

ESTUDO PRELIMINAR SÔBRE A BACTERIOLOGIA DA LAGOSTA PANULIRUS LAEVICAUDA (LATREILLE)

Terezinha Tavares de Sousa (1) — Maria da Conceição Caland (2)

A complexidade que envolve a bacteriologia de organismos marinhos é, sem dúvida, devida à grande variedade de espécies que os podem parasitar.

A flora aeróbica dos peixes, em várias partes do mundo, é normalmente considerada autóctone do solo, ar e água, e isto esclarece porque esta flora é vasta.

A identificação das bactérias de peixes é muito difícil, sendo freqüentemente impossível se estar seguro da tribo, família e gênero, para se chegar até à espécie (Shewan, 1961).

Há evidências de que a flora bacteriana dos peixes está relacionada com o meio ambiente e as estações do ano, e o isolamento das espécies depende de vários fatores, tais como meio de cultura, temperatura de incubação das culturas e técnica de colheita das amostras.

Tem-se chamado a atenção para resultados absolutamente diferentes, qualitativa e quantitativamente, encontrados por diversos pesquisadores, mas essas diferenças, segundo Shewan (1961), são devidas, freqüentemente, às dificuldades surgidas quando se trata da posição sistemática de muitos dos microrganismos isolados.

Não conhecemos nenhuma referência à flora bacteriana de lagostas. O presente trabalho trata da flora bacteriana do tubo digestivo e da carne da cauda da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), que vive ao longo da costa do Estado do Ceará, Brasil.

Agradecimentos: Agradecemos aos Professôres José Borges Sales, João Ramos Pereira da Costa e Maria Zélia Rouquayrol, todos da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, pelos estímulos e sugestões que nos concederam.

(1) — Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, e Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, posta à disposição do Grupo de Desenvolvimento das Pescas da Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado do Ceará (Fortaleza — Ceará — Brasil).

(2) — Estação de Biologia Marinha da Universidade Federal do Ceará (Fortaleza — Ceará — Brasil).

MATERIAIS E MÉTODOS

Das 24 lagostas que servem de fundamento a este estudo, 14 foram obtidas nas praias de Fortaleza (Ceará — Brasil) e levadas vivas ao laboratório, onde foram mortas por anestesia, para se estudar sua flora intestinal, e 10 foram obtidas numa indústria local, após a evisceração, para o estudo da flora da carne da cauda.

Com as técnicas recomendadas de assepsia, tirava-se o tubo digestivo dessas lagostas, sendo o mesmo colocado em balão Erlenmeyer contendo pérolas de vidro, adicionando-se soro fisiológico estéril. Por agitação, o tubo digestivo se rompia, e era homogeneizado. Em seguida, fazia-se a sementeira desse material em placas, para a obtenção de colônias. As sementeiras foram sempre efetuadas em duplicatas, para incubação a 20° e 37°C.

Após 24 horas, as colônias foram isoladas, para posteriormente se proceder as provas bioquímicas. O meio de cultura usado foi preparado a partir do caldo de lagosta, na composição abaixo, e com pH ajustado para 7,4 :

Triptona (Difco)	1,0 g
NaCl	0,5 g
Caldo de lagosta	30 ml
Água destilada	70 ml
Agar-agar	3,0 g

Com exceção do leite tornassolado, todos os outros meios, como gelatina, amido e nitrato, foram preparados a partir do caldo de lagosta, o qual foi feito na proporção de 1 quilo de cauda de lagosta para 2 litros de água. Este caldo foi fervido, filtrado e esterilizado a 120°C.

Os açúcares para o estudo da fermentação foram preparados a partir de água peptonada, com indicador Andrade. A verificação das reações de vermelho de metilo e de Voges Proskauer foram efetuadas no meio de Clark Lubs. Os métodos de coloração foram os de Gram, de Bartholomew Mittwer e de Hiss.

As provas bioquímicas foram lidas após 8 dias. A verificação do indol realizou-se com o reativo de Kovaks, a do nitrito com o reativo

de Griess. A produção de gás sulfídrico foi verificada com tiras de papel de filtro, embebidas em acetato de chumbo.

RESULTADOS

As bactérias isoladas das 14 lagostas capturadas vivas constam na tabela I, e da carne de 10 lagostas, na tabela II.

Foram identificadas bactérias dos gêneros *Pseudomonas* Migula e *Achromobacter* Bergey *et al.*, e outras cuja posição genérica não nos foi possível determinar. As espécies isoladas foram identificadas como sendo *Pseudomonas pavonacea* Levine & Soppeland e *Achromobacter aquamarinus* ZoBell & Upham.

Vale ressaltar que algumas *Pseudomonas* não puderam ser incluídas em nenhuma das chaves de identificação de espécies deste gênero, o que nos levou a denominá-las de *Pseudomonas* sp., com as seguintes características: bastonetes de tamanho médio, Gram negativos, móveis, não esporulados e sem cápsula; crescem bem à temperatura de 37°C; são aeróbias; liquefazem a gelatina; acidificam e coagulam o leite tornassolado; hidrolisam o amido; produzem nitrito, acetilmetilcarbinol, indol e gás sulfídrico; acidificam a glicose com gás e a sacarose, mas não utilizam xilose,

arabinose, manitol, inositol, dulcitol nem lactose; não são fluorescentes; produzem pigmento amarelo-escuro alguns dias após o isolamento; as colônias são pequenas e brilhantes.

Também houve bactérias do gênero *Achromobacter* que não puderam ser incluídas em nenhuma das chaves de identificação de espécies deste gênero, o que nos levou a denominá-las de *Achromobacter* sp., com as seguintes características: bastonetes curtos, Gram negativos, móveis, não esporulados e sem cápsula; crescem bem à temperatura de 37°C; são aeróbias; liquefazem a gelatina; alcalinizam o leite tornassolado; hidrolisam o amido; produzem nitrito, acetilmetilcarbinol, mas não produzem indol e gás sulfídrico; acidificam a glicose sem gás e fermentam o manitol, mas não utilizam xilose, arabinose, inositol nem lactose; não são fluorescentes; não produzem pigmento alguns dias após o isolamento; as colônias são pequenas e brilhantes.

As bactérias cuja posição genérica não nos foi possível determinar, apresentaram as seguintes características: bastonetes muito curtos, Gram negativos, móveis, não esporulados e sem cápsula; crescem bem à temperatura de 37°C; são aeróbias e facultativamente anaeróbias; liquefazem a gelatina; alcalinizam o leite tornassolado, sem coagulá-lo;

TABELA I

Bactérias encontradas no intestino da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille).

Lagostas	Bactérias isoladas
1	<i>Achromobacter</i> sp.
2	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
3	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas pavonacea</i>
4	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
5	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
6	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada + <i>Achromobacter aquamarinus</i>
7	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada + <i>Pseudomonas pavonacea</i>
8	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada
9	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada + <i>Achromobacter aquamarinus</i>
10	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada + <i>Pseudomonas pavonacea</i>
11	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
12	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
13	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada
14	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada + <i>Pseudomonas</i> sp.

TABELA II

Bactérias encontradas na carne da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille).

Lagostas	Bactérias isoladas
1	<i>Achromobacter</i> sp.
2	<i>Pseudomonas</i> sp. + Espécie não identificada
3	<i>Achromobacter</i> sp. + <i>Pseudomonas</i> sp.
4	<i>Achromobacter</i> sp.
5	Espécie não identificada + <i>Pseudomonas</i> sp.
6	<i>Achromobacter</i> sp.
7	<i>Achromobacter</i> sp. + Espécie não identificada
8	Espécie não identificada
9	<i>Achromobacter</i> sp.
10	<i>Achromobacter</i> sp.

não hidrolisam o amido; produzem gás sulfídrico, mas não produzem acetilmetilcarbinol, indol nem nitrito; acidificam a glicose sem gás, mas não utilizam xilose, arabinose, manitol, inositol nem lactose; não são fluorescentes; não produzem pigmento alguns dias após o isolamento; as colônias são pequenas e brilhantes. Não podemos enquadrá-las no gênero *Pseudomonas*, pelo fato dos bastonetes se apresentarem muito curtos, como cocobacilos; e no gênero *Achromobacter* pelo fato de escurecerem o meio de cultura em alguns dias. Como não apresentam pigmento nenhum, deixamos de incluí-las no gênero *Flavobacterium* Bergey *et al.*, cuja característica principal é a presença de pigmentos dos mais variados matizes.

Os resultados dos nossos estudos evidenciam a presença de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter*, tanto no intestino como na carne da lagosta eviscerada. Ora isolamos apenas uma espécie de bactéria por lagosta, ora foram encontradas associações de duas, três e quatro espécies diferentes numa mesma lagosta, como se pode notar nas tabelas I e II.

CONCLUSÕES

1 — Foram isoladas bactérias dos gêneros *Pseudomonas* Migula e *Achromobacter* Bergey *et al.*, a partir do intestino e da carne da cauda da lagosta *Panulirus laeviscauda* (Latreille), que vive ao longo da costa do Estado do Ceará, Brasil.

2 — As bactérias identificadas ao nível de espécie foram *Pseudomonas pavonacea* Levine & Soppeland e *Achromobacter aquamarinus* ZoBell & Upham.

3 — A maioria das bactérias isoladas era de natureza proteolítica.

4 — A contaminação verificada na evisceração sugere uma modificação no processo tecnológico local.

SUMMARY

This paper is a preliminary contribution for a better understanding of the bacteriology of the spiny-lobster *Panulirus laeviscauda* (Latreille), which lives along the coast of Ceará State, Brazil.

The main conclusions drawn are the following:

1 — Bacteria of the genera *Pseudomonas* Migula and *Achromobacter* Bergey *et al.* were isolated from the gut and tail of the spiny-lobster *Panulirus laeviscauda* (Latreille).

2 — Bacteria identified to species level are *Pseudomonas pavonacea* Levine & Soppeland, and *Achromobacter aquamarinus* ZoBell & Upham.

3 — Most part of the bacteria isolated are proteolytic species.

4 — Contamination occurred during gutting suggests that a modification in the process of handling spiny-lobsters must be introduced.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Breed, R. S. *et al.* — 1957 — *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Seventh Edition. The Williams & Wilkins Company, xviii + 1094 pp., Baltimore.

Committee on Bacteriological Technic of the Society of American Bacteriologists — 1943/1954 — *Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria*. Diotech Publications, X Leaflets (each Leaflet paged separately), Geneva.

Shewan, J. M. — 1961 — The Microbiology of Sea-Water Fish. In pp. 487-560, figs. 1-21 — Borgstrom, G. — *Fish as Food — Volume I — Production, Biochemistry, and Microbiology*. Academic Press, xvi + 725 pp., ills., New York and London.