

## ***Aeromonas* spp. EM ÁGUA DE PISCICULTURAS DA REGIÃO DA BAIXADA OCIDENTAL MARANHENSE**

Rejeana Márcia Lima SILVA<sup>1,2</sup>; Oswaldo Durival ROSSI JUNIOR<sup>3</sup>;  
Francisca Neide COSTA<sup>4</sup>; Nancylene Pinto CHAVES<sup>5</sup>; Danielle Lopes do NASCIMENTO<sup>4</sup>;  
Bruna Akie KAMIMURA<sup>6</sup>

### **RESUMO**

Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se os membros da família *Aeromonadaceae*, podendo ser detectados tanto nos peixes como na água desse sistema. Este estudo foi realizado com o objetivo de verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* em água de pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense. Doze propriedades localizadas nos municípios de Pinheiro, Palmeirândia e Perimirim foram selecionadas. A coleta das amostras ocorreu no período de outubro de 2008 a março de 2009. Foram coletadas quatro amostras de água dos viveiros de cada piscicultura, num total de 48 amostras. Em 100% das amostras analisadas foi confirmada a presença de bactérias do gênero *Aeromonas*. Os 89 isolados identificados foram classificados em três espécies, *A. hydrophila* (88%), *A. caviae* (9%), *A. veronii sobria* (3%). As águas dos viveiros das pisciculturas analisadas apresentaram espécies de aeromonas potencialmente patogênicas para os peixes e para o ser humano representando risco para saúde da população consumidora dos organismos cultivados nessas propriedades.

**Palavras-chave:** Bactérias; saúde pública; aquicultura

## ***Aeromonas* spp. IN WATER OF FISHFARMS IN OCCIDENTAL LOWLAND REGION OF MARANHÃO**

### **ABSTRACT**

Among the widely distributed bacterial agents in the aquatic ecosystem, can be outstanding the family *Aeromonadaceae* detected such in fish as in the water of this system. This study intended to verify the occurrence of *Aeromonas* spp. in pond water of fishfarms located in Occidental Lowland Region of Maranhão. Twelve properties located in Pinheiro, Palmeirândia and Perimirim cities had been selected. The harvest of the samples occurred in the period from October, 2008 to March, 2009. A total of 48 pond water samples were harvested. Four water samples of each fishfarm. *Aeromonas* were confirmed in 100% of the samples. The 89 isolate identified had been classified in three species, *A. hydrophila* (88%), *A. caviae* (9%), *A. veronii sobria* (3%). The pond waters of the fishfarms analyzed presented contamination with potentially pathogenic species of aeromonas which represents risk for people's health, especially for the organisms cultivated in these properties.

**Key words:** Bacteria; public health; aquaculture

---

**Relato de Caso:** Recebido em: 05/05/2010 – Aprovado em: 25/11/2010

<sup>1</sup> Aluna do Programa de pós graduação em Medicina Veterinária da FCAV-UNESP.

<sup>2</sup> Endereço: Rua Carlos Buck, 111 - Bairro Aparecida - CEP: 14.883-292 - Jaboticabal - SP - Brasil. e-mail: rejeanalima@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Prof<sup>o</sup> Dr. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal- FCAV-UNESP

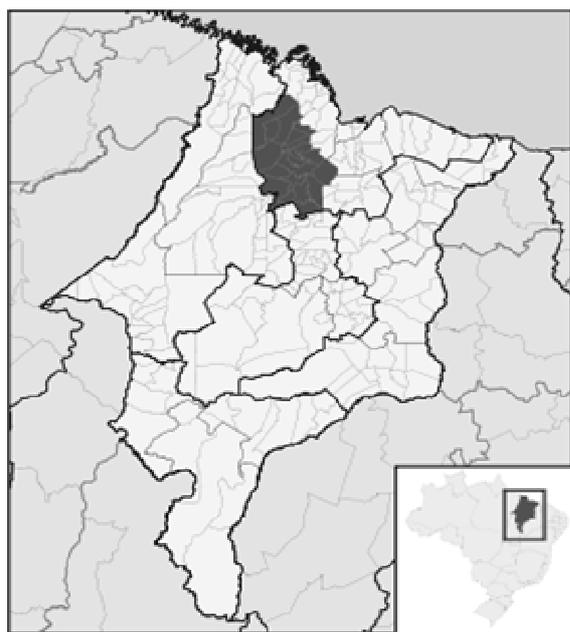
<sup>4</sup> Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> do Departamento de Patologia Veterinária -UEMA

<sup>5</sup> Laboratório de Microbiologia e Água da Universidade Estadual do Maranhão-UEMA

<sup>6</sup> Aluna do curso de Zootecnia da FCAV-UNESP

## INTRODUÇÃO

A microrregião da Baixada Maranhense (1°59'-4°00'S e 44°21'-45°33'W) está localizada a oeste do estado e constitui uma região ecológica de grande importância, que tem na pesca a base de sustentação alimentar e de renda da população (COSTA-NETO *et al.*, 2001). Em função da diminuição dos estoques naturais de peixes, a piscicultura tem se mostrado uma alternativa promissora para complementar a produção de pescado.



**Figura 1.** Mapa de localização da Baixada Maranhense. Fonte: IBGE, 2010

Em piscicultura, a preocupação com a água é de fundamental importância, pois a contaminação desta pode acarretar danos ao ambiente e perigo para saúde pública. (MURATORI, 1999; SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2007).

Devido ao íntimo contato dos peixes com a água, esses, quando capturados em ambientes contaminados, podem albergar microrganismos patogênicos e indicadores de origem fecal. Alimentos oriundos desses ambientes têm sido associados a doenças no ser humano, principalmente gastroenterites (PAL e DASGUPTA, 1992; GUZMÁN *et al.*, 2004).

Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos no ecossistema aquático, destacam-se aqueles pertencentes à família *Aeromonadaceae*,

sendo detectados tanto nos peixes como na água desses sistemas (LEHANE e RAWLIN, 2000; FRANCIS-FLOYD, 2002; HUBER *et al.*, 2004).

As aeromonas são um dos principais agentes com potencial patogênico e têm sido responsáveis por perdas consideráveis em piscicultura. São microrganismos ambientais, autóctones do meio aquático (RODRIGUES e RIBEIRO, 2004).

Trabalho realizado em pesque-pagues da região metropolitana de São Paulo verificou que 93% das amostras de água de viveiros e 87% de superfície de peixes apresentavam aeromonas (AZEVEDO *et al.*, 2003). Dos grupos bacterianos pesquisados em amostras de água de viveiros, 67,2% foram *Aeromonas* spp., sendo identificadas nove espécies diferentes. HIRSCH *et al.* (2006), constataram a presença de aeromonas em 19% das amostras de água de distribuição e em 70% das de água dos viveiros.

A pesquisa de *Aeromonas* spp. tem sido realizada nas mais diversas áreas da produção animal, inclusive na piscicultura. No Brasil, esses dados ainda são escassos e, às vezes, inexistentes, como na Região desse estudo, sendo importante verificar a sua ocorrência, em virtude da diversidade de características de temperatura, tipos de solo, água e espécies de peixes cultivadas.

Diante do exposto realizou-se este trabalho com o objetivo de verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Aeromonas* em água de pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Seleção das propriedades*

As doze propriedades selecionadas estavam localizadas nos municípios de Pinheiro, Palmeirândia e Perimirim. Os critérios principais para a escolha das pisciculturas foram a existência de viveiros escavados e a ausência de patologias nos peixes no período das coletas. Algumas perguntas foram respondidas pelos responsáveis pelas propriedades, tais como: Qual a origem da água? Existe controle da água? Há utilização de medicação nos animais? Existem outros tipos de animais na propriedade?, entre outras.

### Coleta, acondicionamento e transporte das amostras

A coleta das amostras ocorreu no período de outubro de 2008 a março de 2009. Uma amostra de água de superfície (500 mL) foi colhida de um único ponto de cada um dos quatro viveiros de cada piscicultura, totalizando 48 amostras. Para tal, frascos previamente esterilizados foram mergulhados na água e só então, abertos. Uma vez preenchidos com água, foram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo e transportados ao laboratório para análise.

### Pesquisa de *Aeromonas* spp.

#### Preparo das amostras e enriquecimento seletivo

As amostras de água dos viveiros foram filtradas em membranas de nitrato celulose de 47 milímetros de diâmetro e poros de 0,45 micrômetros. Em seguida, essas membranas foram picadas em pedaços pequenos, e os fragmentos, colocados em Erlenmeyer, contendo 100 mL de TSB-ampicilina, sendo após, colocados em incubadora para BOD, à temperatura de 28°C por 24 horas.

#### Plaqueamento seletivo

A partir de cada cultura com desenvolvimento bacteriano (turbidez do meio), foram semeadas placas com ágar dextrina-ampicilina (HAVELLAR e VONK, 1988) e ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina (PALUMBO *et al.*, 1991; MAJEED *et al.*, 1990). A ampicilina foi adicionada na concentração de 10mg L<sup>-1</sup>. Foram então, incubadas em BOD, à temperatura de 28°C por 24 horas.

#### Isolamento das colônias e identificação presuntiva do Gênero *Aeromonas*

Das culturas obtidas no plaqueamento seletivo, para cada um dos meios, foram selecionadas até 5 colônias sugestivas do gênero *Aeromonas* (coloração amarela, halo transparente). As colônias sugestivas foram semeadas em tubos com ágar tripticase soja (TSA) e incubadas à temperatura de 28°C por 24 horas. As culturas foram submetidas à coloração de Gram e aquelas que se apresentaram Gram negativas, na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas, foram repicadas em ágar triplíce-açúcar-ferro (TSI) e incubadas à temperatura de 28°C, por 24 horas (SAAD, 1995).

As culturas que apresentavam reação ácida, tanto na base como no bisel, com ou sem a formação de gás e H<sub>2</sub>S negativas, foram novamente repicadas em tubos contendo TSA inclinado e incubadas à temperatura de 28°C por 24 horas. Após incubação, foram submetidas às provas de catalase e oxidase. Os cultivos positivos foram considerados como pertencentes ao gênero *Aeromonas*. Como provas complementares, foram realizados testes de motilidade e de resistência ao agente vibriostático O/129 para confirmação do gênero (POPOFF, 1984).

Para a classificação das espécies, foi utilizada a chave arokey II (CARNAHAN *et al.*, 1991). As provas bioquímicas realizadas foram: hidrólise da esculina, produção de indol, de gás a partir da glicose, de ácido a partir da arabinose e da sacarose, Voges Proskauer (VP) e resistência à cefalotina.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as 48 amostras de água dos viveiros (100%) foram confirmadas a presença de bactérias do gênero *Aeromonas*, ou seja, nas 12 propriedades avaliadas, houve isolamento dessas bactérias. AZEVEDO *et al.* (2003) também encontraram alto percentual de aeromonas (93%) nas 30 amostras de água de viveiros, oriundas de pesque-pagues na região metropolitana de São Paulo. Resultado semelhante foi verificado por HIRSCH *et al.* (2006), que encontraram aeromonas em 70% das amostras de água dos viveiros em pisciculturas de Minas Gerais. *Aeromonas* spp. têm sido apontadas como agentes de gastroenterites e infecções de pele em seres humanos, principalmente em pacientes imunocomprometidos (JANDA e ABBOTT, 1998). São também consideradas importantes patógenos de peixes (AUSTIN e ADAMS, 1996). Além disso, a possibilidade de deterioração de pescados por aeromonas foi confirmada por alguns autores (GONZALEZ-SERRANO *et al.*, 2001).

Dados do presente trabalho revelaram a ampla disseminação de *Aeromonas* spp. nas pisciculturas avaliadas, confirmando os achados de outros autores que destacaram a ocorrência desse agente bacteriano no ambiente aquático, principalmente em água doce e peixes (HATHA *et al.*, 2005; HIRSCH *et al.*, 2006; AKINBOWALE *et*

*al.*, 2007). Os 89 isolados identificados foram classificados em três espécies, *A. hydrophila* (88%), *A. caviae* (9%), *A. veronii sobria* (3%).

A maioria das pesquisas sobre a prevalência de espécies de aeromonas de origem ambiental, de alimentos e de origem veterinária têm focado três espécies principais, *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii sobria* (RADU *et al.*, 2003).

As espécies identificadas (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria*) são consideradas potencialmente patogênicas, tanto para o ser humano como para peixes (ABBOTT *et al.*, 2003). Em piscicultura, essas espécies têm grande importância econômica, devido aos grandes prejuízos causados por altas taxas de morbidade e mortalidade de peixes. Seu hábitat natural é o material em decomposição na água e no fundo dos viveiros (DUGENCI e CANDAN, 2003; POND *et al.*, 2006).

Sob o aspecto de saúde pública, *A. hydrophila*, *A. veronii* biogrupo *sobria* e *A. caviae* são patógenos intestinais, embora já tenham sido responsabilizadas por infecções extraintestinais, como bacteremia, septicemia, pneumonia e celulite, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (CARNAHAN 1993; JANDA e ABBOTT, 1998).

De acordo com as condições de realização desse trabalho, foi possível concluir que *Aeromonas* spp. foram identificadas em todas as amostras analisadas, e que as espécies encontradas foram *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria*. Os resultados indicam que a água dos viveiros de tais propriedades representava, no período da investigação, reservatório de aeromonas com potencial patogênico, sugerindo risco para os animais cultivados devido o contato íntimo entre água e peixes.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, S.L.; CHEUNG, W.K.W.; JANDA, J.M. 2003 The genus *Aeromonas*: Biochemical characteristics. Atypical reactions and phenotypic identification schemes. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, 41(6): 2348-2357.
- AKINBOWALE, O.L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M.D. 2007 Antibiotic resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Amsterdam, 30: 177-182.
- AZEVEDO, V.M.; MORITA, M.; DROPA, M.; CABIANCA, M.A.A.; ESTEVES, K.E.; MATTÉ, G.R.; MATTÉ, M.H. 2003 Ocorrência de *Aeromonas* sp. e *Vibrio cholerae* em pesque-pagues da Região Metropolitana de São Paulo. *REVNET DTA*, São Paulo, 3(4): 114- 119.
- AUSTIN, B.; ADAMS, C. 1996 Fish pathogens. In: AUSTIN, B.; ALTWEGG, M.; GOSLING, P.J.; JOSEPH, S. (Eds) *The genus Aeromonas*. J. Wiley & Sons, Ltda. p.197-244.
- CARNAHAN, A.M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S.W. 1991 Aerokey II: a flexible key for identifying clinical aeromonas species. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, 29: 2843-2849.
- CARNAHAN, A.M. 1993 *Aeromonas* taxonomy: a sea of change. *Medical Microbiology Letters*, Bremen, 2: 206-21.
- COSTA-NETO, J.P.; BARBIERI, R.; IBÁÑEZ, M.S.R.; CAVALCANTE, P.R.S.; PIORSKI, N.M. 2001 Limnologia de três ecossistemas aquáticos característicos da Baixada Maranhense. *Boletim Laboratório Hidrobiologia*, São Luis, 14/15: 19-38.
- DUGENCI, S.K. e CANDAN, A. 2003 Isolation of *Aeromonas* sp. strains from the intestinal flora of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L. 1758) turk. *Journal Veterinária Animal Science*, 27: 1071-1075.
- FRANCIS-FLOYD, R. 2002 *Aeromonas* Infections. IFAS - Institute of Food and Agricultural Sciences. FA14. 1-2.
- GONZALEZ-SERRANO, C.J.; SANTOS, J.A.; GARCIA-LOPEZ, M.L.; GONZALEZ, N.; OTERO, A. 2001 Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. *Journal of Food Protection*, Des Moines, 64(5): 687-691.
- GUZMÁN, M.C.; BISTONI, M.A.; TAMAGNINI, L.M.; GONZÁLEZ, R.D. 2004 Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. *Water Research*, Exeter, 38:2368-2374.

- HATHA, A.A.M.; VIVEKANANDHAN, A.A.; JOICE, G.J.; CHISTOL. 2005 Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, 98: 131-134.
- HAVELLAR, A.H. e VONK, M. 1988 The preparation of ampicilin dextrin agar for the enumeration of aeromonas in water. *Letters Applied Microbiology*, Oxford, 7: 169-171.
- HIRSCH, D.; PEREIRA JÚNIOR, D.J.; PICCOLI, R.H.; LOGATO, P.V.R.; FIGUEIREDO, H.C.P. 2006 Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 30(6): 1211-1217.
- HUBER, I.; SPANGGAARD, B.; APPEL, K.F., ROSSEN, L.; NIELSENAND, T.; GRAM, I. 2004 Phylogenetic analysis and *in situ* identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, 96(1) 117-132.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA 2010 Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acesso em: 15 jan. 2010.
- JANDA, J.M. e ABBOTT, S. 1998 Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama the species, diseases presentations, and unanswered questions. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, 27(2): 332-344.
- LEHANE, L. e RAWLIN, G.T. 2000 Tropically acquired bacterial zoonoses from fish: a review. *Medical Journal of Australia*, North Sydney, 173: 256-259.
- MAJEED, K.N.; EGAN, A.F.; MacRAE, I.C. 1990 Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, 67: 165-170.
- MURATORI, M.C.S. 1999 *Consórcio suíno peixe: riscos ambiental e sanitário. Proposta alternativa para descontaminação*. Belo Horizonte. 71p. (Tese de Doutorado. Escola de Veterinária, UFMG).
- PAL, D. e DASGUPTA, C. 1992 Microbial pollution in water and its effect on fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, Bethesda, 4: 32-39.
- PALUMBO, S.A.; WILLIAMS, A.C.; BUCHANAN, R.L.; PHILLIPS, J.G. 1991 Model for anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. *Journal of Food Protection*, Amsterdam, 55(4): 260-265.
- POND, M.J.; STONE, D.M.; ALDERMAN, D.J. 2006 Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the flora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, 261: 194-203.
- POPOFF, M. 1984 Genus III. *Aeromonas* Kluyer and Van Niel 1936 In: DRIEG, N.R. (Ed). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Baltimore: Willians and Wilkins. v.1, p.545-584.
- RADU, S.; AHMAD, N.; LING, F.H.; REEZAL, A. 2003 Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, 81: 261-266.
- RODRIGUES, D.P. e RIBEIRO, R.V. 2004 *Aeromonas*. In: VIEIRA, R.H.F. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado - teoria e prática*. São Paulo: Varela. 380 p.
- SAAD, S.M.I.; IARIA, S.T.; FURLANETTO, S.M.P. 1995 Motile *Aeromonas* spp in retail vegetables from São Paulo, Brazil. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, 26(1): 22-27.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; GUARIGLIA, C.T.S.; BRAGA, F.M.S. 2007 Effects of rainfalls on water quality in six sequentially disposed fishponds wit continuous water flow. *Brazilian Journal of Biology*, São Paulo, 67(4): 643-664.