

FONTES DE CONTAMINAÇÃO E DISSEMINAÇÃO DE *AEROMONAS* SPP. DURANTE A PRODUÇÃO DE LEITE

LARISSA DA SILVA PEREIRA DOMINGUES¹; LAUREN MACHADO
MOREIRA¹; ALANA BORGES TAVARES²; HELENICE DE LIMA GONZALEZ³;
CLÁUDIO DIAS TIMM³; NATACHA DEBONI CERESER⁴

¹Aluna do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Bolsista PIBIP-UFPEL
domingueslarissa@hotmail.com

¹ Aluna do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

²Aluna do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas-
UFPEL.

³Professor do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da
Universidade Federal de Pelotas - UFPEL.

⁴ Orientadora: Professora do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade
de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas – UFPEL – natachacereser@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Aeromonas spp. é um gênero de bactérias mesófilas com capacidade de multiplicação em temperatura de refrigeração, produtoras de enterotoxinas, citotoxinas e hemolisinas, sendo estes fatores de virulência que fazem-nas serem reconhecidas como patógenos emergentes em humanos e animais.

A biodiversidade de habitats onde estes agentes patogênicos têm sido isolados, e o crescente número de infecções associadas a este gênero nas últimas décadas, tem despertado interesse na comunidade científica de forma a estabelecer o risco que estas bactérias representam para a saúde pública (RIBEIRO, 2008).

A fim de compreender a relação entre o processo de ordenha e a possível contaminação do leite com bactérias do gênero *Aeromonas*, este trabalho foi desenvolvido.

2. METODOLOGIA

Foi feita a pesquisa de bactérias do gênero *Aeromonas* em oito estabelecimentos rurais produtores de leite localizados na zona sul do Estado do Rio Grande do Sul, que utilizam sistema de ordenha sem canalização e possuem tanque de refrigeração por expansão, sendo realizadas três coletas em cada propriedade, no período entre setembro de 2013 a março de 2014.

Foram coletadas amostras de leite imediatamente após a ordenha à partir do balde utilizado para recolhimento deste e transporte até o tanque de refrigeração, conforme metodologia estabelecida por BRITO et al. (1998), as amostras da parede do balde e mão do ordenhador foram coletadas com o auxílio de zaragatoas estéreis de acordo com a metodologia estabelecida pela APHA (2001) assim como dos insufladores com metodologia descrita por MC DONALD et al., (1993). As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Pelotas para análise.

O isolamento das bactérias do gênero *Aeromonas* foi feito mediante o enriquecimento da amostra em caldo TSB, vertendo-as juntamente com o líquido de transporte em tubos contendo 20ml do caldo acrescido de ampicilina 30 mg/L e armazenado em estufa a 28°C por 24h. Para obtenção dos isolados das amostras de

leite, 10 mL foram inoculados em frasco contendo 90mL de caldo TSB acrescido de ampicilina 30mg/L e armazenadas em estufa a 28°C por 24h (ABEYTA JÚNIOR et al., 1990). Após incubação, as culturas de enriquecimento seletivo foram semeadas por esgotamento em placas de ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina e ágar dextrina-ampicilina, suplementados com ampicilina na concentração de 10mg/L, e incubadas a 28°C por 24h. As colônias com crescimento característico, ou seja, colônias grandes, amareladas e com halo causado pela hidrolisação do amido ou dextrina, foram repicadas para ágar TSA inclinado para aumento da massa bacteriana e posteriormente identificadas conforme PALUMBO et al., (1985).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela I estão discriminados os isolados identificados como *Aeromonas* spp. obtidas à partir de amostras de balde, teteira, mão, leite e água advindas de três coletas em oito propriedades de ordenha balde ao pé do sul do Rio Grande do Sul.

Tabela I - Amostras positivas para *Aeromonas* spp. em balde, teteira, mão do ordenhador, leite cru e água de diferentes propriedades leiteiras do sul do Rio Grande do Sul.

Propriedade	Balde			Teteira			Mão			Leite			Água		
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a
A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
B	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
D	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
F	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
G	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
H	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Amostras Positivas (+); Amostras Negativas (-).

Ao total, 120 amostras foram processadas, dessas, 49 (40,83%) foram positivas para o gênero *Aeromonas*. Dos pontos coletados, balde, teteira, mão, leite cru e água tiveram respectivamente 20,83%, 12,5%, 20,83%, 75% e 75% de amostras contaminadas.

AMARAL et al. (2006) encontraram, no estado de São Paulo, 85% e 55% de amostras de leite cru contaminadas pelo gênero *Aeromonas* em períodos de chuva e estiagem respectivamente e, no mesmo Estado, CARNEIRO & ROSSI JUNIOR (2006) isolaram esse gênero de 90% das amostras de leite cru analisadas e, ainda, CERESER et al. (2013) isolaram *Aeromonas* de 96% das amostras de leite cru. Corroborando com a alta percentagem de isolados deste gênero em leite cru, no presente estudo.

Segundo AMARAL et. Al, (2006) na cadeia de produção de leite, pode-se afirmar que a qualidade da água utilizada na lavagem do úbere e dos equipamentos é importante, especialmente em termos microbiológicos, que podem influenciar na qualidade final do leite produzido. A água utilizada nas propriedades pode ter sido a fonte da contaminação dos pontos coletados (balde, mão e teteira) e, por consequência, do leite. Deixando evidente que a qualidade da água utilizada na propriedade é de suma importância.

No presente trabalho o gênero *Aeromonas* foi isolado, em todas as propriedades analisadas, fato preocupante pois estas bactérias possuem fatores de virulência como enterotoxinas, citotoxinas, hemolisinas e alta capacidade de aderência e invasão a células intestinais, capazes de causar gastroenterites, septicemias e feridas em tecidos moles (PEIXOTO et al., 2012; VIZZOTTO, 2009; PEREIRA et al., 2008) além de existirem dentro deste grupo subespécies psicrófilas com capacidade de deterioração de alimentos refrigerados e formação de biofilmes, causando prejuízos para indústria de alimentos mesmo que estejam presentes em baixas contagens (LUNA et al., 2013).

4. CONCLUSÕES

O gênero *Aeromonas* pode ser isolado de diferentes pontos no processo de ordenha em propriedades leiteiras localizadas no Sul do Rio Grande do Sul sendo um potencial contaminante do leite, podendo gerar doença se consumido sem o devido tratamento e diminuição na vida de prateleira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYTA JÚNIOR, C.; KAYSNER, C.A.; WEKELL, M.M.; STOTT, R.F. 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.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4.ed.: APHA, 2001. 676p.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SOUZA, H.M.; VARGAS, O.L. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.1, p.39-44, 1998.

CARNEIRO, M.S. & ROSSI JUNIOR, O.D. Bactérias do gênero *Aeromonas* no fluxograma de beneficiamento do leite tipo A e seu comportamento frente a ação de antimicrobianos. **Arg. Inst. Biol**, São Paulo, v.73, n.3, p.271-276, 2006.

CERESER, N.D.; ROSSI JÚNIOR, O.D.; MARTINELLI, T.M.; SOUZA, V.; RODRIGUES, L.B.; CARDOZO, M.V. Aeromonas no processamento de queijos tipo minas frescal e colonial. **ARS Veterinária**, v.29, n.1, p. 23-29, 2013.

LUNA, R.O., BEZERRA, S.S., CARVALHO, J.N., PEREIRA, F.C., BARRETO, A.C.G., GALVÃO, S.M.R., MENDES, E.S. Identificação molecular e perfil de resistência a antimicrobianos de *Aeromonas* spp. isoladas de queijo coalho tipo A. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. 35(3):205-211, 2013.

McDONALD, J.S.; KINSER, M.L.; ADAMS, D.S. Studying the effects of backflushing milking units. **Veterinary Medicine**, v.88, n.4, p.382-386, 1993.

RIBEIRO, M.E.A. **Caracterização de *Aeromonas* spp. Isoladas de Águas Não Tratadas Para Consumo Humano**. 2008. Dissertação (Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial) – Curso de Pós-graduação em Biologia Laboratorial Clínica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

PALUMBO, S.A. Influence of temperature, NaCl, and pH on the growth of *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Food Science**, v.50, p.1417-1421, 1985.

PEIXOTO, L.J.S.; SÁ, L.A.; COSTA, M.M. *Aeromonas* spp.: Fatores de virulência e perfis de resistência a antimicrobianos e metais pesados. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.3, p.453-461, 2012.

PEREIRA, C.S., AMORIM, S. D., SANTOS, A.F.M., REIS, C.M.F., THEOPHILO, G.N.D., RODRIGUES, D.P. Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de neonatos hospitalizados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 41(2):179-182, 2008.

VIZZOTTO, B.S. **Caracterização fenotípica e molecular de estirpes de *Aeromonas* isoladas no Paraná no período de 1999-2009**. 2009. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração Análises Clínicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná.