

PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN EGGS SOLD IN CARUARU'S STREET FAIR

PESQUISA DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EM OVOS VENDIDOS NA FEIRA LIVRE DE CARUARU

Heitor Felipe de Amorim BATISTA¹, Débora Milenna Xavier ALMEIDA^{1*}, Luan Maurício de LIMA¹; Agenor Tavares Jácome JUNIOR¹.

*Endereço para correspondência: Rua Vereador Fausto Souto Maior, N° 79, Magano, CEP: 55294585, TEL: (87) 99992-3322, Garanhuns-PE, E-mail: deboramilenna06@gmail.com.

¹Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES / UNITA)

ABSTRACT: Eggs are nourishing food, representing a natural growth medium for several microorganisms. *Pseudomonas aeruginosa*, a pathogen associated to diverse nosocomial infections at immunocompromised patients, is considered a microorganism that indicates contamination by organic matter. The infection of the eggs may happen during the laying, as well as it may occur a cross-contamination at numerous situations in which those eggs are handled. We attempt to inquire the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the components of commercialized eggs, as an experimental (laboratorial) work, gathering samples at three main street fairs of Caruaru, excluding eggs with compromised shell. Sampling was collected according to the criteria established by Codex Alimentarius. Asparagine and Acetamide were used in this analysis, and the results were expressed by Most Probable Number (MPN) of the microorganism of interest per gram of feed, obtained through the Hoskins Table. There is a significant presence of *Pseudomonas aeruginosa* in the eggs, most of the time, in the shell and yolk. Its relevance lies in its role as an opportunistic pathogen, causing infections in immunocompromised individuals.

KEYWORDS: *Pseudomonas aeruginosa*; Food Analysis; Food Contamination.

RESUMO: O ovo é um alimento nutritivo, representando um meio de cultura natural para diversos microrganismos. *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno associado a diversas infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos e é considerada um microrganismo indicador de contaminação por material orgânico. Pode haver a contaminação dos ovos no momento da postura, e possibilidade de contaminação cruzada, em diferentes situações em que os ovos são manipulados. Buscamos verificar a presença da *Pseudomonas aeruginosa*, nos componentes dos ovos comercializados. Tratando-se de um trabalho experimental (laboratorial), feito nas três principais Feiras livres da cidade de Caruaru, excluindo ovos com a casca comprometida. A amostragem foi obtida obedecendo os critérios estabelecidos pelo Codex Alimentarius. Na análise utilizou-se o meio de cultura Asparagina e Acetamida.. Os dados foram expressos por meio de Número Mais Provável (NMP) do microrganismo de interesse por grama de alimento obtidos através da Tabela de Hoskins. Existe a presença de *Pseudomonas aeruginosa* nos ovos, sendo a maior parte na casca e na gema. Sua relevância está em seu papel como patógeno oportunista ocasionando infecções em imunocomprometidos.

PALAVRAS-CHAVE: *Pseudomonas aeruginosa*; Análise de Alimentos e Ingestão de alimentos

INTRODUÇÃO:

O ovo é um alimento comum e nutritivo, contendo excelente balanço de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas A, D, E, K e Complexo B, minerais como ferro, fósforo, manganês, potássio, sódio e ácidos graxos. Devido a toda essa riqueza de nutrientes, o ovo representa um meio de cultura natural para diversos microrganismos, dentre eles algumas espécies de bactérias. Dessa forma ovos contaminados podem funcionar, na dieta humana, como veiculadores de patógenos.¹

O ovo é composto pela casca, clara e gema, sendo a casca e a gema as áreas mais sujeitas a contaminação por microrganismos. A casca representa uma barreira física à contaminação, no entanto, contém numerosos poros que podem permitir a entrada de bactérias. A casca do ovo contém 7.000 a 17.000 poros, possuindo de 0,5 a 12,8 micra de diâmetro, para permitir a respiração do embrião e perda de umidade. O contato com as excretas das aves no momento da postura favorece a contaminação. Bactérias podem penetrar por meio das rachaduras microscópicas e dos poros do microrganismo.² A gema é uma grande fonte de lipídeos e nutrientes ótimos para o crescimento bacteriano, já a clara possui vários fatores que podem ser considerados como barreira para crescimento de microrganismos, como por exemplo o pH alcalino.³

A contaminação externa da casca do ovo é importante para determinação de sua vida-de-prateleira e para a segurança dos consumidores. Na tentativa de reduzir problemas decorrentes da contaminação por microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes, os ovos são submetidos a processos como a lavagem da casca e a pasteurização.⁴ Alguns agentes químicos utilizados na lavagem dos ovos podem causar danos físicos ao produto, facilitando, inclusive, a entrada de bactérias patogênicas através da casca.⁵

A legislação brasileira determina condições mínimas de qualidade interna do ovo, no entanto, na prática, somente o peso e as características da casca têm sido considerados.⁶ As principais medidas de qualidade da casca são densidade do ovo, espessura de casca, porcentagem de casca em relação ao peso do ovo e resistência à força física. A qualidade da casca é afetada por fatores genéticos, ambientais, patológicos, fisiológicos, nutricionais e pelo manejo.⁷ Os riscos de contaminação aumentam com a comercialização de ovos sujos, com cascas defeituosas e rachadas, representando perda econômica para o setor avícola e aumenta as possibilidades de contaminação por microrganismos.⁸ Além disso Os processos de criação

de aves acarretam na formação de efluentes ricos em matéria orgânica sendo assim um atrativo para a bactéria.⁹

O albume exerce influência na qualidade interna do ovo, controlando a posição da gema no ovo intacto, sendo a posição e o movimento da gema indicações importantes da qualidade interna.¹⁰ No ovo fresco, a gema está túrgida e localizada centralmente, circundada pelo albume denso e delgado. Já em ovos armazenados por longos períodos, a gema está flácida, frequentemente localizada em um lado, e circundada por uma área ampla de líquido. A temperatura recomendada, pela legislação vigente, para armazenamento do ovo fresco está entre 8°C e 15°C com umidade relativa do ar entre 70 a 90%. De acordo com a Portaria n.1 de 21/02/1990 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento⁶ o período para consumo de ovos frescos é de 30 dias, no entanto, tempo e temperatura de armazenamento para ovos são motivos de discussão permanente.¹¹

Aeróbios facultativos, que incluem membros da família das *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e as leveduras, podem estar presentes em pequeno número no baixo intestino e contaminar os ovos no momento da postura. Existe também a possibilidade de contaminação cruzada, que pode ocorrer em diferentes situações em que os ovos são manipulados ou utilizados no preparo de alimentos.¹

A *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno associado a diversas infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos. Uma característica de relevância para explicar essas prevalências é a facilidade de adesão e formação de biofilmes.¹² Além disso essa bactéria é considerada um microrganismo indicador de contaminação por material orgânico.¹³

É de suma importância detectar a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em alimentos, como os ovos, para que se possa ter um controle de qualidade para com a matéria prima, bem

como alertar o comerciante e o consumidor sobre os riscos à saúde. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é avaliar a presença da *Pseudomonas aeruginosa* nos ovos comercializados nas feiras livres da cidade de Caruaru.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um trabalho experimental (laboratorial). Foram escolhidas as três principais Feiras livres da cidade de Caruaru sendo elas a Feira da Cohab, Feira do Salgado e Feira do Parque 18 de Maio. A análise foi realizada no período de janeiro a maio de 2018. Teve como critério de inclusão ovos vendidos nas principais feiras livres da cidade de Caruaru, vendidos em bancas que comercializavam exclusivamente ovos. E como critério de exclusão, ovos com a casca comprometida ou em estado de putrefação. A amostragem foi obtida obedecendo os critérios estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*. Foram contadas as bancas que comercializam ovos em cada uma das feiras, sendo selecionadas 10% do total. Entre as selecionadas, foi coletado 5 a 10% das unidades de ovos comercializados naquela banca. A seleção das bancas e dos ovos obedeceu aos critérios de elegibilidade descritos nesse trabalho. As amostras foram compradas como consumidor não sendo necessário o uso de carta de anuência dirigida aos comerciantes. Posteriormente elas foram identificadas e levadas na própria embalagem fornecida pelo comerciante. As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo baterias de gelo a temperatura de 4°C para o Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico de Alimentos do Centro Universitário Tabosa de Almeida-ASCES/UNITA. Foi feita a separação dos três principais componentes do ovo (casca, clara e gema). A casca foi processada com solução salina no liquidificador industrial previamente esterilizado por meio de autoclavagem a 121°C/15min. Todos os procedimentos foram feitos em condições estéreis dentro de uma capela de fluxo laminar. Do caldo obtido das amostras foram retiradas alíquotas para a realização das análises bacteriológicas. A redução da amostra bruta se deu por meio da trituração dos alimentos seguido do seu

quarteamento, sendo desprezados 2/4 do peso total, gerando com isso a amostra de laboratório. A Clara e a gema por já serem líquidas foram quarteadas e desprezados 2/4 do peso total, assim já estando prontas para a análise. A identificação e quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* ocorreu pela inoculação da amostra liquefeita através da técnica de tubos múltiplos como recomendado pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater , sendo utilizado o meio de cultura Asparagina como etapa presuntiva para detecção de *Pseudomonas sp.* e a Acetamida para confirmação do agente de interesse. Os dados alcançados foram armazenados em um banco de dados utilizando o aplicativo Excel, sendo expressos por meio dos valores encontrados de Número Mais Provável (NMP) do microrganismo de interesse por grama de alimento (NMP/g), obtidos através da Tabela de Hoskins. Para classificação do grau de contaminação, foi criado um índice, desenvolvido neste estudo, estratificando o resultado em 5 partes, de acordo com a Tabela I, tendo como base as faixas de NMP/g, com a finalidade de se estabelecer o índice de contaminação das amostras pela *Pseudomonas aeruginosa*.

A pesquisa foi desenvolvida sob aspectos de extrema confidencialidade, assim como dos seus resultados laboratoriais analisados. Estes foram utilizados com fins estritamente acadêmicos, científicos e para prestação de serviço social, através de práticas educativas continuadas.

RESULTADOS

Após a realização das análises, foi visto que as amostras das três feiras livres trouxeram resultados positivos para o microrganismo analisado nas três partes do ovo (casca, clara e gema) Tabela II. Os dados alcançados foram expressos por meio dos valores encontrados de Número Mais Provável (NMP) do microrganismo de interesse por grama de alimento obtidos através da Tabela de Hoskins. Na primeira feira, foram encontrados na casca 34NMP/g, na clara 4 NMP/g, na gema 12 NMP/g. Já na segunda feira: casca 14NMP/g, na

clara 4 NMP/g e na gema 500NPM/g e por fim na terceira feira, 9 NMP/g na casca, 23NMP na clara e 9 NMP da gema. Esses resultados indicam o período de contaminação visto que os ovos mais frescos tiveram uma contaminação inferior na gema, em comparação a casca e clara.

DISCUSSÃO:

Pseudomonas aeruginosa suporta níveis de pH de 8 a 9 conseguindo atravessar a barreira química da clara, no entanto a contaminação do ovo vai depender da temperatura do ambiente.¹¹ Algumas bactérias entre elas a *Pseudomonas aeruginosa*, em temperatura de 30° C há migração da casca até a gema, no entanto a 7°C não houve migração. Comumente existem mais bactérias na gema, comparado com a clara, pois a clara perde água para a gema o que a torna mais diluída possibilitando um contato interno.¹⁴

Com base nesses resultados foi constatado que houve crescimento nas três partes do ovo analisadas, no entanto o crescimento na gema trouxe uma atenção especial. Para que o microrganismo entre no ovo é preciso atravessar a barreira física da casca, e cutícula, podendo isso se dá através de micro rachaduras, tendo em vista que seu local de postura tem um alto teor de material orgânico, decomposto por varias bactérias, como a *Pseudomonas aeruginosa*. Dentro do ovo, a bactéria tende a migrar até a gema, onde terá condições favoráveis ao seu crescimento, como: nutrientes, água, pH ideal e temperatura, já que a clara se apresenta expeça e possui um pH de 9-10. Uma vez dentro da gema, a bactéria retira seus nutrientes e vai deixando-a mais viscosa e sem cor. Assim pode-se dizer que a carga bacteriana na gema é diretamente proporcional ao tempo de vida do ovo, em condições normais de temperatura.¹⁵

Durante o estudo foi constatado que os ovos mais frescos continham mais microrganismos na casca e clara. Já nos mais velhos, a maior carga bacteriana estava na gema. Vale ressaltar que a positividade em grande parte das amostras traz um resultado

preocupante de acordo com o manejo desse alimento. É necessário advertir que não é indicado a lavagem da superfície da casca, pois é removida a cutícula, que impede a entrada de outros microrganismos pelos poros da casca, fazendo-se necessário que assim que lavados, sejam consumidos.

A *Pseudomonas* não resiste a altas temperaturas, podendo ser eliminada durante o cozimento, no entanto, por ser um microrganismo indicador, outros patógenos podem estar associados a essa contaminação, como os patógenos *Salmonella* e *Shigella*.

CONCLUSÃO:

O ovo é um alimento presente na dieta da maioria das pessoas, por ser de fácil acesso e possuir um alto teor nutritivo. O manejo de produção desse alimento o deixa próximo de fontes de material orgânico em decomposição que possuem um índice elevado de *Pseudomonas aeruginosa*, que cumpre o papel de principal decompositor desse alimento

REFERENCIAS:

1. Andrade MA, Café MB, Jayme VS, Rocha PT, Leandro NSM, Stringhini JH, Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. Rev Ciência Animal Brasileira. 2004; 5(4): 221-8
2. Vieira LAF, Pinho MD, Pinheiro IP, Silva SN. Obtenção de óxido de cálcio a partir da casca de ovo de galinha. The Journal of Engineering and Exact Sciences. 2017; 3(8): 1159-1166
3. Pascoal LAF, Bento Junior FA, Santos WS, Silva RS, Dourado LRB, Bezerra PA. Qualidade de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Imperatriz-MA. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 2008; 9(1): 150-7

4. Aragon-Alegro LC, Souza KLO, Sobrinho PSC, Landgraf M, Destro MT. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. Rev Ciênc. tecnol. aliment, Campinas. 2005; 25(3): 618-622
5. Leandro NSM, Deus HASB, Stringhini JH, Café MB, Andrade MA, Carvalho FB. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia. Rev Ciência Animal Brasileira. 2005; 6(2): 71-78
6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 1 de 21 de Fevereiro de 1990. Publicada em 06 de Março de 1990. Oficializa as Normas gerais de inspeção de ovos e derivados. Brasília. DF: 21 Fev. 1990.
7. Fernandes DPB, Mori C, Nazareno AC , Pizzolante CC , Moraes JE. Qualidade interna de diferentes tipos de ovos comercializados durante o inverno e o verão. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2015;67(4):1159-1165
8. Pinto AT , Silva EM. , Ensaio de penetração de Salmonella enteritidis em ovos de galinha com diferentes qualidades de casca, submetidos ou não a lavagem industrial e a duas temperaturas de armazenagem. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2009; 61(5):1196-1202
9. Nolasco MA, Baggio RB, Griebeler J. Implicações ambientais e qualidade da água da produção animal intensiva Rev. Curitiba. 2005; 3(2):19-26
10. Quadros DG, Jesus TR, Kanematsu CH, Sá AM, Silva GAVS, Silva ALR et al. Qualidade de ovos de galinha comercializados em Barreiras, BA, estocados em diferentes condições de temperatura. Revista Acadêmica: Ciência Animal. 2011; 9(4): 363-9
11. Mendes FR, Leandro NSM, Andrade MA, Café MB, Santana ES, Stringhini JH. Qualidade bacteriológica de ovos contaminados com *Pseudomonas aeruginosa* e

armazenados em temperatura ambiente ou refrigerados. *Ciênc. Anim. Bras.* 2014 Dec 15 (4):444-450.

12. Quatrin PM, Comim VM, Lopes LQS, Gündel A, Vaucher RA, Santos RCV. Avaliação de diferentes substratos para a formação de biofilmes in vitro de pseudomonas aeruginosas. *Disciplinarumscientia.* 2015 Dec 16 (2):191-203.
13. Silva AFS, Lima CA, Queiroz JJF, Jácome PRLA, Júnior ATJ. Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas. *Ambiente&Água An Interdisciplinary Journal Applied Science.* 2016 Apr/Jun 11 (2):429-39.
14. Alleoni ACC e Antunes AJ. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. *Sci. agric. [online].* 2001 Dec 58 (4):681-5.
15. Leandro NSM, Deus HAB Stringhini JH, Café MB, Andrade MA, Carvalho FB. Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de Goiânia. *Rev. Ciênc. Anim. Bras.* 2006 out. 6 (2):71-8.

ANEXOS:

Tabela I. Índice de contaminação microbiana expressos em NMP/g.

Índice de contaminação	Classificação	NMP/g
0	Negativo	<2
1,0	Baixo	2 a 9
1,1	Intermediário	11 a 90
1,4	Alto	110 a 900
1,7	Muito Alto	1600 ou >1600

Tabela II. Resultados das contaminações microbianas da casca, clara e gema respectivamente, expressos em NMP/ml.

Feiras	Casca	Clara	Gema
Feira do salgado	34 NMP/ML	4 NMP/ML	12 NMP/ML
Feira da Sulanca	14 NMP/ML	4 NMP/ML	500 NMP/ML
Feira da Cohab	9 NMP/ML	23 NMP/ML	9 NMP/ML