

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Simone Rosa Didoné

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DE OVOS SEM INSPEÇÃO
VETERINÁRIA ADQUIRIDOS EM COMÉRCIO INFORMAL DO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL**

Santa Maria, RS
2017

Simone Rosa Didoné

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DE OVOS SEM INSPEÇÃO VETERINÁRIA
ADQUIRIDOS EM COMÉRCIO INFORMAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Maristela Lovato

Santa Maria, RS
2017

Simone Rosa Didoné

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DE OVOS SEM INSPEÇÃO VETERINÁRIA
ADQUIRIDOS EM COMÉRCIO INFORMAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Sanidade e Reprodução Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovado em 24 de agosto de 2017:

Maristela Lovato, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Isadora Mainieri de Oliveira Corrêa, Dra. (UNICRUZ)

Helton Fernandes dos Santos, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2017

DEDICATÓRIA

À minha família, amigos e companheiros que me acompanham na jornada acadêmica e pessoal, sempre apoiando e viabilizando física e emocionalmente a concretização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço minha família, à minha mãe Bernardete Rosa Didoné pelo apoio incondicional a todos meus objetivos e sonhos, assim como ter me ensinado a importância da educação na vida profissional e pessoal. Ao meu pai, Agustinho Didoné, por me ensinar a não desistir jamais.

À minha irmã, Katia Rosa Didoné, pelos maravilhosos anos de convivência cheios de aprendizado que uma irmã mais velha tem a oferecer e a paciência em todo esse período de pós-graduação.

Também agradeço ao meu namorado, Claudir Lari Padia, pelo apoio e paciência até mesmo nos momentos mais difíceis, aguentando a minha irritação, angústia e ansiedade.

À querida Dra. Sônia de Avila Botton (Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – UFSM) pela dedicação em dispor uma bolsa para facilitar e viabilizar esse período de mestrado, além de sempre estar disposta a ajudar no que fosse preciso para melhor qualificar meu trabalho.

Aos meus amigos veterinários que mesmo morando distante de mim é como se aqui estivessem o tempo todo. Gustavo Henrique Schneiders, Isadora Mainieri Corrêa de Oliveira e Lauren Sagave.

À universidade pública, gratuita e de qualidade pela oportunidade de concretização de mais um objetivo.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) juntamente com a Dra. Sônia de Avila Botton, novamente, pelo apoio financeiro através do projeto registrado sob número de processo 2443.269.15435.28022013.

À toda equipe de pós-graduandos e estagiários do Laboratório Central de Diagnóstico em Patologias Aviárias (LCDPA-UFSM), muito obrigada!

“Que os meus ideais sejam tanto mais fortes
quanto maiores forem os desafios, mesmo
que precise transpor obstáculos
aparentemente intransponíveis. Porque
metade de mim é feita de sonhos e a outra
metade é de lutas.”

(Vladimir Maiakóvski)

RESUMO

PERFIL MICROBIOLÓGICO DE OVOS SEM INSPEÇÃO VETERINÁRIA ADQUIRIDOS EM COMÉRCIO INFORMAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

AUTORA: Simone Rosa Didoné
ORIENTADORA: Maristela Lovato

O consumo de ovos *per capita* no Brasil está em um ritmo crescente, no ano de 2010 o mesmo era de 148 ovos por pessoa/ano, ao passo que em 2015 já foi atingido o patamar de 191 ovos por pessoa/ano. Não só o consumo está crescente como também aumentou a demanda dos consumidores para ovos produzidos em sistemas menos intensivos, como no caso dos ovos caipiras. Porém, na busca por consumir ovos oriundos de sistemas de produção caipira, algumas pessoas acabam por adquirir produtos sem inspeção veterinária no comércio informal ou até mesmo criam galinhas poedeiras na sua própria casa. Entre os alimentos responsáveis por intoxicações alimentares, os ovos são incriminados como principais fontes de agentes bacterianos. Com base nesse panorama atual, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica dos ovos no comércio informal do Rio Grande do Sul. As amostras de 480 ovos (separadas em clara, gema e casca) foram processadas de acordo com a Instrução Normativa nº 62/2003 e Portaria nº 01/1990, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Todas as amostras atingiram ao preconizado na lei quanto avaliada a contagem de mesófilos aeróbicos, porém não se obteve resultados satisfatórios para as exigências relativas a presença de *Staphylococcus* spp. e coliformes totais. Além da contagem bacteriana, também foram diagnosticadas diversas enterobactérias nos ovos crus, estando mais frequentes *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Cedecea* sp. e *Edwardsiella ictaluri*. As sujidades externas do ovo tiveram correlação estatística positiva significativa com a contaminação bacteriana da clara e gema. Por conseguinte, concluiu-se que os ovos amostrados apresentaram resultados insatisfatórios para quase todas as avaliações quantitativas, estando dentro das normas exigidas apenas com relação aos mesófilos aeróbicos. Foram evidenciadas bactérias potencialmente causadoras de doenças transmitidas por alimentos, com especial atenção para *Escherichia coli* como a mais presente nas amostras na maioria das cidades avaliadas. O gênero *Salmonella* spp. não foi encontrado em nenhuma amostra. A presença em elevado número de *Staphylococcus* spp. na clara e gema demonstra a necessidade de expansão da investigação desse patógeno em alimentos, pois há forte indícios de subdiagnóstico desse patógeno tanto em intoxicações alimentares quanto em alimentos para consumo humano.

Palavras-chave: Saúde pública. Sanidade Avícola. Zoonoses. Medicina Veterinária Preventiva.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL PROFILE OF EGGS WITHOUT VETERINARY INSPECTION ACQUIRED IN INFORMAL TRADE IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

AUTHOR: Simone Rosa Didoné
ADVISER: Maristela Lovato

The per capita eggs consumption in Brazil is increasing at a rate of 148 eggs per person per year in 2010, while in 2015 it have already been reached 191 eggs per person / year. Not only consumption is increasing, but the consumer demand has also increased for eggs produced in less intensive systems, as in the case of backyard eggs. However, in the quest to consume eggs from backyard production systems, some people end up purchasing products without veterinary inspection in the informal trade or even raising the laying hens in their own home. Among foods responsible for food poisoning, eggs are incriminated as major sources of bacterial agents. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of eggs in the informal commerce of Rio Grande do Sul. Samples of 480 eggs (separated in clear, yolk and peel) were processed according to Instrução Normativa N^o. 62 / 2003 and Portaria n^o 01/1990, of the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. All samples reached the recommended level in the law when evaluated the count of aerobic mesophiles, but did not obtain satisfactory results for the requirements regarding the presence of *Staphylococcus* spp. and total coliforms. In addition to the bacterial count, several enterobacteria were also diagnosed in raw eggs, with *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Cedecea* sp. and *Edwardsiella ictaluri*. The external contamination of the egg had significant positive statistical correlation with the bacterial contamination of the white and yolk. Therefore, it was concluded that the eggs sampled showed unsatisfactory results for almost all the quantitative evaluations, being within the norms required only with respect to aerobic mesophiles. Bacteria potentially causing foodborne diseases were evidenced, with special attention to *Escherichia coli* as the most present in the samples in most cities evaluated. The genus *Salmonella* spp. was not found in any sample. The presence in high number of *Staphylococcus* spp. In the clear and yolk demonstrates the need to expand the investigation of this pathogen in food, as there are strong indications of underdiagnosis in both food poisoning and food for human consumption.

Keywords: Population health, Poultry health, Zoonosis, Preventive Veterinary Medicine.

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO

Tabela 1 -	Número de amostras em cada cidade pesquisada que não satisfizeram as exigências requeridas na legislação vigente, para ovo líquido e ovo desidratado.....	33
------------	---	----

ANEXO A - CARACTERIZAÇÃO DO CAMPO DE ESTUDO

Tabela 1 -	Produção e comercialização de ovos de galináceos nas cidades foco de estudo.....	46
------------	--	----

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1 -	Produção Brasileira de ovos para consumo humano em unidades, entre os anos de 2010 e 2015.....	13
Figura 2 -	Classificação dos estados brasileiros quanto sua produção de ovos para consumo humano no ano de 2015.....	14

LISTA DE GRÁFICOS

MANUSCRITO

Gráfico 1 -	Enterobactérias diagnosticadas em clara, gema e casca de ovos oriundos de produção caipira no Rio Grande do Sul.....	34
-------------	--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
1.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
1.2.1	Mesófilos aeróbios	24
1.2.2	<i>Staphylococcus</i> spp.....	24
1.2.3	Coliformes totais	24
1.2.4	Análise externa	24
1.2.5	<i>Salmonella</i> spp. e enterobactérias.....	25
1.2.6	Análise estatística	25
2	MANUSCRITO	26
	RESUMO	26
	ABSTRACT	26
	INTRODUÇÃO	27
	MATERIAL E MÉTODOS	29
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
3	CONCLUSÕES	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXO A - CARACTERIZAÇÃO DO CAMPO DE ESTUDO	46
	APÊNDICE A - PROPOSTAS DE INTERVENÇÃO	47

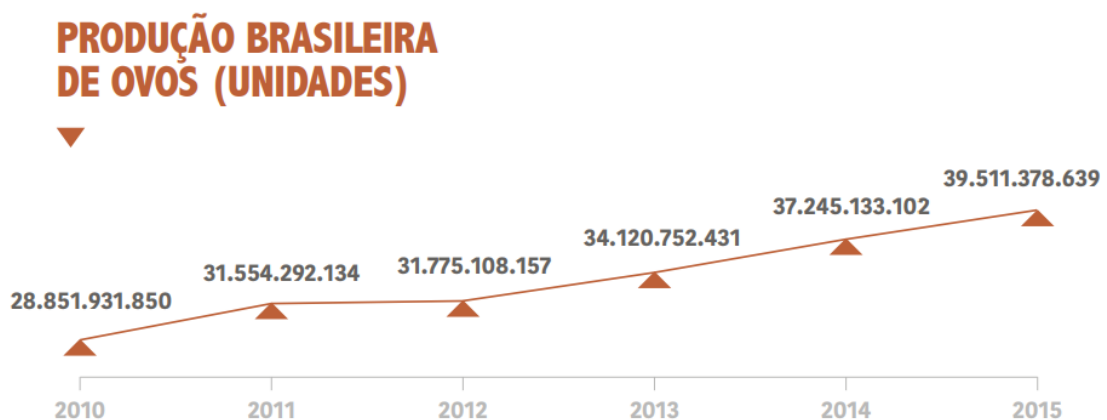
1 INTRODUÇÃO

A avicultura mundial é uma atividade crescente no decorrer de muitos anos. A Agência das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação informa dados da produtividade mundial de ovos de galinha em 2014 e sugere que o sistema produtivo esteja dividido em três grandes partes. A maior representada pela China, que produz 36% do total de ovos de galinha mundialmente. Na segunda parte estão 9 países com 33% da produção mundial e que, juntamente com a China, são os 10 maiores produtores mundiais de ovos de galinha. Os demais países, 196, ficam na terceira faixa, com produção de 31% dos ovos de galinha (AviSite, 2017).

Dentre o grupo dos 9 países citados, estão o Brasil e os Estados Unidos, grandes produtores mundiais localizados na América Latina. Nos Estados Unidos o ovo de galinha é um dos principais componentes da dieta alimentar, com consumo per capita de 250 ovos, sendo os ovos também uma das principais causas de intoxicação alimentar e doenças transmitidas por alimentos, causando mais de 1,2 milhão de casos a cada ano (SINGER E HOFACRE, 2006).

No Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) (2016), no ano de 2015 foram produzidos mais de 39 trilhões de ovos para consumo (Figura 1), sendo 99% da produção para o mercado interno. Dentre o 1% dos ovos exportados a sua maioria é realizada no formato *in natura* (96%), sendo os demais 6% na forma industrializada.

Figura 1 – Produção Brasileira de ovos para consumo humano em unidades, entre os anos de 2010 e 2015.



Fonte: ABPA, 2016.

No levantamento da ABPA (2016), a produção de ovos estratificada por estado mostra o Rio Grande do Sul em sexto lugar (5,88%) dentre os estados brasileiros, ficando em primeiro lugar no ano de 2015 o estado de São Paulo (33,24%), seguido de Minas Gerais (11,50%), Espírito Santo (9,61%), Mato Grosso (6,43%) e Pernambuco (6,16%) (Figura 2).

Figura 2 – Classificação dos estados brasileiros quanto sua produção de ovos para consumo humano no ano de 2015.



Fonte: ABPA, 2016.

O consumo *per capita* de ovos no Brasil está em um ritmo crescente, no ano de 2010 o mesmo era de 148 ovos por pessoa/ano, ao passo que em 2015 já foi atingido o patamar de 191 ovos por pessoa/ano (ABPA, 2016).

Não só o consumo está crescente como também está aumentando a demanda dos consumidores com relação a ovos produzidos em sistemas menos intensivos, como no caso dos ovos caipiras. Porém, na busca por consumir ovos oriundos de sistemas de produção caipira, algumas pessoas acabam por adquirir

ovos produzidos sem inspeção veterinária no comércio informal ou até mesmo ter as galinhas poedeiras na sua própria casa.

Segundo Cacciamali (1994), o termo “setor informal” foi inicialmente estudado pela OIT (Organização Internacional do Trabalho) em 1969 e “é utilizado principalmente para denominar formas heterogêneas de produção de trabalho não usuais às empresas tipicamente capitalistas”. O comércio informal então são atividades cujas regras expressas em leis ou procedimentos usuais são desconsideradas (CACCIAMALI, 2000).

Em pesquisa realizada nos Estados Unidos diagnóstica que está crescendo o número de pessoas que estão mantendo galinhas poedeiras no quintal para fazer uso dos ovos produzidos (POLLOCK, 2012). Outro estudo, este na Austrália, apresenta resultados semelhantes, no qual identifica que 10,7% das pessoas entrevistadas tem preferência pelo consumo de ovos oriundos de galinhas de fundo de quintal (WHILEY, 2017).

De acordo com o Decreto nº 9.013 (BRASIL, 2017) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estão sujeitos à inspeção os estabelecimentos que produzam e recebam ovos e seus derivados para distribuição e industrialização. A inspeção e fiscalização industrial e sanitária de todos os produtos de origem animal abrangem as condições higiênico-sanitárias das instalações, equipamentos e do funcionamento dos estabelecimentos; a higiene e dos hábitos higiênicos pelos manipuladores de alimentos; os programas de autocontrole dos estabelecimentos; a rotulagem e os processos tecnológicos; a coleta de amostras para análises fiscais e avaliação dos resultados de análises físicas, microbiológicas, físico-químicas, de biologia molecular, histológica e demais que se fizerem necessárias; as informações da produção primária com implicação na saúde animal e da saúde pública; o bem-estar animal dos animais destinados ao abate; a qualidade da água de abastecimento; as fases de produção e transporte dos produtos; a classificação de produtos e derivados; os controles de rastreabilidade; o controle de resíduos e contaminantes; a certificação sanitária; e outros procedimentos que se fizerem necessários.

No artigo 220 do Decreto nº 9.013 de 2017 (BRASIL, 2017), o MAPA declara que os ovos só podem ser expostos ao consumo humano quando previamente submetidos à inspeção e à classificação previstas neste Decreto e em normas complementares.

O não cumprimento de normas sanitárias pode vir a gerar problemas de saúde pública, como as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), que vem aumentando de modo significativo em nível mundial (MS, 2010). De acordo com as normas preestabelecidas, dois ou mais casos de uma doença com o mesmo quadro clínico são considerados surtos (MEER; MISNER, 1999).

Diversos são os fatores que contribuem para a emergência dessas doenças, destacando-se o aumento das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, a urbanização desordenada e a necessidade atual de produção de alimentos em larga escala. Além disso, pode-se citar o deficiente controle dos órgãos públicos e privados quanto à qualidade dos alimentos ofertados, maior exposição das populações a alimentos destinados ao pronto consumo coletivo – *fast foods*, o consumo de alimentos em vias públicas, o aumento no uso de aditivos e as mudanças de hábitos alimentares, assim como as mudanças ambientais, globalização e o aumento das facilidades de deslocamento da população inclusive em nível internacional (MS, 2010).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995) 70% dos casos de diarreia de origem alimentar em países desenvolvidos ocorrem em crianças com menos de cinco anos. Outros dados de estimativas globais estimadas indicam que todo ano haja cerca de 600 milhões de casos de DTA, incluindo 350.000 casos fatais (KIRK et al., 2015).

Para controle das ocorrências de doenças no Brasil existe o Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), que é alimentado pelas notificações e investigações de casos e agravos de doenças de notificação compulsória. As informações alimentadas no sistema permitem o diagnóstico e monitoramento de eventos ocorridos em uma população, possibilitando a determinação das causas dos agravos e indicadores de saúde, para assim ser traçado o perfil epidemiológico sanitário de uma determinada região e por fim realizar planejamentos e determinar ações para minimizar o impacto na saúde promovendo o bem estar das pessoas (MENDES, 2011).

De acordo com os dados disponíveis no SINAN até maio de 2017, pode-se identificar que em 2016 houveram 543 surtos epidemiológicos, 19,3% menos que em 2015, quando ocorreram 673 surtos. Os sintomas das DTA mais evidentes são diarreia (30%), dor abdominal (19%), vômito (17%), náuseas (16%), cefaleia (8%), febre (7%) e outros (3%) nos casos notificados. Esses sintomas condizem com os

agentes etiológicos associados aos surtos notificados entre 2007 e 2017, onde 95,9% dos casos com diagnóstico foram causados por bactérias (*Escherichia coli* – 7,32%, *Salmonella* spp. – 7,18%, *Staphylococcus aureus* – 5,68%, *Bacillus cereus* – 2,55%, coliformes – 1,91% e *Clostridium perfringens* – 1,66%), 7,7% de origem viral (rotavírus – 0,91%, norovírus – 0,79% e Vírus da Hepatite – 0,46%), agentes químicos responsáveis por 1,8% dos casos e apenas 1,2% das DTA causadas por protozoários (MS, 2017).

Porém, a maior parte dos surtos notificados no SINAN não tem seu agente etiológico identificado (70,6%). O mesmo ocorre com relação a identificação do alimento origem da infecção alimentar nesse mesmo período, onde 66,4% dos registros tem o diagnóstico do alimento envolvido ignorado ou inconclusivo. Dos surtos em que o alimento incriminado foi identificado (33,6%) os ovos e subprodutos à base de ovos estão em terceiro lugar dentre os mais notificados (3,7%), os alimentos mistos (origem animal e vegetal) estão dentro os mais recorrentes (8,6%) e a água (6,2%) (MS, 2017).

A distribuição das ocorrências de DTA no Brasil nos entre 2014 e 2016 manteve a característica de a Região Sudeste do país apresentar mais casos notificados, seguido da Região Nordeste, a Região Centro-oeste, a Região Norte e por fim a Região Sul (MS, 2017).

No Rio Grande do Sul, no período de 2007 a 2010 (Tabela 1), foram notificados 386 surtos de DTA, com ocorrência de 8 óbitos. Dentre os surtos com informações, 46,6% destes ocorreram em residências e 22,3% em restaurantes/padarias, sendo que 36,6% dos surtos o alimento envolvido estava a maionese, que na maioria das vezes é preparada com ovos crus. Dentre os agentes patogênicos encontrados foram detectados *Salmonella* spp. (68,1%) e *Staphylococcus* spp. (12,9%) nos surtos que foi possível fazer o diagnóstico laboratorial. As notificações realizadas no Rio Grande do Sul no período referido vêm sofrendo um decréscimo com o passar dos anos, sendo que em 2007 foram 122 e em 2010 apenas 35 notificações (BRASIL, 2011).

Conhecer o comportamento dos agravos das DTA fornece subsídios para sugerir ações e delinear políticas públicas de saúde para atenuar índices de saúde desfavoráveis de um território. Com vistas a esse panorama, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica dos ovos oferecidos no comércio informal de quatro cidades do estado do Rio Grande do Sul. Assim como identificar

os riscos zoonóticos que a população está sujeita, visto que esses ovos não passam pelo processo de avaliação das boas práticas de fabricação e/ou inspeção do produto final por médico veterinário habilitado.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

Os ovos são formados por diferentes partes: a cutícula, membrana que reveste a casca do ovo externamente; a casca, constituída principalmente por carbonato de cálcio; outras duas membranas internas à casca, uma espessa e outra mais fina; a clara; a chalaza, ancorada na gema; a membrana vitelina, que reveste a gema; e a gema (ICMSF, 2005).

Algumas estruturas do ovo têm como função de protegê-lo contra microrganismos presentes no ambiente, sendo estas a cutícula, a casca, as membranas internas e as proteínas presentes no albúmen, que têm atividade bactericida e bacteriostática (REHAULT-GODBERT et al., 2017). Porém, mesmo assim algumas bactérias conseguem penetrar no ovo pela cutícula e poros, alcançando a clara e a gema (MUSGROVE et al., 2004).

Internamente o ovo é composto por água, sólidos orgânicos (proteínas, lipídeos e carboidratos) e inorgânicos. A albumina, ou clara, possui diversas proteínas, sendo as principais a Ovoalbumina, Conalbumina, Ovomucoide, Lisozima, Ovomucina, Flavoproteína, Ovoinibidor, Avidina e Globulinas. Estão presentes na gema vitaminas solúveis em gordura (A, D, E e K) e tanto na gema quanto na clara vitaminas solúveis em água, o complexo B. Essa composição tem como finalidade nutrir o embrião, caso o ovo seja fértil e esteja incubável, assim como agir na proteção do ovo contra contaminantes (ICMSF, 2005). A Lisozima, a Conalbumina e o pH alcalino são os mais importantes para a atividade antimicrobiana (BAKER, 1974).

A Conalbumina apresenta-se como uma importante sequestradora (queladora) de íons metálicos, em especial ferro, cobre e zinco, de modo que esses íons tornam-se indisponíveis para as bactérias. As bactérias Gram-positivas são especialmente mais susceptíveis à essa proteína que as Gram-negativas, sendo que algumas são incapazes de crescer nesse meio. As bactérias que resistem a presença de Conalbumina geralmente apresentam uma taxa de crescimento diminuída, sendo que a capacidade de crescer parece estar relacionada existência

de um sistema ativo para adquirir minerais essenciais. Um exemplo são as *Pseudomonas* spp. que crescem em clara de ovo, elas geralmente produzem uma mistura de quelantes fluorescentes verdes, denominados pioverdina. Esse material, assim como a Conalbumina, possui alta afinidade para os íons metálicos, que são essenciais para o crescimento de *Pseudomonas* spp. Porém ao contrário da Conalbumina, a pioverdina libera os metais para a célula bacteriana utilizar (ELLIOTT, 1954; ELLIOTT et al., 1964; GARIBALDI, 1960, 1970). A família Salmonellae produz compostos de fenolato que agem de forma semelhante, permitindo que essas bactérias penetrem e se multipliquem (GARIBALDI, 1970). Estudo realizado por Sauter e Peterson, (1969) demonstram que os sais metálicos de ferro, alumínio, cobre, manganês e zinco quando em excesso saturaram a capacidade de ligação da Conalbumina, ficando o restante disponível para o crescimento microbiano.

A Lisozima é conhecida por ter atuação na defesa contra as bactérias, é uma muramidase que atacam a mureína presente na parede celular bacteriana, sendo então menos funcionais sobre bactérias gram-negativas, visto que estas possuem uma camada de proteção sobre a camada de mureína (GALYEAN et al., 1972). Sua ação então se baseia em quebrar a parede bacteriana e assim facilitar a liberação dos componentes bacterianos (MARANA et al., 2006; CANÇADO et al., 2007). A atuação da lisozima de ovo de galinha tem atividade principalmente sobre bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, e fungos como *Candida albicans* (RUAS, 2010). No entanto, essa proteína quando desnaturada por aquecimento e ao sofrer mudança de pH passa a ter ação em bactérias gram-negativas também (IBRAHIM et al., 1996). E ao ser conjugada com ácido cafeico ou cinamaldeído passa a ter uma atividade antimicrobiana aumentada contra *Escherichia coli*, quando comparada a lisozima livre (VALENTA et al., 1997; VALENTA et al., 1998).

O ovo quando recém-colocado pela galinha têm um pH entre 7,6 e 7,8, porém o ovo perde dióxido de carbono para a atmosfera e isso resulta no aumento do pH da clara do ovo para valores entre 9,1 e 9,6 após 1-3 dias de armazenamento à temperatura ambiente. A maioria das bactérias não cresce bem neste pH alcalino, melhorando também a atividade quelante da Conalbumina (ICMSF, 2005).

Os contaminantes microbiológicos são principalmente bacterianos, sendo estes os principais agentes presentes em quadros de intoxicações alimentares (LOIR et al., 2003; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995).

Almeida et al. (2013) relatou que no perfil epidemiológico de DTA no estado do Paraná entre anos 2005 e 2008 houve predominância de *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Onde em ovos, eles identificaram como o maior contaminante sendo *Staphylococcus aureus* (23,8%), seguido de 15% das amostras positivas para coliformes, 14,28% positivas para *Salmonella* spp., 8,1% das amostras com diagnóstico para *Escherichia coli* e 5,88% sendo *Bacillus cereus*.

Jones et al. (2012) ao realizarem diagnóstico microbiológico de aves produzidas livres observaram que *Escherichia coli* foi o coliforme mais presente nas amostras realizadas, com 196 de 359 colônias identificadas bioquimicamente como positivas para esse patógeno, em sua maioria encontradas na casca dos ovos.

Staphylococcus spp., por sua vez, foram observados pela primeira vez no ano de 1878 em material purulento, o primeiro relato científico de os cocos serem frequentes em abscesso agudos e crônicos ocorreu em 1881 e em 1884 foi feita a relação desses micro-organismos com surtos de toxinfecções alimentares nos Estados Unidos da América (EUA) (PEREIRA et al., 2000). Dentre as espécies de maior relevância em alimentos estão *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogenes* e *Staphylococcus intermedius* (FRANCO & LANDGRAF, 2005; SU; WONG, 1997), e sendo *Staphylococcus aureus* a espécie responsável por uma média de 98% dos surtos toxialimentares envolvendo esse gênero (SANTANA et al. 2010).

O gênero *Staphylococcus* spp. é formado por micro-organismos mesófilos que apresentam crescimento microbiano nas temperaturas entre 7 e 47,8°C e pH variando entre 4,2 e 9,3. Eles também podem produzir enterotoxinas termorresistentes quando em temperaturas entre 10 e 46°C, sendo a temperatura ótima para sua formação entre 40 e 45°C. A sobrevivência dos *Staphylococcus* spp. é mais difícil em temperaturas mais próximas a 60°C, por exemplo, o *Staphylococcus aureus* é destruído quando submetido a 60°C por 43 segundos a 8 minutos. Em contrapartida, são muito resistentes a baixa atividade de água (aw), se multiplicando até mesmo com 0,86 de aw, com relatos da presença em alimentos com aw de 0,83 (WONG & BERGDOLI, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Na epidemiologia de *Staphylococcus* spp., o homem e os animais representam os principais reservatórios de *Staphylococcus aureus*, estando presente na cavidade nasal do homem, seu principal habitat (WONG & BERGDOLI, 2002; FRANCO & LANDGRAF, 2005), e a partir da cavidade nasal atinge a epiderme, alimentos ou outros objetos que acabem por contaminar outros indivíduos e assim representando importante fonte de contaminação de alimentos (ASPERGER, 1994). Não é um micro-organismo exclusivo de doentes, 30 a 50% das pessoas saudáveis podem ser positivos (WONG & BERGDOLI, 2002).

A casuística de doenças alimentares envolvendo estafilococos é relatada em diversos países. Nos EUA 4,5% das DTA que ocorrem anualmente são causadas por *Staphylococcus aureus*, representando uma média de 185 mil doentes, com 1.753 pessoas hospitalizadas e duas mortes (U.S. Department of Agriculture, 2001). No Japão, durante o ano 2000 estiveram envolvidas em surto de intoxicação alimentar com leite desnatado 13.420 pessoas, onde o alimento estava contaminado com enterotoxina A e H estafilocócica (IKEDA et al., 2005). Na França, o *Staphylococcus aureus* ocupa a segunda posição dentre os responsáveis das Doenças Transmitidas por Alimentos entre 1999 e 2000 (LOIR et al. 2003).

No Brasil, Pereira et al. (1994) relatam a baixa quantia de informações sobre casos de DTA com muitos casos não investigados ou não notificados, estando o gênero estafilocócico dentre os grandes envolvidos nos casos notificados. De acordo com o Sistema e Informação de Agravos e Notificações (SINAN) dentre os casos notificados, entre 2007 e 2017, os patógenos alimentares responsáveis pelos surtos alimentares no Brasil estão a *Escherichia coli* em primeiro lugar, seguida de *Samonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, coliformes e *Clostridium perfringens* (MS, 2017).

Assim como os Coliformes e os *Staphylococcus* spp., as Samonelas paratíficas também tem mundialmente um grande impacto nas Doenças Transmitidas por Alimentos, sendo responsáveis por uma estimativa constante de 80,3 milhões de casos por ano (MAJOWICZ, 2010). Porém também há estimativas de que apenas 1 em cada 57 casos de salmonelose sejam notificados (HAVELAAR, 2013). *Salmonella enterica* foi a segunda mais notificada em surtos na Europa, responsável então por 20% dos surtos ocorridos em 2014. Essa espécie também é o mais frequentemente encontrado nos EUA (EFSA-ECDC, 2015).

Atualmente há uma mudança das preferências com relação ao consumo de ovos, sendo uma tendência mundial a substituição do consumo de ovos oriundos de poedeiras mantidas em gaiolas pelos ovos produzidos por aves em ambientes livres de gaiolas, além de um aumento na preferência pelo consumo de alimentos crus (WHILEY, 2015). Alimentos como maionese de ovos crus, algumas saladas, sorvetes, tiramisú e milk-shakes são exemplos de alimentos que utilizam ovos crus na sua fabricação e que vem sendo consumidos em maior quantidade nos últimos anos, gerando assim um aumento no risco de ocorrência de salmoneloses (KRETSER et al., 2014; MITCHELL et al., 1989).

Salmonella spp. quando encontrada na casca de ovos tem sido identificada como um risco em potencial para a saúde pública (WHILEY, 2015). Dentre as encontradas na casca dos ovos, a *Salmonella* Enteritidis está no topo, com exceção da Austrália, que tem a *Salmonella* Typhimurium como predominante (GANTOIS et al., 2008; MOFFATT & MUSTO, 2013). Esses dois sorovares demonstram uma alta habilidade de colonização no trato reprodutivo de poedeiras, sendo que a *S. Enteritidis* é a mais adaptada, pois tem uma maior habilidade de fixação na mucosa reprodutiva (WALES & DAVIES, 2011).

Outro fato acreditado como possível responsável pelo predomínio da *S. Enteritidis* é a sua estreita relação com a presença de roedores nos locais de produção gerando uma recontaminação dos lotes, não observada com relação a *S. Typhimurium*. Não só os ratos, mas também outros animais são relatados como carreadores de *Salmonella* spp., estando entre eles os gatos, ratos, raposas, Besouros de areia, escaravelhos e centopeias (LIEBANA et al., 2003; DAVIES & BRESLIN, 2003).

A contaminação por *Salmonella* spp. é uma questão complexa e afetada pelas variáveis de cada estágio do processo de produção, no entanto não há uma indicação definitiva na literatura atual de que exista um sistema de produção que garanta a não contaminação. Por conseguinte, é de suma importância medidas de controle pós-coleta como lavagem, desinfecção, pasteurização e irradiação. Embora os dois primeiros métodos não sejam desejáveis para todos os consumidores, eles fornecem uma solução para pacientes de alto risco. Outras informações complexas e variáveis são os protocolos de armazenamento, temperatura e manuseio dos alimentos, que necessitam de novas pesquisas para otimizá-los. Dada a mudança atual na preferência dos consumidores e o crescente desejo de produtos alimentares

crus, é necessário a ampliação das informações sobre a preparação desses alimentos, para que ocorra uma reeducação dos manipuladores e consumidores com relação aos riscos do uso de ovos crus e a possível contaminação cruzada, para assim reduzir o risco para a saúde pública (WHILEY, 2015).

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 480 ovos comercializados de modo informal em 4 (quatro) diferentes cidades do estado do Rio Grande do Sul, sendo 120 ovos oriundos de cada localidade: Pejuçara, Rosário do Sul, Santa Maria e Teutônia. Como controle negativo para esta pesquisa foram utilizados ovos comerciais, ou seja, com inspeção veterinária. Após a coleta das amostras, as mesmas foram processadas no Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias (LCDPA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Os ovos foram submetidos a análises para avaliação da qualidade microbiológica dos ovos, sem serem submetidos previamente a refrigeração. Entre os métodos utilizados, foram inclusos os métodos quantitativos e qualitativos. Dentre os métodos quantitativos realizados estão a contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, a contagem de *Staphylococcus* spp. e a contagem de coliformes totais em alimentos. A metodologia qualitativa foi composta de análises da higiene externa dos ovos, pesquisa de *Salmonella* spp. e enterobactérias. As técnicas utilizadas foram as descritas na Instrução Normativa nº 62 de 18 de setembro de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2003) e os valores de referência foram os preconizados pela legislação vigente, Portaria nº 01 de 21 de fevereiro de 1990, do MAPA (Brasil, 1990).

De acordo com a legislação brasileira vigente não há referência ou recomendação para ovos *in natura*, apenas para ovo líquido e ovo desidratado, logo, os parâmetros avaliados foram comparados aos disponíveis na Portaria 01 (Brasil, 1990), assim como os utilizados por Menezes (2013).

Para o processamento dos ovos, primeiramente foi realizada a separação das amostras, cada uma representada por um pool de seis ovos subdivididos em clara (25 g), gema (25 g) e cascas totais desses ovos. Para cada amostra, em recipiente estéril, foi adicionado 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e em seguida

procedeu-se a homogeneização por aproximadamente 60 segundos, sendo esta considerada a diluição inicial 10^{-1} .

1.2.1 Mesófilos Aeróbios

Em placas de Petri estéreis, foram depositadas alíquotas de 1 mL da diluição inicial. Adicionou-se 15 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) fundido a 46 - 48°C e homogeneizou-se o ágar com o inóculo. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas de modo invertido a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas e posterior leitura das mesmas.

1.2.2 *Staphylococcus* spp.

O diagnóstico de *Staphylococcus* spp. baseou-se na inoculação de 0,1 mL das amostras em duplicata sobre a superfície seca do ágar Baird-Parker (BP), espalhadas com alça de Drigalski, até sua completa absorção pelo meio. Incubou-se as placas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas e posterior leitura das mesmas.

1.2.3 Coliformes Totais

A partir da diluição inicial (10^{-1}), distribuiu-se 1 mL em placas de Petri esterilizadas, juntamente com 1,5 mL de Ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA) previamente fundido a 46 – 48°C e homogeneizou-se até sua solidificação. Em seguida foram adicionados mais 10 mL de VRBA, formando uma segunda camada de meio. Aguardou-se a solidificação e então se incubou-se as placas em posição invertida a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. No dia seguinte realizou-se a leitura das placas que continham entre 15 e 150 colônias e identificou-se as que apresentavam morfologia típica de coliformes.

1.2.4 Análise externa

Em adicional, foi realizada a análise externa dos ovos quanto a limpeza destes, sendo considerados sujos os ovos que apresentarem resquícios de fezes, terra ou outro tipo de sujidade não desejável.

1.2.5 *Salmonella* spp. e enterobactérias

Após a realização da diluição inicial e retirada de alíquotas para os testes quantitativos, as amostras foram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas para pré-enriquecimento. Em seguida, transferiu-se alíquotas de 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis e de 1 mL para tubos contendo 10 mL de caldo Tetratonato. Ambos os meios foram incubados a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, por 24 a 30 horas. A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, as amostras foram estriadas em placas contendo Ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Ágar Verde Brilhante (AVB) e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Após a incubação, foram realizadas provas bioquímicas para diagnóstico de todas as colônias com características fenotípicas diferentes entre si. A identificação das bactérias foi realizada utilizando chave de identificação bioquímica de acordo com Brasil, (2003).

1.2.6 Análise estatística

Os resultados passaram por avaliação estatística através do uso do programa JMP Pró 13.0.0 com o modelo estatístico sendo o OneWay unilateral.

2 MANUSCRITO

O manuscrito será submetido à Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ISSN 0102-0935)

Perfil microbiológico de ovos sem inspeção veterinária adquiridos no comércio informal do Rio Grande do Sul, Brasil

[Microbiological profile of eggs without veterinary inspection acquired in informal trade in Rio Grande do Sul, Brazil]

S. R. Didoné*, L. Murer, G. H. Schneiders, M. Westenhofen, S. A. Botton, M. Lovato
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. CCR. Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS. * Autor para correspondência: simonerosadidone@gmail.com

RESUMO

A produção brasileira de ovos em 2015 chegou a 730.156 milhões de dúzias, 191,7 ovos per capita. Entre os alimentos responsáveis por intoxicações alimentares, os ovos são incriminados como as principais fontes de agentes bacterianos causadores das mesmas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica dos ovos no comércio informal do Rio Grande do Sul. As amostras foram avaliadas de acordo com a Instrução Normativa nº 62/2003 e Portaria nº 01/1990, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Todas as amostras atingiram ao preconizado na lei quanto avaliada a contagem de mesófilos aeróbicos, porém não se obteve resultados satisfatórios para as exigências relativas a presença de *Staphylococcus* spp. e coliformes totais. Diversas bactérias foram identificadas, estando mais frequentes *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Cedecea* sp. e *Edwardsiella ictaluri*. As sujidades externas do ovo tiveram correlação estatística positiva significativa com a contaminação bacteriana da clara e gema. A qualidade microbiológica evidencia que as amostras não estão próprias para consumo.

Palavras-chave: saúde pública, sanidade avícola, zoonoses, medicina veterinária preventiva.

ABSTRACT

The Brazilian production of eggs in 2015 reached 730,156 million dozens, 191.7 eggs *per capita*. Human beings are responsible for food poisoning and the main reported pathogens are *Salmonella* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Hafnia* and *Providencia* sp. The objective of this work was to evaluate a

microbiological quality of eggs in the informal commerce of Rio Grande do Sul. It was used 480 eggs, evaluating clear, yolk and peel separately. As samples were evaluated according to Instrução Normativa nº 62/2003 and Portaria nº 01/1990, of the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. All samples were suitable for human consumption in relation to aerobic mesophiles, but they are not called to requirements due to the presence of *Staphylococcus* spp. and thermotolerant total coliforms. Several bacteria were identified, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Cedecea* sp. and *Edwardsilla ictaluri*. As external egg stains had positive significant statistical correlation with a bacterial contamination of the white and yolk. This work evidences that the microbiological quality of the eggs sampled is not suitable for human consumption, since it is not known to use the cooking consumption of the eggs.

Key words: population health, poultry health, zoonosis, preventive veterinary medicine.

INTRODUÇÃO

No Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (2016), em 2015 foram produzidos mais de 39 trilhões de ovos para consumo, sendo 99% da produção para o mercado interno. O consumo interno chegando então a 191,7 ovos *per capita*, superior às 182 unidades *per capita* de 2014 (SNA, 2016).

Não só o consumo está crescente como também a demanda dos consumidores para ovos produzidos em sistemas menos intensivos, como no caso dos ovos caipiras (Pollock, 2012; Whiley, 2017). Porém, na busca por consumir ovos oriundos de sistemas de produção caipira, o consumidor por vezes acaba por adquirir ovos produzidos sem inspeção veterinária no comércio informal ou até mesmo ter as galinhas poedeiras na sua própria casa. Segundo Cacciamali (1994), o termo “setor informal” foi inicialmente estudado pela Organização Internacional do Trabalho em 1969 e “é utilizado principalmente para denominar formas heterogêneas de produção de trabalho não usuais às empresas tipicamente capitalistas”. O comércio informal então são atividades cujas regras expressas em leis ou procedimentos usuais são desconsideradas (Cacciamali, 2000).

Em pesquisa realizada nos Estados Unidos foi descrito que é crescente o número de pessoas mantenedoras de galinhas poedeiras no quintal para fazer uso dos ovos produzidos (Pollock, 2012). Outro estudo, este na Austrália, apresenta resultados semelhantes, no qual identifica que 10,7% das pessoas entrevistadas tem preferência pelo consumo de ovos oriundos de galinhas de fundo de quintal (Whiley, 2017).

No artigo 220 do Decreto nº 9.013 de 2017 (BRASIL, 2017), o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) declara que os ovos só podem ser expostos ao consumo humano quando previamente submetidos à inspeção e classificação. O não cumprimento dessas normas sanitárias pode vir a gerar problemas de saúde pública, como as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), que vem aumentando de modo significativo em nível mundial (MS, 2010).

O ovo é composto por estruturas que o protegem de micro-organismos presentes no ambiente. A proteção é feita pela cutícula, casca, membrana interna e proteínas presentes no albúmen, as quais possuem atividade bactericida e bacteriostática (Rehault-Godbert *et al.*, 2013). Mesmo assim algumas bactérias conseguem penetrar no ovo através da cutícula e poros, alcançando a clara e a gema (Musgrove *et al.*, 2004).

Dentre os principais patógenos relatados em infecções alimentares em humanos, está o gênero *Salmonella*, bactéria Gram negativa, pertencente à família Enterobacteriaceae. Dentre os produtos de origem animal relacionados a essa patologia estão os de origem avícola, que são regularmente monitorados para garantir a saúde alimentar do consumidor e dos animais (Berendika *et al.*, 2013). Apesar de *Salmonella* spp. ter grande responsabilidade sobre intoxicações alimentares, outras enterobactérias podem estar envolvidas.

De acordo com o Sistema de Informação de Agravos e Notificações (SINAN) do Ministério da saúde (MS, 2017), entre 2007 e 2017, os patógenos alimentares responsáveis pelos surtos alimentares no Brasil temos *Escherichia coli* em primeiro lugar, seguido de *Samonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, coliformes e *Clostridium perfringens*. Porém a maioria das DTA ocorridas no Brasil não tem seu agente etiológico diagnosticado, representando 70,6% dos casos. Ao passo que observando os alimentos contaminados responsáveis por tais ocorrências identifica-se que os ovos e produtos a base de ovos representam o terceiro lugar com 3,7% dos casos, porém esse dado apresentado pelo SINAN pode estar subestimado, pois 66,4% dos surtos não tem a identificação do alimento causador da DTA.

De acordo com o relato de Almeida *et al.* (2013), o perfil epidemiológico de DTA no estado do Paraná entre anos 2005 e 2008 foi caracterizado pela predominância de *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Especificamente em ovos, eles identificaram que o maior contaminante também era *Staphylococcus aureus* (23,8%), seguido de 15% das amostras positivas para coliformes, 14,28% positivas para *Salmonella* sp., 8,1% das amostras com diagnóstico para *Escherichia coli* e 5,88% das amostras diagnosticadas com *Bacillus cereus*.

Em um esforço para diminuir a ocorrência de contaminação bacteriana, muitos produtores de alimentos passaram administrar antibióticos às aves, como método de prevenção e tratamento de doenças, ou em alguns casos, também como promotores de crescimento. Embora esta prática melhore frequentemente a saúde geral e a produtividade do rebanho, ela também contribui para o desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos (Singer e Hofacre, 2006).

Com base no panorama descrito, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica dos ovos ofertados no comércio informal de quatro cidades do estado do Rio Grande do Sul e, por conseguinte, os riscos zoonóticos que a população está sujeita, visto que esses ovos não passam pelo processo de avaliação das boas práticas de fabricação e/ou inspeção de produto de origem animal de acordo com a legislação.

MATERIAL E MÉTODOS

Para essa avaliação microbiológica, foram utilizados 480 ovos comercializados de modo informal em 4 (quatro) diferentes cidades do estado do Rio Grande do Sul, sendo 120 ovos oriundos de cada localidade: Pejuçara, Rosário do Sul, Santa Maria e Teutônia. Como controle negativo para esta pesquisa foram utilizados ovos comerciais, ou seja, com inspeção veterinária. Após a coleta das amostras, as mesmas foram processadas no Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias (LCDPA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Os ovos foram submetidos a análises para avaliação da qualidade microbiológica dos ovos, sem serem submetidos previamente a refrigeração. Entre os métodos utilizados, foram inclusos os métodos quantitativos e qualitativos. Dentre os métodos quantitativos realizados estão a contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis, a contagem de *Staphylococcus* spp. e a contagem de coliformes totais em alimentos. A metodologia qualitativa foi composta de análises da higiene externa dos ovos, pesquisa de *Salmonella* spp. e enterobactérias. As técnicas utilizadas foram as descritas na Instrução Normativa nº 62 de 18 de setembro de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2003) e os valores de referência foram os preconizados pela legislação vigente, Portaria nº 01 de 21 de fevereiro de 1990, do MAPA (Brasil, 1990).

De acordo com a legislação brasileira vigente não há referência ou recomendação para ovos *in natura*, apenas para ovo líquido e ovo desidratado, logo, os parâmetros avaliados foram comparados aos disponíveis na Portaria 01 (Brasil, 1990), assim como os utilizados por Menezes (2013).

Para o processamento dos ovos, primeiramente foi realizada a separação das amostras, cada uma representada por um pool de seis ovos subdivididos em clara (25 g), gema (25 g) e cascas totais desses ovos. Para cada amostra, em recipiente estéril, foi adicionado 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e em seguida procedeu-se a homogeneização por aproximadamente 60 segundos, sendo esta considerada a diluição inicial 10^{-1} .

Mesófilos aeróbios. Em placas de Petri estéreis, foram depositadas alíquotas de 1 mL da diluição inicial. Adicionou-se 15 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) fundido a 46 - 48°C e homogeneizou-se o ágar com o inóculo. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas de modo invertido a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas e posterior leitura das mesmas.

Staphylococcus spp. O diagnóstico de *Staphylococcus spp.* baseou-se na inoculação de 0,1 mL das amostras sobre a superfície seca do ágar Baird-Parker (BP), espalhadas com alça de Drigalski, até sua completa absorção pelo meio. Utilizou-se duplicata da mesma diluição. As placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas e posterior leitura das mesmas.

Coliformes totais. A partir da diluição inicial (10^{-1}), distribuiu-se 1 mL em placas de Petri esterilizadas, juntamente com 1,5 mL de Ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA) previamente fundido a 46 - 48°C e homogeneizou-se até sua solidificação. Em seguida foram adicionados mais 10 mL de VRBA, formando uma segunda camada de meio. Aguardou-se a solidificação e então se incubou-se as placas em posição invertida a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. No dia seguinte realizou-se a leitura das placas que continham entre 15 e 150 colônias e identificou-se as que apresentavam morfologia típica de coliformes.

Análise externa. Em adicional, foi realizada a análise externa dos ovos quanto a limpeza destes, sendo considerados sujos os ovos que apresentarem resquícios de fezes, terra ou outro tipo de sujidade não desejável.

***Salmonella spp.* e enterobactérias.** Após a realização da diluição inicial e retirada de alíquotas para os testes quantitativos, as amostras foram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas para pré-enriquecimento. Em seguida, transferiu-se alíquotas de 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis e de 1 mL para tubos contendo 10 mL de caldo Tetracionato. Ambos os meios foram incubados a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, por 24 a 30 horas. A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, as amostras foram estriadas em placas contendo Ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Ágar Verde Brilhante (AVB) e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Após a incubação, foram realizadas provas bioquímicas para diagnóstico de todas as colônias com características fenotípicas diferentes

entre si. A identificação das bactérias foi realizada utilizando chave de identificação bioquímica de acordo com Brasil, (2003).

Análise estatística. Os resultados passaram por avaliação estatística através do uso do programa JMP Pró 13.0.0 com o modelo estatístico sendo o OneWay unilateral.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados quantitativos. Para mesófilos aeróbicos o valor médio de cada cidade foi de $0,26 \times 10^4$ UFC/mL na clara e $0,14 \times 10^4$ UFC/mL na gema na cidade de Pejuçara, $0,51 \times 10^4$ UFC/mL tanto para clara quanto gema em Rosário do Sul, $0,26 \times 10^4$ UFC/mL na clara e $0,14 \times 10^4$ UFC/mL na gema de ovos oriundas de Santa Maria e, por fim, em Teutônia presença de $0,38 \times 10^4$ UFC/mL para ambas, clara e gema. Segundo Brasil (1990), o limite aceitável para ovo líquido e ovo desidratado é menor que $5,0 \times 10^4$ UFC/mL. Ao comparar-se com os resultados das amostras colhidas, observa-se que para todas as cidades o perfil foi satisfatório quando comparado ao exigido pelo MAPA.

Resultados diferentes foram encontrados em trabalho realizado por Menezes (2013) em cinco regiões de Minas Gerais no qual foi identificado que ovos *in natura*, quando comparados às legislações existentes para ovo líquido e desidratado, não estavam em conformidade em cinco regiões do estado, no Triângulo mineiro, Campos das Vertentes, Sul, Sudeste e Oeste.

O limite microbiológico aceitável de *Staphylococcus* spp. em ovos também só é estabelecido para ovos integrais líquidos e desidratados, no qual é exigido ausência em 1g ou 1mL de produto (Brasil, 1990). Ao realizar-se média da presença de *Staphylococcus* spp. nas cidades observou-se que nenhuma cumpre com os parâmetros preconizados por Brasil (1990), visto que houve diagnósticos positivos para *Staphylococcus* spp. em todas as cidades. Observando isoladamente cada cidade e cada produtor pode-se evidenciar que 35% dos produtores de Pejuçara disponibilizam ovos com clara positivas para esse patógeno zoonótico, assim como 10% das gemas também apresentaram esse perfil positivo. Na cidade de Rosário do Sul houve 30% de amostras positivas tanto nas claras quanto nas gemas, enquanto que, em Santa Maria, o patógeno estava presente em 35% das claras e 50% das gemas dos ovos amostrados. Teutônia foi a cidade com maior índice de amostras positivas dentre as analisadas, apresentando 55% de claras e 65% das gemas de ovos contaminadas por *Staphylococcus* spp.

Em concordância com este trabalho tem-se a pesquisa realizada por Samah *et al.* (2015), que analisou *Staphylococcus* coagulase positiva em 200 ovos de aves de fundo de

quintal em Sharkia, no Egito, e diagnosticou como positivas 80 (40%) das amostras coletadas. Destas, 29 oriundas da casca, 15 do conteúdo interno do ovo e 36 presentes em ambos, casca e interior do ovo. Menezes (2013) também avaliou em sua pesquisa os índices de *Staphylococcus* coagulase positiva e identificou que dentre as 168 amostras analisadas, 10 foram positivas, porém apenas duas eram de *Staphylococcus* coagulase positivas, o restante eram coagulase negativas, ou seja, 1,19% das amostras totais.

Segundo Menezes (2013) a rigorosa exigência sobre a ausência de *Staphylococcus* spp. é importante e muito bem justificada, pois o ovo, seja na forma “*in natura*”, líquido ou desidratado, é largamente utilizado como ingrediente na produção de alimentos e nem sempre esses alimentos passam por processo térmico para inativação do patógeno. O fato do ovo ser rico em nutrientes constitui ambiente ideal para multiplicação bacteriana e uma carga microbiana no seu interior aumenta o risco de produção de enterotoxinas e doenças transmitidas por alimentos.

No Brasil, intoxicações alimentares por *Staphylococcus* spp. são frequentemente relatadas, e por esse motivo Rodrigues *et al.* (2004) investigou surto de intoxicação estafilocócica em restaurante universitário, onde 56 pessoas foram acometidas por este patógeno zoonótico, sendo identificado que o sanduíche de frango disponível na alimentação apresentou contagem de 2×10^8 UFC/g⁻¹. No caso de *Staphylococcus aureus* cerca de 10^6 UFC/g de alimento são suficientes para que a toxina acumule em níveis capazes de causar intoxicação alimentar (Santana *et al.* 2010). Assim também na cidade de Birigui – SP, ocorreu surto toxialimentar com 1800 pessoas através de merenda escolar contaminada (Michelin *et al.*, 2006).

O resultado das análises realizadas demonstrou que 27,5% das amostras de clara e 25% das gemas dos ovos foram positivos para coliformes totais. Em Pejuçara, 35% das amostras de clara se mostraram positivas para coliformes totais e 20% nas amostras referentes a gema. Enquanto que, em Rosário do Sul 10% das claras e 25% das gemas de ovos estavam contaminados com coliformes totais. Santa Maria teve a maior média desses coliformes, com 45% de positivos na clara e 25% na gema dos ovos. Por fim, Teutônia revelou 20% de amostras de clara de ovos positivas e 30% de amostras de gema positivas. Segundo Brasil (1990), a recomendação para coliformes totais termotolerantes é que esteja ausente no ovo líquido e no ovo desidratado, porém não há nenhuma especificação sobre ovos *in natura*, seja para coliformes totais ou termotolerantes.

O grupo coliformes, totais e termotolerantes, são indicadores de higiene e de processos de fabricação, sendo estes capazes de colonizar diversas áreas de produção quando não realizada limpeza, higienização e desinfecção de maneira correta (Silva *et al.*, 2010).

Em estudos conduzidos por Menezes (2013), três amostras de um total de 168 foram positivas para coliformes termotolerantes nas mesorregiões do Campo das Vertentes e Triângulo Mineiro, representando 1,78% das amostras analisadas. Estes resultados concordam com os apresentados nesse trabalho, de modo que ambos demonstram a presença de coliformes em ovos *in natura*, como se pode observar na Tab. 1, que demonstra amostras positivas para pesquisa de cada tipo de patógeno zoonótico em questão.

Tabela 1. Número de amostras em cada cidade pesquisada que não satisfizeram as exigências requeridas na legislação vigente, para ovo líquido e ovo desidratado.

Meio	Amostra	Pejuçara		Rosário do Sul		Santa Maria		Teutônia	
		(n/N)	UFCx10 ⁴	(n/N)	UFCx10 ⁴	(n/N)	UFCx10 ⁴	(n/N)	UFCx10 ⁴
Mesófilos aeróbicos	Clara	0/0	0,26	0/0	0,5	0/0	0,26	0/0	0,38
	Gema	0/0	0,14	0/0	0,51	0/0	0,14	0/0	0,38
<i>Staphylococcus</i> spp.	Clara	7/20	2,61	6/20	2,52	7/20	0,015	11/20	0,16
	Gema	2/20	1,25	6/20	1,35	10/20	0,016	13/20	0,10
Coliformes totais	Clara	7/20	0,51	2/20	0,12	9/20	0,25	4/20	0,25
	Gema	4/20	0,26	5/20	0,14	5/20	0,13	6/20	0,5

Limites máximos permitidos: Mesófilos aeróbicos = $5,0 \times 10^4$ UFC/mL; *Staphylococcus aureus* = ausência; Coliformes termotolerantes = Ausência em 1mL de ovo líquido ou desidratado. n = amostras positivas. N = Total de amostras.

Resultados qualitativos para enterobactérias. Nas amostras analisadas pôde-se evidenciar 12 (doze) diferentes bactérias na flora externa e interna dos ovos, são elas: *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Escherichia coli*, *Cedecea* sp., *Citrobacter freundii*, *Providencia stuartii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *Proteus mirabilis*.

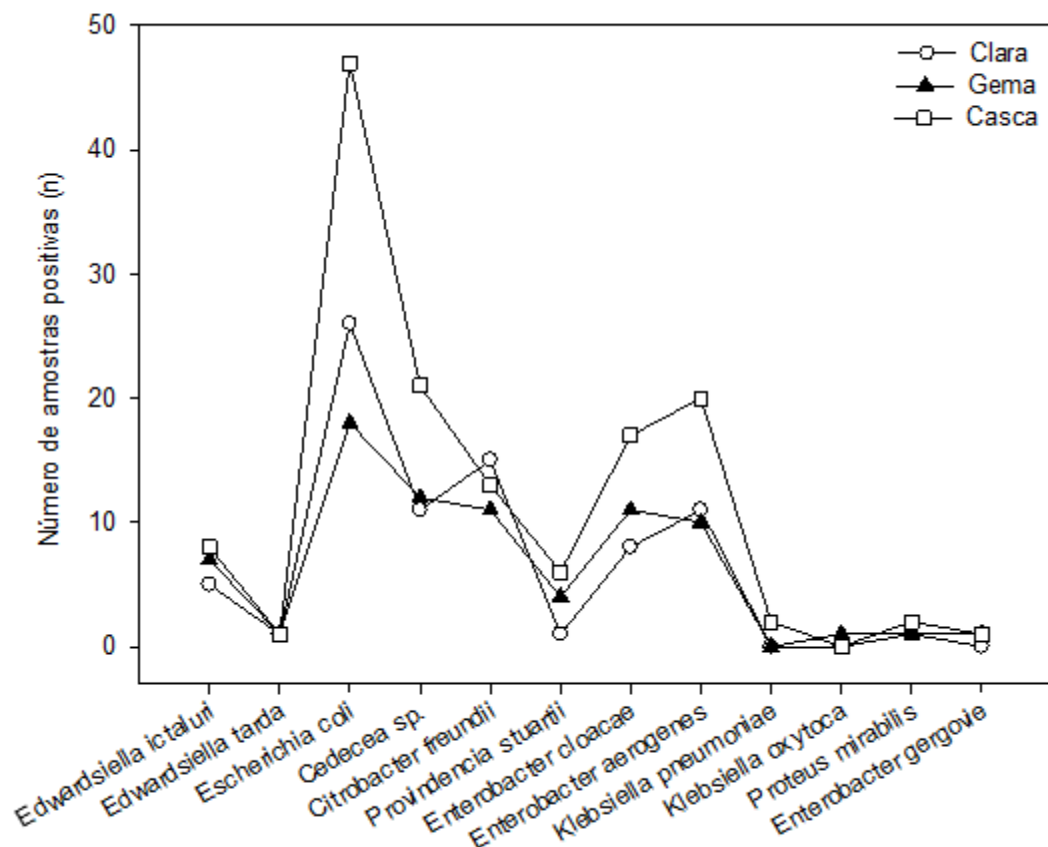
Na clara a bactéria encontrada foi a *Escherichia coli* (n = 26) seguida por *Citrobacter freundii* (n = 15); *Cedecea* sp. (n = 11) e *Enterobacter aerogenes* (n = 11); *Enterobacter cloacae* (n = 8); *Edwardsiella ictaluri* (n = 5); e por fim *Edwardsiella tarda* (n = 1), *Providencia stuartii* (n = 1) e *Proteus mirabilis* (n = 1).

Para as amostras de gema de mesma forma *Escherichia coli* (n = 18) foi a mais diagnosticada, sendo as demais bactérias encontradas *Cedecea* sp. (n = 12); *Citrobacter*

freundii (n = 11) e *Enterobacter cloacae* (n = 11); *Enterobacter aerogenes* (n = 10); *Edwardsiella ictaluri* (n = 7); *Providencia stuartii* (n = 4); e as menos encontradas *Edwardsiella tarda* (n = 1), *Klebsiella oxytoca* (n = 1), *Proteus mirabilis* (n = 1) e *Enterobacter gergoviae* (n = 1).

A casca, por sua vez, houve novamente a predominância de *Escherichia coli* (n = 47), acompanhada de *Cedecea* sp. (n = 21); *Enterobacter aerogenes* (n = 20); *Enterobacter cloacae* (n = 17); *Citrobacter freundii* (n = 13); *Edwardsiella ictaluri* (n = 8); *Klebsiella pneumoniae* (n = 2) e *Proteus mirabilis* (n = 2); e *Edwardsiella tarda* (n = 1) e *Enterobacter gergoviae* (n = 1), como demonstrado no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Enterobactérias diagnosticadas em clara, gema e casca de ovos oriundos de produção caipira no Rio Grande do Sul.



Segundo Stadelman e Cotteril (1995) bactérias Gram negativas são predominantes em ovos deteriorados, estando entre elas os gêneros *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Cloacae* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Aeromonas* spp. e *Escherichia coli*. Esses autores, juntamente com Fraiser (1993), fazem estimativa de

que na casca dos ovos a quantia total de microrganismos seja de 10^2 a 10^8 bactérias/cm², uma média de 10^5 .

O diagnóstico bacteriano da casca do ovo justifica sua importância pelo fato de que a casca é responsável por manter seguro o conteúdo interno do ovo. Desse modo, qualquer alteração física ou química pode aumentar o risco de contaminação bacteriana (Samiullah *et al.*, 2014). Além de que ao se quebrar a casca do ovo no momento da sua utilização também pode ocorrer contaminação da parte interna do ovo.

A avaliação externa dos ovos demonstrou que a cidade de Pejuçara teve 9 amostras com cascas sujas, enquanto que Rosário do Sul teve 12 amostras com qualidade indesejável. Santa Maria teve 12 amostras sujas e, por fim, Teutônia com 5 amostras com sujidades indesejáveis. Quando se avalia a relação entre a sujidade externa e a contaminação bacteriana presente nos ovos amostrados, pode-se observar uma relação positiva significativa. Ou seja, os ovos que estavam sujos na avaliação visual apresentaram uma contaminação maior que os ovos visualmente limpos, exceto quando comparada a sujidade externa com a positividade de *Staphylococcus* spp. ($p = 0,12$) na gema dos ovos amostrados.

Sendo assim, o sistema de produção, por apresentar diferentes manejos, também possui diferença quando avaliada a contaminação microbiana em ovos. Sendo que a contaminação da casca dos ovos de aves criadas livres pode apresentar-se em quantidade de 20 a 30 vezes maior quando comparado a aves criadas em gaiolas convencionais (Samiullah *et al.*, 2014). E como identificado com este trabalho, há uma relação direta entre contaminação externa e interna na maioria dos casos.

Stepien-Pysniak (2010) pesquisou o fator qualitativo em ovos produzidos em pequenas e grandes propriedades. As bactérias de maior prevalência encontradas foram *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, e *Klebsiella* na casca, enquanto que na clara e gema *Escherichia coli* foi a mais comumente encontrada, ao contrário de *Proteus* e *Serratia*, que foram as menos prevalentes. Adesiyun *et al.* (2006) observaram que 28.3% das cascas e 15.2% do conteúdo interno dos ovos estavam contaminados. No entanto Siqueira *et al.* (2008) encontraram frequência maior de *Enterobacter* e *Shigella* ao pesquisar a família Enterobacteriaceae em codornas que sofreram muda forçada, sendo que a contaminação chegou a 45.59% das amostras analisadas.

Esses dados concordam com os encontrados por Jones *et al.* (2012), quando ao pesquisar os coliformes presentes em ovos coletados em diferentes sistemas de criação, encontraram maior incidência de *Escherichia coli* na casca e interior dos ovos coletados nos ninhos de sistemas de criação com aves soltas. Nos ovos coletados do piso, nesse mesmo

sistema de criação, encontrou *Lactococcus lactis* no interior dos ovos e *Escherichia coli* na casca, enquanto no sistema convencional foi diagnosticado apenas *Escherichia vulneris* na parte interna dos ovos e *Escherichia coli* se repetiu como a bactéria com maior incidência na casca. Samah *et al.* (2015) examinando 200 ovos evidenciou a presença de 36 cepas de *Escherichia coli*, representando 18% de positividade em ovos de fundo de quintal em Sharkia, no Egito.

Entre as amostras analisadas, não houve identificação da presença de *Salmonella* spp. O mesmo resultado foi evidenciado em Minas Gerais (Menezes, 2013), Pelotas (Baú *et al.*, 2001) e Maceió (Silva *et al.*, 2004). De acordo com Humphrey (1994), a contaminação por *Salmonella* spp. em ovos é baixa na maioria dos casos, geralmente próxima de 1%. Isso pode ser justificado pelo fato de que a principal via de infecção de ovos é durante a passagem pelo oviduto e a transovariana (Stadelman e Cotteril, 1995). As poedeiras infectadas por salmonelas podem produzir ovos contaminados de modo intermitente devido a capacidade desse patógeno em ludibriar o sistema imune e apresentar essa característica epidemiológica (Gast, 1993).

Todos esses resultados justificam a criação da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 35/2009 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na qual torna obrigatória a instrução de conservação e consumo na rotulagem de ovos. Tornam-se então obrigatórios os dizeres: “O consumo deste alimento cru ou mal cozido, pode causar danos à saúde” e “Manter os ovos preferencialmente refrigerados” (Brasil, 2009). Ao contrário do que a lei preconiza os ovos amostrados não possuíam embalagem própria, pois todos eram oriundos de reaproveitamento de embalagens de papelão já utilizadas anteriormente, resultando então dois problemas, a possibilidade de contaminação cruzada com a embalagem e a não orientação dos consumidores perante a necessidade de cozimento e refrigeração dos ovos. O problema referente a má identificação e orientação do consumidor nas embalagens não é novo. Pesquisas como de Occhioni e Sousa (2016) também mostram esse problema, eles amostraram diferentes marcas comercializadas no Rio de Janeiro – RJ, e identificaram que apenas 3,22% das amostras cumprem o que é preconizado na lei.

CONCLUSÃO

Em avaliação aos resultados, concluiu-se, que os ovos amostrados apresentaram resultados insatisfatórios para quase todas as avaliações quantitativas, estando dentro das normas exigidas apenas com relação aos mesófilos aeróbicos. Foram evidenciadas bactérias potencialmente causadoras de doenças transmitidas por alimentos, com especial atenção para

Escherichia coli como a mais presente nas amostras na maioria das cidades avaliadas. O gênero *Salmonella* spp. não foi encontrada em nenhuma amostra. A presença em elevado número de *Staphylococcus* spp. na clara e gema demonstra a necessidade de expansão da investigação desse patógeno em alimentos.

Agradecimento. À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio através do projeto registrado sob número de processo 2443.269.15435.28022013.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESIYUN, A.; OFFIAH, N.; SEEPERSADSINGH, N. *et al.* Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. *Food Res. Int.*, v. 39, p. 212-219, 2006.
- ALMEIDA, J.C. DE; PAULA, C.M.S. DE; SVOBODA, W.K. *et al.* Perfil epidemiológico de casos de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Paraná, Brasil. *Semina: Ciên. Biol. e da Saúde*, v.34, n.1, p.97-106, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2013v34n1p97>
- 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. *Ciência Rural*, v.31, n.2, p.303-307, 2001.
- BERENDIKA, M.; SOKOLOVIC. M.; SIMPRAGA, B.; KRSTULOVIC, F. Usporedba Mikrobioloskih Metoda u Izdvajanju Bakterije *Salmonella* enterica sorovar enteritidis. In: X SIMPOZIJ PERADARSKI DANI 2013, Svibnja. S međunarodnim sudjelovanjem Hrvatska, Šibenik, 15-18. , p.112-118, 2013.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 01 de 21 de fevereiro de 1990. Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados. Brasília, 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada nº 35 de 17 de junho de 2009. Dispõe sobre a obrigatoriedade de instruções de conservação e consumo na rotulagem de ovos e dá outras providências. 2009.
- FRAISER, W.C. Microbiologia de los alimentos, Ed. ACRIBIA, ZARAGONA, 1993, 587p.

- GAST, R.K. Detection of *Salmonella enteritidis* in experimentally infected laying hens by culturing pools of egg contents. *Poult. Sci.*, v.72, p.267-274, 1993.
- HUMPHREY, T.J. Contamination of eggshell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. *Int. Jou. Foo. Mic.* v.21, p.31-40, 1994.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária. 2016. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201604caderno.pdf. Acesso em: 17 mai. 2017.
- JONES D.R., ANDERSON K.E., Guard J.Y. Prevalence of coliforms, *Salmonella*, *Listeria*, and *Campylobacter* associated with eggs and the environment of conventional cage and free-range egg production. *Pou. Sci.* 91:1195–1202 <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2011-01795>. 2012
- MENEZES, L.D.M. *Caracterização microbiológica de ovos de consumo e de carcaças de frangos produzidos no Estado de Minas Gerais*. 2013. 104f. Tese (Doutorado), Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte.
- MS. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2017. Disponível em: <http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>. Acessado em: 17 mai. 2017.
- MICHELIN, A.D.F.; CARMO, L.S.D.; CARLOS, I.Z. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigui, São Paulo. *Rev. Ins. Ado. Lutz*, 65(1):46-49, 2006.
- MUSGROVE M.T.; JONES D.R.; NORTHCUTT J.K. *et al.* Identification of Enterobacteriaceae from washed and unwashed commercial shell eggs. *Jou. of Foo. Pro.*, 67:2613-2616. 2004.
- OCCHIONI, C.V.D.O.; SOUSA, M.R.P. Avaliação da rotulagem de ovos comercializados no município do Rio de Janeiro – RJ. *Rev. Hig Ali.* v.30. pg. 148-151. 2016.
- RODRIGUES, K.L. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. *Ciência Rural*, v.34, n.1, jan-fev, 2004.
- SAMAH, E.I.D.; SOAD A.N.; AHMED M.E. Multidrug resistant bacterial pathogens in eggs collected from backyard chickens. *Assiut Veterinary Medical Journal*. v.61 No 144. 2015.
- SAMIULLAH, J.R.; ROBERTS, K.K.; CHOUSALKAR. Effect of production system and flock age on egg quality and total bacterial load in commercial laying hens. *Journal of Applied Poultry Research* 23:59–70 DOI: <http://dx.doi.org/10.3382/japr.2013-00805>. 2014.
- SANTANA E.H.W.D.; BELOTI V.; ARAGON-ALEGRO L.C.; MENDONÇA M.B.O.C.D.. Estafilococos em alimentos. *Arq. Ins. Bio.*, São Paulo, v.77, p545-554. 2010.

- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *et al.* Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos e água. 4ª ed. São Paulo. Livraria Verela. 2010.
- SILVA, M.C.D.; RAMALHO, L.; FIGUEIREDO, E.T. Salmonella sp em ovos e carcaças de frango in natura comercializadas em Maceió, AL. *Hig. Ali.*, v.18, p. 80-84, 2004.
- SINGER, R.S.; CHARLES L. H. "Potential Impacts of Antibiotic Use in Poultry Production." *BioOne. Ame. Ass. Avi. Pat.*, 2015.
- SIQUEIRA, A.A.; CARDOSO, W.M.; SILVA, E.E. *et al.* Identificação de enterobactérias em ovos de codornizes japonesas (*Coturnix japonica*) na Região Metropolitana de Fortaleza - Ce, Brasil. *Revista Por. Cie. Vet.*, 107(565-566):78-82. 2008.
- SNA. Sociedade Nacional de Agricultura. Produção de ovos no Brasil cresce 6,1% e chega a 39,5 bilhões de unidades. Disponível em: <http://sna.agr.br/producao-de-ovos-do-brasil-cresce-61-e-chega-a-395-bilhoes-de-unidades/>. Publicado em 29/01/2016. Acesso em: 17/05/2017.
- STADELMAN, W.J.; COTTERRIL, A.J. *Egg Science and Technology*, 4ed. Food Products Press, New York, 1995, 590p.
- STĘPIEN-PYSNIAK D. Occurrence of Gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. *Pol. Jou. Vet. Sci.*, 13(3):507-513. 2010.

3 CONCLUSÕES

Em decorrência dos resultados, concluiu-se, que os ovos amostrados apresentaram resultados insatisfatórios para quase todas as avaliações quantitativas, estando dentro das normas exigidas apenas com relação aos mesófilos aeróbicos. Foram evidenciadas bactérias potencialmente causadoras de doenças transmitidas por alimentos, com especial atenção para *Escherichia coli* como a mais presente nas amostras na maioria das cidades avaliadas. O gênero *Salmonella* spp. não foi encontrada em nenhuma amostra. A presença em elevado número de *Staphylococcus* spp. na clara e gema demonstra a necessidade de expansão da investigação desse patógeno em alimentos.

REFERÊNCIAS

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2016**. Publicação própria. 2016.

ALMEIDA, J.C. de et al. Perfil epidemiológico de casos de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n.1, p.97-106, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2013v34n1p97>

ASPERGER, H. Staphylococcus aureus. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Group of Experts A10/11. **The significance of pathogenic microorganisms in raw milk**. Brussels: IDF, 1994. p.24-42. (Special Issue, 9405)

AviSite. Ovos de galinha: distribuição da produção mundial. 2017. Campinas. Disponível em: <http://avisite.com.br/index.php?page=noticias&id=17879>. Acesso em: 14 ago. 2017.

BAKER, R.C. Microbiology of eggs. **Journal of Milk Food Technology**, v. 37, 265–268. 1974.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/D9013.htm> Acesso em: 14 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: DF, 2010. 136 p. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_prevencao_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Rio Grande do Sul** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 34 p. : il. color.

CACCIAMALI, M. C. A economia informal 20 anos depois. **Indicadores econômicos FEE**. v. 21, n. 4, p 218-232. 1994.

CACCIAMALI, M. C. Globalização e processo de informalidade. **Economia e Sociedade**, Campinas, (14): 153-174, jun. 2000.

CANÇADO, F. C. **Bases moleculares do efeito do pH na atividade catalítica de duas lisozimas digestivas de *Musca domestica* (Diptera)**. 2008. 187 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008,

DAVIES, R.H.; BRESLIN, M. Persistence of Salmonella Enteritidis Phage Type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. **Environmental Microbiology**, v. 5, p. 79–84, 2003.

ELLIOTT, R.P. Spoilage of shell eggs by pseudomonads. **Applied Microbiology**, v. 2, p. 158–64. 1954.

ELLIOTT, R.P.; STRAKA, R.P.; GARIBALDI, J.A. Polyphosphate inhibition of growth of pseudomonads from poultry meat. **Applied Microbiology**, v. 12, p. 517–22. 1964.

FRANCO, B.D.G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005.

GALYEAN, R.D.; COTTERILL, O.J.; CUNNINGHAM, F.E. Yolk inhibition of lysozyme activity in egg white. **Poultry Science**, v. 51, 1346–53. 1972.

GANTOIS, I. et al. A comparative study on the pathogenesis of egg contamination by different serotypes of Salmonella. **Avian Pathology**, v. 37, p. 399–406, 2008.

GARIBALDI, J.A. Factors in egg white which control growth of bacteria. **Food Research**, v. 25, p. 337–44, 1960.

GARIBALDI, J.A. Role of microbial iron transport compounds in the bacterial spoilage of eggs. **Applied Microbiology**, v. 20, p. 558–560, 1970.

HALD, T. World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: A data synthesis. **PLoS Med.**, e1001921, v. 12, 2015.

HAVELAAR, A.H. et al. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. **Epidemiology Infections**, v. 141, p. 293–302, 2013.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2006**. 2006. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br>> Acesso em: 10 jul 2017.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Guia cidades**. 2016. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br>> Acesso em: 10 jul 2017.

IBRAHIM, H. R. et al. Partially unfolded Lysozyme at neutral pH agglutinates and kills Gram-negative and Gram-positive bacteria through membrane damage mechanism. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.44, p. 3799-3806, 1996.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Eggs and egg products. In: **Microbiological ecology of food commodities**. 2^o ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 233 Spring Street, New York, New York 10013. 2005. 763 p.

IKEDA, T. et al. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 2793-2795, 2005.

KRETZER, A. et al. Utility of a new food value analysis application to evaluate trade-offs when making food selections. **Nutrition Today**, v. 49, p. 185–195, 2014.

KIRK, M.D. et al. Crystallization, data collection and phasing of two digestive lysozyme from *Musca domestica*. **Acta Crystallographica Journal**, F. 62, p. 750-752, 2006.

LIEBANA, E. et al. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella Enteritidis* infection in layer farms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p 1024–1029, 2003.

LOIR, Y. LE.; BARON, F.; GAUTIR, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetic Molecular Research**, v.2, n.1, p.63-76, 2003.

MAJOWICZ, S.E. et al. International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies. The global burden of nontyphoidal *Salmonella gastroenteritis*. **Clinical Infection Diseases**, v. 50, p. 882–889, 2010.

MEER, R.; MISNER, S. **What is a food-borne illness?** *Arizona Cooperative Extension*, University of Arizona, 5/1999. AZ1065. Disponível em: <<https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1065.pdf>> Acesso em: 15 jun. 2017.

MENDES, E.V. Organização Pan-Americana da Saúde. Conselho Nacional de Secretários da Saúde. **As Redes de Atenção à Saúde**. 2.ed. Brasília: DF, 2011. 549 p.:il.

MITCHELL, E. et al. Large outbreak of food poisoning caused by *Salmonella typhimurium* definitive type 49 in mayonnaise. **British Medical Journal**, v. 298, p. 99–101, 1989.

MOFFATT, C.R.; MUSTO, J. *Salmonella* and egg-related outbreaks. **Microbiology**, v. 34, p. 94–98, 2013.

MS – Ministério da Saúde. **Informações de saúde**. Disponível em:< <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29878153>> Acesso em: 15 mai. 2017.

MUSGROVE M.T. et al. Identification of Enterobacteriaceae from washed and unwashed commercial shell eggs. **Journal of Food Production**, v. 67, p. 2613-2616, 2004.

PEREIRA, M.A. et al. Estafilococos: Até onde sua importância em alimentos? **Higiene Alimentar**, v. 14, n.68, p. 32-39, 2000.

PEREIRA, M.L. et al. Staphylococcal food poisoning from creamfilled cake in a metropolitan area of South-Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 28, n. 6, p. 406-409, 1994.

POLLOCK, S. et al. Raising chickens in city backyards: The public health role. **Journal of Community Health**. V. 37, p. 734–742, 2012.

RÉHAULT-GODBERT, S. et al. **Understanding the natural antibacterial defences of egg white and their regulation**. In book: Achieving sustainable production of eggs Volume 1, 2017. p.161-193.

RUAS, G. W. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de lisozimas**. 2010. 80 p. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2010.

SANTANA, E.H.W. de. et al. Estafilococos em alimentos. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 545-554, jul./set., 2010.

SAUTER, E.A.; PETERSON, C.F. The effect of egg shell quality on penetration by *Pseudomonas fluorescens*. **Poultry Science**, v. 48, p. 1525–1528, 1969.

SINGER, R.S.; HOFACRE C. L. "Potential Impacts of Antibiotic Use in Poultry Production." BioOne. **American Association of Avian Pathologists**. 2006. DOI: 10.1637/7569-033106R.1

SU, Y.-C.; WONG, A.C.L. Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 2, p. 195-202, 1997.

US. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Economic Research Service. 2001. **A Safe Food Supply**. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/briefing/foodborneDisease/foodandpathogens.htm>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

VALENTA, C.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; SCWERTZ, M. Modification of lysozyme with cinnamaldehyde: a strategy for constructing novel preservatives for dermatics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 148, p. 131-137, 1997.

VALENTA, C.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; SCWERTZ, M. Lysozyme-caffeic acid conjugates: possible novel preservatives for dermal formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 174, p. 125-132, 1998.

WALES, A.; DAVIES, R. A critical review of *Salmonella* Typhimurium infection in laying hens. **Avian Pathology**, v. 40, p. 429–436, 2011.

WHILEY, H.; ROSS, K. *Salmonella* and Eggs: From production to plate. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, p. 2543-2556, 2015. doi:10.3390/ijerph120302543

WHILEY, H.; CLARKE, B.; ROSS, K. Knowledge and Attitudes towards Handling Eggs in the Home: An Unexplored Food Safety Issue? **International Journal**

Environmental Research and Public Health, v. 14, p. 48, 2017.
doi:10.3390/ijerph14010048

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Emerging and other communicable diseases, surveillance and control: Report of a WHO consultation of public health implications of consumption of raw milk and meat and their products.** Germany, 17-20, December, 1995.(WHO/EMC/ZOO/96.7). Disponível em: <www.who.int/hq/1996/WHO_emc_zoo96.7.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2017.

WONG, A.C.L.; BERGDOLL, M.S. **Staphylococcal food poisoning.** In: CLIVER, DO; RIEMANN, H.P. *Foodborne Diseases.* 2.ed. Amsterdam: Academic Press, 2002. p.231-248.

ANEXO A - CARACTERIZAÇÃO DO CAMPO DE ESTUDO

Para a realização desta pesquisa utilizou-se amostras de ovos de quatro cidades do estado do Rio Grande do Sul, sendo elas: Pejuçara, Rosário do Sul, Santa Maria e Teutônia.

No ranking da produção de ovos de galinha no estado do Rio Grande do Sul a cidade de Teutônia está na 9ª posição, seguida de Santa Maria em 72º lugar, Rosário do Sul ocupando a 174ª posição e Pejuçara em 352º lugar. A produção e venda de ovos nos quatro municípios descritos estão apresentados na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1. Produção e comercialização de ovos de galináceos nas cidades foco de estudo.

		Cidade			
		Pejuçara	Rosário do Sul	Santa Maria	Teutônia
Quantidade (mil dúzias)	Produção	47	146	541	6.133
	Venda	16	75	326	3.223
Valor (x1000) R\$	Produção	77,00	277,00	871,00	9.891,00
	Venda	27,00	147,00	565,00	3.152,00

Fonte: IBGE, 2006.

Santa Maria é a cidade mais comumente conhecida por estar localizada na Região Centro Ocidental do estado do Rio Grande do Sul (RS), a 292 Km de Porto Alegre, a capital, e possuir área geográfica total de 1.781,757 km² e população de 277.309 habitantes. Rosário do Sul está localizada à 390 Km de Porto Alegre, na região Sudoeste Rio-grandense, e possui área territorial de 4.369,657 km², sendo sua população estimada de 40.750 pessoas. O município de Pejuçara, localizado na região Noroeste do estado do RS à 381 km da capital, apresenta população estimada de 4.049 habitantes no ano de 2016 e sua área territorial é de 414,239 km². Teutônia é uma cidade localizada na região Centro Oriental Rio-grandense à 100 km da capital Porto Alegre, sua população estimada é de 30.518 e área territorial de 179,170 km² (IBGE, 2016).

APÊNDICE A - PROPOSTAS DE INTERVENÇÃO

Em perspectiva aos resultados encontrados, aprecia-se a necessidade de informar as entidades responsáveis com relação ao risco biológico presente em ovos crus dos locais analisados. A disseminação de informação, em especial os resultados deste trabalho, tem grande importância para a conscientização da população e dos órgãos públicos de saúde para o fator de risco zoonótico presente diariamente na fabricação de alimentos, tanto em ambiente domiciliar, quanto em locais de comércio de alimentos.

Após efetuada a proposta inicial, lança-se mão então da segunda proposta. De participar de forma ativa no auxílio aos setores públicos interessados em desenvolver atividades de extensão, na qual o objetivo primordial são a disseminação de informações referentes a preparação de alimentos, riscos zoonóticos presentes em alimentos crus produzidos com ovos crus e metodologias para prevenção dos agravos de infecções alimentares.