



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS  
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE  
PÚBLICA NOS TRÓPICOS**

**NARA TELES AGUIAR**

**QUALIDADE, SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA E COMPARAÇÃO  
DA RECUPERAÇÃO DE *Salmonella* spp. DA CASCA E GEMA DE OVOS CAIPIRAS  
E INSPECIONADOS**

**ARAGUAÍNA – TO**

**2023**

**NARA TELES AGUIAR**

**QUALIDADE, SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA E COMPARAÇÃO  
DA RECUPERAÇÃO DE *Salmonella* spp. DA CASCA E GEMA DE OVOS CAIPIRAS  
E INSPECIONADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Norte do Tocantins - UFNT ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal Saúde Pública nos Trópicos como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos

**Orientador:** Prof.º Dr.º José Carlos Ribeiro Júnior

**ARAGUAÍNA – TO**

**2023**

**NARA TELES AGUIAR**

**QUALIDADE, SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA E COMPARAÇÃO  
DA RECUPERAÇÃO DE *Salmonella* spp. DA CASCA E GEMA DE OVOS CAIPIRAS  
E INSPECIONADOS**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt) como requisito para obtenção do Título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca examinadora.

Aprovada em: 13 de março de 2023.

Banca Examinadora:

---

Professor Doutor José Carlos Ribeiro Júnior – UFT (Orientador)

---

Professora Doutora Cátia Maria de Oliveira Lobo

---

Professora Doutora Katyane de Sousa Almeida

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

A282q Aguiar, Nara Teles .  
QUALIDADE, SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA E COMPARAÇÃO DA  
RECUPERAÇÃO DE *Salmonella* spp. DA CASCA E GEMA DE OVOS  
CAIPIRAS E INSPECIONADOS. / Nara Teles Aguiar. – Araguaína, TO, 2023.  
50 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins  
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)  
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2023.

Orientador: José Carlos Ribeiro Júnior

1. Saúde Pública. 2. Microbiologia. 3. Inspeção. 4. Ovos. I. Título

**CDD 636.089**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser tão presente em minha vida, e me proporcionar a realização de mais um sonho. “Porque Dele, e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente”, Romanos 11:36.

Aos meus pais Joel Teles Nogueira e Maria Augusta da Silva Aguiar que sempre me apoiaram e me ensinaram a nunca desistir dos meus sonhos, e que sempre estiveram ao meu lado ao longo de toda a minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr.º José Carlos Ribeiro Júnior pelo incentivo e prazer de ensinar, por estar sempre presente, pela ajuda incansável. Obrigado por sua dedicação e confiança, que tornaram possível a concretização desse sonho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos pelo apoio e companheiros que colaboraram para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada a todos dessa equipe que tornavam meus dias mais felizes. Em especial minha amiga Cristiane Alves pela força, pelos conselhos e por acreditar em mim, obrigada pela paciência e por todos os ensinamentos.

Agradeço à Universidade Federal do Tocantins, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT), que por meio dessas foi possível à realização dessa pesquisa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho.

## RESUMO

O ovo é um Produto de Origem Animal (POA), com alto valor nutritivo e de baixo custo, acessível às diferentes classes econômicas. Devido suas características nutricionais é um dos principais produtos relacionados com doenças transmitidas por alimentos (DTA) para os seres humanos. Como as aves são reservatórios naturais de enteropatógenos de importância em saúde pública, como por exemplo, *Salmonella* spp., a contaminação dos ovos pode ocorrer por via entérica durante a postura ou intra-ovariana. Portanto, o ovo pode ser uma fonte de infecção aos seres humanos quando manipulado ou consumido de forma inadequada. A presente pesquisa teve por objetivo comparar a qualidade e segurança microbiológica de ovos inteiros caipiras, comercializados de forma clandestina, e de granjas avícolas inspecionadas do norte do Tocantins, ao mesmo tempo, comparando a recuperação de isolados de *Salmonella* spp. da casca e gema para determinação da origem da contaminação. As amostras do conteúdo interno e integral dos ovos foram analisadas quanto a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, *Staphylococcus* spp., Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes totais e termotolerantes, e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp., por métodos convencionais associados com biomoleculares. Amostras da casca e das gemas dos ovos foram avaliadas particularmente para pesquisa de *Salmonella* spp. As médias de aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes a 30 e 45°C entre os ovos caipiras e inspecionados foram, respectivamente,  $4,5 \times 10^7$  e  $2,9 \times 10^8$  ( $p > 0,05$ ), 17 e 10 ( $p > 0,05$ ). As recuperações de *Salmonella* spp. da casca e da gema de ovos caipiras foram de 63,6% (7/11) e 27,2% (3/11), enquanto para os ovos inspecionados foram de 45,5% (5/11) e 27,2% (3/11). A produção inspecionada de ovos em granjas avícolas, caso das amostras avaliadas, geralmente apresenta menor contaminação ambiental/fecal em relação aos ovos de aves caipiras. Também foi possível observar presença de contaminação por *Listeria* spp., em uma amostra nos ovos de granja, potencialmente de origem dos equipamentos e superfícies utilizadas durante o processamento, classificação e ovoscopia. De acordo com a pesquisa realizada, conclui-se que os ovos *in natura* comercializados na região norte do Tocantins apresentaram micro-organismos deteriorantes e indicadores de baixa qualidade higiênico sanitária. A contaminação por *Salmonella* spp. pode estar ligada à infecção intra-ovariana e entérica. Por meio da determinação dos perigos microbiológicos encontrados nos ovos, é possível estabelecer estratégias direcionadas para o controle de produção, bem como, intensificar os programas de vigilância desse patógeno para atendimento dos parâmetros da legislação, tanto para a sanidade dos plantéis como para a sustentabilidade da segurança dos alimentos.

**Palavras chaves:** Avicultura de postura; *Listeria*; Salmonelose.

## ABSTRACT

The egg is a product of animal origin (POA), is a food with high nutritional value, and low economic cost, being consumed mainly by the low-income population. Due to their nutritional characteristics are one of the main products related to foodborne diseases (DTA) for humans. As Birds are natural reservoirs of enteropathogens of public health importance, such as *Salmonella* spp., contamination of eggs can occur enterically during laying or intra-ovarian. Therefore, the egg can be a source of infection to humans when manipulated or consumed improperly. The presente research aimed to compare the microbiological quality and safety of Whole redneck eggs, commercialized in a clandestine manner, and poultry farms inspected in Northern Tocantins, at the same time, comparing the recovery of isolates of this pathogen from the peel and yolk to determine the origin of their contamination. Samples of the internal and integral contente of the eggs were analyzed for the Count of mesophilic aerobic bacteria, *Staphylococcus* spp., Most Probable Number (NMP/g) of total and thermotolerant coliforms, and *Salmonella* and *Listeria* spp., research by conventional methods associated with biomoleculars. Samples of eggshell and egg yolks were particularly evaluated for *Salmonella* spp. research. The averages of aerobic mesophilics, *Staphylococcus* coagulase positive and coliforms at 30° and 45°C among the redneck and inspected eggs were, respectively,  $4,5 \times 10^7$  e  $2,9 \times 10^8$  ( $p > 0,05$ ),  $17$  e  $10$  ( $p > 0,05$ ). The recovery of *Salmonella* spp. from the peel and yolk of redneck eggs was 63,6% (7/11) and 27,2% (3/11), while for the eggs inspected were 45.5% (5/11) and 27.2% (3/11). The inspected production of eggs on poultry farms, from samples evaluated, predispose eggs to the lowest environmental/fecal contamination in relation the eggs of redneck birds. It was also possible to observe the presence of *Listeria* spp. contamination in a sample in farm eggs, potentially of origin of equipment and surfaces used during processing, classification and ovoscopy. According to the research conducted, it was concluded that the in natura eggs marketed in the northern region of Tocantins presented deteriorating microorganisms and poor quality sanitary hygienic indicators. *Salmonella* contamination may be linked to intra-ovarian and enteric infection. By determining the microbiological hazards found in eggs, it is possible to establish strategies directed to the control of production, as well as, intensify the surveillance programs of this pathogen to meet the parameters of the legislation, both for the health of the squads and for the nurseries and for the Sustainability of food safety.

**Key Words:** Laying Poultry; *Listeria*; Salmonellosis.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas práticas de fabricação
DTA	Doença Transmitida por Alimento
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitro
PPHO	Procedimento Padrão de Higiene Operacional
PSO	Procedimento Sanitário Operacional
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal
SIF	Serviço de Inspeção Federal

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1:** Pesquisa de patógenos microbianos em ovos caipiras clandestinos e ovos de granja inspecionados comercializados no norte do Tocantins no período de julho a setembro de 2021.

**TABELA 2:** Resultados das contagens de micro-organismos indicadores da qualidade de 11 amostras de ovos caipiras clandestinos e 11 amostras de ovos de granja inspecionados comercializados em Araguaína, Tocantins, no período de julho a setembro de 2021.

**TABELA 3:** Contagem média de Bactérias Aeróbias Mesófilas, Coliformes totais, Termotolerantes, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Staphylococcus* Coag. Positiva em ovos in natura caipira clandestino e granja inspecionados comercializados na cidade de Araguaína na região norte do estado do Tocantins.

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1:</b> Diferenciação bioquímica de <i>Salmonella</i> spp. ....	Pag.26
<b>QUADRO 2:</b> Classificação dos ovos destinados ao consumo conforme artigos 225 e 226, RIISPOA, 2017 .....	Pag.27

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	12
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1 <i>Objetivo Geral:</i> .....	14
2.1 <i>Objetivos Específicos:</i> .....	14
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
3.1 <i>Produção de ovos no Brasil e no estado do Tocantins.....</i>	15
3.3 <i>Qualidade nutricional e estrutura e composição dos ovos .....</i>	16
3.4 <i>Sistemas de produção.....</i>	18
3.5 <i>Segurança microbiológica do ovo.....</i>	19
3.6 <i>Salmonella spp.....</i>	22
4. <i>Ferramentas de gestão da qualidade em granjas avícolas .....</i>	28
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>29</b>
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO .....	34
<b>6. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
6.1 <i>Amostragem .....</i>	37
6.2 <i>Análises microbiológicas .....</i>	37
<b>7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>
CAPÍTULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	51

## CAPÍTULO I

### 1. INTRODUÇÃO

O ovo é um alimento bastante consumido no mundo, porque além de ser economicamente mais acessível é considerado um alimento de alto valor nutricional, apresentando composição rica em vitaminas, minerais, ácidos graxos e proteínas (RÊGO et al., 2012). Porém, por apresentar esses fatores nutricionais, possui maior suscetibilidade ao desenvolvimento de micro-organismos (WELKER et al., 2010); exigindo assim, cuidados sanitários pré e pós postura, a fim de evitar sua deterioração e proporcionar uma alimentação segura e de qualidade ao consumidor (PIRES et al., 2020).

Uma das preocupações na comercialização de alimentos é com a segurança, visto que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são consideradas uns dos maiores problemas de saúde pública (WELKER et al., 2010). Dentre os alimentos mais veiculadores de doenças estão em destaque os de origem animal, devido aos animais possuírem microbiota autóctone potencialmente patogênica aos seres humanos e, se a manipulação desses alimentos não for devidamente controlada por medidas higiênico-sanitárias, eles ficam mais predispostos a oferecerem um risco microbiológico ao consumidor (FORSYTHE, 2013).

Segundo os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram notificados 6.347 surtos de DTA, com envolvimento de 104.839 doentes e 89 óbitos, entre os anos de 2012 a 2021. Em 2021 foram notificados 268 surtos, sendo que 50 desses surtos correspondem à região norte do Brasil (SINAN, 2022).

Os principais patógenos encontrados em alimentos são *Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus* e *Salmonella* spp. Dos alimentos incriminados em surtos de DTA no período de 2012 a 2021, 3,2% envolveram ovos e produtos a base de ovos, ocorrendo principalmente em residências (SINAN, 2022). Sendo que, a *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus* spp., e *Escherichia coli*, são os principais microrganismos causadores de patologias associados à contaminação dos ovos (PEREIRA; SANTOS; COELHO, 2014). Mediante a essa preocupação, os cuidados com a segurança dos alimentos requerem atenção, devido aos ovos estarem expostos a vários fatores que implicam na sua contaminação, desde a manipulação, equipamentos, instalações e manejo da própria ave (LACERDA, 2011).

Os ovos podem ser contaminados durante sua formação como por exemplo *Salmonella* spp. pode infectar os ovários e ovidutos de galinhas, contaminando assim os ovos,

principalmente durante a formação da casca; e durante a postura em que as cascas podem ser contaminadas por bactérias intestinais durante a passagem pela cloaca (WELKER et al., 2010). No entanto, no momento da postura, a maioria dos ovos apresenta baixa contaminação, ou seja, a contaminação ocorre geralmente após a ovoposição, por provável contato com as fezes (ALCÂNTRA, 2012). Podendo este ser contaminado por diversos fatores, tais como fezes, ambiente, embalagem e o manejo inadequado (FRANCO; LANDGRAF; DESTRO, 2008).

De acordo com o decreto nº 9013, de 29 de março de 2017, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, no seu artigo 220 determina que os ovos só podem ser expostos ao consumo humano quando previamente submetidos à inspeção e à classificação previstas nesse decreto e em normas complementares (BRASIL, 2017). Portanto, o não cumprimento dessas normas podem acarretar problemas de saúde pública, como DTA (DIDONÉ, 2017). Desse modo, os produtos comercializados informalmente têm uma maior susceptibilidade a ocasionar doenças visto que, essas produções não priorizam a gestão da qualidade, como boas práticas de fabricação (BPF) e a identificação dos pontos onde há risco de contaminação dos alimentos por meio de Análises de Pontos Críticos de Controle (APPCC), logo a falta dessa gestão aumenta o risco à saúde pública, bem como a diminuição da qualidade de produção (DIDONÉ, 2017).

Diante do exposto, é fundamental determinar o risco da ocorrência de perigos microbiológicos dos produtos de avicultura, como os ovos, determinando a qualidade, segurança microbiológica e comparação de metodologias para recuperação de *Salmonella* spp., da casca e gema de ovos caipiras e inspecionados, principalmente em regiões carentes de estudos locais e que precisam de fundamentação técnica-científica para o controle e promoção da qualidade e segurança dos alimentos.

## **2. OBJETIVOS**

## **2.1 Objetivo Geral:**

A presente pesquisa teve por objetivo comparar a qualidade e segurança microbiológica de ovos inteiros caipiras, comercializados de forma clandestina, e de granjas avícolas inspecionadas do norte do Tocantins, ao mesmo tempo, comparando a recuperação de isolados viáveis de *Salmonella* spp., da casca e gema para determinação da origem da contaminação dos mesmos.

## **2.1 Objetivos Específicos:**

- Determinar a qualidade microbiológica de ovos caipiras e inspecionados comercializados no norte do Tocantins;
- Identificar micro-organismos indicadores da qualidade, tais como aeróbios mesófilos, coliformes a 30° C e a 45°C, bem como micro-organismos patogênicos como *Salmonella* spp., *Listeria* spp., e *Staphylococcus coagulase* positiva.
- Recuperar, por métodos microbiológicos, isolados sugestivos de *Salmonella* spp., da casca e da gema caipira clandestinos e de postura comercial inspecionada;
- Confirmar a identificação dos isolados sugestivos de *Salmonella* spp. por abordagem biomolecular em PCR gênero-específica;
- Comparar o isolamento/confirmação entre os ovos caipiras clandestinos e inspecionados; e,
- Determinar o risco da ocorrência de *Salmonella* spp., em ovos comercializados no norte do Tocantins para fundamentação técnica-científica de programas de vigilância e controle desse patógeno.

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 Produção de ovos no Brasil e no estado do Tocantins**

A China é o país de maior produção de ovos do mundo, seguida pelos Estados Unidos, Índia, Japão, México, Brasil e Rússia (LUCAS, 2021). No ano de 2021, o Brasil produziu cerca de 54 bilhões de unidades de ovos, sendo que 99,54% dessa produção foram destinadas ao mercado interno e somente 0,46% foi exportado (ABPA, 2022). O consumo nacional tem aumentado, visto que em 2020 o consumo era de 251 ovos por habitante e em 2021 atingiu a marca de 257 unidades/hab., segundo dados divulgados pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2022).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o Brasil produziu 1.036.246 bilhões de dúzias no 4º trimestre de 2022, sendo que os maiores produtores nacionais foram São Paulo (27,1%), seguido por Paraná (9,4%), Minas Gerais (8,6%), e Espírito Santo (8,1%) (IBGE, 2022). No mesmo trimestre, o estado do Tocantins produziu 11,73 milhões de dúzias, o que corresponde a 1,13%, sendo o maior produtor de ovos da região norte do país (IBGE, 2022).

### **3.2 Síntese e ovoposição em aves de postura comercial**

Nas aves domésticas, o sistema reprodutivo da galinha sexualmente madura é formado pelo ovário e oviduto (SILVA, 2011). Ovário apresenta função celular e endócrina e é constituído por folículos com ovócitos. Os folículos sofrem influências do hormônio folículo estimulante (FSH) e se desenvolvem produzindo estrogênio e androgênio (SILVA, 2011).

O oviduto é um tubo tortuoso, muito dilatável e largo, que liga o ovário à cloaca. (SILVA, 2011). A produção do ovo ocorre em todo o aparelho reprodutivo das galinhas: começa pela formação da gema no ovário, e segue percorrendo toda extensão do oviduto, recebendo nutrientes e completando a formação de sua estrutura (SILVA et al., 2017a).

A formação do ovo ocorre com o rompimento do folículo ovariano maduro (ovulação) e liberação do óvulo (gema), que será captado pela região do infundíbulo. Logo em seguida, o ovo em formação passa para a região do magno, onde permanece por aproximadamente três horas (SESTI; ITO, 2009). É nesse local que é depositado a maior quantidade de proteína do ovo, o albúmen. Em continuação, ele chega ao istmo, onde fica por aproximadamente 90 minutos (SESTI; ITO, 2009), formando as membranas interna e externa da casca e da camada mamilar da casca.

Na glândula da casca, o ovo em formação, permanece por um período de 18 a 22 horas, formando a camada esponjosa pela deposição de carbonato de cálcio que vai se sobrepor a

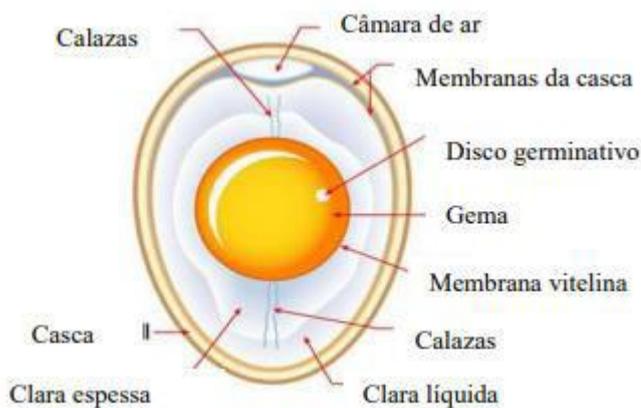
matriz orgânica, nesse local que ocorre a calcificação da casca, a formação da cutícula e pigmentação da casca (SESTI; ITO, 2009).

A ovoposição ou postura ocorre aproximadamente 24 a 26 horas após a ovulação quando o ovo já está formado no oviduto. Essa, por sua vez, acontece por meio de contrações da parede do útero (BENEZ, 1998).

### 3.3 Qualidade nutricional e estrutura e composição dos ovos

Vários fatores contribuíram para o aumento significativo do consumo de ovos, e um dos principais foram estudos científicos comprovando seu alto valor nutricional (MEDEIROS; ALVES, 2014). Além de ser fonte de proteína, ele contém todos os aminoácidos essenciais, como também vitaminas, minerais e ácidos graxos que devem fazer parte da alimentação diária da população (NETTO; SILVA; XAVIER., 2018). Outro fator que contribuiu bastante foi seu menor preço no mercado consumidor, permitindo que famílias de baixo poder aquisitivo melhorem sua dieta com a ingestão deste alimento, pois ele traz consigo vários benefícios à saúde humana (MEDEIROS; ALVES, 2014).

As principais partes que constituem o ovo são a casca, a membrana da casca, a gema e a clara ou albúmen. Além disso, possui outras partes em menor volume, como o disco germinativo, as calazas (cordão chalazífero), a câmara de ar, a cutícula e as membranas da casca (FIGURA 1). A casca representa 10% do peso do ovo, enquanto que a gema, ou oócito, representa 30% do peso total do ovo e o albúmen representa 60% (BENITES et al., 2005).



**FIGURA 1** – Estrutura e composição do ovo.  
(Fonte: AVES AVICULTURA, 2020).

A casca é considerada uma barreira natural do ovo, sendo composta por carbonato de cálcio, carbonato de magnésio, fosfato de cálcio, glicoproteínas, mucoproteínas, colágeno e mucopolissacarídeos (ORNELLAS, 2001). Essa também é constituída por pequenos poros que

possibilita as trocas gasosas entre o meio interno e externo do ovo, permitindo a entrada de oxigênio e saída de gás carbônico. Esses poros são cobertos por uma cutícula constituída de cera que protege o ovo da perda excessiva de água e previne a penetração de micro-organismos indesejáveis, que possam comprometer a qualidade do ovo (BENITES et al. 2005).

Na casca encontram-se duas membranas: uma externa mais espessa chamada de “esponjosa”, próxima à casca; e outra interna mais fina conhecida como “mamilária”. As duas camadas são constituídas por fibras proteicas inter cruzadas, tornando a casca mais resistente e impedindo a entrada de micro-organismos ao conteúdo interno do ovo (RAMOS, 2008).

A câmara de ar é um espaço formado entre a membrana interna e externa da casca, que se encontra na extremidade de maior diâmetro do ovo. Durante sua formação, no momento da postura, ocorre o resfriamento do ovo ao passar da temperatura corporal da ave de aproximadamente 39°C a temperatura ambiente inferior e, devido a isso, ocorre contração da membrana interna e o vácuo resultante favorece a entrada de ar na câmara (BENITES et al., 2005).

O albúmen ou clara do ovo é composta por água, proteínas, vitaminas do complexo B (Riboflavina – B2) e traços de gorduras (FAO, 2010). Essa também possui pequenas quantidades de glicoproteínas, glicose e sais minerais. As principais proteínas presentes na clara são: ovalbumina, conalbumina, ovomucóide, ovomucina e lisozima. Junto à clara também encontram-se as calazas (SEIBEL, 2005). A calaza é uma estrutura do ovo que está aderida à membrana vitelina da gema, que se propaga para as extremidades expandindo-se até a câmara de ar, e da outra extremidade até a ponta mais fina do ovo, entrelaçada por meio de fibras opacas na clara. Sendo a sua principal função manter a gema centralizada no interior do ovo impedindo o seu deslocamento (BENITES et al., 2005).

A gema é uma emulsão de gordura em água (52%) composta por um terço de proteínas (16%), dois terços de lipídios (34%), vitaminas solúveis em lipídios A, D, E e K, glicose, lecitina e sais minerais, envolta pela membrana vitelina. A porção lipídica é constituída por 66% de triacilgliceróis, 28% de fosfolipídios e 5% de colesterol. Entre os ácidos graxos que compõem a porção lipídica 64% são insaturado com predominância de ácido oleico e linoleico (CLOSA et al. 1999).

Os componentes da gema são dispostos em anéis concêntricos que variam de cor conforme o regime alimentar das poedeiras, ou seja, dos pigmentos presente no milho ou sintéticos adicionados à ração. Assim, à presença de riboflavina, xantofilas e  $\beta$ -caroteno, torna à gema de colocação amarelada (MEDEIROS; ALVES, 2014).

A composição nutricional do ovo por meio do sistema de produção é uma informação importante, tanto para o consumidor quanto para os produtores, devido à intensificação por consumo de produtos orgânicos. Publicações em fontes populares têm propagandeado que ovos oriundos de sistemas de criação pastejo livres apresentam um maior valor nutricional (MEDEIROS; ALVES, 2014). Entretanto, comparações realizadas na Comunidade Europeia, indicaram que não há diferenças nutricionais significativas nos ovos produzidos em sistemas de galinhas livres de gaiolas sobre aqueles produzidos em gaiolas convencionais (GALVÃO, 2013). Também foram realizados nos Estados Unidos estudos comparativos, tendo verificado que ovos produzidos por galinhas que pastejam têm maior conteúdo de gorduras totais quando comparados àqueles produzidos por aves em gaiolas, mas não apresentaram maiores níveis de colesterol (ANDERSON, 2011).

Contudo é importante afirmar que os ovos produzidos em ambos os sistemas apresentaram menores níveis de colesterol em relação ao que se acreditava que possuíam. Entretanto, os níveis de  $\beta$ -caroteno foram maiores em ovos de pastagens, o que pode ter contribuído com a coloração mais escura da gema observada nesses ovos durante o estudo. Portanto, o estudo realizado concluiu que não é possível estabelecer uma vantagem nutricional significativa dos ovos produzidos em pastejo livre sobre aqueles produzidos em gaiolas (ANDERSON, 2011).

Há uma crescente procura por produtos do tipo caipira ou orgânicos no mercado, visando a cada dia produtos naturais, supostamente mais saudáveis e produzidos em sistemas que garantam o bem-estar animal com o mínimo estresse possível. Esses consumidores buscam nos ovos caipiras características como sabor, coloração e qualidade nutricional que acreditam ser diferenciados em relação ao sistema convencional (FANATICO; PILLAI; HESTER, 2008).

### **3.4 Sistemas de produção**

A produção de ovos no Brasil é realizada, em sua maioria, nos sistema de criação em gaiolas. Esse sistema tornou-se uma das maiores polêmicas acerca do bem-estar, bem como por questões ambientais. Dessa maneira, a cada dia surgem sistemas alternativos, com intuito de diminuir tais impactos e de atender a um mercado que exige produtos produzidos de forma segura e consciente (FERNANDES, 2020).

Para atender tais demandas, alguns sistemas de alojamento alternativos vêm sendo desenvolvidos e implantados em todo o mundo. Até o momento existem quatro principais sistemas de alojamento de aves: o de baterias de gaiolas (sistema convencional), composto de caixas pequenas com piso de arame soldado e malha inclinada; o de gaiolas enriquecidas, com

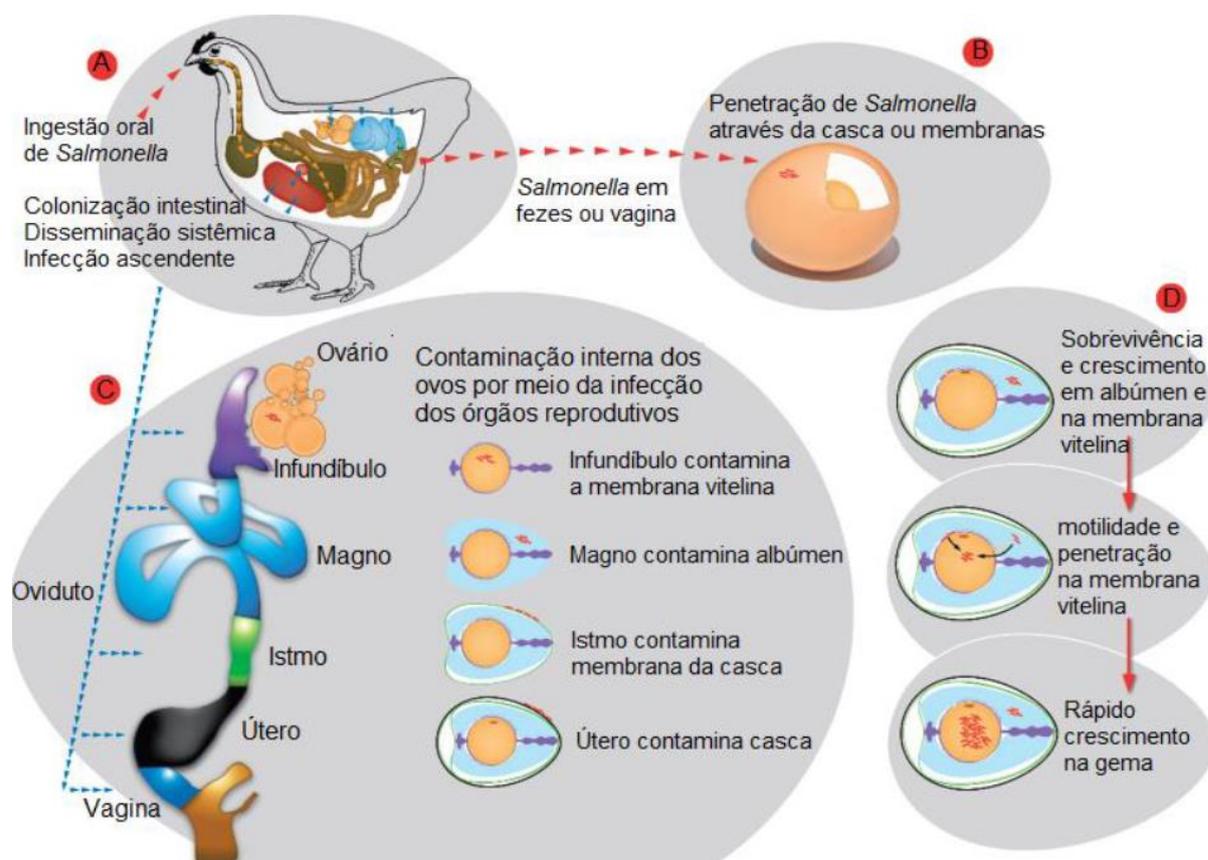
poleiro, ninho e, em alguns casos, área para ciscar; o sistemas de celeiro no qual as aves são mantidas sobre a cama e têm liberdade para movimentar-se; e por fim o sistema de pastejo livre (*free-range*), semelhante ao celeiro, mas as aves também têm acesso à área externa, com pasto (GALVÃO, 2013).

As condições de livre pastoreio das aves em locais totalmente abertos colocam as criações de aves “*free-range*”, popularmente conhecidas como caipira, em situações desafiadoras e sujeitas a variáveis que comprometem a biossegurança (HWANG et al., 2020), além de baixo ou nenhum controle zoonosológico das aves. Estas condições acabam resultando, muitas vezes, em infecções persistentes que propiciam a disseminação de patógenos e colocam em risco a segurança dos alimentos dos produtos avícolas (GAN et al., 2014). Entretanto, o sistema de produção sob inspeção sanitária tem toda a cadeia de produção avícola monitorada para *Salmonella* spp., conforme a Instrução Normativa nº 20 de 2016 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2016b).

Em vista disso, a implementação da Biossegurança é importante, porque são ações e procedimentos para a proteção e controle de doenças no plantel e diminuição da carga microbiana (AVILA et al., 2017). Todos os sistemas de produção devem atender as normativas do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) para produção avícola nacional e também as normativas de controle das doenças de notificação obrigatória de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais, de corte e postura (BRASIL, 2022).

### **3.5 Segurança microbiológica do ovo**

A contaminação dos ovos por *Salmonella* nas criações de aves de postura podem ocorrer de duas formas: por transmissão vertical, em que a bactéria se incorpora ao ovo durante sua passagem pelos órgãos do sistema reprodutor ou por transmissão horizontal pós-postura, que ocorre quando o ovo já formado entra em contato com as fezes, durante sua passagem pela cloaca ou presentes no ambiente (DI FÁBIO; MARTINS, 2013). No sistema reprodutor o folículo ovariano infectado contamina a gema, infundíbulo contamina a membrana vitelina, magno contamina o albúmen, istmo contamina a membrana da casca e o útero infectado contamina a casca, como demonstrado na Figura 2 (GANTOIS et al., 2009).



**FIGURA 2** – Esquema representativo da contaminação de ovos por *Salmonella*.

Fonte: Adaptado de Gantois et al. (2009)

Portanto a qualidade dos ovos é de grande importância, porque podem ocasionar prejuízos econômicos e a saúde do consumidor. A comercialização de ovos *in natura* tornou-se uma das maiores preocupações devido à contaminação por micro-organismos patogênicos, assim como alguns hábitos de consumo do produto cru ou mal cozido e fonte de contaminações cruzadas em ambiente de preparação de alimentos. No momento da postura, a maioria dos ovos apresenta baixa contaminação, ou seja, a contaminação ocorre geralmente após a ovoposição, por provável contato com as fezes das aves no momento da postura (ARAGON-ALEGRO et al., 2005; ALCÂNTRA, 2012).

A maioria dos ovos contém pouca ou nenhuma contaminação em sua parte interna, porém as cascas são contaminadas por diversos fatores externos como fezes, ninho, manejo inadequado e embalagem (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A maioria das DTA's são causadas pelas condições impróprias de processamento dos alimentos, tais como: higiene pessoal inadequada, utensílios e ambiente, manutenção de alimentos em temperaturas que favorecem a multiplicação bacteriana e emprego de matéria-prima contaminada (OLIVEIRA, 2006).

As bactérias e os fungos são os principais micro-organismos responsáveis pelas alterações físico-químicas, tais como qualidade da casca, características relativas ao albúmen, gema, câmara de ar, cor, odor, sabor e manchas de sangue, encontradas no ovo após a postura (PEREIRA; SANTOS; COELHO, 2014).

Os principais patógenos associados à contaminação do ovo são micro-organismos como *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Yersinia* spp., *Vibrio* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, podendo comprometer a segurança microbiológica dos alimentos, sendo que a contaminação por *Listeria* spp. e *Vibrio* spp. está diretamente relacionada com fatores ambientais (SILVA et al., 2017a).

*Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* são micro-organismos psicrotópicos, ou seja, têm capacidade de se multiplicar em ambientes refrigerados (FORSYTHE, 2013). *Listeria monocytogenes* também possui a capacidade de produzir biofilmes nas superfícies de utensílios e equipamentos, onde são altamente resistentes a higienização, assim podendo contaminar os alimentos que tiveram em contato com os utensílios (FORSYTHE, 2013).

Dentre os micro-organismos mais importantes estão *Salmonella* spp. e *E. coli*, devido ao perigo microbiológico intrínseco, visto que são causadoras de gastroenterites, cuja a severidade varia conforme a virulência do micro-organismo (COUTTS; WILSON, 2007).

Essas bactérias podem ocasionar Doença Diarreica Aguda e Síndrome Hemolítica Urêmica e, que de acordo com a Portaria nº 204 de 2016 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2016a), devem ser monitoradas por meio de estratégias de vigilância. *E. coli*, quando encontrada nos alimentos, é considerada indicadora de contaminação fecal, tanto oriunda da falta de higiene durante a manipulação, ou da própria matéria-prima (SILVA; DUARTE, 2002). Também pode ser encontrada durante o manejo incorreto na coleta dos ovos ou durante a preparação de alimentos crus que inclui o ovo (SILVA; DUARTE, 2002).

As principais fontes de contaminação dos alimentos de origem animal estão presentes no solo, na água, nas plantas, nos utensílios, no trato intestinal do ser humano e dos animais, nos manipuladores de alimentos, na ração animal, na pele dos animais e no ar (FRANCO; LANDGRAF, 2002).

No Brasil existe regulamentação para controle sanitário dos alimentos previstos pelos órgãos de controle como a Vigilância Sanitária e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017). Porém, ainda falta fiscalização efetiva e permanente na produção, conservação e comercialização de alimentos por esses órgãos

tanto nos serviços estaduais e municipais de vigilância sanitária, aos quais é delegado o poder de inspecionar e punir os infratores (BALBANI; BUTUGAN, 2001).

Com o objetivo de reduzir o risco da ocorrência de perigos microbiológicos deve-se garantir a qualidade da matéria-prima, a padronização do processamento, o armazenamento e o transporte desses produtos, desde a indústria/granjas até às gôndolas do supermercado. Isso tem sido um fator importante utilizado como parâmetros para aumentar a competição entre empresas para garantir o mercado (RICHARDS, 2003).

As indústrias produtoras de alimentos são responsáveis por implantar programas de autocontrole tais como Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO), Rastreabilidade, dentre outros, que devem ser desenvolvidos, implantados, mantidos, monitorados e verificados por eles mesmos, contendo registros sistematizados e auditáveis que comprovem o atendimento aos requisitos higiênico-sanitários e tecnológicos estabelecidos em legislação vigente, a fim de garantir a segurança e inocuidade do produto final (Brasil 2017). Uma vez que, as infecções alimentares ocorrem, na maioria das vezes, pelas condições impróprias de processamento dos alimentos, tais como: higiene pessoal inadequada, utensílios e ambiente; manutenção de alimentos em temperaturas que favorecem a multiplicação bacteriana; e, emprego de matéria-prima contaminada (OLIVEIRA, 2006).

Alimentos de origem animal também devem ser controlados pela implantação de planos de sanidade animal previstos pelo MAPA para monitorar, prevenir e controlar patógenos de importância em sanidade animal e saúde pública. Apesar dos ovos apresentarem mecanismos de defesa em sua composição, como a casca e a viscosidade do albúmen, proporcionando uma proteção natural, eles ainda estão sujeitos à contaminação de micro-organismos por diversos fatores. Portanto, para garantir a qualidade da cadeia produtiva muitos fatores devem ser envolvidos, tais como manejo sanitário, higiene das instalações e equipamentos bem como a forma de armazenamento e comercialização, conforme estabelecidos por legislações vigentes (PEREIRA; SANTOS; COELHO, 2014).

### **3.6 *Salmonella* spp.**

#### **3.6.1 *Descrição morfológica, bioquímica e sorotipos***

*Salmonella* é um dos principais agentes bacterianos de maior ocorrência em surtos de infecção alimentar em humanos no mundo (CDC, 2018). No Brasil, o Ministério da Saúde relatou a ocorrência de 1.553 surtos de DTA's bacterianas no período entre 2012 a 2021, com

11,2% dos surtos causados por *Salmonella* spp. e 3,2% destes foram associados aos ovos e produtos a base de ovos como o meio de transmissão (SINAN, 2022).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e são caracterizadas morfológicamente como bacilos pequenos, Gram-negativos, desprovidos de cápsula, anaeróbios facultativos, medindo (0,7 – 1,5 x 2,0 - 5µm) e não formadores de esporos. São micro-organismos mesófilos porque crescem entre 5°C e 45°C, mas com a temperatura ótima de crescimento entre 37°C a 40°C e pH ideal de 7, podendo crescer em pH entre 4 a 9,5. A maioria é móvel, apresentando flagelos peritríquios, com exceção de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* (GAST, 2008).

As salmonelas são capazes de formar ácido e, na maioria das vezes, gás a partir da glicose, com exceção de *S. Typhi*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*. Também fermentam os açúcares arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol. Sendo que as principais salmonelas de interesse clínico não fermentam lactose, contudo, muitas cepas podem adquirir essa característica por meio de transferência plasmidial. São oxidase negativa, catalase positivo, indol, Voges- Proskauer – VP, Vermelho de Metila – VM, malonato e ureia negativa. Produzem gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase. Ainda apresentam características metabólicas, como a capacidade de descarboxilação dos aminoácidos lisina e ornitina, redução de nitrato a nitrito e utilização do citrato como única fonte de carbono, podendo ocorrer variações em função do sorovar e/ou da subespécie. Por exemplo, *S. Arizonae* não fermenta o dulcitol, mas frequentemente é malonato positivo. *S. Pullorum* não fermenta o dulcitol e *S. Gallinarum* não descarboxila ornitina, sendo ambas imóveis. *S. Typhi*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* não produzem gás a partir da fermentação da glicose (BRASIL, 2011).

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies, classificadas de acordo com características bioquímicas, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori* (BARROW; JONES; THOMSON, 2010). Possuem aproximadamente 2.659 sorovares já identificados, destes apenas 23 pertencem a *S. bongori*. *S. enterica* é subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (GUIBOURDENCHE et al., 2010). São identificados 1586 sorotipos da subespécie *enterica*, podendo estar associada a 99% das infecções em humanos e animais (JEANJEAN et al., 2014). A classificação em sorotipos é baseada na detecção de antígenos na superfície que são os antígenos somáticos (O) presentes na parede celular, antígenos flagelares (H), presentes nos flagelos, antígenos capsulares (Vi), presentes no envelope celular (JEANJEAN et al., 2014).

Entre as espécies de *Salmonella* spp., *S. enterica* é a mais preocupante no contexto da saúde pública e sanidade animal. Os sorotipos Typhimurium e Enteritidis de *S. enterica* subs. *enterica* tem especial importância para a saúde humana, enquanto os sorotipos Pullorum e Gallinarum implicam manifestação de salmonelose em aves (BRASIL, 2016a).

### **3.6.2 Monitoramento de *Salmonella* spp. em ovos e núcleos avícolas**

*Salmonella* spp. nas aves pode provocar doenças agudas ou crônicas, tais como: a Pulorose, causada pela *S. enterica* Pullorum, o Tifo Aviário causada pela *S. enterica* Gallinarum; ambos os sorotipos adaptados apenas às aves e, ainda, o Paratifo Aviário, causada pela *S. enterica* Enteritidis e pela *S. enterica* Typhimurium, os quais são adaptados tanto nas aves quanto nos humanos, podendo causar toxinfecções alimentares (PEREIRA; SANTOS; COELHO, 2014).

No Brasil, em 1994, o MAPA criou o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) com intuito de estabelecer a necessidade de monitoramento sorológico e bacteriológico de *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, com o objetivo de normatizar sanitariamente a avicultura comercial e estabelecer ações para a regulamentação da produção avícola e proteção da saúde do plantel nacional, além de reduzir o risco de transmissão para o ser humano (BRASIL, 2016a).

Para o diagnóstico definitivo da *Salmonella* spp. deve ser realizada identificação e isolamento do agente associado com anamnese, achados clínicos e anatomopatológicos. Para os lotes acometidos por salmonela é utilizado o Teste de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR), adotado por sua praticidade e realizado com antígeno corado e sangue total, podendo apresentar respostas falso-positivas ou positivas a outras salmonelas do mesmo grupo da *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (BERCHIERI JÚNIOR; OLIVEIRA, 2006). Entretanto, para diferenciar aves soro reagentes de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* daquelas infectadas por *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* pode-se utilizar como antígeno detector no ELISA a proteína solúvel de *S. Gallinarum* (BERCHIERI JÚNIOR; OLIVEIRA, 2006), além de métodos microbiológicos, bioquímicos e biomoleculares (BRASIL, 2016b).

O PNSA tem duas legislações que regulamentam o controle de *Salmonella* spp., a Instrução Normativa nº 78 de 3 de novembro de 2003 (BRASIL, 2003) e IN nº 20 de 21 de outubro de 2016 (BRASIL, 2016b). A IN nº 78/2003 do MAPA preconiza o monitoramento dos planteis de reprodução para a certificação de núcleos e granjas avícolas como livres de *Salmonella enterica* Gallinarum e Pullorum e livres ou controlados para *Salmonella enterica* Enteritidis e Typhimurium em todo o território nacional (BRASIL, 2003).

O monitoramento da *Salmonella* spp. nos núcleos aviários é regulamentado pela IN n° 20 de 21 de outubro de 2016, que estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp., nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. Esse monitoramento é realizado por meio de coleta de amostras de órgãos, sangue, suabe de arrasto ou propés e fezes devendo ser submetidas a exames laboratoriais periodicamente para tentativa de isolamento durante a produção (BRASIL, 2016b).

### **3.6.3 Metodologias oficiais para identificação de *Salmonella* spp.**

Para diagnóstico de salmonelas, poderão ser utilizadas as seguintes técnicas laboratoriais: detecção do agente por isolamento em meio de cultura, detecção do agente por métodos moleculares, identificação antigênica do agente e identificação do agente por métodos moleculares (BRASIL, 2016a).

De acordo com os padrões microbiológicos definidos pela Instrução Normativa n° 161, de 1° de julho de 2022 (ANVISA, 2022) a análise para *Salmonella* spp. em ovos vai identificar presença ou ausência em 25g de amostra. A metodologia utilizada é descrita no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA et al., 2010), que é compreendida inicialmente por três fases, a de enriquecimento, a de enriquecimento seletivo, e a de plaqueamento ou diferencial morfológico. Quando houver colônias sugestivas de *Salmonella* spp., é realizada a triagem bioquímica e as análises bioquímicas para diferenciação da espécie (SILVA et al., 2010).

No pré-enriquecimento pesa-se 25 g de amostra homogeneizada, e dilui-se em 225mL de água tamponada peptonada, em seguida o mesmo deve ser homogeneizado e incubado a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas. Após esse período é feito o enriquecimento seletivo, em tubos de ensaio contendo caldo Selenito Cistina o e Rappaport. Esses tubos devem ser incubados respectivamente a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , e a  $42^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por mais 24 horas (SILVA et al., 2010).

A próxima etapa é o plaqueamento, quando cada tubo da etapa anterior será repicado em uma placa contendo Agar xilose lisina desoxicolato (XLD) e uma placa com ágar *Salmonella*-Shiguella, que deverão ser incubadas na posição invertida a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , por mais 24 horas. Para a leitura são consideradas suspeitas de *Salmonella* spp. as placas XLD que apresentarem colônias transparentes, ou cor rosa escura, com ou sem centro negro; as placas de ágar *Salmonella*-Shiguella com colônias transparentes ou verde azuladas, com ou sem centro

negro que apresentem clareamento da zona de precipitação ao redor das colônias e mudança da cor do meio para amarelo (SILVA et al., 2010).

Quando ocorrer o crescimento de colônias sugestivas em alguma das placas deve-se selecionar cinco dessas colônias para repique e confirmação pela triagem bioquímica em pequenos tubos contendo Agar Triplice açúcar ferro (TSI), Agar Iron Lisina (LIA), e caldo ureia, nessa ordem. Uma vez repicados, deve-se incubar a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas e em seguida proceder à leitura considerando que a mudança do meio para amarelo indica reação ácida, e a mudança para vermelho violeta, indica reação alcalina (SILVA et al., 2010).

A correlação entre os resultados ácidos ou alcalinos irá determinar se o resultado é compatível com a possível presença de *Salmonella* spp., o que torna necessária a confirmação através dos testes bioquímicos, sendo eles o teste do Indol, do citrato, VM-VP, testes de sorologia, e o teste de motilidade realizado no Agar Indol Sulfeto Motilidade (SIM), conforme o quadro 1. Caso alguma dessas provas não apresente resultado compatível com o padrão esperado para esse micro-organismo a amostra será considerada negativa com resultado de ausência em 25g (SILVA et al., 2010).

**Quadro 1.** Diferenciação bioquímica de *Salmonella*.

Comportamento bioquímico	<i>Salmonella</i> Typhimurium e <i>S. Enteritidis</i>	<i>Salmonella Pullorum</i>	<i>Salmonella Gallinarum</i>
<b>Indol</b>	-	-	-
<b>VM</b>	+	+	+
<b>VP</b>	-	-	-
<b>Citrato</b>	+	-	-
<b>SIM</b>	-	-	+

Fonte: Embrapa Suínos e Aves Concórdia, SC 2016. Adaptada.

Métodos moleculares como a confirmação do gênero *Salmonella* spp. pelo gene *invA* também podem ser utilizados como alternativa aos métodos bioquímicos e sorológicos (ANDRADE et al., 2010).

A Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 (ANVISA, 2022) aprovou o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, este regulamento traz as recomendações para ovos e derivados, e no caso de ovo cru é obrigatório a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g do produto. E apesar dessa normativa não estabelecer limites para os micro-organismos como coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus* (BRASIL,

2022a), não deixa de ser fundamental o monitoramento deles, visto que podem comprometer a qualidade e segurança alimentar.

A Portaria SDA Nº 612, de 6 de junho de 2022, traz as normas gerais de inspeção de ovos e derivados, com instruções para os estabelecimentos que recebem e fazem o processamento de ovos, como deve ser a classificação dos ovos, as instalações, lavagem e conservação, dentre outros aspectos com o objetivo de melhorar a qualidade dos ovos que serão comercializados, seja na sua forma natural ou já processado (BRASIL, 2022c).

Além disso, o RIISPOA (BRASIL, 2017) regulamenta a classificação dos ovos de acordo com sua estrutura física. No qual descreve que os ovos destinados ao consumo humano devem ser classificados como ovos de categorias “A” e “B”, de acordo com as suas características qualitativas, tais como: casca e cutícula, câmara de ar, gema, clara e cicatrícula, conforme representado no Quadro 2.

**Quadro 2.** Classificação dos ovos destinados ao consumo conforme artigos 225 e 226, RIISPOA, 2017.

<b>CLASSIFICAÇÃO DOS OVOS</b>		
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
<b>CASCA E CUTÍCULA</b>	forma normal, lisa, limpa, intacta	Não atende ao “A”, mas podem ser consumidos
<b>CÂMARA DE AR</b>	< 6mm / imóvel	
<b>GEMA</b>	visível à ovoscopia	Manchas sanguíneas pequenas e pouco numerosas
<b>CLARA</b>	límpida/ translúcida, sem manchas, calazas intactas	
<b>CICATRÍCULA</b>	Imperceptível	Serem provenientes de estabelecimentos avícolas de reprodução que não foram submetidos ao processo de incubação.
<b>Destino</b>	Consumo <i>in natura</i>	Industrialização

No artigo 500 do RIISPOA (BRASIL, 2017) ainda considera os ovos impróprios para o consumo quando apresentarem, alterações da gema e da clara: Com gema aderente à casca, gema rompida, presença de manchas escuras ou de sangue alcançando também a clara, presença de embrião com mancha orbitária ou em adiantado estado de desenvolvimento: Com mumificação ou estejam secos por outra causa: Podridão vermelha, negra ou branca: Contaminação por fungos, externa ou internamente: Sujidades externas por materiais estercoreais ou tenham tido contato com substâncias capazes de transmitir odores ou sabores

estranhos: Rompimento da casca e estejam sujos; ou o rompimento da casca e das membranas testáceas.

#### **4. Ferramentas de gestão da qualidade em granjas avícolas**

A qualidade e inocuidade de um alimento estão diretamente relacionadas ao cumprimento de práticas de higiene, no qual deve conter quesitos como manutenção e higienização das instalações, equipamentos e utensílios; controle da qualidade da água de abastecimento, dos vetores transmissores de doenças e pragas; capacitação dos profissionais e supervisão da higiene pessoal dos manipuladores e do manejo do lixo (BRASIL, 2004).

A Biossegurança em medidas e procedimentos operacionais visam prevenir, controlar e limitar a exposição das aves contidas em um sistema produtivo a agentes causadores de doenças, garantindo a segurança dos alimentos e saúde dos animais. A adoção destas medidas também contribui com a prevenção na disseminação de patógenos (EMBRAPA, 2018). Assim algumas ferramentas de qualidade são adotadas para garantir a biossegurança, tais como:

I- Localização e distâncias dos aviários, esses estabelecimentos avícolas devem estar localizados em área não sujeita a condições adversas que possam interferir na saúde e bem-estar das aves ou na qualidade do produto, devendo ser respeitadas as seguintes distâncias mínimas entre o estabelecimento avícola e outros locais de risco sanitário;

II- Devem conter cerca de isolamento de no mínimo 1m de altura em volta do galpão ou do núcleo, eficaz para evitar a passagem de animais domésticos;

III - O telamento do aviário é obrigatório, as laterais do galpão devem conter telas, com malha não superior a 1 (uma) polegada, ou 2,54 cm (dois centímetros e cinquenta e quatro milímetros);

IV – Deve haver controle de acesso com banho e troca de roupa e calçado, na entrada do estabelecimento e em cada núcleo.

V – Realizar procedimentos de desinfecção de veículos na entrada e na saída

VI - Adotar procedimento adequado para o destino de águas utilizadas, aves mortas, ovos descartados, esterco e embalagem, de modo a garantir a biossegurança do estabelecimento;

VII - Manter registros do programa de controle de pragas, a fim de manter os galpões e os locais para armazenagem de alimentos ou ovos livres de insetos e roedores, animais silvestres ou domésticos;

VIII - Tratar a água utilizada para o consumo das aves e para o sistema de nebulização dos aviários, com concentração residual mínima de cloro de 3 ppm, bem como realizar análise microbiológica da água.

Outras medidas de higiene em granjas avícolas também devem ser adotadas como, manter um ambiente limpo e organizado no aviário, realizando à limpeza de comedouros e bebedouros diariamente, sendo que as aves mortas devem ser diariamente destinadas a algum tipo de tratamento de resíduos: compostagem, compostagem acelerada, biodigestão anaeróbia, desidratação, incineração ou outro método capaz de inativar possíveis micro-organismos presentes na carcaça (EMBRAPA, 2018).

No caso de positividade para patógenos, especialmente os controlados pelo PNSA, o médico veterinário responsável (RT) pelo estabelecimento avícola deve fazer a notificação ao serviço oficial, para que sejam adotadas as medidas necessárias para completa eliminação do agente, sendo que uma delas é à fermentação de camas, quando presente, remoção e descarte do esterco, destinados à compostagem ou outro processo capaz de eliminar possíveis patógenos (EMBRAPA, 2018).

Os ovos de galinha caipira geralmente são obtidos de pequenos produtores, sem assistência técnica, sendo as aves criadas soltas sem tecnologia. Assim, o risco de contaminação encontrada nesses ovos é maior, devido às falhas no manejo sanitário, ausência de vacinação, qualidade da água e ração, dentre outros cuidados sanitários (LACERDA, 2011).

## 5. REFERÊNCIAS

ABPA, Associação de Proteína Animal. **Relatório anual: produção brasileira**. Disponível: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/01/abpa-relatorio-anual-2022.pdf> Acesso em 01 nov. 2022.

ALCÂNTARA, J. B. **Qualidade físico-química de ovos comerciais: Avaliação e manutenção da qualidade**. 36 f. Tese (Doutorado) -Universidade federal de Goiás, Goiânia, 2012.

ANDERSON, K. E. Comparison of fatty acid, cholesterol, and vitamin A and E composition in eggs from hens housed in conventional cage and range production facilities. **Poultry Science**, v. 90, p. 1600-1608, 2011.

ANDRADE, R.B.; GEMELLI, T.; DALL ONDER, L.P.; CRISTINA, K.; DE BRITO, T.; BARBOZA, A.A.L.; DE BRITO, B.G. Métodos Diagnósticos Para Os Patógenos Alimentares: Campylobacter Sp., Salmonella Sp. E Listeria Monocytogenes. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v.77, n.4, p.741-750, out./dez., 2010.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução Normativa - **In Nº 161, De 1º De Julho De 2022**. Disponível em:<  
[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN\\_161\\_2022\\_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2) www.anvisa.gov.br/legis> Acessado em: 04 fevereiro. 2023.

ARAGON-ALEGRO, L.C.; SOUZA, K.L.D.O.; SOBRINHO, P.D.S.C.; LANDGRAF, M.; oliveira, M.T. Avaliação na qualidade microbiológica do ovo integral pasteurizado produzido com ou sem a etapa da lavagem do processamento. *Ciência e Tecnologia de alimentos*, Campinas, v. 25, n. 3, p. 618-622, 2005.

AV AVES AVICULTURA. *Estrutura do Ovo*. Obtido de AV AVES AVICULTURA. Abril de 2020.

AVILA, V. S.; KRABBE, E. L.; CARON, L.; SAATKAMP, M. G.; SOARES, J. P. G. Produção de ovos em sistemas de base ecológica. Embrapa Suínos e Aves. Concórdia, 2017a.

BENEZ, S. M. Aves: Criação clínica teórica prática, silvestres ornamentais avinhados. Anatomia e fisiologia das aves. São Paulo, Roben Editorial. p. 18-91, 1998.

BERCHIERI JÚNIOR, A; OLIVEIRA , G. H. D. Pulorose. In: ANDREATTI FILHO, Raphael Lucio. Saúde aviária e doenças. São Paulo: Roca, 2006, p. 84-90. cap. 9.1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa Nº 78/2003. Disponível em:  
<file:///C:/Users/User/Downloads/instruonormativan78de3denovembrode2003.pdf>. Acesso em: 27 de Nov de 2022.

BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 set. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella / Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 60 p. : il. – (Série A. Normas e manuais técnicos)

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016**. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. p. 23-23, 2016a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Estabelecimento – MAPA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 20, DE 21 DE OUTUBRO DE 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp.**, outubro de 2016b.

BRASIL, 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, março de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Estabelecimento – MAPA. PORTARIA SDA Nº 612, DE 06 DE JUNHO DE 2022. **Estabelece normas gerais de inspeção de ovos e derivados**, junho de 2022c.

BENITES, C.I.; TABELÃO, V.C. Anatomia e fisiologia reprodutiva das aves e formação do ovo. In: SOUZA-SOARES, L.A. ; SIEWERDT, F. *Aves e Ovos*. Pelotas: UFPEL, 2005a.138 p.

BALBANI, A. P. S. & BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, v.23, n.4, p.320-328. 2001.

BARROW PA, JONES MA, THOMSON N. *Salmonella*. In: Gyles CL; Prescott JF, Songer G, Thoen CO, editores. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 4th ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. p 231- 57.

COUTTS, J.A.; WILSON, G.C. *Ovos de ótima qualidade - Uma abordagem rápida*. Reino Unido: 5M Publishing. 2007.65p.

CLOSA, S. J.; MARCHESICH, C.; CABRERA, M.; MORALES, J. C. M. Composición de huevos de gallina y codorniz. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, Caracas, v. 49, n.2. 1999. Disponível em: <[http://www.alanrevista.org/ediciones/1999/2/composicion\\_huevos\\_gallina\\_codorniz.asp](http://www.alanrevista.org/ediciones/1999/2/composicion_huevos_gallina_codorniz.asp)>. Acesso em: 20 nov. 2022.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella*. 2018**. [acesso em 23 nov 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.

DIDONÉ, S. R. **Perfil microbiológico de ovos sem inspeção veterinária adquiridos em comércio informal do Rio Grande do Sul, Brasil** (Dissertação de mestrado). Rio Grande do Sul (RS): Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul; 2017. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/12832/DIS\\_PPGMV\\_2017\\_DIDONE\\_SIMON E.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/12832/DIS_PPGMV_2017_DIDONE_SIMON E.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 28 Nov. 2022.

DI FÁBIO J, MARTINS PC. Biossegurança no incubatório. In: Macari M, Gonzales E, Patrício IS, Naas IA, Martins PC, autor e editor. Manejo da incubação, 3a Ed. Jaboticabal: Facta; 2013. p.411-58.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Requisitos Básicos De Biosseguridade Para Granjas De Postura Comercial. Embrapa Suínos e Aves. Concórdia, SC 2018

FAO. **AGRIBUSINESS HANDBOOK - Poultry Meat & eggs**, 2010 [online], 2010. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/012/al175e/al175e.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2022.

FANATICO, A.C.; PILLAI, P.B.; HESTER, P.Y. et al. **Performance, livability, and carcass yield of slow- and fast-growing chicken genotypes fed low-nutrient or standard diets and raised indoors or with outdoor access.** Poultry Science, v.87, p.1012-1021, 2008.

FERNANDES, D. P. B. Sustentabilidade de Diferentes Sistemas de Produção de Ovos no Brasil. Tese (Doutorado) USP/ Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2020. 150p.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 384 p. 2013.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2002. 182p.

FRANCO, B. D. G. M., & LANDGRAF, M. (2008). *Microbiologia dos alimentos*. 182. São Paulo: Atheneu.

Gan, L; Hao, F.; Tahir, M.; Yuming, G. Dietary supplementation with vitamin C ameliorates the adverse effects of *Salmonella* Enteritidis-challenge in broilers by shaping intestinal microbiota. Poultry Science, v. 99, n. 7, p. 3663–3674, 2014.

GALVÃO, J.A. **Ovos produzidos em diferentes sistemas de alojamento: qualidade e segurança microbiológica, parâmetros físicos, validação e utilização de método multiresíduo para detecção de antimicrobianos e pesticidas.** 2013. 106f. Tese (Doutorado em Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP

GANTOIS I; DUCATELLE R; PASMANS F; HAESEBROUCK F; GAST R; HUMPHREY TJ; VAN IMMERSEEL F. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. FEMS Microbiol Rev. 2009;33(4):718-38.

GAST R. K. *Salmonella* Infections. In: Saif YM, editor. **Diseases of Poultry.** 12th ed. Iowa: Blacwell; 2008. p.619-65.

GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P; MIKOLEIT, M; FIELDS P.I.; BOCKEMÜHL, J.; GRIMONT, P.A.; WEILL ,F.X.; Supplement 2003 e 2007. To the White-Kauffmann-Le Minor scheme. Res Microbio. 2010;161(1):26-9.

NETTO, L. B. C; SILVA, L. M; XAVIER, M. M. B. B. S. (2018). Qualidade e rotulagem de ovos comercializados no município de Valença - RJ. *PUBVET Medicina Veterinária e Zootecnia*, 12 (9),1-9. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n9>.

OLIVEIRA, G. E. **Influência da temperatura de armazenamento nas características físico-químicas e nos teores de aminos bioativas em ovos.** 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética:** seleção e preparo de alimentos. 7. ed. São Paulo: Editora Metha, 2001. 330 p.

RAMOS, B. F. S. **Gema de ovo composição em aminos biogénicas e influência da gema na fração volátil de creme de pasteleiro.** 2008.111f. Dissertação (Mestrado em Controle de qualidade) – Faculdade de farmácia, Universidade do Porto, Porto.

RICHARDS, N. S. P. S. **Segurança Alimentar- Como prevenir contaminações na indústria.** *Food Ingredients*, p. 16- 30, 2003.

HWANG D.; MICHAEL, J. JR.; ROTHROCK, H. P.; GOVINDARAJ, D. K.; ABHINAV, M. **Farm management practices that affect the prevalence of Salmonella in pastured poultry farms.** *LWT*, v. 127, n. 4, p. 109-123, 2020.

IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA.** Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/pog/brasil>>. Acesso em: 20 Nov. 2022.

JEANJEAN SI, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, GUIBOURDENCHE M, PINNA E, NAIR S, FIELS PI, WEILL FX. Supplement 2008-2010 (n48) to the White-Kauffmann – Le Minor Scheme. *Res. Microbiol.* 2014;165(7):526-30.

LACERDA, M. J. R. **Sanitização e refrigeração de ovos de codornas comerciais contaminados experimentalmente por *Salmonella typhimurium*.** 86 f. TESE (Mestrado), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

LUCAS, A. S. **Top 10 maiores produtores de ovos do mundo.** [2021] Disponível em: <https://top10mais.org/top-10-maiores-produtores-deovos-do-mundo/>. Acesso em: 21 nov. 2022.

MEDEIROS, F. M. DE.; ALVES, M. G. M. **Qualidade de Ovos Comerciais.** Revista eletrônica Nutritime – issn 1983-9006 [www.nutritime.com.br](http://www.nutritime.com.br) artigo 257 volume 11 - número 04– p. 3515- 3524 – julho/agosto 2014.

PIRES, P. G. S., LEUVEN, A. F. R., FRANCESCHI, C. H., MACHADO, G. S., PIRES, P. D. S., MORAES, P. O., KINDLEIN, L., & ANDRETTA, I. (2020). **Effects of rice protein coating enriched with essential oils on internal quality and shelf life of eggs during room temperature storage.** *Poultry Science*, 99(1), 604-611. doi: 10.3382/ps/pez546.

RÊGO, I.O.P.; CANÇADO, S.V; FIGUEIREDO, T.C.; MENEZES, L.D.M.; OLIVEIRA, D. D.; LIMA, A.L.; CALDEIRA, L.G.M.; ESSER, L.R. Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.3, p.735-742, 2012.

PEREIRA, A. S., SANTOS, T. T., & COELHO, A. F. S. Quality of eggs sold in different commercial establishments and the study of the conditions of storage. *Food Science and Technology*, 34(1), 82-87. doi: 10.1590/S0101-20612014000100012, 2014..

SEIBEL, N. F. **Transformações bioquímicas durante o processamento do ovo.** In: SOUZ-SOARES, L. A.; SIEWERDT, F. *Aves e ovos*. Pelotas: UFPEL, 2005, p 77-90.

SESTI, L.; ITO, N.M.K. Fisiopatologia do Sistema Reprodutor In: DI FABIO, J.; ROSSINI, L.I. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2009. p. 315- 80.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. Salmonella enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Revista Brasileira de Ciência Avícola. Mai – Ago 2002 / v.4 / n.2/ 085 – 100.

SILVA, N., NETO, R. C., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A., ANIWAKI, M. H., DOS SANTOS, R.F.S. & GOMES, R.A.R (2010). Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e da Água (E. Varela (ed.); Vol. 1). Varela, São Paulo 624 p.

SILVA, R. D. C. F. Desempenho E Qualidade De Ovos De Galinhas Infectadas Por *Mycoplasma synoviae*. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2011.

SILVA, J. C. G.; SILVA FILHO M. M.; NASCIMENTO G. V.; PEREIRA, D. A. B.; COSTA JÚNIOR, C. E. O. Incidência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no estado de Pernambuco, um acompanhamento dos dados epidemiológicos nos últimos anos. **Ciências Biológicas e de Saúde UNIT**, 3, 23-34. 2017a.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO – SINAN. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022**, Brasil, Janeiro de 2022.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C.; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; SOEIRO, M.L.T.; RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.

## CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

# QUALIDADE, SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA E COMPARAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE *Salmonella* spp. DA CASCA E GEMA DE OVOS CAIPIRAS E INSPECIONADOS

## Resumo

Aves são os principais reservatórios naturais de enteropatógenos de importância em saúde pública, como *Salmonella* spp. Micro-organismos desse gênero também têm importância em sanidade avícola. A contaminação de ovos por *Salmonella* spp. pode ser por via entérica ou intra-ovariana, sendo o ovo, portanto, potencial meio de transmissão da infecção aos seres humanos quando manipulado ou consumido de forma inadequada. A presente pesquisa objetivou comparar a qualidade e segurança microbiológica de ovos inteiros caipiras, comercializados de forma clandestina, e de granjas avícolas inspecionadas do norte do Tocantins. As 22 amostras (dúzias) do conteúdo interno dos ovos foram analisadas quanto a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, *Staphylococcus* spp., coliformes totais e termotolerantes, e pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., por métodos microbiológicos e moleculares. Amostras da casca e gema dos ovos foram avaliadas particularmente para pesquisa de *Salmonella* spp. As médias de aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes a 30 e 45°C entre os ovos caipiras e inspecionados foram, respectivamente,  $4,5 \times 10^7$  e  $2,9 \times 10^8$  ( $p > 0,05$ ), 17 e 10 ( $p > 0,05$ ). As recuperações de *Salmonella* spp. da casca e da gema de ovos caipiras foram de 63,6% (7/11) e 27,2% (3/11), enquanto para os ovos inspecionados foram de 45,5% (5/11) e 27,2% (3/11). A produção inspecionada de ovos em granjas avícolas, caso das amostras avaliadas, geralmente apresenta menor contaminação ambiental/fecal em relação aos ovos de aves caipiras. Também foi possível observar a presença de contaminação por *Listeria* spp., em uma amostra nos ovos de granja, potencialmente de origem dos equipamentos e superfícies utilizados durante o processamento, classificação e ovoscopia. Desta maneira conclui-se que os ovos *in natura* comercializados no norte do Tocantins apresentam risco à saúde do consumidor, independente do tipo de produção, sendo necessárias medidas de monitoramento e determinação da origem da contaminação por *Salmonella* spp. para fundamentar programas de mitigação de risco.

**Palavras chaves:** Avicultura de postura; Biossegurança; *Listeria*; Salmonelose.

## INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são consideradas uns dos maiores problemas de saúde pública. (WELKER, et al., 2010). Segundo os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram notificados 6.347 surtos de DTA, com envolvimento de 104.839 doentes e 89 óbitos, entre os anos de 2012 a 2021. Em 2021 foram notificados 268 surtos, sendo que 50 desses surtos correspondem à região norte do Brasil (SINAN, 2022). Mediante a essa preocupação, os cuidados com a segurança dos alimentos requer atenção, devido aos ovos estarem expostos há vários fatores que implicam na sua contaminação, desde a manipulação, equipamentos, instalações e manejo com a própria ave (LACERDA, 2011).

Dentre os alimentos mais causadores de doenças estão em destaque os de origem animal, visto que, os animais possuem uma microbiota patogênica aos seres humanos, e se, a manipulação desses alimentos não for devidamente controlada por medidas higiênico-sanitárias, esses alimentos ficam mais predispostos a oferecer um risco microbiológico ao consumidor (FORSYTHE, 2013). E os ovos por serem alimentos ricos em nutrientes, apresentam maior suscetibilidade ao desenvolvimento de microrganismos (WELKER, et al., 2010). Porém, é um produto bastante consumido, devido ao seu valor nutricional e por ser um alimento com preço acessível, assim faz-se necessário um maior controle na qualidade microbiológica desse produto. Portanto, é fundamental a produção de ovos livres de patógenos com a finalidade de atender ao consumidor, bem como garantir a inocuidade do produto, tanto no que se refere a fatores econômicos internos e externos quanto à qualidade e segurança de alimentos.

Os ovos representam um dos principais veiculadores de microrganismos, tais como *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dentre outros, passando a ser reservatórios de doenças transmitidas aos humanos. A *Salmonella*, por exemplo, pode infectar os ovários e ovidutos de galinhas, contaminando assim os ovos, principalmente durante a formação da casca. Além disso, as cascas podem ser contaminadas por bactérias intestinais durante a passagem pela cloaca (WELKER, et al., 2010).

De acordo com o decreto 9013/2017 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no seu artigo 220, os ovos só podem ser expostos ao consumo humano quando previamente submetidos à inspeção e à classificação previstas neste decreto e em normas complementares. Sendo que este decreto tem como objetivo inspecionar e fiscalizar as indústrias produtoras, a fim de manter a qualidade e segurança do alimento. (Brasil 2017).

Portanto, o não cumprimento dessas normas podem acarretar problemas de saúde pública, principalmente os patógenos presentes em alimentos contaminados (DIDONÉ, 2017).

Geralmente, os produtos comercializados informalmente, têm uma maior susceptibilidade a ocasionar DTA's, visto que, essas produções não priorizam a gestão da qualidade, como boas práticas de fabricação (BPF) e a identificação dos pontos onde há risco de contaminação dos alimentos por meio de Análises de Pontos Críticos de Controle (APPCC), logo a falta dessa gestão aumenta o risco à saúde pública e coletiva, bem como compromete a produtividade e competitividade devido ao consumidor passar a exigir cada dia mais um produto de qualidade e livre de patógenos.

## **6. MATERIAL E MÉTODOS**

### **6.1 Amostragem**

Foram coletados 264 ovos em 22 amostras/dúzias, 11 de ovos caipiras e 11 de ovos de granjas avícolas inspecionadas.

Os ovos foram adquiridos no comércio varejista e em feiras livres de Araguaína, região norte do estado do Tocantins, Brasil, no período de julho a setembro de 2021. As amostras foram coletadas nas embalagens próprias dos comerciantes e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Norte do Tocantins, para posterior análise. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente até o momento da análise, mesma condição de exposição à venda.

Para a realização das análises microbiológicas cada amostra contendo 12 ovos foi dividida na metade, sendo cada *pool* de 6 ovos destinados para análise de recuperação de *Salmonella* spp. da casca e gema e os outros 6 para análise do ovo inteiro (clara e gema).

### **6.2 Análises microbiológicas**

Para pesquisa de *Salmonella* spp. na casca, os ovos foram submetidos a um processo de lavagem da casca. Cada um dos seis ovos de cada dúzia foi imerso em 60 mL de água peptonada tamponada 1% e enxaguado em uma bolsa plástica estéril durante 1 minuto, em dois momentos, com um intervalo de cinco minutos entre eles (DE REU et al., 2005). Os 60 mL resultantes da lavagem da casca dos ovos foram unidos em *pool* de cada dúzia e posteriormente incubados por 24h a  $35\pm 1^\circ\text{C}$  para a etapa de pré-enriquecimento (Figura3).



**FIGURA 3:** Procedimento de lavagem da casca.

Após esse procedimento de lavagem da casca, esses ovos foram quebrados e separados a gema da clara. Todas as gemas foram homogeneizadas e retirada uma alíquota de 25mL e adicionado 225 mL de água tamponada peptonada.

O outro *pool* contendo 6 ovos da mesma dúzia foram quebrados de forma asséptica, com pinça flambadas, e colocados em uma bolsa plástica estéril e homogeneizados em Stomacher para obtenção da fração líquida integral. Foram retirados 25 mL dessa solução e adicionado a 225 mL em água peptonada para pré-enriquecimento a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24h. Todos esses procedimentos foram realizados a fim de detectar *Salmonella* spp., na casca, na gema e no ovo líquido integral.

A análise qualitativa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme método preconizado pela *International Organization for Standardization* (ISO) 6579:2002/Amd 1:2007 com modificações. A partir da recuperação das colônias em ágar xilose lisina desoxicolato e ágar *Salmonella-Shiguella* (Figura 4) todos os isolados típicos foram recuperados em caldo cérebro-coração (BHI), submetidos à extração de DNA genômico (gDNA) e PCR gênero-específica (gene *invA*). (SHANMUGASAMY; VELAYUTHAM; RAJESWAR, 2011).



**FIGURA 4:** Ágar Salmonella-Shiguelia com colônias típicas (pretas) de *Salmonella* spp. Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Para a pesquisa de *Listeria* spp., foram utilizadas somente amostras do ovo líquido integral (gema e clara), e realizada conforme a ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004. Do *pool* de 6 ovos de cada amostra foram retirados 25 mL e adicionados em 225ml de caldo Half-Fraser e incubados a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24h para pré-enriquecimento. Após a incubação inicial, uma alíquota 1 mL dessa solução homogeneizada foi repicada em 10 mL de caldo Fraser e incubado a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48h, bem como a realização de repique em ágar *Listeria* Selective e ágar Oxford para a recuperação de isolados sugestivos de *Listeria* spp. A partir do repique das colônias típicas nas placas de ágar os isolados foram encaminhados para análise molecular por PCR gênero-específica de *Listeria* spp. e espécie-específica para *L. monocytogenes* (CHEN; KNABEL, 2007).

Para quantificar os micro-organismos indicadores da qualidade microbiológica nos ovos líquidos integrais foram enumerados micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, termotolerantes e recuperação de isolados sugestivos de *E. coli*.

Para aeróbios mesófilos foi realizada a semeadura em duplicata de 1 mL das diluições integral,  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  por profundidade em ágar padrão para contagem (PCA) e incubados a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas (MORTON, 2001). Para psicrotróficos, foi realizada a semeadura em duplicata de 0,1 mL por superfície da amostra nas diluições integral,  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  em PCA, incubadas a  $7^{\circ}\text{C}\pm 1$  por 10 dias (FRANK; YOUSEF, 2004).

Para coliformes a  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $45^{\circ}$  e *E. coli*, foi realizada a semeadura de 1 mL das diluições seriadas,  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , em caldo lauril sulfato de sódio, incubado a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas em três tubos por série (3). Os resultados positivos (tubos turvos, com formação de bolhas de gás nos tubos de Durham invertidos (Figura 5), foram transferidos 30 microlitros para o Caldo EC e incubado por 24 horas a  $44,5^{\circ}\text{C}$  e caldo verde brilhante incubado por 24 horas a  $35^{\circ}\text{C}$ . Os

resultados positivos do caldo EC foram inoculados em ágar *Eosin Methylene Blue*. Das colônias sugestivas de *E. coli* foram pesquisados *E. coli* enteropatogênica (EPEC – gene *eaeA*), produtora de toxina shiga (STEC – gene *stx1* e/ou *2*), enterohemorrágica (EHEC – *eaeA* + *stx1* ou *2*), enteroagregativa (EAEC – CVD), enterotoxigênica (ETEC – ST ou LT), enteroinvasiva (EIEC – *ipaH*), em dois ensaios multiplex (ARANDA; FAGUNDES-NETO; SCALETISKY, 2004).



**Figura 5:** Caldo Lauril Sulfato de Sódio, apresentado resultados positivos, tubos turvos, com formação de bolhas de gás nos tubos de Durham invertidos.

Para os micro-organismos indicadores da higiene da manipulação, os estafilococos coagulase positiva, foram quantificados pelo método recomendado pela (ISO) 6888-1:1999/Amd 1:2003. A partir das diluições seriadas de solução salina, foi inoculado por superfície 0,1 mL em ágar Baird-Parker (BP) e incubada a  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48h. Para a prova bioquímica de produção de coagulase pelos *Staphylococcus* foram realizadas conforme Silva et al. (2017b) utilizando-se plasma equino.

Os isolados de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, foram submetidos a PCR primeiramente foram recuperados em caldo BHI e submetidos à extração de DNA genômico (gDNA) por fervura simples conforme protocolo descrito por Ribeiro Júnior et al. (2016).

A PCR foi realizada de acordo com as seguintes condições: 50 ng de DNA molde, 100 nM de cada dNTP, 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10x, 75 mmol/L de  $\text{MgCl}_2$ , 20 pmol/L de cada *primer*, 2.5 U de *Platinum Taq DNA polymerase* (Invitrogen) e água ultrapura para completar o volume final de 25  $\mu\text{L}$ . Os produtos então amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% corados em solução de brometo de etídio a 20mg/L por 20 minutos e documentados sob luz ultravioleta.

Os resultados das contagens foram convertidos em  $\log_{10}$ , pareados e submetidos à análise estatística do teste T de Student no software Statistica v. 6.5 (StatSoft, USA).

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os ovos caipiras, 63,63% (7/11) apresentaram *Salmonella* spp. na casca, 27,27% (3/11) na gema e 27,27% (3/11) no ovo líquido integral. Nas amostras de ovos de granja inspecionados foi verificada que 45,45% (5/11) da casca, 27,27% (3/11) da gema e 36,36% (4/11) do ovo líquido integral. O quantitativo de isolados sugestivos de *Salmonella* spp. isolados e confirmados nos ensaios biomoleculares conforme cada tipo de ovo analisado estão apresentados na Tabela 1, onde pode ser verificado que, no total, foram isolados 384 e 246 cepas sugestivas de *Salmonella* spp. com resultados positivos para 36 (10%) e 33 (5,2%) a partir dos ovos caipiras e inspecionados, respectivamente. A demonstração de isolados por amostra analisada está apresentada na Tabela 3.

A Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina ausência de *Salmonella* spp., em 25g de ovo íntegro cru (ANVISA, 2022). Como foi possível verificar a presença desse micro-organismo nas amostras de ovos caipiras e de granja avícola, independente da forma de produção, foram observadas amostras não conformes.

A contaminação da casca do ovo por *Salmonella* spp. pode ocorrer durante a postura, quando os ovos entram em contato com fezes, ninhos ou ambiente contaminados ou no processamento e beneficiamento dos ovos (HOLCK et al., 2018). Em contrapartida a contaminação interna é sugestiva de uma transmissão vertical, ou seja, a partir de aves infectadas, ou condições inadequadas de tempo e temperatura que permitiram a invasão e multiplicação bacteriana no conteúdo interno (GANTOIS et al., 2009; GAST et al., 2014). Independente da causa ou origem da contaminação, a identificação de *Salmonella* spp. em ovos comerciais inspecionados evidencia que há necessidade de melhores medidas de controle sanitário, mesmo na ausência de contagens de coliformes a 45°C acima do limite de detecção utilizado no presente trabalho, visto a presença desse patógeno é um risco potencial à saúde dos consumidores.

Também foi identificada a presença de *Listeria* spp. em 9% (1/11) das amostras de ovos de granja (amostra 4), conforme apresentado nas tabelas 1 e 2. Embora a legislação brasileira não estabeleça limite qualitativo ou quantitativo para *Listeria* spp. e *Staphylococcus coagulase*

positiva em de ovo íntegro cru, a presença desses micro-organismos, como encontrado no presente trabalho, pode causar impacto na saúde do consumidor se o produto for consumido cru ou mal cozido ou ser o meio de transmissão do agente em contaminações cruzadas (BARCELOS; VALIATTIA; SOBRALA; ROMÃO; VIEIRA, 2016). A ingestão de *Listeria* spp. pode levar a quadros de meningite, meningoencefalite, septicemia e abortos, sendo fatal em cerca de 20% dos casos (BARCELOS; VALIATTIA; SOBRALA; ROMÃO; VIEIRA, 2016), especialmente em indivíduos imunodeprimidos, tais como grávidas, idosos e crianças que caracterizam o grupo de risco à infecção por esse micro-organismo. Há também grande dificuldade de se controlar a contaminação por esse micro-organismo, pela sua característica de ser resistente em ambientes diversos, formação de biofilmes e sua capacidade de se multiplicar em uma variada faixa de temperatura (0 °C a 42°C) (BARCELOS; VALIATTIA; SOBRALA; ROMÃO; VIEIRA, 2016). A ocorrência de *Listeria* spp presente no resultado pode estar relacionada à utilização de material anti-higiênico ou às incrustações em utensílios e equipamentos, o que facilita a multiplicação da bactéria e a formação de biofilmes. Após a formação de biofilme, a bactéria fica protegida, por isso pode resistir a alguns sanitizantes, dificultado assim a eliminação deste patógeno dos equipamentos (CARPENTIER; CERF, 2011).

Referente aos *Staphylococcus* coagulase positiva foi possível verificar a contagem acima do limite de detecção (10 UFC/mL) em 9% (1/11) apenas em amostra de ovo caipira clandestino (amostra 4), com contagem de 90 UFC/mL. Como indicadores da qualidade higiênico sanitária da manipulação de alimentos, esses micro-organismos são responsáveis por causar intoxicações alimentares, pois alguns têm potencial de produzir toxinas estafilocócicas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Além disso, a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de ovos caipiras, devido falhas durante o processo de manipulação. Visto que, esse micro-organismo foi encontrado com maior abundância nas fossas nasais, orofaringe e em mãos de humanos. (STRINGHINI *et. al*, 2007).

**Tabela 1.** Pesquisa de patógenos microbianos em ovos caipiras clandestinos e ovos de granja inspecionados comercializados no norte do Tocantins no período de julho a setembro de 2021.

Patógeno	Tipo de ovo											
	<i>Caipira clandestino</i>						<i>Granja avícola inspecionada</i>					
	<i>Casca</i>		<i>Gema</i>		<i>Integral</i>		<i>Casca</i>		<i>Gema</i>		<i>Integral</i>	
	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>P</i>	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>N</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>P</i>
<i>Salmonella</i> spp.	200	27	94	6	90	3	127	13	39	6	80	14
<i>Listeria</i> spp.	0	0	25	0	148	0	0	0	0	0	53	4

Legenda: n é o número de isolados e P positivos *invA* para *Salmonella* e *Listeria*.

A expressão dos resultados máximos, mínimos e as médias de contagens de micro-organismos indicadores da qualidade estão descritos na Tabela 2. Assim, foi verificado que todas (11/11) as amostras analisadas apresentaram contagem para aeróbios mesófilos, tanto nos ovos caipiras clandestinos quanto nos ovos de granja inspecionado, conforme apresentado individualmente na Tabela 3. Apesar da contagem de aeróbios mesófilos não estar incluída como parâmetro microbiológico de ovos íntegro cru na legislação brasileira (BRASIL, 2022), sua avaliação tem sido utilizada como indicador de qualidade higiênica de alimentos (SILVA et al., 2017). Sabe-se que a quantificação de aeróbios mesófilos é indicadora da contaminação total dos alimentos e, conseqüentemente, da sua vida útil (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A presença de aeróbios mesófilos nos ovos, observadas no presente estudo em  $>10^7$  UFC/mL tanto para os clandestinos como inspecionados, é indicativo de possível rápida deterioração e conseqüentemente baixa vida útil, visto que os mesmos se multiplicam com grande facilidade em temperatura ambiente na presença de oxigênio (RUMÃO et al., 2020). Além disso, indicam grande contaminação total do produto.

Foi observado que as contagens médias de coliformes totais para ovos clandestinos foram de  $2,8 \times 10^2$  NMP/g e 100 NMP/g para ovos inspecionados, valores que, no entanto, não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,21$ ). Ainda, 45,45% (5/11) das amostras de ovos caipiras clandestinos e de granja inspecionados apresentaram resultados de contagens superiores ao limite de detecção utilizado (3 NMP/mL), com variação de  $< 3$  NMP/g a  $>1.100$  NMP/g nos dois tipos de amostras, conforme apresentado na tabela 3.

Para coliformes termotolerantes foram identificadas estimativas superiores ao limite de detecção em 54,54% (7/11) das 11 amostras de ovos caipiras clandestinos, com variação de  $<$

3 NMP/g a 43 NMP/g e 27,27% (3/11) nos ovos inspecionados com variação de < 3 NMP/g a 7,3 NMP/g. Não foram identificados isolados sugestivos de *E. coli* em nenhuma amostra avaliada. Portanto, através desta análise, é possível verificar o potencial controle de risco da presença de enteropatógenos (CORDEIRO, 2014).

Coliformes totais são importantes micro-organismos indicadores da qualidade, porque no ovo, a presença de um número elevado desses micro-organismos indica a possibilidade de contaminação ambiental, cruzada ou de um processamento inadequado.

**Tabela 2.** Resultados das contagens de micro-organismos indicadores da qualidade de 11 amostras de ovos caipiras clandestinos e 11 amostras de ovos de granja inspecionados comercializadas em Araguaína, Tocantins, no período de no período de julho a setembro de 2021.

Micro-organismos Indicadores	Produtos					
	Ovo caipira clandestino			Ovo granja inspecionado		
	Máx.	Min.	Média	Máx.	Min.	Média
<b>Coliformes 30°C (NMP/mLg)</b>	>1100	<3	2,8 x 10 <sup>2</sup>	>1100	<3	1 x 10 <sup>2</sup>
<b>Coliformes a 45°C (NMP/gmL)</b>	43	<3	7,7	7,3	<3	3,8
<b>Aeróbios mesófilos (UFC/mLg)</b>	2,5 x 10 <sup>8</sup>	1,5 x 10 <sup>2</sup>	4,5 x 10 <sup>7</sup>	3,2 x 10 <sup>8</sup>	3,5 x 10 <sup>2</sup>	2,9 x 10 <sup>8</sup>
<b>Psicrotróficos (UFC/mLg)</b>	<10	<10	10	<10	<10	10

Durante a análise microbiológica das amostras de ovos caipiras foi possível observar em uma amostra contaminação apenas na gema. Esse achado é sugestivo que houve uma possível contaminação sistêmica, intra-ovariana ou durante a ovoposição, correspondendo a falhas de manejo sanitário dentro do sistema de produção. Entretanto, nos ovos inspecionados foi detectado que as amostras que apresentaram contaminação nas cascas, também apresentaram contaminação na gema, podendo-se inferir que houve possível contaminação durante a ovoposição ou mesmo falha durante a manipulação e ou o armazenamento desses produtos (GANTOIS et al., 2009).

A produção inspecionada de ovos em granjas avícolas utilizando o sistema de confinamento em gaiolas, caso das amostras avaliadas, predispõem os ovos a menor contaminação ambiental/fecal em relação aos ovos de aves caipiras, como observado na comparação das estimativas de coliformes totais e termotolerantes. A quantificação semelhante de aeróbios mesófilos observada para os dois tipos de amostras pode estar relacionada justamente à contaminação ambiental dos ovos caipiras e nos ovos de granja ao processamento

regular, uma vez que esses ovos são lavados, têm contato com superfícies de equipamentos e podem ser manualmente embalados (LACERDA, 2011).

No entanto, pelas elevadas contagens é recomendado aos estabelecimentos produtores de ovos regulares que intensifiquem as medidas higiênico-sanitárias para prevenção de potenciais riscos microbiológicos ou problemas tecnológicos de baixa vida útil.

**Tabela 3** – Contagem média de Bactérias Aeróbias Mesófilas, Coliformes totais, Termotolerantes, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus coag. Positiva* em ovos in natura caipira clandestino e granja inspecionados comercializados na cidade de Araguaína na região norte do estado do Tocantins.

Ponto de Coleta	Amostra	Aeróbios Mesófilos* (UFC/mL)	Coliformes a 30°C* (NMP/mL)	Coliformes a 45°C* (NMP/mL)	<i>Salmonella spp.</i>		<i>Listeria spp.</i>		<i>Staphylococcus coag. Positiva</i> (UFC/g)
					N	Positivos	n	Positivos	
Ovo Caipira Clandestino	1	1,5 x 10 <sup>2</sup>	4,6 x 10 <sup>2</sup>	43	14	1	38	0	<10
	2	3,3 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	18	0	40	0	<10
	3	2,5 x 10 <sup>8</sup>	>1,1 x 10 <sup>3</sup>	7,2	71	11	0	0	<10
	4	2,5 x 10 <sup>8</sup>	>1,1 x 10 <sup>3</sup>	3,6	71	6	10	0	90
	5	6,6 x 10 <sup>5</sup>	4,6 x 10 <sup>2</sup>	3,6	0	0	10	0	<10
	6	3,7 x 10 <sup>3</sup>	7,3	9,3	67	4	25	0	<10
	7	3,9 x 10 <sup>5</sup>	<3	3,6	40	2	10	0	<10
	8	9,9 x 10 <sup>4</sup>	<3	<3	27	2	10	0	<10
	9	1,2 x 10 <sup>6</sup>	<3	<3	27	6	10	0	<10
	10	6,9 x 10 <sup>4</sup>	<3	<3	29	2	10	0	<10
	11	4,0 x 10 <sup>5</sup>	<3	<3	29	2	10	0	<10
<b>Média</b>		4,5 x 10 <sup>7a</sup>	2,8 x 10 <sup>2a</sup>	7,7 <sup>a</sup>					
Ovo de Granja SIF	1	3,2 x 10 <sup>8</sup>	>1,1 x 10 <sup>3</sup>	3,6	56	8	0	0	<10
	2	3,9 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	40	5	0	0	<10
	3	1,8 x 10 <sup>5</sup>	3	<3	5	2	0	0	<10
	4	1,3 x 10 <sup>7</sup>	20	7,2	25	5	0	0	<10
	5	5,8 x 10 <sup>3</sup>	7,3	<3	30	0	10	4	<10
	6	4 x 10 <sup>6</sup>	<3	<3	15	5	9	0	<10
	7	3,5 x 10 <sup>2</sup>	<3	<3	0	0	0	0	<10
	8	3,4 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	50	8	13	0	<10
	9	2 x 10 <sup>3</sup>	7,3	7,3	0	0	10	0	<10
	10	2,1 x 10 <sup>3</sup>	<3	<3	0	0	20	0	<10
	11	1,5 x 10 <sup>7</sup>	<3	<3	25	0	0	0	<10
<b>Média</b>		2,9 x 10 <sup>8a</sup>	1 x 10 <sup>2a</sup>	3,8 <sup>a</sup>					

\* Valores na mesma coluna seguidos pela mesma letra não apresentam diferença estatística significativa no teste T ao nível de 5% de confiança.

## 8. CONCLUSÃO

Foram observadas alterações microbiológicas entre os ovos caipiras/clandestinos e de granjas avícolas comercializados no norte do Tocantins. Independentemente da forma de produção e/ou comercialização, os ovos apresentam risco microbiológico para o consumidor se consumidos crus ou mal cozidos pela presença de *Salmonella* spp., além do risco à saúde pública inerente à positividade de *Listeria monocytogenes* encontrada nos ovos inspecionados avaliados.

A pesquisa de *Salmonella* spp. na casca dos ovos foi eficiente para detectar a presença do patógeno, assim também como na gema e no ovo integral, com possível infecção interna das aves por *Salmonella* spp. e contaminação ambiental ou estercoreal.

Diante do exposto, é necessária uma fiscalização mais efetiva por parte dos órgãos competentes, realização de treinamento com os manipuladores de alimentos e também educação sanitária da população acerca do risco existente das DTA's, a fim de garantir um produto inócuo e com mais qualidade aos consumidores, evitando assim risco à saúde da população. Assim foi possível observar que houve inadequações sanitárias tanto em ambiente de posturas, quanto falhas durante o processamento e armazenamento dos ovos, devido à presença de agentes patogênicos encontrados durante a pesquisa, tais como *Salmonella* spp., *Listeria* spp, *Staphylococcus* coagulase positivo.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução Normativa - In N° 161, De 1° De Julho De 2022. Disponível em:<

[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN\\_161\\_2022\\_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2) [www.anvisa.gov.br/legis](http://www.anvisa.gov.br/legis)> Acessado em: 04 fevereiro. 2023.

ARANDA, K. R. S., FAGUNDES-NETO, U., & SCALETSKY, I. C. A. (2004). Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Journal of clinical microbiology*, 42(12), 5849-5853.

BARCELOS, I. B., VALIATTIA, T. B., SOBRALA, F. D. O. S., ROMÃO, N. F., VIEIRAA, V. M. **Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria Monocytogenes* em Saladas Contendo Maionese Comercializadas em Restaurantes Localizados no Município de JI – Paraná, Rondônia, Brasil.** *J Health Sci* 2016;18(3):159-62 [acesso em: 2022 Nov ]. Disponível em: [file:///C:/Users/User/Downloads/3301%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/3301%20(1).pdf).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN N° 161, DE 1° DE JULHO DE 2022. **Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos**, Julho de 2022.

CARPENTIER, B; CERF, O. **Persistence Of *Listeria Monocytogenes* In Food Industry Equipment And Premises.** *Int J Food Microb* 2011. 145(1):1-8.

CHEN, Y., & KNABEL, S. J. (2007). Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6299-6304. <https://doi:10.1128/AEM.00961-07>.

CORDEIRO, M. *Correlação entre E.coli, Coliformes Fecais e Totais e Salmonellaspp.* Almada: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz 2014

DE REU, K.; GRIJSPEERDT, K.; HEYNDRICKX, M.; UYTENDAELE, M.; HERMAN, L. The use of total aerobic and Gram-negative flora for quality assurance in the production chain of consumption eggs. **Food Control**, v. 16, p. 147-155, 2005.

FRANCO BDGM, LANDGRAF M, DESTRO MT, et al. (2003) Foodborne diseases in Southern South América. In: MILIOTIS, M, BIER. *Journal International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcel Dekker: New York, p.733–743.

FRANCO, B. D. G. M., & LANDGRAF, M. (2008). *Microbiologia dos alimentos*. 182. São Paulo: Atheneu.

FRANK, J.F.; YOUSEF, A.E. Test for groups of microorganisms. In: WEHR, H.M.; FRANK, J.K (Eds.), **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**, 17th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2004. Chapter 8, Section 8.090 an 8.100, p. 239-242.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 384 p. 2013.

GANTOIS, I., DUCATELLE, R., PASMANS, F., HAESEBROUCK, F., GAST, R., HUMPHREY, T. J., & IMMERSEEL, F. V. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. *FEMS Microbiology Review*, 33(4), 718- 738. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00161.x

GAST, R. K.; GURAYA, R.; JONES, D. R.; ANDERSON, K. E. (2014). Horizontal transmission of *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science*, 93(12), 3145-3151. doi: 10.3382/ps.2014-04237

HOLCK, A. L., LILAND, K. H., DROMTORP, S. M., CARLEHÖG, M., & MCLEOD, A. (2018). Comparison of UV-C and Pulsed UV Light Treatments for Reduction of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* on Eggs. *Journal of Food Protection*, 81(1), 6-16. doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-128.

LACERDA, M. J. R. **Sanitização e refrigeração de ovos de codornas comerciais contaminados experimentalmente por *Salmonella typhimurium***. 86 f. TESE (Mestrado), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P., and K. ITO (ed.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2001. Chapter 7, p. 63-67.

RUMÃO, J. DA S., BRITO, D. A. P., REINEHR, C. O., CONCEIÇÃO, A. O., & FRAZÃO, R. M. (2020). **Ocorrência de *Salmonella* spp. e de microrganismos indicadores de qualidade em ovos comercializados na Região Metropolitana de São Luís, Maranhão**. Research, Society and Development. [acesso em: 2022 Out ]. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6175>.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; TAMANINI, R.; SOARES, B.F.; OLIVEIRA, A.M.; SILVA, F.G.; SILVA, F.F.; AUGUSTO, N.A.; BELOTI, V. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina Ciências Agrárias**, v. 7, p. 3069–3078, 2016.

SILVA, J. C. G.; SILVA FILHO M. M.; NASCIMENTO G. V.; PEREIRA, D. A. B.; COSTA JÚNIOR, C. E. O. Incidência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) no estado de Pernambuco, um acompanhamento dos dados epidemiológicos nos últimos anos. **Ciências Biológicas e de Saúde UNIT**, 3, 23-34. 2017.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO – SINAN. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022**, Brasil, Janeiro de 2022.

SHANMUGASAMY, M., VELAYUTHAM, T. & RAJESWAR, J. (2011). *InvA* gene specific PCR for detection of *Salmonella* from broilers. *Veterinary World*. 4(12):562-564. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.562-564>.

STRINGHINI, M. L. F.; REZENDE, P. M.; ANDRADE, M. A.; BATISTA, M. A.; LEANDRO, N. S. M. Perfil Bacteriológico Das Fossas Nasais, Orofaringe E Mãos De Funcionários Locados Em Granjas De Produção De Ovos Comerciais. In: Congresso Nacional da Sociedade brasileira de Alimentação e Nutrição. São Paulo: Anais, p. 340, 2007.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C.; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; SOEIRO, M.L.T.; RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.

### CAPITULO III – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para manter os padrões microbiológicos do ovo, o mesmo precisa ser produzido em condições adequadas de higiene e terem armazenamento adequado. Conforme a pesquisa realizada foi possível concluir que os ovos analisados tanto caipira quanto inspecionados apresentaram contaminação por microrganismos deteriorantes e indicadores de baixa qualidade higiênico sanitária. Existem ovos *in natura* com qualidade microbiológica inaceitável, pelo risco de veiculação de *Salmonella* spp. por meio do consumo ou por contaminação cruzada, a partir da manipulação das cascas contaminadas.

Por meio das análises realizadas foi possível observar que houve contaminação por enterobactérias, indicando falhas sanitárias durante o processo de fabricação, sendo necessário adotar medidas que reduzam consideravelmente as contaminações deste alimento. Portanto, é fundamental a conscientização dos consumidores quanto às boas práticas de fabricação, com intuito de garantir a saúde do consumidor.

Os cuidados sanitários devem ser realizados desde a criação das aves, com implantação de programas sanitários nos núcleos avícolas. Tais como, origem e acondicionamento com a ração a ser consumida, bem como, com a água que é fornecida e ingerida pelas aves, a qual pode estar ligada a diversas contaminações microbiológicas que podem alterar a qualidade do produto. Visto que, após a ingestão, pelas aves, de alimentos contaminados com microrganismos, poderá contaminar os ovos por via sistêmica e afetar à saúde consumidor. Entretanto cabe ressaltar que os ovos podem ser contaminados por diversas formas, desde a produção, manipulação e transporte.

Após as análises realizadas na presente pesquisa foi possível observar que é necessário a efetivação da fiscalização da produção, conservação e comercialização desse alimento pelos serviços federais, estaduais e municipais de vigilância sanitária, aos quais são responsáveis por inspecionar e punir os infratores. Bem como, em ambientes que possuem condições de higiene inadequadas como mercados, mercearias, feiras livres, não garantindo a segurança dos alimentos, podendo afetar a saúde do consumidor.