# ÁGUA: TRANSPORTE PASSIVO DE MICROORGANISMOS?

WATER: A PASSIVE TRANSPORTER OF MICROORGANISMS?

# VANESSA DE FÁTIMA JERBA<sup>1</sup> MARCOS PILEGGI<sup>2</sup>

- 1 Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas da UEPG
- 2 Professor do Departamento de Biologia Geral da UEPG

# **RESUMO**

A água contaminada com bactérias patogênicas pode infectar alimentos quando esses são lavados com essa água. Essas bactérias são, de maneira geral, coliformes e causam infecções intestinais e, raramente, podem causar infecções extra-intestinais, como a meningite por *Salmonella typhi*. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a contaminação do interior de ovos, considerado estéril, por contaminantes da casca tendo como veículo a água. A hipótese levantada foi testada em laboratório simulando condições normais de lavagem e estocagem de ovos. Foram utilizados dez ovos contaminados com uma linhagem *Escherichia coli* OHS-α pBI 121 contendo o gene de resistência à canamicina, *NPTII*. Depois desse processo os ovos foram submetidos à lavagem e estocados por sete dias, à temperatura ambiente. Após esse período, os ovos foram abertos assepticamente, separados em clara e gema, e cultivados em caldo nutriente a 37 °C por 24 horas. Depois foram cultivados em placas contendo meios seletivos e não seletivos, como

MacConkey, MacConkey/Canamicina, Ágar nutriente e Ágar/Canamicina. E como controles dos testes foram considerados dois ovos, dos quais um foi submetido apenas à contaminação e outro apenas à lavagem. Essa linhagem de *Escherichia coli* resistente foi recuperada em algumas placas, as demais permaneceram sem contaminantes e no meio não seletivo houve presença de outros contaminantes não relacionados. Analisando esses resultados pôde-se concluir que a água pode carrear microorganismos presentes na casca para dentro dos ovos, porém existe internamente à casca uma membrana protéica que pode funcionar como um filtro, mas onde esta estiver rompida a água passa livremente.

Palavras-chave: contaminação de alimentos; Escherichia coli; Salmonella

# 1. Introdução

Um dos maiores problemas que a saúde pública enfrenta é a contaminação de alimentos com água contendo microorganismos patogênicos, que dependendo do grau de infecção pode levar o indivíduo a óbito. As principais bactérias contaminantes de água e outros alimentos são os coliformes fecais. Essas bactérias geralmente causam infecções intestinais e em raros casos podem causar infecções extra-intestinais como meningite, pela *Salmonella typhi*. Segundo Trabulsi (1996), as crianças são mais suscetíveis à salmonelose, que pode ganhar a corrente sangüínea provocando infecções erráticas. Os coliformes são caracterizados como sendo bacilos gram-negativos, não esporulados, aeróbios e facultativos, que produzem ácido e gás a partir da fermentação da lactose.

A cólera, uma doença causada pelo coliforme *Vibrio cholereae*, é caracterizada por ser transmitida por água contaminada. Segundo Linhares e Gewandszjader (1993), essa doença foi considerada erradicada do Brasil no século XIX, porém novos surtos ocorreram em 1991 e, em 1999, o litoral paranaense apresentou novos casos da moléstia. A água pode contaminar todos os alimentos principalmente aqueles que ingerimos crus, por esse motivo foi escolhido o ovo para testar a hipótese de que a água é um veículo para introduzir microorganismos dentro dos ovos.

Segundo Rey (1992), em locais onde houve epidemias de esquistossomose, foram constatados inúmeros casos de infecções enterobacterianas, principalmente por *Salmonella*. Essas bactérias eram

carregadas pelo Shistossoma mansoni em seu intestino e no seu tegumento.

Veronesi e Focaccia (1997) relatam que as infecções por enterobactérias parecem ser mantidas pelos vermes adultos que "transportam" a *Salmonella* nos intestinos e nos tegumentos.

Segundo Reidel (1996), os ovos recém postos são estéreis internamente, porém ocorrem vários surtos de infecções causadas por coliformes os quais são veiculados pelos ovos. Esse autor afirma que a casca dos ovos deve ser limpa e ausente de rachaduras. Os ovos de modo geral não deveriam ser lavados porque a umidade pode carrear microorganismos através dos poros, além de destruir a membrana protéica do interior da casca. Os ovos podem ser contaminados com vários tipos de coliformes, porém os mais preocupantes são os do gênero *Salmonella*, que além de causar uma violenta infecção intestinal pela alta capacidade de proliferação podem ainda causar infecções erráticas.

Pelczar et al. (1996) corroboram a teoria acima de que os ovos recém postos são assépticos, e que seu conteúdo bacteriano é decorrente das condições sanitárias em que são estocados e manipulados, como condições de temperatura, umidade e higiene. Microorganismos como coliformes e bolores podem penetrar nos ovos por pequenas fraturas na casca ou penetrar onde a camada protéica que recobre internamente a casca foi destruída.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a contaminação do interior de ovos, considerados estéreis, por contaminantes da casca, tendo como veículo a água.

# 2. Materiais e métodos

O método utilizado para o teste da hipótese constou de uma contaminação na casca de 10 ovos selecionados. Essa contaminação foi feita com pincelagens nas cascas dos ovos com "Swabs" embebidos em cultura de *Escherichia coli* resistente à canamicina. Essa cultura foi obtida inoculando-se 3 mL de caldo nutriente, incubada a 37° C por 16 horas. Esses ovos foram incubados por 24 horas e depois lavados com água esterilizada e estocados em local asséptico por sete dias. Após esse período os ovos foram abertos, tiveram clara e gema separados, e cultivo em caldo nutriente por 24 horas, a 37 °C.

A cultura em caldo nutriente foi repicada em placas de cultura contendo meios seletivos MacConkey, MacConkey/Canamicina a  $1\mu L/mL$ , Ágar nutriente/Canamicina a  $1\mu/mL$  e não seletivo, como Ágar nutriente. Os controles sofreram processos laboratoriais diferentes, sendo que um foi submetido apenas à lavagem e não à infecção e outro apenas armazenado sem sofrer qualquer processo laboratorial.

## 3. Resultados

Os dados coletados após 24 horas de incubação de gemas e claras em meios MacConkey e Ágar Nutriente encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Ovos testados em meios: MacConkey e Ágar Nutriente

Ovos	MacConckey	Ágar Nutriente	Ovos	MacConkey	Ágar Nutriente
(C) C1	-	-	C5	+	+
(C) G1	=	-	G5	-	+
(C) C2	=	-	C6	-	-
(C) G2	-	2 colônias *	G6	-	-
C1	=	-	C7	-	+
G1	+	+	G7	-	+
C2	=	-	C8	-	-
G2	=	-	G8	-	-
C3	=	-	C9	+	+
G3	=	-	G9	-	+
C4	-	-	C10	-	-
G4	=	+	G10	-	+

#### Legenda:

+: proliferação bacteriana E. coli

Controles: (C)

-: não proliferação bacteriana E. coli

Clara: C

Gema: G
· cada material está numerado de acordo com o número do ovo de origem

<sup>·</sup> O controle 1 é o ovo não lavado e não infectado e o 2 é o ovo apenas lavado e não infectado

<sup>\*</sup> essas duas colônias, pela posição na placa, foram consideradas como contaminantes devido à manipulação.

Tabela 2 – Ovos testados em meios diferenciados

Ovos	MacConkey/ Km a	MacConkey	Ágar nutriente/Km a
	$1\mu L/mL$		1μL/Ml
C4	+	+	+
G4	-	-	NA
C5	+	+	+
G5	-	-	+
C7	-	+	NA
G7	-	-	NA
C9	+	+	NA
G9	-	-	+
C10	-	+	NA
G10	-	-	+

#### Legenda:

+: proliferação bacteriana de *E. coli* 

-: não proliferação bacteriana E. coli

-: nao promeração bacteriana *E. a* NA: não avaliado Clara: C Gema: G

Km: canamicina

# 4. Discussão

Foram analisados somente os ovos que apresentaram crescimento bacteriano em MacConkey, que é um meio seletivo para coliformes, portanto os resultados positivos apenas em ágar nutriente (meio não seletivo) foram considerados contaminantes devido à manipulação.

Analisando os resultados obtidos pôde-se constatar que houve a passagem da *Escherichia coli* resistente à canamicina através das cascas dos ovos de números 5 e 9 depois de umedecidas pela lavagem. Segundo dados da literatura, o interior dos ovos é estéril e estes só são infectados devido a más condições de higiene e estocagem, e essa infecção deve-se principalmente a água que passa pelas fraturas na casca e fissuras na camada protéica que reveste internamente os ovos.

Pode-se supor que os ovos que apresentam a bactéria inoculada po-

deriam estar com pequenas fissuras na casca e com a camada protéica danificada, pelas quais a água veiculou as bactérias.

A clara e a gema foram analisadas separadamente, para averiguar se a bactéria em estudo teria preferência de substrato, levando em consideração a composição química da clara, de natureza protéica e da gema que é lipídica.

O material referente ao ovo 1 foi perdido durante a estocagem.

Os ovos 4, 7 e 10 apresentam alguns dados conflitantes, como a não proliferação bacteriana em meio MacConkey das claras em uma primeira avaliação, mas sim em uma segunda, o que pode indicar que houve pequenas contaminações durante a manipulação. Entretanto os dados obtidos com as placas MacConkey/Canamicina mostram consistência e corroboram que não houve passagem da linhagem *E. coli* resistente através da membrana desses ovos.

Em trabalhos futuros, pretende-se avaliar a função da membrana isolada como filtro bacteriano para que essa hipótese seja corroborada.

## 5. Conclusão

Foi constatado que existe uma possibilidade da linhagem *Escherichia coli* resistente à canamicina ultrapassar as membranas de alguns ovos, desde que estivessem danificadas. Desta maneira, sugere-se que a membrana protéica tem função filtrante e que o interior dos ovos será contaminado somente se houver rupturas nessa camada. Quando há contaminação no interior dos ovos, as bactérias não têm preferência de substrato, pois colonizaram clara e gema aleatoriamente, como foi observado nas placas de cultura.

Recebido para publicação em 19/9/00. Aceito para publicação em 23/12/00.

# **ABSTRACT**

Water contaminated by pathogenic bacteria can infect foods when these are washed with this water. Most of these bacteria are coliforms (fecal bacteria) and they cause intestinal infections and, rarely, other kinds of infections, such as

meningitis by Salmonella typhi.

This research evaluates the contamination of the inner part of eggs, considered sterile, by contaminants from the shell, carried by water when the eggs are washed. In order to test this hypothesis ten eggs were used. The shells of the eggs were contaminated with a kanamicine-resistant strain of *Escherichia coli*, then the eggs were washed and stocked at room temperature. After seven days the eggs were opened aseptically, the whites and yolks were separeted and each was cultivated in a nutrient broth for twenty-four hours, at 37°C. After this period, they were again cultivated on plates containing selective and non-selective media, such as MacConkey, Nutrient Agar, MacConkey/Kanamicine and Agar/Kanamicine. Two eggs were used as a test control - one was only submitted to contamination, the other was only washed. A reading of the plates showed contamination by *Escherichia coli* on some of them, while some showed other contaminants not studied here or no contamination at all. Eggs have a protein membrane on the inner side of their shells, which functions as a filter, but this study shows that, whenever this membrane is torn, water can carry microorganisms to the inside of eggs.

Key words: food contamination; Escherichia coli; Salmonella

Endereço para contato: vanessafj@uepg.br mpileggi@onda.com.br

# REFERÊNCIAS

- 1 LINHARES, S.; GEWANDSZNAJDER, F. **Biologia**: programa completo. 12. ed. São Paulo : Atheneu, 1993.
- 2 PELCZAR, M; ROGER, R.; CHAIN,C. S. Microbiologia dos alimentos. In: **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo : Mackron Books do Brasil, 1996.
- 3 REIDEL, G. Alimentos naturais. In: **Controle sanitário dos alimentos**. 2. ed. São Paulo : Atheneu, 1996.
- 4 REY, L. Esquistossomose mansônica: a doença. In: **Bases da parasitologia médica**. Rio de Janeiro : Guanabarakogan, 1992.
- 5 TRABULSI, L. R. Microbiologia. Rio de Janeiro : Atheneu, 1996.
- 6 VERONESI, R.; FOCACCIA, R. Esquistossomose mansoni. In: PRATA, Aluísio. **Tratado de Infectiologia**. São Paulo : Atheneu, 1997. 1366 p.