YERSINIA ENTEROCOLITICA: CARACTERÍSTICAS, OCORRÊNCIA E PRESENÇA EM ALIMENTOS

Regina Silva de Siqueira Magdala Alencar Teixeira Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba

CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Telefone: (0XX21) 410-7400 Telex: 21 33267 EBPA BR

Fax: (0XX21) 410-1090 e 410-1433

23)

E-mail sac@ctaa.embrapa.br

Comitê de Publicações: Esdras Sundfeld

Maria Ruth Martins Leão Neide Botrel Goncalves

Neide Botrel Gonçalves Regina Celi Araujo Lago

Renata Torrezan

Virgínia Martins da Matta

Equipe de Apoio: André Luis do Nascimento Gomes

Claudia Regina Delaia Kátia M. Alves de Azevedo

SIQUEIRA, R.S.de; TEIXEIRA, M.A. *Yersinia enterocolitica*: características, ocorrência e presença em alimentos. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1999. 30p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Boletim de Pesquisa,

1. Yersinia - Histórico - Brasil. I. TEIXEIRA, M. A. II Embrapa Agroindústria de Alimentos. III. Título. IV. Série.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	5
2.	HISTÓRICO	6
3.	CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS	7
4.	FATORES DE CRESCIMENTO	10
5.	PATOGENICIDADE	12
6.	ENTEROTOXINA	13
7.	SINTOMATOLOGIA	14
8.	INCIDÊNCIA	14
9.	FONTES	17
10.	ALIMENTOS	19
11.	TRANSMISSÃO	21
12.	ISOLAMENTO	22
13.	CONTROLE	24
14.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

YERSINIA ENTEROCOLITICA: CARACTERÍSTICAS, OCORRÊNCIA E PRESENÇA EM ALIMENTOS

Siqueira, R.S. 1, Teixeira M.A. 2

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, *Yersinia enterocolitica* tem sido bem documentada como agente etiológico de doenças humanas, sendo os sintomas mais comuns gastroenterites, septicemia, artrites e linfadenites mesentéricas. Essa bactéria tem sido isolada de uma grande variedade de alimentos como carnes de suínos, frangos, produtos cárneos, leite, vegetais e água (Hanna et al., 1977a; Stern & Pierson, 1979; Feeley & Schiemann, 1984; Singh et al., 1985; Palumbo, 1986).

No Brasil, Warnken *et al.* (1987) pesquisaram a incidência de *Yersinia* sp. em vários produtos cárneos (carne bovina, suína, miúdos de frango e figado bovino), isolando 9 estirpes identificadas como *Yersinia* enterocolitica dos sorotipos 0:3, 0:4, 0:6, 0:16, 0:13, e 0:14.

Yersinia enterocolitica é um dos poucos patógenos que têm a capacidade de crescer em alimentos conservados em temperaturas de refrigeração inferiores a 4,4°C, em ambientes ácidos e/ou alcalinos, numa faixa de pH 4,6 a 9,0, bem como em concentrações de cloreto de sódio de até 5% (Siqueira, 1992). Essas características tornam este patógeno de grande importância para a indústria de alimentos.

M.Sc. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Embrapa Agroindústria de Alimentos
PD. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Univ. Fed. Viçosa

2. HISTÓRICO

O microrganismo atualmente conhecido como Yersinia enterocolitica foi primeiramente descrito em 1939 por Scheifstein e Coleman, sendo, então, denominado de Bacterium enterocoliticum por sua semelhança com Bacterium lignieri e Pasteurella pseudotuberculosis (Bottone, 1977; Swaminathan et al., 1982; Zink et al., 1982; Gilmour & Walker, 1988; Schiemann, 1989)

Segundo Bottone (1977), Swaminathan et al. (1982) e Gilmour & Walker (1988), durante anos os microbiologistas relataram o isolamento de bactérias patogênicas, que, diversificadamente, eram identificadas como Pasteurella pseudotuberculosis-"like", Pasteurella pseudotuberculosis tipo b, Pasteurella X, Pasteurella Y e Germe X. Somente em 1964, Frederiksen, reconhecendo as similaridades existentes entre as estirpes de Pasteurella X e os isolados de Scheifstein e Coleman, propôs que os isolados fossem coletivamente agrupados numa única espécie denominada Yersinia enterocolitica (Bottone, 1977; Swaminathan et al., 1982; Gilmour & Walker, 1988).

Yersinia enterocolitica, em conjunto com duas outras espécies Yersinia (Pasteurella) pseudotuberculosis e Yersinia (Pasteurella) pestis, foram incluídas no gênero Yersinia, que tinha sido anteriormente proposto em homenagem ao bacteriologista francês A.J. Yersin, que isolou o bacilo durante uma epidemia em Hong Kong, 1894 (Schiemann, 1989). Existem três espécies de Yersinia com patogenicidade inquestionável em seres humanos: Yersinia pestis, Yersinia pseudotuberculosis e Yersinia enterocolitica (Schiemann & Wauters, 1992).

De acordo com Schiemann & Wauters, (1992), Yersinia enterocolitica é reconhecidamente um agente etiológico de doenças humanas transmitidas pela ingestão de alimentos contaminados enquanto que a espécie Yersinia pseudotuberculosis apresenta uma incidência inferior e portanto, desempenha um papel menos importante na etiologia dessas doenças.

Esse gênero foi inserido na família *Enterobacteriaceae* por possuir algumas afinidades, como características fermentativas, capacidade de redução do nitrato e possuir um antígeno em comum (Mehlman *et al.* 1978; Schiemann & Wauters, 1992).

3. CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS

Yersinia enterocolitica é psicrotrófica, Gram negativa, anaeróbia facultativa, apresenta-se na forma de bastonetes retos ou cocobacilos, com tendências pleomórficas, arranjados isoladamente, ou em pequenas cadeias ou em aglomerados. A forma cocóide é predominante em culturas jovens cultivadas entre de 22 a 25°C, enquanto o pleomorfismo geralmente é detectado em culturas mais velhas, especialmente naquelas cultivadas a 37°C (Nilehn, 1969; Bottone, 1977; Swaminathan et al., 1982). As características fenotípicas são, muitas vezes, dependentes da temperatura. A presença de 1 a 18 flagelos peritriquios por célula é observada em culturas cultivadas a 25°C; pouco ou nenhum flagelo é detectado em culturas cultivadas a 37°C (Nilehn, 1969).

Yersinia enterocolitica não possui atividade enzimática para gelatinase, oxidase, fenilalanina-desaminase, citratase (utilização do citrato), lisinadescarboxilase e arginina-dihidrolase, mas possui atividade para catalase, ß-galactosidase, ornitina-descarboxilase, nitrato-redutase tipo B e urease (Bottone, 1977). De acordo com Bottone (1977), Swaminathan et al. (1982) e Gilmour & Walker (1988), Yersinia enterocolitica é uma espécie bioquimicamente heterogênea, consistindo de estirpes típicas e atípicas. As estirpes típicas possuem ornitinadescarboxilase e fermentam a sacarose, mas não podem fermentar ramnose, rafinose ou melibiose. As atípicas normalmente, fermentam ramnose ou são incapazes de fermentar a sacarose. A heterogeneidade bioquímica observada entre as estirpes de Yersinia enterocolitica tem gerado vários esquemas diferentes para agrupá-las por biotipos.

Nilehn (1969), baseando-se em 13 testes bioquímicos, e mantendo constantes os métodos e as temperaturas de incubação, investigou as reações bioquímicas de 330 estirpes de *Yersinia enterocolitica*. Desse modo, identificou 5 diferentes biotipos. No ano seguinte, Wauters, citado por Zink *et al.* (1982) e por Gilmour & Walker (1988), elaborou um esquema de biotipagem similar, utilizando a atividade de lecitinase como uma característica adicional e omitindo alguns dos substratos de Nilehn. Posteriormente, Bercovier *et al.* (1980) modificaram ligeiramente o esquema proposto por Wauters em 1970, mantendo a divisão em 5 biotipos, mas separando as estirpes do biotipo 5, que, segundo estes autores têm sido isoladas somente em lebres em países europeus. Essas estirpes não reduzem o nitrato a nitrito e são sempre trealose positivas e reduzem o nitrato a nitrito com um tipo B de nitrato redutase.

Segundo Brenner e colaboradores (1976), citados por Gilmour & Walker (1988), por meio de técnicas de hibridização do DNA, organismos que pertenciam à espécie *Yersinia enterocolitica* foram divididos em 4 subgrupos distintos. Todas as estirpes enteropatogênicas foram agrupadas num único subgrupo e identificadas como estirpes típicas de *Yersinia enterocolitica*. Nos outros 3 subgrupos foram agrupadas estirpes bioquimicamente atípicas de *Yersinia enterocolitica*. Apesar da utilização dessas técnicas, para Schiemann (1989), a controvérsia em torno da classificação de *Yersinia enterocolitica* não foi ainda totalmente eliminada.

Adicionalmente às propriedades bioquímicas, métodos sorológicos vêm sendo utilizados para estabelecer afinidades antigênicas entre as estirpes e entre as espécies afins (Schiemann, 1989), permitindo que *Yersinia* enterocolitica seja subdividida em grupos sorológicos (Bercovier et al., 1980).

De acordo com Schiemann (1989), o desenvolvimento de um esquema de sorotipagem para Yersinia enterocolitica foi incentivado por antigas observações que: (a) somente poucos sorotipos representavam a maioria dos isolados humanos; (b) certos sorotipos estavam sempre representados por um perfil bioquímico estável e, (c) os sorotipos estariam, de alguma forma, relacionados com a distribuição do hospedeiro.

O esquema de tipagem sorológica foi desenvolvido por Winblad (1967), citado por Bercovier et al. (1980) e Schiemann (1989), com 8 fatores antigênicos somáticos(0). Posteriormente, esse esquema, segundo Schiemann (1989), foi ampliado por Wauters e colaboradores em 1971 e 1972, para 17, depois para 34 e, finalmente, para 57 fatores

antigênicos, possibilitando demonstrar que a maioria das estirpes isoladas de infecções humanas, na Europa, pertenciam ao sorotipo 0:3 e que as estirpes norte-americanas eram do sorotipo 0:8.

Além da biotipagem e da sorotipagem, a fagotipagem também tem sido um útil instrumento epidemiológico, uma vez que estirpes do sorogrupo 0:3, isoladas na Europa, Canadá e na África do Sul, são susceptíveis a diferentes tipos de fagos (Bercovier *et al.*, 1980). De acordo com Gilmour & Walker (1988) e Schiemann (1989), dois esquemas de fagotipagem, Francês e Sueco, têm sido propostos, baseados em estirpes de origem européia. O esquema francês é mais amplo, pois reconhece 12 tipos de fagos, isolados de estirpes lisogênicas.

4. FATORES DE CRESCIMENTO

Yersinia enterocolitica não é propriamente um microrganismo fastidioso quando a temperatura de crescimento é de 28°C, mas pode requerer fatores nutricionais adicionais para desenvolvimento a 37°C (Swaminathan et al. 1982). Burrows & Gillet (1966) investigaram os requerimentos nutricionais de 5 estirpes de Yersinia enterocolitica e concluíram que, a 28°C, somente uma estirpe necessitou de tiamina para o crescimento, porém, a 37°C, todas as estirpes necessitaram de tiamina para desenvolver.

Niléhn (1969), investigando o comportamento de 330 estirpes de Yersinia enterocolítica, verificou que somente duas dessas estirpes desenvolveram em meio mínimo de glicose, a 37°C, enquanto a maioria foi capaz de desenvolver turbidez visível no mesmo meio, a 25°C. Yersinia enterocolítica muitas vezes não desenvolve bem em meios entéricos comuns, em temperaturas de 35-37°C, mas cresce nesses meios, entre 22-25ª-C; o crescimento escasso em meios seletivos a 35-37°C ocorre fundamentalmente, em razão de uma aumentada toxicidade dos agentes seletívos e a um requerimento adicional de cálcio para as estirpes que contém plasmídeos (Schiemann, 1989).

De acordo com os estudos realizados por Hanna et al. (1977b), a 25°C, a faixa de pH de desenvolvimento de Yersinia enterocolitica varia de 5,0 a 9,0, sendo a faixa ótima entre 7,0 e 8,0.

As investigações de Stern et al. (1980a), usando as temperaturas ambiente (25°C) e de refrigeração (3°C), revelaram que os valores limites de pH para crescimento foram de 4,4-10,0 e 4,4-9,6, respectivamente. Niléhn (1969), investigando o comportamento de 330 estirpes de Yersinia enterocolitica, concluiu que todas as estirpes estudadas apresentaram crescimento visível em 24 horas a 25°C e 37°C, enquanto nenhuma dessas estirpes foi capaz de mostrar crescimento visível a 43°C em sete dias de incubação.

Estudos realizados por Hanna et al. (1977a), em carne crua e cozida, revelaram que esse microrganismo foi capaz de crescer nas temperaturas de 0, 1, 5, 7 e 25°C, por 10-14 dias e 24 horas, nas temperaturas de refrigeração e ambiente, respectivamente.

Segundo Schiemann (1989), Yersinia enterocolitica não tolera temperaturas elevadas e é destruída nos binômios tempo-temperatura padrões de pasteurização de leite. Hanna et al. (1977c), encontraram variação entree as estirpes estudadas, em relação à resistência térmica, tendo em vista que algumas destas estirpes resistiram ao tratamento de 50°C por 10 min., enquanto outras foram sensíveis ao mesmo tratamento.

5. PATOGENICIDADE

A patogenicidade desse microrganismo está diretamente relacionada com bio-soro-fagotipos em hospedeiros específicos e mostra uma determinada distribuição geográfica (Gilmour & Walker, 1988). Os sorotipos 0:3, 0:5,27, 0:8 e 0:9 estão comumente associados às infecções humanas, enquanto outros, como os 0:6,30 0:7,13 estão raramente associados às doenças humanas (Zink *et al.* 1982). As estirpes do biotipo 2 sorotipo 0:9 (2/0:9), também são importantes veículos de doenças humanas na Europa, mas sua presença não foi relatada na América do Norte (Gilmour & Walker, 1988). Nos Estados Unidos, o principal responsável por doenças gastrointestinais é o biosorotipo 1/0:8, enquanto o 4/0:3 raramente é responsável por essas doenças (Gilmour & Walker, 1988).

No Brasil, Fontes *et al.* (1978) e Pizsolitto e colaboradores (1979), estes citados por Swaminathan *et al.* (1982), relataram a identificação do sorotipo 0:3 como responsável, em dois casos separados, por yersiniosis em crianças.

As estirpes de Yersinia enterocolitica pertencentes aos biotipos 2,3 e 4 de Niléhn têm demonstrado fatores virulentos associados com a patogenicidade (Hill et al., 1983). Zink et al. (1980), demonstraram que um plasmídeo de peso molecular de 41 megadaltons mediava a invasão de tecidos. Em estudos subsequentes, verificaram que esse plasmídeo também mediava as propriedades de autoaglutinação, a dependência de cálcio, a produção dos antígenos V e W a 35°C e a expressão de pelo menos 3 polipeptídeos da "outer membrane" (Zink et al. 1982). Segundo Harakeh & Matin (1989), esses polipeptídeos seriam essenciais para a patogenicidade. A relação entre esses fenômenos e a virulência ainda não está totalmente compreendida. Porém, é evidente que o plasmídeo desempenha um papel importante na virulência e a sua presença é fator fundamental para a patogenicidade dessas estirpes (Zink et al. 1982).

Algumas propriedades fenotípicas dependentes de temperatura estão associadas à presença desse plasmídeo. A elevação da temperatura de desenvolvimento, em torno de 37°C, provoca a perda do plasmídeo, indicando uma possível instabilidade destes elementos genéticos extracromossômicos, consequentemente a perda da virulência e o desaparecimento das características associadas (Bhaduri *et al.*, 1988).

6. ENTEROTOXINA

Feeley e colaboradores (1977), citados por Stern (1982), observaram que estirpes de Yersinia enterocolitica produziam uma enterotoxina a 25°C, mas não a 35°C. Zink et al. (1982), Gilmour & Walker (1988) citam que Pai e colaboradores (1978) demonstraram que a maioria (90-100%) das estirpes produtores de enterotoxina pertencem aos bio-sorotipos, que comumente estão associados às doenças humanas. Pai & Mors (1978), citados por Stern (1982), sugeriram que a enterotoxina produzida por Yersinia enterocolitica era similar à enterotoxina termoestável produzida pela Escherichia coli enteropatogênica. Essa enterotoxina resiste ao tratamento a 121°C por 30 min., ao armazenamento a 4°C por sete meses e tem estabilidade em faixa de pH de 1-11 (Swaminathan et al. 1982). Portanto, esses autores concluíram que essa enterotoxina pode resistir a um processamento normal de alimentos e ao pH ácido do estômago (Swaminathan et al. 1982).

7. SINTOMATOLOGIA

Os sintomas clínicos provocados por infecções devidas *Yersinia* enterocolitica variam dependendo de estirpe (sorotipo e biotipo), da dose, de fatores genéticos (Swaminathan et al. 1982), da idade e do estado fisiológico do hospedeiro (Bottone, 1977). Gastroenterites e linfadenites mesentéricas são sintomas predominantes em bebês, crianças e adolescentes. Desordem abdominal aguda, diarréia e artrite são as principais manifestações clínicas entre pessoas com idade de 20-60 anos. O eritema nodoso é encontrado em pessoas idosas com mais de 60 anos (Swaminathan et al. 1982).

O período de incubação varia de 1 a 11 dias e a dose mínima infecciosa ainda não foi determinada (Borch *et al.*, 1996).

8. INCIDÊNCIA

A incidência maior de surtos de yersiniosis ocorre durante os meses de outono e inverno, e em alguns países europeus têm mostrado coincidir com o abate doméstico de leitões durante as ocasiões festivas (Bottone, 1977; Swaminathan *et al.*, 1982).

Yersinia enterocolitica parece estar bem distribuída nos ecossistemas aquáticos e terrestres (Zink et al., 1982). Infecções humanas devido a essa bactéria vêm sendo relatadas em vários países nos cinco continentes (Tabela 1) (Swaminathan et al. 1982).

Tabela 1. Isolamento de Yersinia enterocolitica a partir de seres humanos, animais e de ambiente (1974-1979)

	Números de Isolamento	os
Acima de 1000	100-1000	Abaixo de 100
Bélgica	Checoslováquia	а
Canadá	Dinamarca	Argentina
Hungria	Alemanha Oriental	Austrália
Suécia	Finlândia	Brasil
	Japão	Bulgária
	Noruega	Camarões
	Holanda	Grécia
	África do Sul	Irã
	Estados Unidos	Israel
	Alemanha Ocidental	Itália
	Polônia	Espanha
		Suíça
		Reino Unido
		União Soviética
		lugoslávia
		Zaire

Fonte: Mollaret et al., 1979, apud Swaminathan et al. (1982)

Como uma conseqüência da associação entre Yersinia enterocolitica 4/0:3 e leitões, a incidência desse microrganismo em produtos de carne suína vem sendo bastante investigada. Algumas vezes, os bio-sorotipos isolados estão associados a doenças humanas e, outras vezes, não (Gilmour & Walker, 1988).

Alguns estudos tem sido realizados que revelaram diferentes taxas de ocorrência em diversos tipos de alimentos. Tibana et al. (1987) estudaram a ocorrência de Yersinia sp. em amostras de leite cru e pasteurizado na cidade do Rio de Janeiro. Esses autores encontraram Yersinia sp. em. 16,9% das amostras analisadas de leite cru e, destas, 32,4% eram Yersinia enterocolitica. No leite pasteurizado, em 13,7% das amostras analisadas eram Yersinia sp. e. destas. 41.5% eram Yersinia enterocolitica. O isolamento ocasional dessa bactéria pasteurizado é devido, provavelmente, à contaminação pós-pasteurização e não a sua termorresistência (Schiemann, 1989). Hughes (1980) atribuiu a presença desse microrganismo em leite pasteurizado à sanificação inadequada dos tanques de estocagem.

Schiemann (1980) pesquisou a presença desse microrganismo em produtos de carne suína in natura e processados. Segundo esse autor, o isolamento foi feito com maior freqüência nos produtos in natura (49%). Desses, 40 % foram sorotipáveis, sendo que os sorotipos 0:3 e 0:5 ocorreram mais freqüentemente e cerca de 32% dos isolados produziram uma enterotoxina termoestável. Ainda, de acordo com esse autor, os produtos de carne suína no varejo apresentaram sorotipos idênticos àqueles que estão normalmente associados a doenças humanas.

Myers et al. (1982) investigaram Yersinia enterocolitica em amostras de produtos de carne suína embalados a vácuo e em carne suína congelada, detectando-a em 18% das amostras analisadas. Segundo Swaminathan et al. (1982), estudos realizados na Alemanha Ocidental revelaram que 28,9% de amostras de frango, 34,5% dos produtos de carne suína e 10,8% de produtos de carne bovina, obtidos de um mercado varejista, estavam contaminados por essa bactéria. Doyle & Hugdah (1983) isolaram esse microrganismo em 36% das amostras de língua de suíno analisadas.

No Brasil, Warnken *et al.* (1987) pesquisaram a incidência de *Yersinia* sp. em vários produtos cárneos (carne bovina e suína, miúdos de frango, fígado bovino) e isolaram 9 estirpes identificadas como *Yersinia enterocolitica* dos sorotipos 0:3, 0:4, 0:6, 0:16, 0:13 e 0:14.

Ibrahim & Mac Rae (1991) investigaram a presença de Yersinia sp. em carne bovina, suína e ovina, leite cru e pasteurizado coletadas em mercado varejista da Austrália. Neste estudo, a espécie predominante foi Yersinia enterocolitica em todas as amostras analisadas, com exceção do leite pasteurizado, onde esta espécie não foi detectada. A taxa de isolamento foi variável com as mais altas percentagens em carne bovina (20%) e a mais baixa em carne ovina (12%) enquanto que, a taxa de recuperação foi de 14% em carne suína e 16% em leite cru.

Khare et al. (1996) verificaram a incidência de Yersinia sp. em 38 amostras que incluíam produtos de peixe e de suínos e carne bovina. Estes autores isolaram 302 estirpes, principalmente de Yersinia Yersinia Yersinia enterocolitica Yersinia intermedia. pestis. pseudotuberculosis. Neste estudo, a espécie predominante foi Yersinia intermedia e os isolados de Yersinia enterocolitica eram de biotipos nãopatogênicos

9. FONTES

Yersinia enterocolitica e espécies correlatas estão presentes em todos os ecossistemas aquáticos e terrestres (Garcia de Fernando et al., 1995).

Essa bactéria tem sido isolada de córregos, lagos, água de poços (Zink et al., 1982); entretanto, os isolados de água, em geral, diferem daqueles implicados em doenças humanas (Swaminathan et al. 1982).

Essa bactéria tem sido isolada de córregos, lagos, água de poços (Zink et al., 1982); entretanto, os isolados de água, em geral, diferem daqueles implicados em doenças humanas (Swaminathan et al. 1982).

Highsmith et al., (1977) investigaram a presença de Yersinia enterocolitica em amostras de água de poço durante um surto de gastroenterite e observaram que a maioria dos isolados eram predominantemente do biotipo (esquema de Niléhn). Esses autores estudaram comportamento de alguns desses isolados em água destilada estéril, sem adição de nutrientes, a 4, 25 e 37°C. O crescimento da bactéria ocorreu em todas as temperaturas durante as 40 primeiras horas e os tempos de geração, para cada temperatura, foram 8,4 horas, 7,7 horas e 18 horas, respectivamente. Porém, outros investigadores, como Mehlman et al. (1978) relataram que Yersinia enterocolitica não sobrevive e nem se multiplica em água, a baixas temperaturas, na ausência de nutrientes. A habilidade desse microrganismo de sobreviver e desenvolver-se em

águas destilada, potável e de poço pode representar um risco potencial à saúde, principalmente para os indivíduos que ingerem água que contém esse microrganismo (Highsmith et al., 1977).

Os principais reservatórios de Yersinia enterocolitica estão no reino animal (Bottone, 1977). Os sorotipos de Yersinia enterocolitica que, normalmente, estão envolvidos em infecções humanas freqüentemente são isolados de suínos (leitões) saudáveis em idade de abate (Bottone, 1977; Lee, 1977; Swaminathan et al., 1982; Zink et al., 1982; Gilmour & Walker, 1988;. Schiemann, 1989). Por este motivo, Mollaret (1971), citado por Lee (1977), considera os leitões uma importante fonte zoonótica de infecções por Yersinia enterocolitica.

Segundo Zink et al. (1982), apesar dos suínos serem considerados uma fonte natural desse microrganismo, há poucos dados para determinar se a carne desses animais é ou não a principal responsável por infecções humanas. Portanto, uma conexão exata entre os suínos e as infecções humanas com o sorotipo 0:3, precisa ainda ser estabelecida (Schiemann, 1980; Swaminathan et al., 1982; Gilmour & Walker, 1988).

De acordo com Garcia de Fernando et al. (1995) produtos provenientes de suínos são possivelmente, as principais fontes responsáveis pela yersiniose em seres humanos.

Outras fontes possíveis de Yersinia enterocolitica são cães, gatos, ratos, pequenos roedores, lebres, chinchila, cavalos, macacos, cabras, carneiros, frangos, entre outros, mas, normalmente, os bio-sorotipos não são aqueles comumente associados às infecções humanas (Bottone, 1977; Lee, 1977; Swaminathan et al., 1982; Gilmour & Walker, 1988;. Schiemann, 1989).

O homem também é um dos reservatórios importantes de *Yersinia* enterocolitica (Zink et al., 1982). De acordo com Gilmour & Walker (1988), estirpes desse microrganismo foram isoladas de indivíduos saudáveis na Bélgica e no Japão, sendo tais indivíduos portadores assintomáticos da bactéria.

Yersinia enterocolitica não se restringe somente a animais de sangue quente e seus produtos; tem sido também isolada de amostras de camarão, ostras, siri, bem como de vegetais (Zink et al., 1982).

10. ALIMENTOS

Yersinia enterocolitica pode ser isolada de uma grande variedade de alimentos, especialmente os de origem animal (Palumbo, 1986). Entre estes pode-se citar: carne suína e bovina, cordeiro, aves, leite e seus produtos, vegetais e alimentos marinhos (De Boer et al., 1982; Swaminathan et al., 1982; Zink et al., 1982; Moustafa et al., 1983; Fukushima, 1985; Gilmour & Walker, 1988; Tsay & Chou, 1989).

Alguns autores, como Stern et al. (1980a) e Palumbo (1986), sugerem que Yersinia enterocolitica, como um microrganismo enteropatogênico com capacidade de crescer em temperaturas de refrigeração, pode ser transmitido através de alimentos, provocando surtos infecciosos.

Em contraste, De Boer et al. (1982), Walker & Gilmour (1986) e Gilmour & Walker (1988) reconhecem que, apesar deste microrganismo Ter sido isolado de uma grande variedade de gêneros alimentícios, muitas vezes os isolados são atípicos e, como tal, não estão associados a doenças.

Black e colaboradores (1978), citados por Stern & Pierson (1979), Schiemann (1980), Stern et al. (1980b), De Boer et al. (1982), Moustafa et al. (1983), Walker & Gilmour (1986) e Palumbo (1986), relataram que o único surto, até agora documentado, de infecção por Yersinia enterocolitica veiculada por um alimentos aconteceu no estado de Nova York, entre crianças escolares, com leite achocolatado. Nesse surto, o leite aparentemente tornou-se contaminado durante o processamento, após a fase de pasteurização.

Yersinia enterocolitica tem sido freqüentemente isolada de leite cru, mas com exceção de uns poucos isolados do sorotipo 0:5,27, nenhum foi identificado como patogênico Schiemann (1989). Walker & Gilmour (1986) trabalharam com amostras de leite cru e pasteurizado para o isolamento de Yersinia sp.. Os microrganismos foram mais freqüentemente isolados de leite de vaca cru do que das amostras de leite pasteurizado. Yersinia enterocolitica foi a espécie mais freqüente e, na maioria das vezes, pertencente ao biotipo 1 (74,1% dos isolados).

A presença de Yersinia enterocolitica em leite cru e pasteurizado foi investigada por Ibrahim & Mac Rae (1991). Em 150 amostras de leite bovino cru, a taxa de recuperação deste microrganismo foi de 16% e em 50 amostras de leite bovino pasteurizado a presença desta bactéria não foi detectada.

Hanna et al. (1976) isolaram várias estirpes atípicas de Yersinia enterocolitica em carne bovina embalada a vácuo e também em carne de cordeiro. Estudos realizados por Seideman e colaboradores (1976), citados por (Swaminathan et al., 1982), indicaram que esse microrganismo poderia sobreviver mais de 35 dias em pacotes de

costela bovina. Gil e Newton (1979) relataram que Yersinia enterocolitica foi consideravelmente detectada, em número elevado, em carne escura, firme e seca embalada a vácuo.

Ibrahim & Mac Rae (1991) investigando a presença de Yersinia enterocolitica e espécies correlatas em 150 amostras de carne vermelha (bovina, suína e ovina), detectaram que o número maior de isolamentos ocorreu em carne bovina (20%) seguida pela carne suína (14%) enquanto que na carne de ovinos foram encontrados os menores níveiss deste microrganismo. Segundo estes autores, os níveis detectados em carne vermelha foram, principalmente, em decorrência da grande variedade das amostras analisadas.

11. TRANSMISSÃO

Dados importantes de incidência de Yersinia enterocolitica e espécies afins em alimentos estão bem documentados em vários países por todo mundo. Entretanto, devido à raridade de isolamentos em alimentos, de patógenos humanos como os sorotipos 0:3, 0:5,27, 0:8 e 0:9, a rota de transmissão dessas bactérias precisa ainda ser estabelecida (De Boer et al., 1982; Delmas & Vidon, 1985).

Somente uns poucos pesquisadores têm avaliado as características patogênicas dos isolados de alimentos. Portanto, o mero isolamento desse microrganismo é insuficiente para imputar alguma importância para a saúde pública (Swaminathan et al., 1982).

Epidemiologicamente, Yersinia enterocolitica tem permanecido à frente dos maiores esforços para se descobrir seu modo de transmissão a partir do seu reservatório natural em animais (e, provavelmente, o homem) para produzir infecções (Bottone, 1977).

A contaminação de produtos alimentícios pode ser uma possível fonte de infecção. Alguns pesquisadores têm sugerido que *Yersinia* enterocolitica pode ser transmitida direta ou indiretamente para os alimentos e para a água através de contaminação fecal, ou através da urina de animais portadores de *Yersinia enterocolitica* (Tsay & Chou, 1989).

Embora a epidemiologia de Yersinia enterocolitica não esteja inteiramente estabelecida, as formas de transmissão que têm sido mencionadas são o contato com animais infectados, transmissão pessoa infectada a outra pessoa intra ou interfamília ou consumo de alimentos contaminados (Bottone, 1977; Moustafa et al., 1983).

A existência de portadores assintomáticos de Yersinia enterocolitica também é considerada na transmissão inter-humana (Bottone, 1977).

12. ISOLAMENTO

Um dos principais problemas encontrados para a recuperação de Yersinia enterocolitica em alimentos é proporcionado pela grande variedade de comportamento dos diferentes sorotipos desse microrganismo, em relação aos procedimentos de isolamento (Delmas & Vidon, 1985).

A maioria desses procedimentos recomenda uma ou mais das seguintes etapas de isolamento: (1) o homogenato do alimento é enriquecido em meio seletivo com incubação a 22-32°C por 2 a 5 dias, com posterior plaqueamento em meios sólidos seletivos; (2) o homogenato do alimento é colocado em meio de enriquecimento à frio, com incubação em temperatura de refrigeração por 1 a 4 semanas e, em um ou mais intervalos, alíquotas são retiradas para plaqueamento direto e/ou colocadas em caldos seletivos para posterior plaqueamento em meios sólidos seletivos (Feeley & Schiemann, 1984).

Para o enriquecimento em temperatura ambiente tem sido recomendada a utilização do caldo Rappaport modificado sem carbenicilina (Wauters, 1973), embora este meio seja satisfatório somente para a recuperação dos sorotipos 3 e 9, bem como para inóculos pequenos. Devido ao caráter psicrotrófico, o enriquecimento à frio parece ser adequado à recuperação de Yersinia enterocolitica,. O meio de enriquecimento para este propósito, mais comumente utilizado tem sido a solução-tampão salina-fosfato Mehlman (Schiemann. 1983). et al. (1978)recomendaram suplementação dessa solução com 1% de sorbitol e 0,15% de sais biliares, para aumentar a sensibilidade do meio. De Boer et al. (1982) concluíram que a solução-tampão salina fosfato acrescida de 1% de sorbitol e de 0,15% de sais biliares, como meio de enriquecimento à frio, proporcionou maiores recuperações de Yersinia enterocolitica em produtos avícolas. Segundo esses autores, o número de amostras Yersinia enterocolitica-positiva aumentou com a extensão do tempo de incubação a 4°C de 2 para 4 semanas. Em contraste, Schiemann (1983) encontrou melhores resultados sem esta suplementação e, com outros meios de enriquecimento (caldo tripticase-soja e caldo extrato de levedura-rosa bengal), quando comparados ao meio modificado por Mehlman et al. (1978).

Schiemann (1980) isolou, com mais freqüência, Yersinia enterocolitica de carne suína In natura (49,2%) do que de produtos de carne suína (7,2%). Segundo esse autor, o uso de caldo Rappaport modificado diretamente, sem enriquecimento frio anterior, foi mais produtivo para o isolamento a partir de produtos iln natura do que de produtos processados.

No Brasil, Warnken et al. (1987), utilizando o procedimento de enriquecimento frio com solução-tampão salina fosfato, seguido por tratamento alcalino e plaqueamento em ágar MacConkey e ágar desoxicolato, avaliaram a incidência de Yersinia sp. Em vários produtos cárneos adquiridos em supermercados do Rio de Janeiro, e isolaram 9 estirpes de Yersinia enterocolitica, principalmente em miúdos de frango.

Uboldi Eiroa et al. (1988) adotaram o procedimento de enriquecimento em baixa temperatura, seguido por tratamento alcalino e isolamento em ágar seletivo para Yersinia (Difco®), para a análise de 61 amostras de lingüiças frescas coletadas em supermercados da cidade de Campinas, durante 18 meses. Esses autores detectaram a presença de Yersinia enterocolitica em 9,1% das amostras analisadas por este procedimento.

Portanto, a dependência de isolamento de Yersinia enterocolitica está estritamente relacionada aos métodos utilizados para o enriquecimento e para o isolamento.

13. CONTROLE

Processos de irradiação tem sido utilizados para controlar o desenvolvimento desta bactéria em alimentos.

Amostras de carne bovina fatiada e moída, inoculadas com *Yersinia* enterocolitica, foram submetidas a irradiação de 0,60 a 2,0 KGy e mantidas sob refrigeração (7°C) (AN-HUNG FU et al. 1995). De acordo com estes autores, em carne bovina fatiada, após a irradiação de 1,5 KGy, as células de Yersinia enterocolitica foram reduzidas a níveis não detectáveis e não foi observado nenhum desenvolvimento durante o

período de estocagem. No entanto, para a dose de 0,60 KGy, observaram que o desenvolvimento foi inibido somente no início da estocagem. Em carne bovina moída, as células foram quase totalmente eliminadas. Estes autores concluíram que a irradiação seguida de refrigeração é um processo efetivo para reduzir a carga microbiana de *Yersinia enterocolitica* e aumentar a vida-de-prateleira destes produtos, sem alterar a qualidade sensorial. A eliminação de patógenos foi diretamente relacionada com a dose de irradiação total mas, a dose não foi um fator que afetou a sobrevivência do microrganismo.

No entanto, de acordo com Eley (1996) o controle deste microrganismo é uma tarefa bastante difícil, quase comparada ao controle de Salmonella sp. Em animais. Da mesma forma, Yersinia enterocolitica também apresenta portadores assintomáticos que dificultam o seu controle. Sob o ponto de vista epidemiológico parece que existe uma ligação entre o carreamento desta bactéria em leitões e o aumento das infecções humanas. Desta forma, a transmissão pode ocorrer, principalmente, pela ingestão de carne suína contaminada.

Eley (1996) sugere a necessidade de se educar os manipuladores de alimentos a fim de reduzir as possíveis fontes de contaminação.

Outro fator a ser considerado no controle do desenvolvimento e transmissão é a natureza psicrotrófica desta bactéria que possibilita o seu desenvolvimento em temperaturas de refrigeração (Eley, 1996).

14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AN-HUNG FU; SEBRANEK, J.G.; MURANO, E.A. Survival of *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* and *Escherichia coli* 0157:H7 and quality changes after irradiation of beef steaks and ground beef. **J. Food Sci.**, v.60, n.5, p.972-977, 1995.
- BERCOVIER, H.; BRENNER, D.J.; URSING, J.; STEIGERWALT, A.G.; FANNING, G.R.; ALONSO, J.M.; CARTER, G.P.; MOLLARET, H.H. Characterization of *Yersinia enterocolitica sensu stricto*. **Curr. Microbiol.**, v.4, p.201-206, 1980.
- BHADURI, S.; TURNER-JONES, C.; CONWAY, L.K. Stability of virulence plasmid in *Yersinia enterocolitica* at elevated temperatures. **Food Microbiol.**, v.5, n.4, p.231-233, 1988.
- BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. Intern. J. Food Microbiol. v.30, p.9-25, 1996.
- BOTTONE, E.J. Yersinia enterocolitica: A panoramic review of a charismatic microorganism. Crit. Rev. Microbiol., v.5, p.211-241, 1977.
- BURROWS, T.W.; GILLET, W.A. The nutritional requirements of some *Pasteurella* species. **J. Gen. Microbiol.**, v.45, p.333-345, 1966.
- De BOER, e.; HARTOG, B.J.; OOSTEROM, J. Occurrence of *Yersinia* enterocolitica in poultry products. **J. Food Protect.**, v.45, n.4, p.322-325, 1982.
- DELMAS, C.L.; VIDON, D.J.M. Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from foods in France. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.50, n.4, p.767-771, 1985.
- DOYLE, M.P.; HUGDAH, M.B. Improved procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.45, n.1, p.127-135, 1983.
- ELEY, A.R. Infective bacterial food poisoning. In: ELEY, A.R. ed. **Microbial food poisoning**. London:Chapman & Hall, 1996. cap.2, p.15-35.

- FEELEY, J.C.; SCHIEMANN, D.A. Yersinia. In: Speck, M.L., ed. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2.ed. Washington, D.C.: APHA, 1984. cap.29, p.351-367.
- FONTES, C.F.; TOLEDO, M.R.F.; REIS, M.H.L.; MURAHOVSCHI, J.; TRABULSI, L.R. Isolamento de uma amostra de *Yersinia* enterocolitica das fezes de uma criança, na cidade de São Paulo. **Rev. Microbiol.**, v.9, n.3, p.167-168, 1978.
- FUKUSHIMA, H. Direct isolation of Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis. Appl. Environm. Microbiol., v.50, n.3, p.710-712, 1985.
- GARCÍA DE FERNANDO, G.D.; NYCHAS, G.J.E.; PECK, M.W. Growth/survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres. Int. J. Food Microbiol., v.28, p.221-231, 1995.
- GILL, C.O.; NEWTON, K.G. Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.37, n.3, p.362-364, 1979.
- GILMOUR, A.; WALKER, S.J. Isolation and identification of *Yersinia* enterocolitica and *Yersinia* enterocolitica-like bacteria. J. Appl. Bacteriol., v.65, p.213s-236s, 1988.
- HANNA, M.O.; ZINK, D.L.; CARPENTER, Z.L.; VANDERZANT, C.A. A research note-Yersinia enterocolitica-like organisms from vacuum packaged beef and lamb. J. Food Sci., v.41, n.5, p.1254-1256, 1976.
- HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; ZINK, D.L.; CARPENTER, Z.L.; VANDERZANT, C. Development of Yersinia enterocolitica on raw and cooked beef and pork at different temperatures. J. Food Sci., v.42, n.5, p.1180-1184, 1977a.
- HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; CARPENTER, Z.L.; VANDERZANT, C. Effect of heating, freezing, and pH on *Yersinia enterocolitica*-like organisms from meat. **J. Food Protect.**, v.40, n.10, p.689-692, 1977b.
- HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; CARPENTER, Z.L.; VANDERZANT, C. A research note: heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skim milk. J. Food Sci., v.42, n.4, p.1134-1136, 1977c.

- HARAKEH, S.; MATIN, A. Influence of nutrient-limited growth on pathogenesis-associated outer membrane proteins of *Yersinia enterocolitica*. **J. Appl. Bacteriol.**, v.67, p.209-212, 1989.
- HIGHSMITH, A.K.; FEELEY, J.C.; SKALIY, P.; WELLS, J.G.; WOOD, B.T. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.34, n.6, p.745-750, 1977.
- HILL, W.E.; PAYNE, W.L.; AULISIO, C.C.G. Detection and enumeration of virulent *Yersinia enterocolitica* in food by DNA colony hibridization. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.46, n.3, p.636-641, 1983.
- HUGHES, D. Repeated isolation of *Yersinia enterocolitica* from pasteurized milk in a holding vat at dairy factory. **J. Appl. Bacteriol.**, v.48, p.383-385, 1980.
- IBRAHIM, A.; MAC RAE, I.C. Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from red meat and milk. **J. Food Sci.,** v.56, n.6, 1991.
- KHARE,S.S.; KAMAT, A.S.; DOCTOR, T.R.; NAIR, P.M. Incidence of *Yersinia enterocolitica* and related species in some fish, meat and meat products in India. **J. Sci. Food Agric.** v.72, p.187-195 1996.
- LEE, W.H. Na assessment of *Yersinia enterocolitica* and its presence in foods. **J. Food Prot.**, v.56, n.6, p.1524-1526, 1977.
- MEHLMAN, I.J.; AULISIO, C.C.G.; SANDERS, A.C. Microbiological methods-problems in the recovery and identification of *Yersinia* from foods. **J. Assoc. Anal. Chem.**, v.61, n.4, p.761-771, 1978.
- MOUSTAFA, M.K.; AHMED, A.A-H.; MARTH, E.H. Behavior of virulent *Yersinia enterocolitica* during manufacture and storage of colby-like cheese. **J. Food Prot.,** v.46, n.4, p.318-320, 1983.
- MYERS, B.R.; MARSHALL, R.T.; EDMONDSON, J.E.; STRINGER, W.C. Isolation of pectinolytic *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* from vacuum-packaged pork. **J. Food Prot.,** v.45, n.1, p.33-37, 1982.
- NILEHN, B. Studies on *Yersinia enterocolitica* with special reference to bacterial diagnosis and occurrence in human acute enteric disease. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.**, v.206, p.5-48, 1969.

- PALUMBO, S.A. Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens? **J. Food Prot.**, v.49, n.12, p.1003-1009, 1986.
- SCHIEMANN, D:A. Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products. **J. Food Prot.**, v.43, n.5, p.360-365, 1980.
- SCHIEMANN, D:A. Comparison of enrichment and plating media for recovery of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* from inoculated beef stew. **J. Food Prot.**, v.46, n.11, p.957-964, 1983.
- SCHIEMANN, D.A. Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis. In: Doyle, M.D. ed. Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker, 1989. cap.15, p.601-672,
- SCHIEMANN,D.A.; WAUTERS, W. Yersinia. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3.ed. Washington, D.C.: APHA, 1992. cap. 27, p.433-450.
- SINGH, A.; LeCHEVALLIER, M.W.; McFETERS, G.A. Reduced virulence of *Yersinia enterocolitica* by copper-induced injury. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.50, n.2, p.406-411, 1985.

- SIQUEIRA, R.S. de Comportamento de Yersinia enterocolitica sob condições de processamento de salame tipo italiano e em Lactobacillus plantarum Pediococcus presenca de e Vicosa: UFV-Impr. pentosaceus. Univ.. 1992. 96p. (Tese de Mestrado).
- STERN, N.J. *Yersinia enterocolitica* recovery from foods and virulence characterization. **Food Technol.**, v.36, n.3, p.84-88, 1982.
- STERN, N.J.; PIERSON, M.D. *Yersinia enterocolitica*: a review of the psychrotrophic water and foodborne pathogen. **J. Food Sci.,** v.44, n.6, p.1736-1742, 1979.
- STERN, N.J.; PIERSON, M.D.; KOTULA, A.W. Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures. **J. Food Sci.,** v.45, n.1, p.64-67, 1980a.
- STERN, N.J.; PIERSON, M.D.; KOTULA, A.W. Growth and competitive nature of *Yersinia enterocolitica* in whole milk. **J. Food Sci.,** v.45, n.4, p.972-974, 1980b.
- SWAMINATHAN, B.; HARMON, M.C.; MEHLMAN, I.J. A review Yersinia enterocolitica. J. Appl. Bacteriol., v.52, n.2, p. 151-183, 1982.

- TIBANA, A.; WARNKEN, M.B.; NUNES, M.P.; RICCIARDI, I.D. NOLETO, A.L.S. Occurrence of *Yersinia* species in raw and pasteurized milk in Rio de Janeiro. **J. Food Prot.,** v.50, n.7, p.580-583, 1987.
- TSAY, W.I; CHOU, C.C. Influence of potassium sorbate on the growth of *Yersinia enterocolitica*. **J. Food Prot.**, v.52, n.10, p.723-726, 1989.
- UBOLDI EIROA, M.N.; FALCÃO, D.P.; TANIWAKI, M.H.; SILVEIRA, N.F.A. Pesquisa de *Yersinia* sp. em linguiças frescas comercializadas na região de Campinas. **Col. ITAL**, v.18, n.2, p.134-139, 1988.
- WALKER, S.J.; GILMOUR, A. The incidence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like organisms in raw and pasteurized milk in Northern Ireland. **J. Appl. Bacteriol.**, v.61, n.2, p.133-138, 1986.
- WARNKEN, M.B.; NUNES, M.P.; NOLETO, A.L.S. Incidence of *Yersinia* species in meat samples purchased in Rio de Janeiro, Brazil. J. Food Prot., v.50, n.7, p.578-579, 1987.
- WAUTERS, G. Improved methods for the isolation and recognition of *Yersinia enterocolitica*. **Contr. Microbiol. Immunol.**, v.2, p.68-70, 1973.
- ZINK, D.L.; FEELEY, J.C.; WELLS, J.G.; VANDERZANT, C.; VICKERY, J.C.; ROOF, W.D.; O'DONOVANS, G.A. Plasmid-mediated tissue invasiveness in *Yersinia enterocolitica*. **Nature**, v.283, n.10, p.224-226, 1980.
- ZINK, D.L.; LACHICA, R.V.; DUBEL, J.R. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like species: their pathogenicity and significance in foods. **J. Food Safety,** v.4, p.223-241, 1982.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba 23020-470 Rio de Janeiro, RJ Telefone: (0 XX 21) 410-7400 Fax: (0 XX 21) 410-1090 e 410-1433 e-mail: sac@ctaa.embrapa.br

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO

