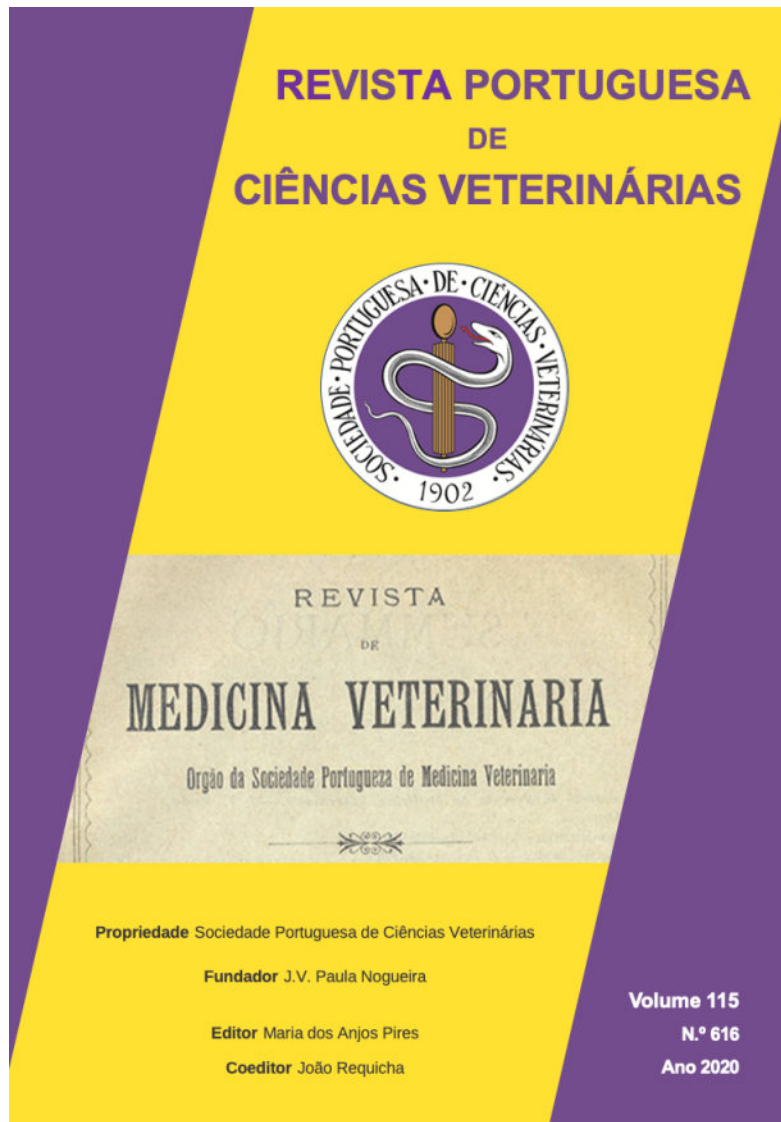


**Ocorrência e identificação de Enterobacteriaceae em ovos
comercializados na cidade de Ceres-GO**

Alinni A. Fernandes, Waldeliza F. Cunha, Jorge F. Cieslak, Emiliane S. Belo, Jéssica S. Ramos, Paulo R. S. C. Leite

**Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias
(2020) 115 (616)**



Propriedade: Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias | **Fundador:** J.V. Paula Nogueira | **Editor:** Maria dos Anjos Pires | **Coeditor:** João Filipe Requicha | **Contatos:** Faculdade de Medicina Veterinária. Pólo Universitário do Alto da Ajuda, Sala C3.66. Av. da Universidade Técnica. 1300-477 Lisboa – Portugal | ☎ +351 213 580 221/2 | @ spcv.pt@gmail.com | http://www.spcv.pt/ | **Apoio:** Fundação para a Ciência e a Tecnologia | **Design gráfico:** Nelson Ribeiro | **ISSN 0035-0389.**

É permitida a reprodução do conteúdo desta revista - *The reproduction of the content of this publication is permitted* | Desejamos estabelecer permuta com outras publicações - *We wish to establish exchange with other publications* | Os trabalhos submetidos para publicação são analisados por especialistas - *Papers submitted for publication are peer reviewed*

Ocorrência e identificação de *Enterobacteriaceae* em ovos comercializados na cidade de Ceres-GO

Occurrence and identification of Enterobacteriaceae in eggs marketed in the city of Ceres-GO

Alinni A. Fernandes¹, Waldeliza F. Cunha¹, Jorge F. Cieslak¹, Emiliane S. Belo¹, Jéssica S. Ramos¹, Paulo R. S. C. Leite^{1*}

¹Instituto Federal Goiano – Campus Ceres.

Resumo

A qualidade microbiológica de ovos é importante para a saúde do consumidor. Assim, objetivou-se avaliar a ocorrência e identificar *Enterobacteriaceae* em ovos comerciais. Foram utilizados 210 ovos, sendo 100 unidades provenientes de supermercados e 110 ovos oriundos de mercados locais, todos comercializados na cidade de Ceres-GO (Goiás, Brasil). Os ovos foram acondicionados e transportados ao laboratório de microbiologia do Instituto Federal Goiano Campus Ceres para análise e pesquisa de *Enterobacteriaceae*. As amostras positivas foram repicadas em ágar nutritivo e enviadas ao Laboratório de enterobactérias do Instituto Osvaldo Cruz (Fiocruz) – Rio de Janeiro para realização da tipificação sorológica. A maior ocorrência foi de *Escherichia coli* (20%) em ovos adquiridos no supermercado, seguindo-se *Citrobacter freundii* e *Morganella morganii* com uma ocorrência de 10% cada uma. Todas as amostras provenientes de mercados locais apresentaram *Enterobacteriaceae* isoladas na casca, destacando-se: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia*.

Palavras-chave: alimento. *Escherichia coli*. higiene. microbiologia.

Summary

Microbiological quality of eggs is important for consumer health. The aim of this study was to perform the analysis of the occurrence of Enterobacteriaceae in commercial eggs. We used 210 eggs, 100 units from supermarkets and 110 eggs from local markets, all marketed in the city of Ceres-GO (Goiás, Brasil). The eggs were packed and transported to the microbiology laboratory of the Goiano Campus Ceres Federal Institute for analysis and research of Enterobacteriaceae. The positive samples were streaked in nutrient agar and sent to the Enterobacteria Laboratory of the Osvaldo Cruz Institute (Fiocruz) – Rio de Janeiro for serological typification. Escherichia coli (20%) presented the highest occurrence in eggs from supermarket, followed by Citrobacter freundii and Morganella morganii with an occurrence of 10% each. All samples from the local markets presented Enterobacteriaceae isolated in the eggshell, highlighting: Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella and Escherichia.

Keywords: food. *Escherichia coli*. hygiene. microbiology

1. Introdução

A produção brasileira de ovos atingiu aproximadamente 44,5 bilhões de unidades em 2018, a maior quantidade da série histórica, iniciada em 1987. Essa quantidade produzida é 99,6% para atender o mercado interno, pois somente 0,4 % é exportado. Em 2017 o consumo per capita foi de 192 unidade/ano já em 2018 esse valor chegou a 212 ovos (ABPA, 2019).

O ovo é um alimento de excelência na composição da dieta humana, possui proteína de alto valor biológico e também é rico em valor nutricional, proporcionando grandes benefícios para saúde. Assim, o aumento do consumo de ovos e a utilização de seus benefícios nutricionais pela população dependem da sua qualidade final (Netto et al., 2018; Salgado et al., 2018).

Para obter a qualidade, o ovo, como importante complemento dos nutrientes de que o organismo precisa, não deve conter bactérias patogênicas, o que implica adoção de medidas higiênicas e sanitárias, desde a exploração produtora de ovos até à sua comercialização (Leite et al., 2016).

É importante diminuir o nível de contaminação bacteriana nos ovos, pois anormalidades nas cascas podem potencializar a entrada de agentes patogênicos por meio de penetração na superfície da casca para o interior do ovo. Além disso, a exposição dos ovos a temperaturas não recomendáveis e armazenamento inadequado também são fatores que aumentam a contaminação da casca (Gole et al., 2014).

Para avaliar a qualidade higiênica é necessário conhecer os índices de coliformes totais. Os coliformes fecais são utilizados como indicador de contaminação fecal, visto presumir-se que a população deste grupo apresenta alta proporção de *Escherichia coli* (*E. coli*), conforme Cardoso et al. (2001). Deste modo, este estudo tem como objetivo avaliar a ocorrência e identificar *Enterobacteriaceae* em ovos comercializados na cidade de Ceres-GO.

2. Material e Métodos

Foram utilizados 210 ovos, de lotes diferentes, sendo 100 unidades provenientes de supermercados e 110 ovos oriundos de mercado local, sendo todos comercializados na cidade de Ceres- GO, no período de maio a setembro de 2014. Após a aquisição, sob condições normais de comercialização, os ovos foram acondicionados em caixa de isopor higienizada com álcool 70% e transportada ao laboratório de microbiologia do Instituto Federal Goiano Campus Ceres para análise e pesquisa de *Enterobacteriaceae* de acordo com Silva et al. (2017).

Cada amostra analisada foi formada a partir de um “pool” com 10 ovos sendo quebrados assepticamente e separado o conteúdo (albúmen e gema) da casca. As amostras foram processadas em cinco etapas: primeiramente foi realizado o pré-enriquecimento, no qual 25 g da casca foram pesados e adicionados em 225 mL de água Peptonada e posteriormente incubados em estufa bacteriológica tipo Biochemical Oxygen Demand (BOD) a 37°C por 24h. A segunda etapa consistiu no enriquecimento seletivo, em meios de cultura da marca Kasvi, em que foi retirado 1mL de cada amostra pré-enriquecida e transferido para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, caldo Tetracionato e caldo Selenito sendo incubados na estufa bacteriológica tipo BOD a 37°C por 24h.

Na etapa seguinte foram retiradas alíquotas com uma ansa de platina e semeadas em placas contendo os meios seletivos indicadores agar Verde brilhante e agar *Salmonella Shigella* as quais foram incubadas em estufa bacteriológica a 37° C por 24h. Após esse tempo, foi observado o crescimento de colônias típicas de *Enterobacteriaceae* que foram selecionadas, entre três a cinco colônias, com as mesmas características morfológicas e semeadas em tubos inclinados de agar Lisina Ferro (LIA) e agar Triple Sugar Iron (TSI) que foram incubados a 37°C por 24 h para realização das provas bioquímicas (fermentação de carboidratos, produção de sulfeto de hidrogênio) e sorológicas (reação anticorpo e antigênio somático e flagelar) de acordo com Silva et al. (2017). As amostras com características bioquímicas de *Enterobacteriaceae* foram repicadas em agar nutritivo e enviadas ao Laboratório de enterobactérias do Instituto Osvaldo Cruz (Fiocruz) – Rio de Janeiro para a realização da identificação da espécie de *Enterobacteriaceae* por meio de técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR).

3. Resultados e Discussão

A partir dos resultados (Tabela 1) foi possível observar a presença de diferentes tipos de *Enterobacteriaceae*, porém não se detetou a presença de *Salmonella* spp. A maior ocorrência foi de *E. coli* (20%) em ovos adquiridos no

supermercado, já no mercado local essa espécie apresentou ocorrência de 18,18%, tal como *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*.

A maior presença de *E. coli*, pode ser explicada pelo facto de ser a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbicos facultativos que fazem parte da microbiota intestinal dos animais (Andrade et al., 2004). Assim, a presença desse agente no alimento deve-se a contaminação de origem fecal, indicativa de condições higiênicas insatisfatórias do produto.

Tabela 1 - Frequência de bactérias *Enterobacteriaceae* isoladas na casca de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na cidade de Ceres-GO.

Supermercado		
Bactérias	Frequência absoluta	Frequência relativa
<i>Providência stuarti</i>	1	10%
<i>Escherichia coli</i>	2	20%
<i>Citrobacter freundii</i>	1	10%
<i>Morganella morganii</i>	1	10%
Total de Positivas	5	50%
Total de Amostras	10	100%
Mercado Local		
Bactérias	Frequência absoluta	Frequência relativa
<i>Enterobacter gergoviae</i>	2	18%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	18%
<i>Citrobacter freundii</i>	2	18%
<i>Escherichia coli</i>	2	18%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	9%
<i>Citrobacter diversus</i>	1	9%
<i>Morganella morganii</i>	1	9%
Total de Positivas	11	100%
Total de Amostras	11	100%

Siqueira et al. (2008) analisaram 680 ovos de codorniz japonesas e identificaram os gêneros *Enterobacter* e *Proteus*, microrganismos que fazem parte da microbiota do trato digestivo das aves que pode infectar ovos e aves jovens, causando perda embrionária, além de onfalites e mortalidade em pintos.

As amostras provenientes dos supermercados apresentaram quatro diferentes espécies de *Enterobacteriaceae* enquanto que as amostras de ovos de mercados locais apresentaram sete espécies de *Enterobacteriaceae*. As espécies de *Enterobacteriaceae*: *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* estavam presentes na casca dos ovos comercializados em mercados locais e em supermercados.

Ainda, foi possível verificar que todas as amostras provenientes de mercados locais apresentaram *Enterobacteriaceae* isoladas na casca e maior

número de espécies de Enterobacteriaceae destacando-se gêneros integrantes do grupo coliformes, tais como: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia*.

Desta forma, ovos adquiridos em supermercado têm origem em explorações sujeitas a controle oficiais e por isso maior controle das condições de higiene e sanitárias, pois são ovos de explorações que possuem serviço de inspeção federal com a lavagem dos ovos.

No Brasil a lavagem é optativa para ovos de consumo, mas é obrigatória na indústria de ovoprodutos, portanto, a limpeza a seco da casca ainda é praticada quando os ovos não são submetidos à lavagem (Oliveira & Oliveira, 2013).

Musgrove et al. (2008) referem que nos Estados Unidos a lavagem de ovos destinados a venda é obrigatória e que antes de se adotar este procedimento os ovos possuíam uma carga de até 83,2% de Enterobacteriaceae e outros microrganismos. Quando lavados a prevalência de Enterobacteriaceae na casca dos ovos disponibilizados aos consumidores passou a ser de 5,1%.

Já Mendes et al. (2014) enfatizaram que para reduzir a contaminação na casca de ovos, quando higienizados, devem ser armazenados a 5°C, durante todo o período de validade nos estabelecimentos comerciais (30 dias de armazenamento). Os autores verificaram o efeito da higienização e da temperatura de armazenamento sobre a qualidade bacteriológica de 250 ovos grandes de poedeiras leves. Assim, destacaram a importância da higienização e refrigeração, já que ovos higienizados e refrigerados apresentaram menor contagem bacteriana na casca em relação aos grupos higienizados e não refrigerados.

Em pesquisa realizada na Austrália, por Gole et al. (2014) avaliaram a superfície da casca, poro da casca e conteúdo interno do ovo, sendo que de 153 isolados foram encontrados 11 gêneros diferentes, incluindo *Cedecea*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Pantoea*, *Salmonella* spp., *Serratia* e *Yersinia*. *Enterobacter* (60%) foi o gênero mais detectado. A casca pode ser contaminada por qualquer superfície com a qual o ovo entra em contacto, exercendo papel importante na contaminação cruzada na cozinha, principalmente em ovos de casca mais fina, situação comum em poedeiras com idade mais avançada e em dieta desequilibrada pela falta de cálcio.

O aspecto físico do ovo é importante em relação a contaminação de microrganismos, pois ovos que possuem peso elevado apresentam menos poros e maior resistência a penetração de microrganismos. A remoção da cutícula do ovo pode ocorrer no momento de lavagem, aumentando as possibilidades de invasão. Na lavagem inadequada, alguns microrganismos são forçados para dentro, através da pressão negativa da água pelos poros (Barancelli et al., 2012).

Além da lavagem, as indústrias podem realizar a aplicação de óleo mineral na casca dos ovos a fim de reduzir a contaminação microbiológica. Nesse sentido, Figueiredo et al., (2014) ao aplicarem óleo mineral na casca dos ovos verificaram menor carga microbiana com ausência de *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, coliformes termotolerantes e fungos, demonstrando que a imersão de ovos em óleo mineral após a limpeza pode diminuir a contaminação por Enterobacteriaceae.

Apesar do isolamento de diferentes bactérias, não se detectou *Salmonella* spp. em ovos comercializados na cidade de Ceres. Pelo contrário, Lima et al. (2018) observaram a presença de *Salmonella* spp. em uma amostra de mercado local, equivalendo a 3% do total de ovos analisados. A RDC n.º 12 de 02 de Janeiro de 2001 determina a ausência de *Salmonella* spp. em 25g de ovos. Sendo assim as amostras encontraram-se de acordo com os padrões legais vigentes (BRASIL, 2001).

No estudo de Gomes Filho et al. (2014) em que avaliaram 180 ovos provenientes de galinhas criadas em fundo de quintal e 80 ovos adquiridos em mercados locais também não detectaram *Salmonella* spp. A espécie de microrganismo mais isolada na casca dos ovos e conteúdo interno foi *Escherichia coli* (13%), em ovos provenientes de mercados locais. Um valor menor do que encontrado no presente estudo (18%).

Embora nas amostras analisadas não se tenha detectado *Salmonella* spp., verificou-se que todas as amostras provenientes de mercados locais e metade das amostras provenientes de supermercados apresentavam contaminação por Enterobacteriaceae. Esta contaminação também foi encontrada por Andrade et al. (2004) que analisaram ovos de galinha oriundas de explorações e de diferentes locais de comercialização em Goiânia e obtiveram frequência de 40% na totalidade de suas amostras. Esses mesmos autores avaliaram especificamente ovos comercializados em supermercados e verificaram contaminação de 35%.

Neste sentido, Mottin et al. (2016) avaliaram a contaminação de ovos de exploração caipira e dentro das 60 amostras, nenhuma apresentou contaminação por *Salmonella* spp, que corroboram com os observados no presente estudo. Para evitar que o consumidor tenha contato com microrganismos é indispensável verificar o prazo de validade, observar se a caixa está limpa, se a casca está intacta sem mancha ou fendas e também se possível verificar a origem do produto (Corrêa Netto et al., 2018).

4. Conclusão

Todas as amostras provenientes de mercados locais e metade das amostras de supermercados apresentavam contaminação por Enterobacteriaceae na casca do ovo.

Referências

- ABPA Associação Brasileira de Proteína Animal (2019). Relatório anual 2019. São Paulo/SP.
- Andrade MA, Café MB, Jaume VdeS, Rocha PT, Leandro NSM, Stringhini JH (2004). Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, GO, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 5(4),221-228.
- Barancelli GV, Martin JGP, Porto E (2012). Salmonella em ovos: relação entre produção e consumo seguro. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 19(2)73-82.
- BRASIL MAPA (2001). Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Normas gerais de inspeção de ovos e derivados. Brasília, Brasil. RESOLUÇÃO-RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001.
- Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM, Kanashiro AMI, Gama NMSQ (2001) Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descaldado. *Arquivos do Instituto Biológico*, 68(1)19-22.
- Figueiredo TC, Assis DCS, Menezes LDM, Oliveira DD, Lima AL, Souza MR, Heneine LGD, Caçado SV (2014). Effects of packaging, mineral oil coating, and storage time on biogenic amine levels and internal quality of eggs. *Poultry Science*, 93(12)3171-3178.
- Gole VC, Chousalkar KK, Roberts JR, Sexton M, May D, Tan J, Kiermeier A (2014). Effect of Egg Washing and Correlation between Eggshell Characteristics and Egg Penetration by Various Salmonella Typhimurium Strains. *Plos One*, 9(3).
- Gomes Filho VJR, Teixeira RSC, Lopes ES, Albuquerque AH, Lima SVG, Horn RV, Rocha-e-Silva RC, Cardoso WM (2014). Pesquisa de Salmonella spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza, Ceará. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(4).
- Leite DDF, Cavalcanti MT, Albuquerque AP, Pereira EVS, Florentino ER (2016) Qualidade microbiológica de ovos de galinha caipira comercializados no interior da Paraíba. *Revista AGROTEC*, 37(1)32-35.
- Lima WKS, Barros LSS; Da Silva RM, De Deus TB, Lima DV, Silva AS (2018). Condições higiênico-sanitárias de ovos comercializados em feiras livres e mercados. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 12(3)280-294.
- Mendes FR, Leandro NSM, Andrade MA, Café MB, Santana ES, Strighini JH (2014). Qualidade bacteriológica de ovos contaminados com *Pseudomonas aeruginosa* e armazenados em temperatura ambiente ou refrigerados. *Ciência Animal Brasileira*, 15(4)444-450.
- Musgrove MT, Northcutt JK, Jones DR, Cox NA, Harrison MA (2008). Enterobacteriaceae and related organisms isolated from shell eggs collected during commercial processing. *Poultry Science*, 87(6)1211-1218.
- Mottin VD, Lopes VC, Damásio JMA (2016). Contaminação por Salmonella em ovos de granja e caipira em um município do interior da Bahia. *Revista Eletrônica de Fainor, Vitória da Conquista*, 9(1)150-157.
- Netto LBC, Silval LM, Xavier MMBBS (2018). Qualidade e rotulagem de ovos comercializados no município de Valença – RJ. *Pubvet*, 12(9)1-9.
- Oliveira BL, Oliveira DD (2013). Qualidade e tecnologia de ovos. Lavras: UFLA.
- Salgado HR, Mendonça MO, Moura GRS, Madella GS, Bastos FL, Freitas IS, Silva VRO (2018). Qualidade Físico-química e sensorial de ovos de galinhas submetidos a tratamento superficial da casca armazenados sob refrigeração. *Revista Brasileira de Agropecuária sustentável (RBAS)*, 8(2)124-135.
- Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Gomes ARA, Okazaki MM (2017). Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Blusher.
- Siqueira AA, Cardoso WM, Silva EE, Romão JM, Nogueira GC, Andrade JDM, Castro SB, Teixeira RSC (2008). Identificação de enterobactérias em ovos de codornizes japonesas (*Coturnix japonica*) na região metropolitana de Fortaleza, Ce, Brasil. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 107(565-566)78-82.

