da qualidade da água utilizada na propriedade leiteira. Segundo Amaral et al. (2006), pode-se afirmar que na cadeia de produção de leite, a qualidade da água utilizada na lavagem dos tetos e dos equipamentos é importante e podem influenciar na qualidade final do leite produzido. Dentre os micro-organismos presentes na água, destacam-se os de natureza exógena como os oriundos de matéria fecal, que incluem os coliformes totais, coliformes fecais e os enterococos, e os autóctones, que compreendem diversas espécies e fazem parte da microbiota natural da água. Entre elas, as bactérias móveis do gênero *Aeromonas* são consideradas as mais importantes.

Diferentes estudos têm demonstrado a presença de espécies de *Aeromonas* spp. em alimentos de origem animal, vegetal e também nas águas cloradas e não cloradas (CARNEIRO & ROSSI JÚNIOR, 2006; MARTINELI et al. 2011). Muitos destes isolados produzem fatores de virulência como enterotoxinas, citotoxinas, hemolisinas e têm capacidade para se aderir e invadir células epiteliais. Assim, alimentos e água contaminados são reconhecidos como importantes veículos na transmissão destes micro-organismos, estando constantemente envolvidos em casos de gastroenterite ou mesmo de doenças mais graves (KIROV, 1993).

Estudos têm comprovado que a *Aeromonas* spp. pode atuar como organismo infeccioso ou enterotoxigênico, resultando em sérias consequências para o ser humano, sendo considerado um agente emergente de origem alimentar (IGBINOSE et al., 2012). O gênero tem sido identificado como causador de diferentes infecções, sendo as gastroenterites as mais comuns. *A. hydrophila*, *A. caviae* and *A. veronii* biovar sobria são as espécies mais frequentemente isoladas (PARKER & SHAW, 2011). Além de provocar patologias em seres humanos e animais, trata-se também de um importante deteriorante contribuindo para a

<sup>1</sup>Professora Adjunta, Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Capão do Leão, Pr. 34, Pelotas, RS, CEP: 96010-900. [natachacereser@yahoo.com.br](mailto:natachacereser@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Professor Adjunto da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP/JABOTICABAL)

<sup>3</sup>Professora Assistente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ)

<sup>4</sup>Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ)

<sup>5</sup>Médica Veterinária, Prefeitura Municipal de Quinze de Novembro



diminuição da vida de prateleira de diferentes alimentos (carne, leite, ovos, frutos do mar e alimentos cozidos) mesmo quando mantidos sob refrigeração (KIROV, 1993).

Entretanto, apesar da sua importância como agente de doença de origem alimentar, muito pouco se conhece sobre o significado dessa bactéria em alimentos, principalmente sobre as fontes de contaminação e sua disseminação durante a produção, especialmente para o leite e seus derivados. Diante disso, idealizou-se o presente estudo, que teve por objetivo verificar a presença, e as populações de *Aeromonas* spp. na água e no leite cru, durante a sua obtenção em uma propriedade rural.

### Metodologia

A rotina de ordenha de uma pequena propriedade localizada na Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, que tem a venda de leite refrigerado para industrialização como principal atividade, foi acompanhada durante cinco visitas, realizadas a cada 15 dias. Oportunidades em que foram coletadas um total de cinco amostras de água e cinco amostras de leite cru.

A propriedade faz uso de água não clorada, oriunda de um poço raso localizado no próprio estabelecimento. As amostras de água foram colhidas com os devidos cuidados de assepsia, diretamente nas torneiras no interior do estabelecimento, utilizadas para as diferentes atividades de produção e higienização. O material foi depositado em frascos de vidro esterilizado, em quantidade aproximada de 400 mL. Amostras de leite cru foram colhidas, de forma asséptica, diretamente do tanque de refrigeração, imediatamente após a ordenha. Sendo todo material depositado em caixas isotérmicas com gelo e transportadas até o Laboratório de Microbiologia, da Unidade de Ibirubá da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Para o isolamento de bactérias do gênero *Aeromonas* foi realizado inicialmente enriquecimento seletivo em caldo tripticase-soja (TSB) adicionado de ampicilina<sup>2</sup> na concentração de 30 mg por litro. As amostras de água foram filtradas em membrana de éster de celulose<sup>3</sup> de 47 milímetros de diâmetro e poros 0,45 micrômetros. Essas membranas, após serem picadas, foram depositadas em frascos tipo Erlenmeyer contendo 100 mL de TSB adicionado de ampicilina. As amostras de leite cru, na quantidade de 10 mL, foram enriquecidas com 90 mL do TSB acrescido de ampicilina. Após incubação do caldo de enriquecimento seletivo a 28°C por 24 horas em incubadora para BOD, foi realizado, nas mesmas condições de incubação, o plaqueamento seletivo em ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina) e ágar dextrina-ampicilina. Nos dois casos a ampicilina foi adicionada, após a esterilização, na concentração de 10 mg por

---

<sup>2</sup> Sigma - A9393

<sup>3</sup> Swinnex Disc Filter - Millipore



litro (ABEYTA JUNIOR et al., 1990). As culturas isoladas foram submetidas às provas bioquímicas para identificação das espécies, seguindo o esquema de caracterização adotado por (POPOFF, 1984).

### Resultados e Discussão

Na Tabela 1 estão demonstrados os resultados obtidos, quanto ao percentual de amostras positivas e populações para o gênero *Aeromonas* spp., bem como, as espécies isoladas.

Tabela1- Espécies e populações de *Aeromonas* spp. isoladas em amostras colhidas durante a obtenção de leite cru refrigerando, em uma propriedade localizada na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

Origem	Amostras Analisadas	Amostras Positivas (%)	População Média	Espécies Isoladas
Água	05	03 (60%)	7,3x10 <sup>4</sup> UFC/mL	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. caviae</i>
Leite Cru	05	03 (60%)	2,2x10 <sup>4</sup> UFC/mL	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. caviae</i> , <i>A. veronii</i>

A água utilizada na propriedade rural foi positiva para o gênero. Das cinco amostras, três (60,0%) estavam contaminadas. Em uma das amostras foram isoladas as espécies *A. hydrophila* e *A. caviae* concomitantemente. Isolou-se somente a *A. hydrophila* em uma segunda amostra e na terceira amostra positiva foi isolada a *A. caviae*. Confirma-se com este resultado, que diferentes espécies de *Aeromonas* são capazes de se multiplicar em sistemas de distribuição de água, atuando como fonte de contaminação.

Estudos têm demonstrado que a água não tratada é uma importante fonte de contaminação do gênero *Aeromonas*. Amaral et al. (2006) destacam a água como veículo de transmissão deste patógeno para o leite. Os autores isolaram o agente em 70,0% e 30,0% de amostras de água não clorada utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo, nos períodos de chuva e estiagem respectivamente. Quase 50,0% das amostras de água não tratada analisadas por Ghenghesch et al. (2001) foram positivas para o gênero *Aeromonas*, sendo 59,0% *A. hydrophila*, 27,0% *A. caviae*, 11,0% *A. sobria* e 3,0% foram consideradas atípicas. Da mesma forma para Massa, Altieri & D'Angela (2001), cinco das 20 amostras de água de poço não clorada, foram positivas para *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. sobria*.

Ressalta-se ainda o risco à saúde pública representada pela água de abastecimento utilizada pela propriedade avaliada, considerando a *Aeromonas* spp. como importante agente de gastroenterites e demais enfermidades e destacando seu potencial enterotoxigênico e



hemolítico. Nesse sentido, BURKE et al. (1984), isolaram *Aeromonas* de pacientes com diarreia e de amostras de água clorada e não clorada, na Austrália. Os autores verificaram que 91,0% dos isolados de diarreia, 70,0% dos isolados de água de abastecimento e 64,0% dos de água não clorada eram enterotoxigênicos e hemolíticos.

Das cinco amostras de leite cru analisadas, três (60,0%) foram positivas para *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii*. O leite cru parece estar frequentemente contaminado com micro-organismos do gênero *Aeromonas*. Fato que pode ser explicado por diferentes fatores, entre eles, pela sua presença na água. Atingindo facilmente o leite, durante sua obtenção ou armazenamento. Deve ser considerado ainda, o fato de a conservação pelo frio permitir o aumento da população do agente, visto a sua capacidade de multiplicação sob refrigeração (KIROV, 1993).

Resultados semelhantes aos obtidos nesta pesquisa são apresentados por outros autores. Carneiro & Rossi Júnior (2006) verificaram os possíveis pontos de contaminação e disseminação de *Aeromonas* spp. no fluxograma de beneficiamento em uma granja de Leite Tipo A no Estado de São Paulo e encontraram 90,0% de amostras positivas para o gênero no leite cru. No mesmo Estado, Amaral et al. (2006) obtiveram 85,0% e 55,0% de amostras positivas para *Aeromonas* em períodos de chuva e estiagem, respectivamente. Em estudo realizado na Austrália, KIROV (1993) afirmaram que a ocorrência deste gênero é comum em leite cru, ao encontrarem 60,0% (43/72) de amostras positivas.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a água utilizada nas propriedades leiteiras pode constituir-se um fator de risco para a saúde dos seres humanos que utilizam essa água para consumo ou na produção do leite, ficando confirmada a importância da qualidade da água na indústria de laticínios. Porém, embora seja evidente o papel que a água exerce sobre a contaminação do leite, poucos produtores e indústrias de laticínios têm monitorado a sua qualidade.

### **Conclusão**

Com base nos resultados obtidos, associados aos dados da literatura pesquisada, sugere-se que a água pode ser uma importante fonte de contaminação e disseminação da *Aeromonas* spp. para o leite cru durante seu processo de obtenção. Representando também, um risco para saúde das pessoas que consomem esta água diariamente na propriedade. Considerando a natureza psicrotrófica do agente, o seu papel como patógeno emergente de origem alimentar, e ainda a sua capacidade de produzir fatores de virulência durante a armazenagem, a sua presença no leite refrigerado deverá ser avaliada pela indústria.



## Referências

- ABEYTA JÚNIOR, C. et al. Incidence of motile aeromonas from United States west coast shellfish growing estuaries. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 10, p. 849-855, 1990.
- AMARAL, L. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADER, A. F.; BARROS, L. S. S.; SILVARES, P. M. Água utilizada em propriedades rurais para o consumo humano e na produção de leite como veículo de bactérias do gênero *Aeromonas*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, n. 557-558, p. 103-107, 2006.
- BURKE, V.; ROBINSON, J.; GRACEY, M.; PETERSON, D.; MEYER, D.; HALEY, V. Isolation of *Aeromonas spp.* from an unchlorinated domestic water supply. **Applied Environmental Microbiology**, v. 48, p. 367-370, 1984.
- CARNEIRO, M. S.; ROSSI JUNIOR, O. D. Bactérias do gênero *Aeromonas* no fluxograma de beneficiamento do leite tipo A e seu comportamento frente à ação de antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 271-276, 2006.
- GHENGHESCH, K. S. et al. Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of *Aeromonas* in untreated well water. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 2, p. 169-173, 2001
- IGBINOSA, I. H.; IGUMBOR, E. U.; AGHDASI, F.; TOM, M.; OKOH, A. A. I. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health. **The Scientific World Journal**, p. 1-13, 2012.
- KIROV, S. M. The public health significance of *Aeromonas sp.* in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 179-198, 1993.
- MARTINELLI, T. M.; ROSSI JUNIOR, O. D.; CERESER, N. D.; CARDOZO, M. C.; KAMIMURA, B. A.; MELP, P. C.; NESPOLO, N. M. Estudo epidemiológico das *Aeromonas spp.*, através de REP e ERIC-PCR, em abatedouro bovino. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 485-491, 2011.
- MASSA, S., ALTIERI, C. D'ANGELA, A. The occurrence of *Aeromonas spp.* in natural mineral water and well water. **International Journal of Food Microbiology**, v. 63, p. 169-173, 2001.
- PARKER, J. L.; SHAW, J. G. *Aeromonas spp.* clinical microbiology and disease. **Journal of Infection**, v. 62, p. 109-118, 2011.
- POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyver and Van Niel. In: NOEL R. DRIEG (Ed.), **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. v. 1, p. 545-548.