

Universidade Brasil
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal
Campus Descalvado

CAROLINA FOURGIOTIS RODRIGUES

**PESQUISA DE COLIFORMES E *SALMONELLA* SPP. EM OVOS
COMERCIALIZADOS EM FEIRA LIVRE, NO MUNICÍPIO DE ESPIGÃO
DO OESTE - RONDÔNIA**

SALMONELLA SPP. AND COLIFORMS IN EGGS SOLD AT AN OPEN MARKET, IN
ESPIGÃO DO OESTE CITY - RONDÔNIA

Descalvado, SP
2016

Carolina Fourgiotis Rodrigues

**PESQUISA DE COLIFORMES E *SALMONELLA* SPP. EM
OVOS COMERCIALIZADOS EM FEIRA LIVRE, NO MUNICÍPIO DE
ESPIGÃO DO OESTE - RONDÔNIA**

SALMONELLA SPP. AND COLIFORMS IN EGGS SOLD AT AN OPEN
MARKET, IN ESPIGÃO DO OESTE CITY - RONDÔNIA

Orientadora Profa. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi

Co-orientadora: Profa. Dra. Danila Fernanda Rodrigues Frias

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Descalvado, SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Carolina Fourgiotis

R615p Pesquisa de coliformes e salmonella spp. em ovos comercializados em feira livre, no município de Espigão do Oeste – Rondônia / Carolina Fourgiotis Rodrigues. -- Des-
calvado, 2016.

50 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Cássia Maria Barroso Orlandi

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Danila F. Rodrigues Frias

1. Bactéria. 2. Contaminação. 3. Saúde pública. 4. To-
xinfecção. I. Título.

CDD 576.163

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**Carolina Fourgiots Rodrigues****“Pesquisa de Salmonella spp e Enterobactérias em ovos comercializados em feira livre no município de Espigão do Oeste - Rondônia”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi
(Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Prof. Dra. Dora Inês Kozulsky Andreani
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Prof. Dra. Thalita Masoti Blankenheim
UNESP - Jaboticabal

Descalvado, 15 de outubro de 2016

Prof. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi
Presidente da Banca

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo Programa da UNICASTELO e no Banco de Teses da CAPES

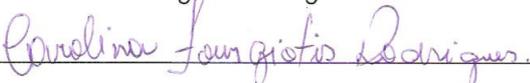
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a UNICASTELO a disponibilizar através do site <http://www.unicastelo.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

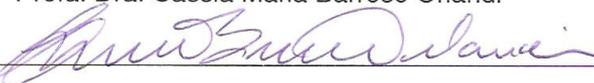
Título do Trabalho: **“Pesquisa de *Salmonella* spp e Enterobactérias em ovos comercializados em feira livre no município de espigão do oeste - Rondônia”**

Autor(es):

Discente: Carolina Fourgiots Rodrigues

Assinatura:  _____

Orientador: Profa. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi

Assinatura:  _____

Data: 15 de outubro de 2016

PESQUISA DE COLIFORMES E *SALMONELLA* SPP. EM OVOS COMERCIALIZADOS EM FEIRA LIVRE, NO MUNICÍPIO DE ESPIGÃO DO OESTE - RONDÔNIA

RESUMO

Devido à facilidade de propagação dos microrganismos no meio ambiente, esses são transmitidos facilmente aos seres humanos e comprometem a saúde pública. Diante disso, pesquisou-se a presença de *Salmonella* spp. e enterobactérias (coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*) em 104 ovos comercializados em feira livre, provenientes de oito fornecedores no Município de Espigão do Oeste/RO. Inicialmente foram utilizados 24 ovos provenientes de três fornecedores para pesquisa de *Salmonella* spp. no conteúdo interno (clara e gema) por ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay), no equipamento Vidas[®] para determinação microbiológica qualitativa (Experimento 1). Posteriormente foram utilizados 80 ovos (casca e gema) para pesquisa de *Salmonella* spp. e enterobactérias (Experimento 2), por meio de isolamento e cultura nos meios Lauril Sulfato, Verde brilhante, EMB (eosina metileno blue) e em Ágar SS (*Salmonella* Shigella). As análises do primeiro experimento revelaram ausência de *Salmonella* em todas as amostras avaliadas. No entanto, no experimento 2, foi detectada a presença de *Salmonella* tanto na gema quanto na casca, embora com maior incidência na casca. Quanto às enterobactérias, os coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* foram detectados tanto na casca como na gema em proporções semelhantes em três dos fornecedores, predominando na casca do ovo de cinco dos fornecedores. Entre os fornecedores houve semelhança quanto à predominância desses microrganismos com exceção de um fornecedor, destacando-se pela quantidade superior das enterobactérias na gema. Portanto, a pesquisa permitiu detectar os fornecedores de ovos, com maior potencial de risco a saúde pública.

Palavras-chave: bactéria, contaminação, saúde pública, toxinfecção.

SALMONELLA SPP. AND COLIFORMS IN EGGS SOLD AT AN OPEN MARKET, IN ESPIGÃO DO OESTE CITY - RONDÔNIA

ABSTRACT

Public health is compromised by easy transmission of bacteria from environment to human. Thus, *Salmonella* spp. and enterobacteria (total coliforms, fecal coliforms and *E. coli*) were investigated in 104 eggs being commercialized at a free market by eight stand producers in Espigão do Oeste/RO. Initially 24 eggs from three producers were submitted to *Samonella* isolation by ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay), using an equipment Vidas[®] for quantitative microbiology test. (Experiment 1). Then, 80 eggs (shell and egg yolk) were submitted to culture in Lauril Sulfate, Bright Green, EMB (eosina metileno blue) and SS Agar (Salmonella Shigella). The first experiment resulted in total absence of *Salmonella*. However, results from experiment 2, detected presence of *Salmonella* in shell and egg yolk, with higher incidence at shell than at yolk. Regarding enterobacteria, total coliforms, fecal coliforms and *E. coli* they were all detected in shell and yolk with similar proportions from three producers, and they were predominant at a shell from five producers. Among the stand producers were similarity regarding predominance of those microorganism with exception of one of those, which presented superior quantity of enterobacteria in yolk. Thus, the study detected the egg production distributor with greater risk to public health.

Key-words: bacterium, contamination, public health, toxinfection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura esquemática do ovo.....	16
Figura 2: Fotomicrografia das camadas da casca do ovo por meio de microscopia eletrônica de varredura. Camadas mamilar, paliçada e membranas da casca em aumento de 200x (A).....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de galinhas poedeira das granjas pesquisadas no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.....	29
Tabela 2: Resultados obtidos para as amostras de ovos, da 1ª avaliação, em relação à detecção de <i>Salmonella</i> sp. Descalvado, 2016.....	35
Tabela 3: Resultados obtidos para as amostras de ovos, da 2ª avaliação, em relação à detecção de <i>Salmonella</i> sp. Descalvado, 2016.....	35
Tabela 4: Resultados das comparações múltiplas da presença de coliformes totais em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.....	36
Tabela 5: Resultados das comparações múltiplas da presença de coliformes termotolerantes em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.....	37
Tabela 6: Resultados das comparações múltiplas da presença de <i>Escherichia coli</i> em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.....	37
Tabela 7: Resultados das confrontações para ocorrências de <i>Salmonella</i> spp. em ovos amostrados em feiras de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
°C	Graus Celsius
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
<i>E. coli</i>	<i>Echerichia coli</i>
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
FACIMED	Faculdade de Ciências Biomédicas de Cacoal
G	Gramas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	Mililitros
Min	Minutos
N°	Número
OMS	Organização Mundial da Saúde
Ppm	Partes por Milhão
pH	Potencial de Hidrogênio
RO	Rondônia
SE	<i>Salmonella Enteritidis</i>
SIE	Serviço de Inspeção Estadual
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
SP	São Paulo
Spp	Espécies
T°	Temperatura
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UNEMAT	Universidade Estadual de Mato Grosso
UNIVERSIDADE BRASIL	Universidade Brasil

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Relevância do tema.....	14
1.2. Fundamentação	14
1.2.1. Composição do ovo.....	15
1.2.2. Composição da casca do ovo	16
1.2.3. Coliformes totais e termotolerantes.....	18
1.2.4. <i>Escherichia coli</i>	18
1.2.5. Característica do patógeno – <i>Salmonella</i> spp.....	19
1.2.6. <i>Salmonella Enteritidis</i>	20
1.2.7. Salmonelose.....	21
1.2.8. Alternativas de inibição da <i>Salmonella</i>	22
1.2.9. Manejo dos ovos e controle de contaminação	24
1.2.10. Saúde pública.....	25
1.3. Hipóteses	27
1.4. Objetivo geral e objetivo específico	27
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
2.1. Local e amostra.....	28
2.2. Perfil das granjas.....	28
2.3. Amostragem	29
2.3.1. Experimento 1 - Pesquisa de <i>Samonella</i> spp em ovos de feira livre pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) no equipamento Vidas®	29
2.3.2. Experimento 2 - Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. e enterobactérias em ovos comercializados em feira livre, submetidos à cultura em meios específicos.....	30
2.4. Procedimentos laboratoriais	31
2.4.1. ELFA - Enzyme Linked Fluorescence Assay para detecção de <i>Salmonella</i> spp.	31

2.4.2. Cultura de cascas e gemas de ovos por isolamento com swab em meios específicos para detecção de <i>Salmonella</i> spp. e Enterobactérias	31
2.4.2.1. Coliformes	32
2.4.2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	33
2.5. Análise estatística	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
3.1. Experimento 1	35
3.2. Experimento 2	36
3.2.1. Coliformes	38
3.2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	39
4. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXO A – Imagens da granja A, B e C	48
RESENHA BIOGRÁFICA DO AUTOR	50

1. INTRODUÇÃO

De acordo com dados das pesquisas trimestrais da produção de ovos de galinha, divulgadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no quarto trimestre do ano de 2014 o Brasil produziu 718 milhões de dúzias de ovos, o que significa uma alta de 3,2% em relação ao ano anterior [1].

Com o aumento da produção de ovos de galinha, aumentou também o consumo *per capita* deste produto. A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) afirmou que o consumo per capita no ano de 2014 foi de 168 unidade e que até o final do ano de 2015 seria de 200, ou seja, um aumento de 9% [2].

As toxinfecções alimentares são um problema grave de saúde pública. A maioria dessas doenças estão associadas ao consumo de carne de aves e produtos avícolas contaminados com sorotipos paratífóides de *Salmonella*. São conhecidos mais de 2800 sorotipos de *Salmonella*, dentre estes 80 a 90 são os mais comuns em infectar aves e humanos [3].

A salmonelose é considerada uma zoonose, pois causa transtornos a população mundial, podendo levar à morte. Essas bactérias não possuem hospedeiros específicos tornando mais difícil a erradicação deste patógeno do ambiente de criação ou eliminá-los dos produtos provenientes de animais contaminados [4].

O ovo é um alimento perecível e frágil, assim sofre facilmente contaminação bacteriana, principalmente pela *Salmonella*, prejudicando a sua qualidade. A salmonelose é encontrada no Brasil e no mundo e é considerada um desafio para a saúde dos consumidores. O alimento mais comum em surtos de salmonelose é o ovo, destacando-se a manipulação inadequada como um fator de contaminação cruzada [5].

A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento dos alimentos, Gama e Togashi [6] afirma que o índice de coliformes totais é um meio de avaliar as condições higiênicas e o índice de coliformes termotolerantes é um indicador de contaminação fecal, e serve também, para avaliar as condições higiênico-sanitárias precárias, sendo que a população deste grupo é constituída em sua maioria por *Escherichia coli*.

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* são utilizadas frequentemente como indicadores de condições sanitárias em indústrias de alimentos. Essas bactérias são amplamente distribuídas na natureza e no trato intestinal de seres humanos e animais. Elas pertencem ao grupo dos coliformes totais e são representadas por gêneros como: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Hafnia* e *Citrobacter*. Estes gêneros são utilizados normalmente como indicadores das condições sanitárias no controle da qualidade de água e alimentos [7].

A presença de *E. coli* em alimentos crus é considerada um indicador de contaminação fecal. Essa contaminação pode ocorrer de modo direto e indireto. O primeiro ocorre durante o processamento do alimento e devido à falta de higiene pessoal dos manipuladores, no caso de ovos, o manejo incorreto em relação a coleta de ovos diariamente ou na preparação de algum prato que inclui este alimento cru. Já a indireta pode ocorrer pela água contaminada [8].

Por este motivo, o objetivo deste estudo foi pesquisar a presença de *Salmonella* e enterobactérias em ovos comercializados em feira livre, sem fiscalização agropecuária, no Município de Espigão do Oeste/RO.

1.1. Relevância do tema

No Município de Espigão do Oeste – Rondônia, ocorre a falta de fiscalização (Serviço de Inspeção Federal - SIF, Serviço de Inspeção Estadual - SIE e Serviço de Inspeção Municipal - SIM) para ovos comerciais, tanto em mercados quanto em feiras livre, sem data de produção e validade e normalmente em embalagens não apropriadas. É sabido que as bactérias podem contaminar o alimento por meio de pequenos orifícios, imperceptíveis ao olho humano, como no caso da casca do ovo. A problemática com a qualidade e incidência de *Salmonella* e Enterobactérias em alimentos de origem animal é de grande relevância para a saúde pública mundial.

1.2. Fundamentação

A avicultura brasileira representa 1,5% do Produto Interno Bruto - PIB, gera 5 milhões de empregos diretos e indiretos, além de possuir vantagens, como a de produção não sazonal e o baixo custo de produção [9]. A avicultura de postura vem crescendo cada vez mais, talvez isto se explique pelo fato do ovo ter de alto valor

nutritivo, menor custo de produção, se comparado a outro alimento de origem animal, e de fácil preparo.

No entanto o ovo é um alimento frágil, perecível e de fácil contaminação, devendo se manter todas as “boas práticas” de produção deste produto.

A bactéria *Salmonella* spp. é um dos principais patógenos envolvidos em casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). Entre os principais veículos desse patógeno estão os ovos crus ou mal cozidos. Devido a *Salmonella* ter uma epidemiologia complexa, é difícil de controlá-la no ambiente em que as aves se encontram [3].

A contaminação dos ovos, tanto na casca como no conteúdo interno, é o principal fator de qualidade que deve ser rigorosamente inspecionado na tentativa de garantir segurança ao consumidor, considerando relatos sobre a alta incidência de Salmonelose e contaminação de ovos no mercado por *Salmonella* [10].

Dentre as bactérias de habitat considerado como fecal, do grupo dos coliformes termotolerantes, a *E. coli* é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não fecais. Porém, essa bactéria também pode se instalar nos alimentos a partir de fontes não fecais, e é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento [8]. Desta forma, é também considerada de grande importância na veiculação de doenças de origem alimentar.

1.2.1. Composição do ovo

O ovo da galinha é um alimento completo por fornecer nutrientes essenciais à saúde, além de ser um alimento de alto valor nutricional. Sua composição vai depender de vários fatores como espécie, tamanho, genética, idade, nutrição, manejo e estado sanitário da ave [11].

A casca do ovo é a mais importante e a primeira barreira contra a invasão de microrganismos. Além da cloaca, a contaminação deste alimento logo após a postura pode ocorrer também pela terra, poeira e excretas. A qualidade da casca é um fator de suma importância em relação a contaminação interna dela, pois há relação direta com a presença de microrganismos no ambiente [12].

De acordo com Aragon-Alegro et al. [13] bactérias e fungos são os principais microrganismos responsáveis por alterações físico-químicas em ovos após a postura. Sendo os principais patógenos *Salmonella thyphimurium*, *S. enteritidis*, *S.*

pullorum, *Staphylococcus campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*. Os gêneros de bactérias deterioradoras desse alimento são *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Enterobacter* e *Flavobacterium*.

A medida em que a galinha aumenta suas semanas de vida, a qualidade do ovo diminui, e conseqüentemente a porcentagem de casca também. Desde o momento da postura, conforme o ovo vai envelhecendo, o albúmen denso torna-se líquido devido a inúmeras reações químicas que ocorrem em seu interior, que possivelmente envolvem ácido carbônico e o aumento do pH do albúmen. Observa-se também a perda do peso deste alimento e o movimento de líquido do albúmen para a gema. Desta maneira, a qualidade interna é intensamente afetada pela estocagem prolongada [14].

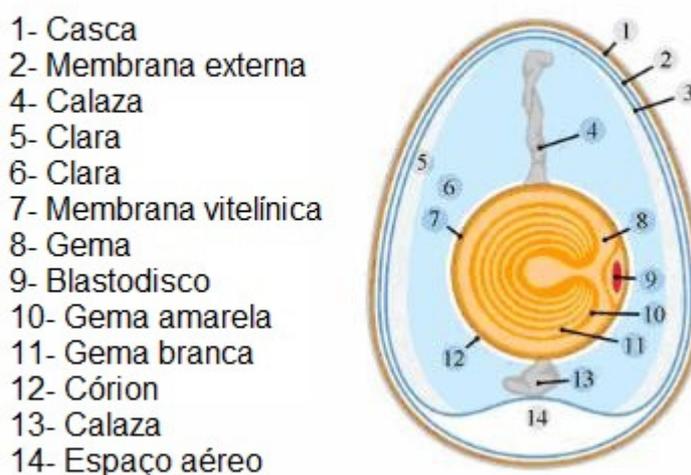


Figura 1: Estrutura esquemática do ovo
Fonte: adaptado de Cervi [15].

1.2.2. Composição da casca do ovo

O ovo é composto pela casca, membranas externas e internas, albúmen ou clara e a gema ou vitelo, sendo estes, os mais importantes, mas possui também em menor proporção outras partes como o disco germinativo, calaza, câmara de ar e a cutícula [16].

O ovo apresenta naturalmente barreiras físicas e químicas de proteção contra contaminação de microrganismos patógenos, tais como a casca, membranas

e componentes antimicrobianos (lisozima, avidina, proteína ovoinibidor, ovoflavoproteína e ovotransferrina), além do pH que pode atingir valores em torno de 9,0, tornando a clara um ambiente desfavorável para a maioria dos microrganismos [17].

A casca do ovo é composta por 96,5% de mineral e 3,5% de fração orgânica (membranas da casca) [18]. Possui inúmeros poros e é envolvida externamente por uma película proteica bem fina, isto a torna impermeável. Na parte de dentro do ovo existem duas membranas subjacentes e essas lhe fornecem uma proteção maior contra a penetração de microrganismos [19].

Ordóñez [20] cita que o ovo é constituído pela casca (8 a 11%), gema (27 a 32%) e albúmen (56 a 61%), sendo que a casca é composta por proteínas e cristais calcíticos intersticiais em uma proporção de 1:50. A porção mineral é preenchida por 98,2% de carbonato de Ca^+ , 0,9% de carbonato de magnésio e 0,9 por cento de fosfato de cálcio. A matriz orgânica é composta por proteínas.

Os poros são cavidades em forma de funis, com a parte superior mais ampla e no inferior mais estreita [21]. Na Figura 1 é possível ver as camadas da casca do ovo que participam como barreira contra a entrada de microrganismos contaminantes.

O tamanho e o peso do ovo aumentam com a idade das aves, porém, o peso da casca não aumenta na mesma proporção. Então, na medida que a ave envelhece, a estrutura da casca sofre modificações que demonstram queda na qualidade. Para tanto, utiliza-se métodos como medir peso, espessura, resistência e a relação entre peso da casca e peso do ovo, sendo essas medidas servidas para descarte das aves velhas [22, 23].

A película de nanopartículas capaz de revestir a casca e conferir ao ovo propriedades com maior tempo de duração e resistência foi desenvolvida pela Embrapa Aves e Suínos. Esta partícula proporciona redução da permeabilidade da casca e aumenta a proteção microbiológica do produto [24].

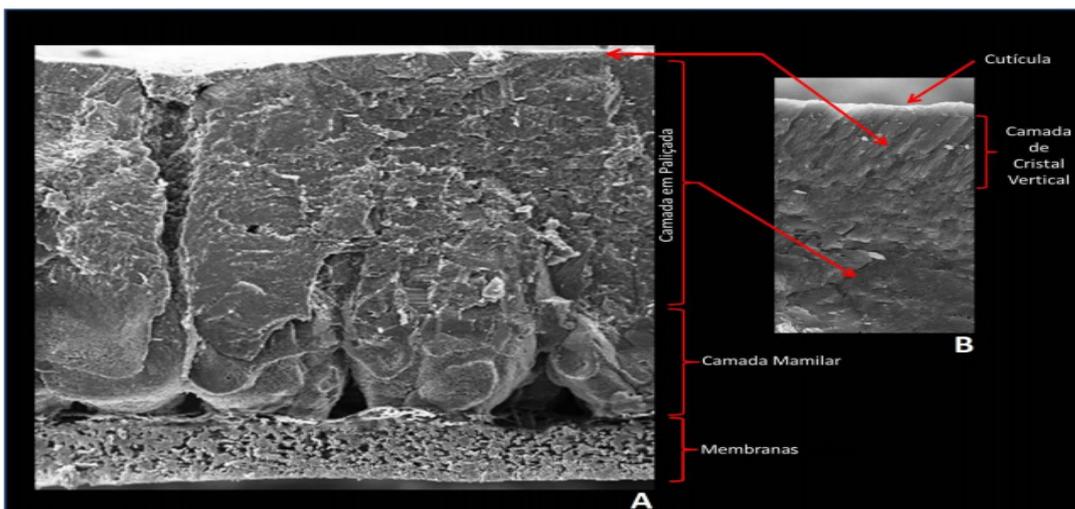


Figura 2: Fotomicrografia das camadas da casca do ovo por meio de microscopia eletrônica de varredura. Camadas mamilar, paliçada e membranas da casca em aumento de 200x (A).

Fonte: adaptado de: Barbosa [21].

1.2.3. Coliformes totais e termotolerantes

De acordo com Macêdo [25] as bactérias do grupo coliformes são consideradas os principais indicadores de contaminação fecal. Sendo este grupo dividido em coliformes totais e termotolerantes. Os coliformes totais são bastonetes Gram negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. Os coliformes totais são capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 a 48 horas com temperatura de 35°C, já os coliformes termotolerantes fermentam lactose com produção de gás em 24 horas com temperatura de 44,5 a 45,5°C.

Os coliformes termotolerantes são um grupo que inclui 4 gêneros sendo *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Dos quatro, a *E. coli* é de indicação de origem fecal, sendo a bactéria mais representativa dentro deste grupo [26].

1.2.4. *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli* é um bastonete Gram negativo, não esporulado, oxidase negativa, móvel por flagelos peritríquios ou não móvel, é anaeróbica facultativa com capacidade de fermentar glicose e lactose tendo como produção ácidos e gases. Essa bactéria pertence à família *Enterobacteriaceae*. Esta espécie pertence ao

grupo de coliformes fecais, esses são caracterizados por produzirem ácido e gás em caldo EC (*Escherichia coli*) em temperaturas entre 44°C e 46°C [27].

A *E. coli* é uma espécie comensal que predomina na microbiota anaeróbica facultativa do aparelho gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente. As cepas da *E. coli* produz gastroenterites em crianças, adultos e animais e são denominadas de enteropatogênicas, onde se manifestam clinicamente e epidemiologicamente diferentes em seus hospedeiros, isso é baseado nos fatores de virulência da bactéria [28].

Essa bactéria é oportunista frequentemente isoladas no aparelho reprodutor das aves e causam infecções bacterianas, as quais comprometem o aparelho reprodutivo produzindo deformações no oviduto e como consequência, alterando a apresentação da casca do ovo, deixando-a com formato anormal [29].

Soares e Mesa [18] apontam em uma pesquisa que a *E. coli* representa 95% das bactérias que compõem o grupo dos coliformes fecais, sendo a mais conhecida e a de mais fácil identificação. Sua presença é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento e, geralmente, em ovos não apresenta nenhuma característica visível, mas se multiplica rapidamente por razão da alta concentração de nutrientes e da variação de temperatura.

Em alguns trabalhos que estudaram a contaminação da casca de ovos vendidos em feira livre, a *E. coli* foi isolada em todos os ovos, independente da procedência, ou seja, de um modo geral, os ovos examinados apresentaram contaminação por coliformes. Vale ressaltar que a *E. coli* foi isolada somente na casca dos ovos [30].

1.2.5. Característica do patógeno – *Salmonella* spp.

Alguns estudos relatam que a maioria das contaminações dos ovos, levando em consequência a intoxicação alimentar é devido a bactéria *Salmonella*. A *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, compreendendo cerca de 2.800 sorotipos bioquimicamente relacionados. Os organismos do gênero *Salmonella* são bacilos Gram-negativos, móveis por flagelos peritríquios, anaeróbios facultativos, com catalase positiva e oxidase negativa [31].

A *Salmonella* spp. é uma bactéria entérica, responsável por graves quadros de intoxicações alimentares. Esta bactéria causa grandes problemas na saúde

pública, sendo muitas vezes os sinais e sintomas mal diagnosticados, comprometendo assim, todo o sistema de saúde. A maior parte dos sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem e apresentam diferenças na sintomatologia devido a variação no mecanismo de patogenicidade, idade e resposta imune do hospedeiro [32].

A *Salmonella* não forma esporos, mas produz gás a partir da glicose e é capaz de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A temperatura ótima de crescimento está entre 35 e 37°C, é termossensível e pode ser destruída a 60°C por 15 a 20 minutos [33].

Esta bactéria tem distribuição em toda a natureza, mas principalmente na água, no trato gastrointestinal de humanos e animais, dentre estes, nas aves, onde é mais comumente encontrada, seguido pelos suínos, bovinos, equinos e animais silvestres [34].

1.2.6. *Salmonella Enteritidis*

De acordo com Revolledo [33], a *Salmonella enteritidis* (SE) é um dos sorovares que mais está distribuído no mundo. Mesmo em aves sadias, elas podem carrear a bactéria para outras espécies e humanos.

A SE geralmente está em equilíbrio com as aves, o que chamamos de comensalismo e isto dificulta o diagnóstico e controle. Nos pintainhos a infecção pode se dar através da via vertical, pelos ovos incubados que contém a bactéria no interior, oriundas das galinhas positivas, ou pela via horizontal que é através de um portador que elimina o microrganismo pelas excretas, infectando os indivíduos susceptíveis [35].

Cardoso [36] citou a importância desse microrganismo na criação de frango de corte devido a prevalência significativa com distribuição mundial nos lotes de frangos e suas implicações na saúde pública, pois os alimentos são considerados veiculadores de salmonelose e principalmente pela SE.

Então devido a erradicação desse microrganismo ser praticamente impossível, é necessário que a biossegurança e monitoria sejam bem rigorosas, além do mais, a ave quando infectada, fica por um longo período eliminando a SE.

1.2.7. Salmonelose

A salmonelose é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Salmonella* spp. e está distribuída pelo mundo todo. Essa doença é considerada uma das principais formas de intoxicação alimentar e é dividida em três grupos: febre tifóide (*Salmonella Typhi*), febres entéricas (*Salmonella Paratyphi*) e as enterocolites (demais *Salmonellas*) [37].

Jay [38] citou que o fagotipo PT4 da *Salmonella* é considerado a principal causa de salmonelose no mundo. Em consequência disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que aproximadamente 1,8 milhões de pessoas morrem devido a doenças diarreicas por ano no mundo, e que, na maioria dos casos, estão ligados a alimentos ou água contaminados [37].

A salmonelose é uma das zoonoses com maior impacto em relação a saúde pública, devido à alta endemicidade, morbidade e dificuldade no controle dessa doença. Além do mais, essa toxinfecção gera mais óbitos do que outros microrganismos. O hábito alimentar é o principal fator que causa a salmonelose, ou seja, o preparo inadequado e o consumo do ovo cru ou mal cozido, principalmente em pratos que são à base de ovos sem cozimento [39].

A sintomatologia dessa doença inclui cólicas abdominais, náuseas, vômitos, diarreia, calafrios, febre e cefaleia. Os sinais clínicos aparecem em média 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, durando entre um a quatro dias. Nas infecções crônicas pode ser observado sintomas de artrite, de três a quatro semanas após a manifestação do quadro agudo [40].

Crianças pequenas, recém-nascidos e em indivíduos imunocomprometidos essa doença pode ser bastante grave, pois a bactéria pode atingir a corrente sanguínea, causando bacteremia, podendo ocasionar lesões em outros órgãos e meningite [9, 22].

Shinohara et al. [39] relataram que em áreas endêmicas a salmonelose acomete com maior frequência indivíduos com idade entre 15 a 45 anos. Vários são os fatores que contribuem para o aumento da patogenicidade dessa doença, entre eles se destacam o aumento crescente da população, a existência de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, urbanização desordenada e a necessidade de produção de alimentos em grande escala. Devido a esses fatores o

controle de órgãos públicos e privados relacionados a fiscalização dos alimentos disponíveis para o consumo humano é dificultado.

De acordo com Valsechi [40], hábitos alimentares influenciam na epidemiologia das salmoneloses. A manipulação inadequada, armazenamento de grande quantidade de alimentos com temperaturas desfavoráveis são condições que propiciam o aparecimento de contaminações desse tipo.

Conforme a pesquisa de Oliveira e Silva [22], no Brasil são poucos os levantamentos de *Salmonella* em ovos comerciais, isso pode ser explicado pela vigilância sanitária que estabeleceu condutas higiênico-sanitárias tais como, cuidados de armazenamento e preparação de pratos à base de ovos, mas faltam estudos mais atuais em relação a esse produto e sua cadeia de produção.

A persistência de *Salmonella* na casca do ovo pode chegar a 21 dias, tanto para os armazenados em temperatura ambiente quanto para os mantidos sob refrigeração, embora estudos recentes demonstrem maior sobrevivência de *Salmonella* na casca de ovos armazenados a 8 °C do que a 30 °C. Então, após esse período, a bactéria é aspirada para o interior do ovo devido a diferença de pressão que é regulada através dos poros da casca e, isto é interferido através do envelhecimento do ovo e o aumento da câmara de ar [10, 24].

Então, a prevenção da salmonelose causada pelo consumo de ovos contaminados é de responsabilidade de toda a cadeia de produção e até mesmo, da comercialização. A conscientização de todos os manipuladores deve ser levada em consideração implantando programas de controle desse patógeno para assim, minimizar os riscos de contaminação por este microrganismo [41].

1.2.8. Alternativas de inibição da *Salmonella*

Como alternativas para inibição, Radford e Board [42] recomendaram o uso de vinagre na preparação de maionese, pois a faixa de pH (potencial de hidrogênio) neste alimento é maior. O ácido acético apresenta um grande número de moléculas não dissociadas em relação ao ácido cítrico que outros autores utilizaram em estudos anteriores. A adição de mostarda em concentração de 0,30 é uma outra sugestão para a inibição dessa bactéria. E concentrações de 1,50% de alho também é recomendada, devido ao efeito antimicrobiano do alil-isotiocianato e da alicina que está presente neste condimento.

Arruda Téo e Oliveira [5] citam que o uso de óleos essenciais pode ser considerado um obstáculo a mais para a *Salmonella* se multiplicar, mas deve-se atentar a quantidade utilizada que pode interferir no sabor e odor do alimento. Esses óleos possuem ação de preservação, mas é limitado. O óleo timol e isotimol (orégano) utilizado na concentração sensorial de 0,70% é uma alternativa natural que ajuda na segurança intrínseca da maionese, por exemplo. Esse óleo age sinergicamente com o pH baixo e com a temperatura de armazenagem.

Alguns autores fizeram um estudo utilizando óleo mineral sobre a casca do ovo com o intuito de fechar os poros e impedir que microrganismos migrem para o interior do ovo e concluíram que a adição de óleo mineral em ovos mantidos sob refrigeração, não influencia na melhoria da qualidade em relação a microbiota presente nele [43,44].

O extrato de óleo essencial de orégano também pode ser utilizado para combater microrganismos patogênicos como a *Salmonella enteritidis*. Esses óleos são obtidos a partir das sementes, folhas e raízes. Em um estudo realizado por Lacerda [45] analisou-se a ação antimicrobiana em duas formas, a extração de óleo vegetal e do extrato vegetal. A forma mais eficiente foi a de óleo vegetal em relação a de extrato para as cepas analisadas. Porém, para a *Salmonella* esse tipo de prevenção não é muito eficiente, pois são bactérias Gram negativas, sendo essas menos sensíveis em relação às bactérias Gram positivas [46, 47].

Silva [48] realizou um estudo com o intuito de analisar o efeito antimicrobiano do óleo essencial de orégano em uma concentração de 0,2% na preparação da maionese e constatou que este composto resultou na redução da multiplicação do patógeno, porém, foi mais eficiente quando a maionese ficou armazenada em uma temperatura de 8°C do que em 30°C.

O pH do ovo também pode auxiliar na proteção contra microrganismos, já que as *Salmonellas* se desenvolvem melhor com o potencial de hidrogênio entre 6,5 a 7,5. Silva et al., Alleoni e Antunes [49 e 50] observaram em suas pesquisas que o aumento do pH do ovo, minutos depois da postura foi de 7,78 e aumentou para 9,34 e 9,46 com sete e 14 dias de armazenamento, respectivamente, em temperatura ambiente de 25 °C.

1.2.9. Manejo dos ovos e controle de contaminação

As características de qualidade dos ovos, tanto interna quanto externa, são de suma importância para evitar possíveis infecções de ordem pública. Todas as etapas no processamento dos ovos, desde a colheita na granja, transporte, desinfecção, seleção, embalagem e armazenamento são indispensáveis para manter uma boa qualidade do produto final.

O crescimento da bactéria SE em ovos pós postura, depende da temperatura de armazenamento, que é considerado um fator extrínseco na prevenção do crescimento deste microrganismo. Dentre as medidas de controle que visam a eliminação do patógeno presente na casca do ovo, o resfriamento rápido, o armazenamento sob refrigeração. Já como prevenção temos medidas educativas que informem aos consumidores como armazenar e consumir o ovo [3].

A legislação do Brasil recomenda aos produtores que armazenem os ovos em curto período, no máximo 30 dias, mas com temperaturas entre 4 e 12°C e com controle de umidade relativa do ar. Para períodos longos a recomendação é de temperatura em torno de 0°C, com umidade entre 70 e 80%. Já para consumidores domésticos, a recomendação é que se faça o armazenamento em caixa plástica com tampa, devendo retirar a embalagem original e acondicionar na prateleira da geladeira, e não na porta para evitar oscilação de temperatura [37].

O consumo de ovos sem cocção era uma prática usada pelo homem antigamente, porém hoje, os surtos de *Salmonella enteritidis* fizeram com que a população entendesse a capacidade de propagação do microrganismo pelo meio ambiente, através de consumo de alimentos sem o cozimento como, por exemplo, tortas, maionese e omeletes. Isto se tornou bem preocupante devido à facilidade desse microrganismo se expandir e se disseminar pelo meio ambiente contaminando tanto os animais quanto ser humano [51].

Em criações extensiva ou semi-extensiva, recomenda-se não deixar as poedeiras deitadas no ninho, sobre os ovos, após a postura, pois isso aumenta os riscos na contaminação dos ovos em contato com o meio. Outra recomendação é não lavar os ovos, pois a água pode penetrar através dos poros da casca e levar contaminantes para dentro do ovo. O ideal é limpá-los com uma esponja seca e comercializá-los rapidamente [3].

Em criações intensivas e industrializadas, no processo de limpeza em ovos sujos é permitido a lavagem, sanitização e secagem dos ovos. Um dos sanitizantes permitido é o cloro, em níveis menores que 50ppm e compostos à base de iodo. A lavagem em ovos melhora a aparência para a comercialização e aceitação do produto pelos consumidores, além da desinfecção do mesmo [11].

Por outro lado, ovos de galinha caipira são normalmente obtidos de pequenos produtores, na maioria sem assistência técnica, onde as aves são criadas soltas e sem tecnologia. Dessa forma, ovos “ tipo caipira” podem apresentar maior proporção de contaminação por microrganismos, devido à falta de manejo adequado, relacionado aos aspectos higiênico-sanitários da granja.

Segundo Sarcinelli et al. [51], existem polêmicas sobre o processo de sanitização da casca do ovo, o qual pode provocar a retirada da cutícula que existe na casca e com isto, acelerar o processo de decomposição devido à perda de CO₂ dissolvido na clara que facilitará a entrada de microrganismos.

A Agência Rural [52] de Goiás afirma que a temperatura da água utilizada para a limpeza dos ovos deve estar em torno de 35 a 45°C, para que se consiga eliminar uma boa parte das sujidades presentes na casca e a temperatura do enxágue deve ser maior do que a de limpeza, ou seja, deve ser de 60°C para garantir a remoção total de resíduos dos sanitizantes e outras possíveis bactérias.

Uma das maneiras de se evitar a contaminação dos ovos está relacionada com a água filtrada, ou seja, fornecer água filtrada e de qualidade para poedeiras é de grande importância, pois de acordo com Gama e Togashi [6], tipos de microrganismos podem estar relacionados com a contaminação de ovos. Ainda constataram no estudo que aves que receberam água filtrada apresentaram maior percentagem de postura, maior número de ovos por ave alojada, maior massa de ovo e melhor conversão alimentar (kg de ração/kg de ovo), sendo diferenças estatísticas consideráveis.

1.2.10. Saúde pública

De acordo com Salles [53] as toxinfecções alimentares deve-se principalmente à hábitos alimentares, à forma de comercialização dos produtos de origem animal e a falta de atenção durante a produção, estocagem e distribuição desses alimentos. A incidência atual de *Salmonellas* nas toxinfecções alimentares é desconhecida, uma

vez que, frequentemente, pequenos surtos não são relatados para as autoridades de Saúde Pública.

A legislação nacional e internacional determina a ausência de qualquer *Salmonella* spp. em 25 gramas da amostra analisada, incluindo carne de aves e ovos. Então, devido ao aumento tecnológico na produção desses alimentos, é necessário a adoção de medidas higiênicas de produção e manipulação de produto. Vale ressaltar que os produtores que se enquadram em agricultura familiar, talvez precisem de uma educação de medidas preventivas e sanitárias mais rigorosa na produção de ovos de galinha caipira [54].

Os casos de toxinfecções alimentares causados por essa bactéria aumentou a partir da década de 80 [55]. Vários surtos têm sido reportados, sendo o ovo a fonte de infecção humana. Um caso recente mostrou sobre a morte de uma senhora de 68 anos que contraiu uma infecção generalizada após comer empada de camarão de um vendedor ambulante na praia de Trancoso/BA, onde não resistiu e veio a óbito devido a terrível toxinfecção alimentar causada pela *Salmonella* [56].

Os surtos notificados de toxinfecções alimentares em humanos, geralmente, estão associados ao consumo de ovos crus ou semicrus, ou também, ao consumo de carne de frango mal cozida. A salmonelose possui grande importância não só na alimentação de humanos, mas também para animais, devido a sua complexidade epidemiológica [57].

Nos Estados Unidos, estima-se a ocorrência anual de 142.000 casos de salmoneloses devido ao consumo de ovos contaminados com *Salmonella*, representando um importante problema de saúde pública. Recomenda-se ações de educação em saúde, destacando os hábitos de higiene pessoal, principalmente a lavagem correta das mãos entre as pessoas que manipulam alimentos, observando cuidados na preparação, manipulação, armazenamento e distribuição de alimentos [10].

Costa et al. [58] afirmam que a lavagem dos ovos antes do consumo em água corrente é de suma importância para a sanidade deste alimento, pois contribui para uma redução significativa de microrganismo na casca e conseqüentemente no conteúdo interno. As medidas preventivas de toxinfecção alimentar uma vez que bem manejada, contribuirá significativamente nos casos de salmonelose na saúde pública.

Para tanto, é de responsabilidade dos produtores aderirem a programas de controle do patógeno para assim, fornecerem aos consumidores produtos seguros e de qualidade.

1.3. Hipóteses

Devido à falta de conhecimento dos produtores quanto às boas práticas com o manejo dos ovos, será possível a detecção de *Salmonella* spp. e enterobactérias em ovos comercializados em feira livre.

1.4. Objetivo geral e objetivo específico

Determinar a incidência de *Salmonella* e enterobactérias em ovos “tipo caipira” comercializados em feiras livres, da região de Espigão do Oeste – Rondônia.

Demonstrar à população e à EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural) de Rondônia, a importância da fiscalização dos ovos de feira livre por meio dos resultados obtidos no estudo.

Determinar a presença de *Samonella* e a quantidade de enterobactérias na casca e na gema dos ovos comercializados em feira livre.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local e amostra

Foram utilizados 104 ovos “tipo caipira” de oito granjas da região de Espigão do Oeste/RO.

Inicialmente as amostras de ovos ($n = 24$) foram obtidas de três granjas (A, B e C) com oito ovos de cada, sendo submetidas às análises para pesquisa de *Salmonella* na gema, por meio da técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) no equipamento Vidas[®] para determinação microbiológica quantitativa no Laboratório Qualitá- Ji-Paraná (Experimento 1).

Após a conclusão da primeira etapa, foram adquiridos oitenta ovos de feira livre de oito granjas (A, B, C, D, E, F, G e H) sendo dez ovos de cada produtor em dois períodos diferentes de amostragem, com intervalo de quinze dias, constituindo duas réplicas obtidas na mesma feira citada acima (Experimento 2).

2.2. Perfil das granjas

As granjas avaliadas são do modelo de agricultura familiar, onde as aves eram criadas em sistema extensivo e os ninhos, em sua maioria, compostos por caixotes de madeira, pendurados a uma altura de mais ou menos meio metro do chão, sob árvores.

Outros ninhos ficavam dispostos no chão e espalhados pelo quintal da propriedade. A quantidade de aves do plantel foi variada entre as granjas avaliadas, caracterizando o perfil familiar das mesmas.

As aves provenientes das granjas não eram de raças puras específicas, eram híbridas, tanto com coloração branca quanto marrom, preta e até mesmo de cor carijó.

As granjas foram denominadas por letras e o número de poedeiras por granja encontra-se na tabela 1 a seguir.

Tabela 1: Número de galinhas poedeira das granjas pesquisadas no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.

Granjas	Quantidade de poedeiras no plantel
A	80
B	120
C	160
D	200
E	120
F	300
G	150
H	80

2.3. Amostragem

2.3.1. Experimento 1 - Pesquisa de *Salmonella* spp em ovos de feira livre pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) no equipamento Vidas®

Etapa 1:

A primeira amostragem dos ovos foi realizada no dia 16 de março de 2016, às 07h30 minutos. Coletou-se para a primeira análise doze ovos das granjas A, B e C diretamente na feira livre de um bairro do Município de Espigão do Oeste. Utilizou-se quatro ovos de cada uma delas para as análises laboratoriais.

Identificação:

Os ovos foram identificados de acordo com as granjas (denominadas de A, B e C), mantidos em temperatura ambiente e encaminhados para análises laboratoriais na cidade de Ji-Paraná – RO, no Laboratório Qualittá Ambiental.

Etapa 2:

Uma segunda amostragem foi realizada no dia 27 de abril de 2016, nas mesmas condições da primeira amostragem, quanto a quantidade de ovos (quatro ovos de três produtores), granjas e encaminhamento para análises.

Pesquisa de *Salmonella* na gema:

O método adotado para a detecção de *Salmonella* foi o ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) no equipamento Vidas[®] (Qualittá, Ji-Paraná/RO, Brasil). Este teste consiste em um teste qualitativo automatizado e foi realizado de acordo com o protocolo Easy Salmonella validado AOAC RI (N° 020901) [59].

2.3.2. Experimento 2 - Pesquisa de *Salmonella* spp. e enterobactérias em ovos comercializados em feira livre, submetidos à cultura em meios específicos.

Local e período:

Oitenta ovos foram obtidos em feira livre (n= cinco ovos provenientes de oito bancas), totalizando duas réplicas realizadas dentro de um intervalo de 15 dias. As amostragens foram realizadas durante os meses de setembro a outubro de 2016, no Município de Espigão Do Oeste/RO.

Amostragem e transporte:

Amostras de cinco ovos provenientes de bancas de feira livre, tendo como fonte oito granjas, foram denominadas de acordo com a banca e granja de origem: A, B, C, D, E, F, G e H, totalizando quarenta ovos de oito granjas por réplica, totalizando 160 amostras (80 cascas e 80 gemas).

A temperatura média ambiente no dia da coleta da primeira réplica foi de 26°C, em setembro de 2016. Os ovos foram enviados via Sedex do Município de Espigão do Oeste/RO para a cidade de Fernandópolis/SP, 48 horas após a obtenção dos mesmos, sendo armazenados em geladeira inicialmente e enviados acondicionados em caixa de isopor com gelo reciclável e recebidos no laboratório sete dias após a coleta.

A segunda réplica foi coletada nas mesmas condições com temperatura média de 25°C, neste dia e encaminhada via frete para a cidade de Ariquemes/RO e despachada para Fernandópolis /SP, levando sete dias para a chegada no laboratório.

2.4. Procedimentos laboratoriais

2.4.1. ELFA - Enzyme Linked Fluorescence Assay para detecção de *Salmonella* spp.

Para o pré-enriquecimento, foram pesados 25 g do ovo integral sem a casca, ou seja, gema e albúmen, adicionados 225 mL de água peptonada tamponada a 1%, homogeneizadas em saco tipo Stomacher, respeitando um tempo de 30 minutos para reidratação à temperatura ambiente antes da incubação.

Após a homogeneização, as amostras foram incubadas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 16 a 22 horas. Para o enriquecimento, após a incubação inicial, uma alíquota de 0,1 mL da suspensão foi transferida para caldo *Salmonella* Xpress 2 (SX2) e incubados a $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 22 a 26 horas. Posteriormente, foram transferidos 0,5 mL do caldo SX2 para o poço do barrete de testes, aquecida por 15 ± 1 minuto no equipamento Heat and Go®. Após resfriamento do barrete por cerca de 10 minutos, realizou-se o ensaio imunoenzimático pelo equipamento. A análise é interpretada automaticamente pelo sistema do aparelho (Vidas®) sendo que os valores $< 0,23$ foram considerados negativos e os valores $\geq 0,23$ foram considerados positivos [59].

2.4.2. Cultura de cascas e gemas de ovos por isolamento com swab em meios específicos para detecção de *Salmonella* spp. e Enterobactérias

Para a determinação de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. da casca foi utilizado o método “swab test”. Utilizou-se swab umedecido em solução de NaCl (0,5%) estéril, o qual foi passado na superfície da casca em zig-zag, posteriormente foi depositado em 9mL de solução salina, homogeneizado e então, procedeu-se as diluições seriadas, para posterior determinação microbiológica.

Para determinação de Coliformes, *E.coli* e *Salmonella* spp. das gemas, inicialmente os ovos foram pincelados com álcool a 70%, flambados, quebrados com uma pinça esterilizada e a gema foi depositada em um becker esterilizado. A seguir, uma alíquota de 25 gramas foi transferida para um frasco contendo 225 mL de água peptonada a 1 % e homogeneizados. Esta diluição correspondeu a uma proporção de 1:10, ou seja, 10g do homogeneizado continha um grama da amostra. A partir da

diluição inicial, a diluição 1:100 foi feita retirando-se 1mL da diluição inicial para 9mL do diluente (água salina peptonada 1%); a diluição 1:1000 foi preparada retirando-se 1mL da diluição 1:100 para 9mL do diluente, observando-se sempre o uso do mesmo diluente. Estas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} foram usadas para posterior procedimento microbiológico.

2.4.2.1. Coliformes

Para os procedimentos microbiológicos foi empregada a metodologia descrita por Silva et al. [60].

Para análise de coliformes termotolerantes e coliformes totais, microrganismos anaeróbios facultativos fermentadores de lactose com produção de ácido e gás dentro de 24 a 48 horas de incubação à temperatura de 32 a 37°C, usou-se a metodologia de tubos seriados.

Partiu-se das diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} nas quais foram pipetadas alíquotas de 1mL das respectivas diluições para uma série de três tubos contendo 9mL do Caldo Lauril Triptose: suplementado com 50mg/L de 4-metil-umbelifenil- β -D-glucuronídeo (LST-MUG) (DIFCO) contendo tubo de Durham invertido, homogenizando e incubando os tubos a 35°C/48 horas.

Transcorrido o período de tempo para o procedimento acima, observou-se a produção de gás nos tubos de fermentação (tubo de Durham). A espécie *Escherichia coli* conhecidamente produz uma enzima, a β -glucuronidase, que degrada o complemento MUG; o produto resultante (4-metilumbeliferona) é fluorescente sob a luz ultravioleta, sendo então, considerados como positivo todos os tubos que apresentaram fluorescência azul.

Para contagem de coliformes totais e termotolerantes, foram empregados todos os tubos de LST-MUG com produção de gás, dos quais foi transferida uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante: 2% (VB) (Oxoid) e Lauril sulfato de sódio. Os tubos foram incubados a 35°C e 42°C por 24 a 48 horas para posterior observação do crescimento com produção de gás.

Foi anotado o número de tubos de VB com gás confirmativo da presença de coliformes determinando número de Unidades formadoras de Colônias (UFC) de coliformes g-1 de gema. De cada tubo positivo foram retirados 0,1mL de solução e inoculados em placas de Petri contendo meio EMB para confirmação de *E. coli*.

Foram consideradas para contagem, somente as placas da mesma diluição que apresentaram de 30 a 300 colônias, a média aritmética das colônias foi multiplicada pelo respectivo fator de diluição e o resultado expressado em Unidades Formadoras de Colônias/1,0g de amostra (UFC/g).

2.4.2.2. *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. nas gemas, empregou-se a metodologia descrita por Silva et al. [60]. Inicialmente, os ovos foram pincelados com álcool a 70%, flambados, quebrados com uma pinça esterilizada e as gemas foram colocadas em um becker esterilizado. A seguir, uma alíquota de 25 gramas foi transferida para um frasco contendo 225mL de água peptonada a 1%, incubada a 37°C por 24 horas. Transcorrido esse tempo, 0,1mL foram repicados nos meios de enriquecimento seletivos, caldo selenito-cistina e Rappaport-Vassiliadis, então, incubados a 37°C e 43°C por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, a alíquota dos caldos seletivos estriada em placas contendo meios Ágar MacConkey, Ágar Salmonella-Shigella (SS) e Verde Brilhante e incubadas a 37°C por 24 horas. Decorrido o tempo recomendado, três a cinco colônias com as mesmas características morfológicas foram transferidas para tubos de ensaio contendo Ágar tríplice açúcar ferro (TSI), os quais foram incubados por 37°C por 18 a 24 horas.

Os tubos contendo TSI foram selecionados de acordo com as características de crescimento e submetidos às seguintes provas: ureia, indol, vermelho-metila, citrato de simmons, ágar fenilalanina, glicose, lactose, sacarose e malonato. Aqueles que apresentaram perfil bioquímico de *Salmonella* foram submetidos às provas adicionais como motilidade, rhaminose e maltose [60].

2.5. Análise estatística

Os dados referentes às contaminações por microrganismos em ovos (cascas e gemas) amostrados em feira livre do município de Espigão do Oeste/RO, foram submetidos as prerrogativas de normalidade, homogeneidade de variâncias e aleatoriedade dos valores. As médias obtidas foram confrontadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 95% de confiabilidade por não atender as prerrogativas para testes paramétricos. E a variável dicotômica das ocorrências de

Salmonella spp. em cascas e gemas foram comparadas pelo teste Exato de Fisher (frequência inferior a cinco) e Qui-Quadrado ($p \geq 0,05$); Todos os procedimentos estatísticos foram obtidos utilizando o software Statistica, versão 10 (2011). StatSoft, Inc. [61].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Experimento 1

Os resultados das análises microbiológicas dos ovos submetidos à técnica de ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) em duas réplicas estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Resultados obtidos para as amostras de ovos, da 1ª avaliação, em relação à detecção de *Salmonella* sp. Descalvado, 2016.

Granja	Amostragem (n)	<i>Salmonella</i> sp. (em 25g)
A	4	Ausência
B	4	Ausência
C	4	Ausência

*Kit – comercial Vidas[®] (Qualittá, Ji-Paraná/RO, Brasil); n=4

Tabela 3: Resultados obtidos para as amostras de ovos, da 2ª avaliação, em relação à detecção de *Salmonella* sp. Descalvado, 2016.

Granja	Amostragem (n)	<i>Salmonella</i> sp. (em 25g)
A	4	Ausência
B	4	Ausência
C	4	Ausência

*Kit – comercial Vidas[®] (Qualittá, Ji-Paraná/RO, Brasil); n=4

As amostras (n=24) de ovos (gema e clara) submetidas à técnica de ELFA não apresentaram presença de *Salmonella* (tabela 1 e 2). No entanto, o número de amostras nas respectivas bancas (A, B e C) pode ter sido insuficiente para permitir afirmar que todos os ovos obtidos nessas bancas fossem isentos do microrganismo. O teste proposto nesta primeira etapa foi oneroso, o que limitou a execução de maior número de amostras.

É importante considerar que a possível rapidez quanto à comercialização dos ovos na feira livre, pode ter evitado o armazenamento dos mesmos por longo período antes da venda e favoreceu a qualidade dos mesmos.

Resultados semelhantes quanto à ausência de *Salmonella* em ovos (casca e gema) foram obtidos por Silva et al. [60] e Baú et al. [62]. Estes autores relataram resultados negativos em 46 amostras de ovos produzidos em granjas de agricultura familiar.

Outros estudos, mantendo os ovos por maior período de armazenamento em temperaturas distintas revelaram resultados negativos para a presença de *Salmonella* [63]. Nesse estudo avaliou-se a incidência de *Salmonella* em uma amostragem de 120 ovos de poedeiras armazenados em temperatura ambiente (32 °C) e sob- refrigeração (5 °C) por 45 dias. Independente do tratamento, todas as amostras apresentaram-se negativas para a *Salmonella*.

Acredita-se que a disseminação de doenças possa ser menor no sistema extensivo, pois aves alojadas em local restrito (gaiolas), com maior aglomeração, proporcionem condições para disseminação de patógenos, afetando o sistema imunológico e conseqüentemente, a qualidade do produto final (ovo).

No entanto, o número limitado de amostras obtidas de cada fornecedor de bancas comerciais em feira livre no presente estudo (Experimento 1) não permitiu a comprovação da ausência de *Salmonella* na comercialização de ovos na região de Rondônia em questão.

Portanto, o aumento do número de amostras e utilização de uma técnica acessível e precisa foi adotado para o Experimento 2, no qual buscou-se esclarecer o perfil dos fornecedores da feira livre regional com maior segurança.

3.2. Experimento 2

Tabela 4: Resultados das comparações múltiplas da presença de coliformes totais em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.

Banca Feira	Ovos / Médias e Desvios Padrões ¹				
	Casca		Gema		
A	1,6E+07 ± 1,9E+07	Aa	7,7E+04 ± 2,3E+05	Bbc	
B	2,9E+07 ± 8,5E+07	Aab	7,8E+03 ± 2,3E+04	Bc	
C	1,2E+07 ± 1,9E+07	Aab	4,9E+06 ± 3,6E+06	Aa	
D	1,0E+07 ± 1,6E+07	Aab	6,4E+05 ± 1,2E+06	Ab	
E	1,3E+07 ± 2,4E+07	Aab	7,0E+05 ± 2,1E+06	Bbc	
F	3,8E+06 ± 4,7E+06	Aab	2,3E+06 ± 4,3E+06	Ab	
G	6,0E+06 ± 9,9E+06	Ab	9,1E+02 ± 1,5E+03	Bc	

H	3,9E+06 ± 6,2E+06	Ab	3,0E+02 ± 5,4E+02	Bc
---	-------------------	----	-------------------	----

Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

Tabela 5: Resultados das comparações múltiplas da presença de coliformes termotolerantes em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.

Banca	Ovos / Médias e Desvios Padrões ¹				
	Feira	Casca		Gema	
A	1,1E+06 ± 1,3E+06	Aa	3,7E+03 ± 1,0E+04	Bbc	
B	3,5E+05 ± 6,3E+05	Aa	5,0E+02 ± 1,4E+03	Bc	
C	1,2E+06 ± 1,9E+06	Aa	3,7E+05 ± 4,1E+05	Aa	
D	1,6E+06 ± 2,8E+06	Aa	9,6E+04 ± 1,7E+05	Ab	
E	1,8E+06 ± 3,2E+06	Aa	3,8E+04 ± 1,1E+05	Bbc	
F	9,5E+05 ± 2,5E+06	Aa	7,7E+05 ± 2,3E+06	Ab	
G	7,6E+05 ± 2,1E+06	Aa	3,0E+01 ± 4,6E+01	Bc	
H	3,7E+05 ± 1,0E+06	Aa	3,6E+01 ± 9,6E+01	Bc	

Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

Tabela 6: Resultados das comparações múltiplas da presença de *Escherichia coli* em ovos amostrados em bancas de feira livre no Município de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.

Banca	Ovos / Médias e Desvios Padrões ¹				
	Feira	Casca		Gema	
A	1,8E+05 ± 3,1E+05	Aab	6,6E+02 ± 2,1E+03	Bbc	
B	9,1E+04 ± 1,9E+05	Aabc	3,8E+01 ± 1,1E+02	Bbc	
C	1,6E+05 ± 3,1E+05	Aa	2,2E+04 ± 1,0E+04	Aa	
D	1,4E+05 ± 2,8E+05	Aabc	3,8E+03 ± 1,0E+04	Ab	
E	1,9E+05 ± 4,0E+05	Aabc	3,8E+02 ± 8,5E+02	Bbc	
F	8,2E+04 ± 2,2E+05	Aabc	2,9E+04 ± 5,7E+04	Ab	
G	3,8E+04 ± 8,9E+04	Abc	1,1E+00 ± 2,3E+00	Bc	
H	2,4E+03 ± 4,3E+03	Ac	0,0E+00 ± 0,0E+00	Bc	

Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \geq 0,05$).

Tabela 7: Resultados das confrontações para ocorrências de *Salmonella* spp. em ovos amostrados em feiras de Espigão do Oeste/RO. Descalvado, 2016.

Local	Ovos / Ocorrências de <i>Salmonella</i> spp					
	Casca			Gemas		
Feira	+	-		+	-	
A ¹	7	3	Aa	1	9	Abc
B ¹	5	5	Aa	0	10	Bc
C ¹	7	3	Aa	8	2	Aa
D ¹	5	5	Aa	2	8	Abc
E ¹	4	6	Aa	1	9	Abc
F ¹	6	4	Aa	4	6	Aab
G ¹	5	5	Aa	0	10	Bc
H ¹	5	5	Aa	0	10	Bc
TOTAL ²	44	36	A	16	64	B

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Exato de Fisher nos locais de feira de A a H ($p \geq 0,05$)

2: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado ($p \geq 0,05$).

3.2.1. Coliformes

Os perfis dos fornecedores avaliados por meio dos resultados obtidos no presente estudo e apresentados nas tabelas acima revelaram que os ovos obtidos em cinco dos oito fornecedores (A, B, E, G e H) apresentaram maior número de microrganismos (Coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*) na casca quando comparados à gema. Os demais fornecedores (C, D e F) apresentaram proporções similares de coliformes tanto na casca quanto na gema.

De maneira geral a contaminação da casca foi similar entre os fornecedores e presente em todas as amostras. No entanto, a partir das análises de enterobactérias na gema, foi possível identificar um fornecedor (C) com maior quantidade desses microrganismos comparados aos demais, assim como a ausência de *E. coli*, nas amostras de gemas de apenas um dos fornecedores (H).

Este resultado é relevante para as questões de saúde pública, à medida que tais índices de coliformes são indicadores de condições higiênicas sanitárias precoces, onde a *E. coli* representa a maioria dos microrganismos; como citado por Gama e Togashi [6].

Outros autores descreveram baixos índices (< 2 NMP) para coliformes totais e termotolerantes durante as análises de 280 ovos provenientes de agricultura familiar na região fluminense no estado do Rio de Janeiro [64]. No estado da Paraíba, autores descreveram baixos índices de coliformes termotolerantes de 3,0 e < 3,0 NMP/g para Coliformes a 35°C e a 45°C; embora tenham utilizado apenas 15 amostras de ovos do tipo caipira obtidas em abatedouro local [65].

A metodologia utilizada no presente estudo permitiu verificar a presença de quantidades significativas de enterobactérias tanto na casca como na gema de 80 ovos obtidos em apenas um município de Rondônia. No entanto, o aspecto regional do estudo não impede que tais informações sejam utilizadas para medidas que possam contribuir com o controle e higiene durante a comercialização dos ovos em feira livre no estado.

3.2.2. *Salmonella* spp.

Quanto à presença de *Salmonella* nas amostras, foi possível identificar a bactéria em todas as amostras de cascas analisadas (Tabela 7), com pelo menos 50% das amostras contaminadas na maioria dos fornecedores, em exceção de um fornecedor onde 40% estavam contaminadas, o que representa uma contaminação significativa deste produto por *Salmonella* independente da fonte fornecedora para compra; colocando em risco a saúde pública desta região.

A ausência de *Salmonella* na gema (B, G e H) ou mesmo presença e a percentagem igual ou abaixo de 2% (A, D e E) encontrada em determinados fornecedores, demonstra a diferença em qualidade dos ovos, possivelmente atribuída ao maior ou menor período e condições de armazenamento.

A penetração da bactéria presente na casca no interior da gema de ovo, é dependente do período de armazenamento deste ovo, aumentando os riscos para o consumo.

Ainda quanto aos resultados da *Salmonella* na gema, foi possível detectar o fornecedor de maior risco (C), o qual apresentou 80% das amostras contaminadas, sendo este mesmo fornecedor o mesmo identificado como o de maior incidência quanto às enterobactérias.

O período de armazenamento assim como as condições de exposição dos ovos, tendo como indicadores as enterobactérias presentes na casca podem ter favorecido a penetração da *Salmonella* na gema [65].

A importância da Salmonelose para saúde pública é indiscutível e apresentada por inúmeros estudos na literatura, os quais abordam o ovo como fonte deste microrganismo.

Kottwitz [66] realizou um estudo no Estado do Paraná, durante o ano de janeiro de 1999 a dezembro de 2006, avaliando a incidência de *Salmonella* e constatou que 45% dos surtos de salmonelose ocorridos durante o período do estudo, foram causados por alimentos elaborados a base de ovos como, queijos, saladas, pudim, sorvetes, farofa, pavê e massas prontas. Os mesmos autores [67] relataram em outro estudo que, 23 % das granjas estudadas apresentaram o isolamento da *Salmonella* nas galinhas, no entanto a mesma não foi detectada nas amostras de ovos analisadas.

De acordo com Peresi et al. [68], através de surtos ocasionados por *Salmonella* na grande São Paulo, pode se comprovar a associação desta infecção ao consumo de ovos, sendo que a *S. enteritidis* representou 0,4 a 1% de todos os sorotipos isolados em ovos.

Na análise microbiológica realizada por Campello [69], na cidade de Jaboticabal/SP, avaliou-se a presença de *Salmonella* em ovos brancos comercializados em supermercados. Nesse estudo foram utilizadas 340 amostras de quatro diferentes estabelecimentos comerciais. Das 340 amostras, foi observado um percentual de 1,47% de amostras contaminadas proveniente de 3 fornecedores.

Os resultados descritos por Campello [69] mostraram porcentagens inferiores àquelas encontradas no presente experimento, no qual foi possível detectar *Salmonella* em todos os ovos, sendo esta representada por 55% dos ovos contaminados, quanto a presença da bactéria na casca; e por 20% dos ovos com presença da bactéria na gema (Tabela 7).

A resolução N^o 12 de 2001, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, preconiza a ausência de *Salmonella* em 25g de ovos, sendo alarmante, os resultados encontrados no presente estudo.

É notória a necessidade de sensibilização da população e órgãos de saúde pública e animal para o estabelecimento de medidas de controle quanto à qualidade microbiológica durante a venda deste produto em feira livre na região de Rondônia.

4. CONCLUSÃO

Ovos comercializados em feira livre no município de Espigão do Oeste em Rondônia apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. e Coliformes.

A identificação de fornecedores de ovos que representam maior ou menor risco para a saúde pública é de grande importância para a conscientização dos mesmos durante a venda deste produto.

Destaca-se ainda a alta percentagem de ovos contaminados por *Salmonella*, com necessidade de medidas urgentes para limitação dos riscos à população quanto o consumo deste produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Globo Rural. Brasil bate recorde na produção de ovos de galinha no final de 2014. 2015. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Criacao/Aves/noticia/2015/03/brasil-bate-recorde-na-producao-de-ovos-de-galinha-no-final-de-2014.html>>. Acessado em: 06 de abril de 2016.
2. ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Sanidade avícola - Fortaleza Nacional: Panorama da avicultura nacional e perspectivas do setor. Brasília, 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/PNSA/Reuni%C3%A3o%20PNSA_%20_Sanidade%20Av%C3%ADcola-Fortaleza%20Nacional_/2%20Dr_%20Ariel%20-%20Panorama%20da%20avicultura%20nacional%20e%20perspectivas%20para%20o%20setor.pdf>. Acessado em: 07 de abril de 2016.
3. Gomes Filho, V. J. R.; Teixeira, R. S. C.; Lopes E. S.; Albuquerque, A. H.; Lima, S. V. G.; Horn, R. V et al. Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza, Ceará. Semina: Ciências Agrária. 2014; 35 (4): 1855-1864. Doi: 10.5433/1679-0359.2014v35n4p1855.
4. Guimarães, H. K. Análise de prevalência de salmonelose em criações não tecnificadas de *Gallus gallus* no Distrito Federal. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Brasília/DF: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária; 2006. 66p.
5. Arruda Téó, C. R. P.; Oliveira, T. C. R. M. *Salmonella* spp.: o ovo como veículo de transmissão e as implicações da resistência antimicrobiana para a saúde pública. Semina: Ciências Agrária. 2005; 26 (2): 195-210.
6. Gama, N. S. Q.; Togashi, L. C. K. Relato do desempenho de poedeiras comerciais consumindo água filtrada. Comunicado Técnico. 2007. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=50>. Acesso em 01 de outubro de 2016.
7. Siqueira, A. A et al. Identificação de enterobactérias em ovos de codornizes japonesas (*Coturnix japonica*) na Região Metropolitana de Fortaleza – Ce, Brasil. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 2008, p. 78-82.
8. Silva, M. C. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Piracicaba/SP: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo; 2002. 87p.

9. Avisite. Perspectivas apontam crescimento de 9% do consumo *per capita* de ovos em 2014. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br/noticias/?codnoticia=15390>>. Acessado em: 06 de abril de 2016.
10. Barancelli, G. V, Martin JG, Porto E. *Salmonella* em ovos: relação entre produção e consumo seguro. Segurança Alimentar e Nutricional. 2012; 19 (2): 73-82.
11. Stringhini et al. Características bacteriológicas de ovos lavados e não lavados de granjas de produção comercial. Ciência Animal Brasileira. 2009; 10 (4): 1317-1327.
12. Pinto, A. T.; Silva, E. N. Ensaio de penetração de *Salmonella Enteritidis* em ovos de galinha com diferentes qualidades de casca, submetidos ou não a lavagem industrial e a duas temperaturas de armazenagem. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2009; 61 (5): 1196-1202. Doi: 10.1590/S0102-09352009000500024.
13. Aragon-Alegro LC, Souza KLO, Sobrinho PSC, Landgraf M, Destro MT. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2005; 25 (3): 618-622.
14. Figueiredo, T. C. Características físico-química e microbiológica e aminas bioativas em ovos de consumo. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal). Belo Horizonte/MG: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG; 2008. 91p.
15. Cervi, R. C. Controle de contaminação microbiológica em ovos comerciais. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal; 2012. 32p.
16. Andrade, M. A et al. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. Ciência Animal Brasileira. 2004; 5 (4): 221-228.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil – 1999-2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/analise_ep_surtos_dta_brasil_2009.pdf>. Acessado em: 09 de outubro de 2015.
18. Soares, N. M.; Mesa, D. A. Manejo da água na produção de ovos. 2009. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/ovos/index.htm>. Acessado em: 01 de outubro de 2016.
19. Ornellas, L. H. Técnica Dietética: seleção e preparo de alimentos. 7 ed. São Paulo: Atheneu Editora; 2001. 330p.
20. Ordóñez, J. A. Ovos e produtos derivados. In: Tecnologia de alimentos - alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 269-279.

21. Barbosa, V. M. Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre o status fisiológico de embriões e pintos, rendimento da incubação e desempenho da progênie. Tese (Doutorado em Zootecnia). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2011. 117p.
22. Oliveira, D. D.; Silva, E. N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2000; 52 (6). Doi: 10.1590/S0102-09352000000600017.
23. Trindade, J. L.; Nascimento, J. W. B.; Furtado, D. A. Qualidade do ovo de galinhas poedeiras criadas em galpões no semi-árido paraibano. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 2007; 11 (6): 652-657.
24. Karpinski, B. Embrapa desenvolve produto para aumentar proteção e durabilidade do ovo. OvoSite. 25 de janeiro de 2016. Disponível em: <<http://www.ovosite.com.br/clipping/index.php?codclipping=22142#>>. Acessado em: 13 de abril de 2016.
25. Macêdo, J. A. B. Águas e águas. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 505p.
26. Augusto, K. V. Z. Caracterização quantitativa e qualitativa dos resíduos em sistemas de produção de ovos: compostagem e biodigestão anaeróbia. Mestrado (Produção Animal). Jaboticabal/SP:Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP; 2007. 131 p
27. Franco, R. M. *Escherichia coli*: Ocorrência em suínos abatidos na Grande Rio e sua viabilidade experimental em linguiça frescal tipo toscana. Doutorado (Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de P.O.A.). Niterói/RJ: Universidade Federal Fluminense, Centro de Ciências Médicas; 2002. 144 p.
28. Meng, J et al. Pathogenic *Escherichia coli*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4 ed. Washington APHA, 2001. 676p. Cap. 35, p. 331-341.
29. Mazzuco, H.; Rosa, P. S.; Jaenisch, F. R. F. Problemas de casca de ovos: identificando as causas. EMBRAPA - Aves e Suínos. Concórdia/SC; 1998. 22p.
30. Barbosa, M. V et al. Avaliação da qualidade da casca dos ovos provenientes de matrizes pesadas com diferentes idades. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2012; 64 (4): 1036-1044. Doi: 10.1590/S0102-09352012000400033.
31. Simão, N. F. Bacteriófagos no biocontrole de *Salmonella Enteritidis* em ovos in natura de galinha (*Gallus gallus*). Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico dos Produtos de Origem Animal). Niterói/SP: Universidade Federal Fluminense, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária; 2011. 82p.
32. Silva, E. M.; Duarte, A. *Salmonella Enteritidis* em aves: retrospectiva no Brasil. Revista Brasileira de Ciência Avícola. 2002; 4 (2): 85-100.

33. Revolledo, L. Estudo da resposta imune, da colonização e invasão por *Salmonella enterica* subsp *enterica* sorotipo *Typhimurium* *Nal* em frangos de corte, tratados com glucano, probióticos e produtos de exclusão competitiva. Tese (Doutorado em Patologia Experimental). São Paulo/SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo; 2005. 123p.
34. Cardoso, T. G.; Carvalho, V. M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. J Health Sci Inst. 2006; 24 (2): 95-101.
35. Santos, L. R.; Nascimento, V. P.; Flores, M. L. *Salmonella enteritidis* isolada de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996 no Estado do Rio Grande do Sul. Revista Higiene Alimentar. 2002; 16 (102/103): 93-9.
36. Cardoso, A. L. S. P. *Salmonella Enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. 2013; n. 21: 27p.
37. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS. Cinco chaves para uma alimentação mais segura. Portugal, 2006. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/consumer/manual_keys_portuguese.pdf>. Acessado em: 12 de abril de 2016.
38. Jay, J. M. Microbiologia de alimentos. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. 711p.
39. Shinohara et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. Ciência & Saúde Coletiva. 2008; 13 (5): 1675-1683.
40. Valsechi, O. A. Microbiologia dos alimentos. Departamento de tecnologia agroindustrial e socioeconomia rural. Araras/SP: Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias. 2006.
41. Santos, J. R.; Meza, S. K. L.; Martini, K. C.; Nunes, R. V. A importância do controle da *Salmonella* na cadeia produtiva de frango de corte. Scientia Agraria Paranaensis - SAP. 2013; 12 (3): 167-174.
42. Radford, A. S.; Board, R. G. Microorganisms in foods. 6ª ed. New York, Boston: Second Edition; 1993. 737. 269-278, 10; 1-737.
43. Nadvorny, A.; Figueiredo, D. M. S.; Schmidt, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. Acta Scientiae Veterinariae. 2004; 32 (1): 47-51.
44. Hunton, P. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. Revista Brasileira de Ciência Avícola. 2005; 7 (2): 67-71.
45. Lacerda, M. J. R. Microbiologia de ovos comerciais. Tese (Doutorado em Produção Animal). Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2011. 43p.

46. Santos, B. M.; Moreira, M. A. S.; Dias, C. C. A. Manual de doenças avícolas. Viçosa: ed. UFV; 2008. 224p.
47. Figueiredo, T. C et al. Efeito da utilização de embalagens plásticas e da aplicação de óleo mineral na casca sob a qualidade microbiológica de ovos de consumo submetidos a diferentes períodos de refrigeração. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/higienistas/trabalhos/10124.pdf>>. Acessado em: 22 de abril de 2016.
48. Silva, J. P. L. Avaliação da ação de antimicrobianos naturais no controle de *Salmonella Enteritidis* em salada de legumes com maionese. Tese (Doutorado). São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2007. 90p.
49. Silva, M. C. D.; Ramalho, L.; Figueiredo, E. T. *Salmonella* sp em ovos e carcaças de frango in natura comercializadas em Maceió. AL. Hig. Aliment. 2004; v. 18: 80-84.
50. Alleoni, A. C. C.; Antunes, A. J. Unidade haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. Scientia Agricola. 2001; 58 (4): 681-685.
51. Sarcinelli, M. F.; Venturini, K. S.; Silva, L.C. Processamento de ovos. Boletim Técnico. Programa Institucional de Extensão, Universidade Federal do Espírito Santo, n.02307, p.1-8, Editado: 2007.
52. AGÊNCIA RURAL, Instrução Normativa no 003. Regulamentos de ovos e derivados. Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário. Goiânia: Agência Rural, 2003. 38 p.
53. Salles, R. P. R. Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas poedeiras e enterobactérias em ovos comerciais da região metropolitana de Fortaleza. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária; 2007. 136p.
54. Cardoso, A. L. S. P. *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, n. 21, junho de 2013.
55. Rodrigue, D. C.; Tauxe, R. V.; Rowe, B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? Epidemiology and Infection. v.105, p.21-27, 1990.
56. Souto, L. Empresária morre na Bahia após comer empada de camarão. 2015. Disponível em: <<http://extra.globo.com/noticias/empresaria-morre-na-bahia-apos-comer-empada-de-camarao-16528344.html>>. Acessado em: 01 de novembro de 2016.
57. Ferreira, L. L et al. Salmonelose em sanidade avícola e saúde pública. Revista Eletrônica Nutrime, v. 10, n. 5, p. 2716-2751, set./out. 2013.

58. Costa, V. R et al. Avaliação microbiológica em ovos comerciais lavados e não lavados. Revista Científica de Avicultura e Suinocultura, v. 2, n. 1, p. 001-010, jan./mar., 2016.
59. Vidas® *Salmonella* (SLM) (REF.:30702); Manual de instruções bioMérieux SA, 2011.
60. Silva et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4ª edição –São Paulo. Livraria Varela. 2010.
61. Statistica (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
62. Baú, A. C; Carvalhal, J. B; Aleixo, J. A. G. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frango e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS, Brasil. Ciências Rural, 2001; 31 (2): 303-307.
63. Melo, J. M. M. C.; Nascimento, K. O.; Barbosa Júnior, J. L.; Saldanha, T.; Barbosa, M. I. M. J. Diagnóstico e qualidade microbiológica de ovos caipiras produzidos por agricultores familiares. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 22, n. 1, p. 48-53, jan./mar. 2015.
64. Leite, D. D. F.; Cavalcanti, M. T.; Albuquerque, A. P.; Pereira, E. V. S.; Florentino, E. R. Qualidade microbiológica de ovos de galinhas caipira comercializados no interior da Paraíba. Agropecuária Técnica (2016) Volume 37 (1):32-35 Versão Online ISSN: 0100-7467 <http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/at/index>.
65. Hara-Kudo, Y et al. Influência do período de postura e rachaduras no crescimento de *Salmonella Enteritidis* no albúmen do ovo durante o armazenamento. J. Food Prot. 2001; 64 (8): 1134-1137.
66. Kottwitz, L. B.; Back, A.; Leão, J. A.; Alcocer, I.; Karan, M.; Oliveira, T. C. R. Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.60, n.2, p.496-498, 2008.
67. Kottwitz, L. B. M et al. Avaliação epidemiológica de surtos de salmonelose ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. Acta Scientiarum. Health Sciences. Maringá, v. 32, n. 1, p. 9-15, 2010.
68. Peresi, J. T. M et al. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella Enteritidis*. Revista Saúde Pública: Jour. of Public. Health. 1998; 32 (5): 477-83
69. Campello, P. L. *Salmonella* spp. em ovos brancos para consumo humano. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Jaboticabal/SP: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP; 2012. 87p.

ANEXO A
Imagens da granja A, B e C



RESENHA BIOGRÁFICA DO AUTOR

Carolina Fourgiotis Rodrigues, nasceu em Cacoal - Rondônia, em 23 de outubro de 1986. Descendente de uma família materna de origem grega e paterna de origem baiana. A autora estudou zootecnia na Universidade Estadual de Mato Grosso - UNEMAT no ano de 2006 a 2011, se formou e continuou os estudos com medicina veterinária na Faculdade de Ciências Biomédicas de Cacoal - FACIMED durante o ano de 2011 a 2014.

Após ter concluídos os dois cursos, entrou para um mestrado no final do ano de 2014 na instituição UNIVERSIDADE BRASIL - Universidade Brasil. Atualmente está seguindo sua carreira após a conclusão de seu último curso, na área de projetos para financiamentos rurais. Abriu um escritório na cidade em que reside Espigão do Oeste – RO. E já tem quase um ano que está trabalhando profissionalmente nessa área, a autora pretende atuar também, como docente na em faculdades, escolas ou universidades.