

## AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DA CASCA E GEMA DE OVOS IN NATURA

Cristian Antunes de Almeida \*

Darlei Friebel \*

Rafael Brizolla da Rosa \*

Jane Mary Lafayette N. Gelinski \*\*

### Resumo

O Brasil hoje é o 3º maior produtor de ovos da América. A produção brasileira de ovos totalizou no ano passado 39,5 bilhões de unidades. Assim, umas das maiores preocupações relacionados a produtos de origem animal comercializados in natura é a ocorrência de contaminação alimentar causada por *Salmonella* sp. Nesta pesquisa avaliou-se as condições higiênico-sanitárias de ovos de galinha in natura. A pesquisa incluiu ovos que estavam disponíveis para o consumidor em supermercado em Videira, SC, e de uma granja produtora em Monte Carlo, SC. Realizou-se a análise da superfície da casca de ovos para verificar as condições higiênico-sanitárias, com base na presença de enterobactérias totais (UFC/g) e da análise da gema do ovo para a pesquisa de *Salmonella* sp. Todas as análises foram realizadas em laboratório de microbiologia da Unoesc. Foi possível observar que os ovos analisados apresentavam condições satisfatórias em relação à presença de enterobactérias na superfície da casca. Com relação às análises das gemas, uma das amostras da granja produtora acusou *Salmonella* sp. em 25g, enquanto todas nas demais amostras, o patógeno esteve ausente. Os dados obtidos reforçam que o consumo de ovos crus não é recomendado para humanos.

Palavras-chave: Enterobactérias. Ovo. *Salmonella*.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil hoje é o 3º maior produtor de ovos da América (AGROLINK, 2016). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016) a produção brasileira de ovos totalizou no ano passado 39,5 bilhões de unidades. Contudo, um dos principais fatores de preocupação quando o assunto é saúde pública, é a ocorrência de contaminação alimentar causada por *Salmonella* sp., normalmente frequente em produtos in natura e de origem animal.

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae. São bacilos gram negativos, a maioria móveis por flagelos peritríqueos, e formam ácido e gás a partir da glicose (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A contaminação de ovos por *Salmonella* ocorre de duas maneiras: a contaminação vertical, internamente, durante sua formação, a partir do trato reprodutor infectado da ave, ou pela contaminação horizontal onde há a introdução da bactéria através da casca do ovo. A contaminação da gema incide especialmente pela agregação do microrganismo à membrana vitelina do ovo. Sua quebra, permite a migração do patógeno para a gema (BARANCELLI; MARTIN; PORTO, 2012).

Tratando-se de Coliformes totais, Cardoso et al. (2001) diz que o grupo dos coliformes totais abrange todas as bactérias na forma de bacilos gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, dentro de 24 a 48 horas em uma temperatura de 35°C. A presença desses microrganismos sugere processamento impróprio da matéria-prima ou possível recontaminação por material fecal (MAROSO, 2008).

A Salmonelose em humanos pode vir a ser muito grave (DUARTE; RAUECKER; REZENDE, 2017). Barancelli, Martin e Porto (2012) citam que *Salmonella* sp. é o principal agente causador de doenças de origem alimentar em várias partes do mundo, inclusive no Brasil.

A população tende a acreditar que ovos vendidos em feiras, e diretamente de granjas são mais saudáveis do que os vendidos em redes de supermercados, estimulando o descaso com os cuidados alusivos à sanidade da produção e armazenamento, esquecendo de possíveis contaminações e de garantia de qualidade total e qualidade higiênico-sanitária (PINTO, 2008).

Nesta pesquisa avaliou-se a ocorrência do grupo coliformes (totais e termotolerantes a 45°C) e pesquisa de *Salmonella* sp. em gema de ovos crus (do comércio ou colonial), assim como contagem de enterobactérias em cascas de ovos, com o intuito de verificar as condições higiênico-sanitárias de produtos in natura disponível ao consumidor.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Microbiologia e de biologia Molecular, da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC).

As amostras analisadas constituíram-se de ovos de galinha, comprados num mercado local (Videira, SC). Também foram obtidas amostras diretamente de uma granja produtora (Monte Carlo, SC), com destino ao consumo humano. Neste último, não há qualquer controle ou conhecimento de algum órgão de saúde animal responsável. As amostras foram coletadas em fevereiro de 2017.

Foram analisados um total de 16 ovos, sendo 8 ovos obtidos do mercado e 8 ovos obtidos da granja produtora. A unidade analítica constituiu-se pela escolha aleatória de dois ovos de cada uma das amostras (mercado e granja). Foram utilizados 2 ovos para análise microbiológica da superfície casca e 2 para análise da gema. As análises seguiram de acordo com as instruções analíticas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

As amostras que seriam utilizadas para análise da casca não foram higienizadas, pois a análise foi realizada para a verificação da presença de enterobactérias na forma como estavam disponíveis para o consumidor. Nestas amostras 2 ovos foram quebrados e separados gema, clara e casca. A casca dos 2 ovos de cada amostra foram colocadas em um saco estéril (Nasco ®) com água peptonada 0,1%, na proporção de 1:10 e homogeneizada por agitação manual por 1 minuto. As claras e gemas dessas amostras foram descartadas.

Do líquido resultante da homogeneização das cascas com a água peptonada 0,1%, foram realizadas diluições decimais seriadas. Alíquotas de cada diluição foram inoculadas em Placas de Petri contendo Ágar Mac-Conkey para contagem total de enterobactérias usando a técnica spread plate, com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas invertidas em estufa a 35°C por até 48h.

Após as horas previstas para o isolamento, há uma etapa de identificação, isto quando ocorrer presença de colônias na superfície dos meios de cultivo.

Nas amostras que seriam utilizadas para análise da gema, foi realizado uma lavagem prévia em água corrente, em seguida deixados em imersão em álcool 70% por alguns minutos. Após esse tempo 2 ovos foram quebrados e separados gema, clara e casca. A gema dos 2 ovos de cada amostra foram colocadas em um saco estéril (Nasco ®) com água peptonada tamponada 1%, na proporção de 1:10 e homogeneizada por agitação manual por 1 minuto. As claras e cascas dessas amostras foram descartadas.

Para a pesquisa de Salmonella, o líquido resultante da homogeneização das gemas com a água peptonada tamponada 1% foi colocado em estufa a 35°C por até 24 h, constituindo assim a amostra mãe.

Após o tempo previsto, foi realizada uma etapa de enriquecimento seletivo, utilizando um tubo de ensaio com 10 ml de Caldo Rapport Vassiliads, no qual foi adicionado 0,1ml da amostra mãe, o tubo foi colocado em estufa a 45°C por até 24h. Foi utilizado também um tubo com 10ml de Caldo Tetracionato, onde foi adicionado 200µL de Solução Iodada e 100µL de

Caldo Verde Brilhante, juntamente com 1ml da amostra mãe. Após isso o tubo foi colocado em estufa a 35°C por até 24h.

Passado o tempo necessário em estufa, alíquotas de cada tubo foram inoculadas em placas de Petry divididas, contendo Ágar de desoxicolato lisina xilose (XLD) e Ágar Hektoen enteric (HE), utilizando a técnica de estria por esgotamento com a auxílio de uma alça de Kolle. As placas foram incubadas em estufa a 35°C por até 48 h.

Após as horas previstas para o isolamento, há uma etapa de identificação, isto quando ocorrer presença de colônias na superfície dos meios de cultivo.

Para a avaliação do número mais provável de coliformes (totais e termotolerantes a 45°C). Foram realizadas diluições decimais seriadas do a partir da diluição inicial (1:10) em água peptonada tamponada 1%. Alíquotas das diluições 10E-1, 10E-2 e 10E-3 foram inoculadas em tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Após isso, os tubos foram incubados a 35°C por até 24 h.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 podem ser observados os resultados para análise da contagem total de enterobactérias e pesquisa de Salmonella, respectivamente em amostras de ovos coloniais (direto da granja) quanto de ovos obtidos no comércio e disponível ao consumidor. A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos para essas análises citadas.

Entre as amostras de casca de ovos observou-se que as obtidas de mercado (B) apresentaram contagem média de 10E4 UFC.g-1 enquanto nas amostras A do mesmo grupo não foram detectadas enterobactérias (<10). Considerando que ovos disponibilizados em mercados são dispostos em caixas e previamente limpos (de sujidades grosseiras), então os resultados evidenciam que a relativamente baixa contaminação detectada se deu por conta de uma possível ação de limpeza, ainda que superficial.

Siqueira e colaboradores (2008) alegam que diversas bactérias aeróbias facultativas da família Enterobacteriaceae estão presentes no intestino das aves e podem contaminar a casca dos ovos ao passarem pela cloaca. Jones e Musgrove (2008) afirmam que este microrganismo pode penetrar o ovo através da casca, o qual é facilmente contaminado pelas fezes.

Comparando os dados aqui obtidos com os de Siqueira e outros (2008), observa-se que estes autores registraram uma baixa contaminação por enterobactérias, ou seja, apenas 10,29% apresentaram-se positivas, sendo assim apenas 7 das 68 amostras de ovos estavam com presença de enterobactérias.

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada para amostras de gemas dos dois grupos de ovos (colonial e mercado). A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos. A presença de *Salmonella* ocorreu em apenas uma das amostras (colonial A). Em pesquisa realizada por Flôres e outros (2003) houve a detecção de 1,66 % de amostras dos ovos coloniais contaminados, ou seja, apenas uma amostra em sessenta apresentou *Salmonella*, e foi identificada como *Salmonella enterica Gallinarum*, confirmada por bioquímica e sorologia convencional (antígenos somáticos e flagelares).

Em comparação à pesquisa de Flôres e outros (2003) pode-se observar que os resultados foram semelhantes, ou seja, a detecção de *Salmonella* foi baixa. De acordo com Humphrey e Path (1997 apud FLÔRES et al., 2003) a frequência de produção de ovos infectados em poedeiras comerciais é baixa e, mesmo quando infectados, a ocorrência de *Salmonella* sp. também é baixa.

A refrigeração é um ponto importante no controle do patógeno. Neste sentido, Barancelli, Martin e Porto (2012) avaliam que a preservação de ovos sob a refrigeração protege contra a *Salmonella* sp. contaminante e evita que se prolifere e atinja muitas populações. Sendo assim, ovos devem ser refrigerados até seu uso. Os autores ainda afirmam que temperaturas abaixo de 8°C prorrogam o crescimento de bactérias e mantêm a qualidade interna do ovo.

Em relação às análises de coliformes totais para gema de ovos crus (Número Mais Provável (NMP)), para as amostras indicativas, o resultado foi de <math><3,0\text{ NMP}</math>, com um intervalo de confiança de 95%. Esses dados estão de acordo com o estabelecido para coliformes pela RDC n.12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

### 3 CONCLUSÃO

A interpretação dos resultados obtidos da contagem total de enterobactérias em casca de ovos crus indicaram condições sanitárias satisfatórias. Para o grupo Coliformes em gemas de ovos crus não houve presença significativa em quaisquer das amostras analisadas, mas, a presença de *Salmonella* sp. foi evidenciada em uma das amostras de ovos coloniais. Reforça-se, portanto, que o consumo de ovos crus (gemas) não é recomendado para consumo humano.

Conclui-se que todas as amostras (gemas) indicativas de qualidade de produto (ovos) obtidas no comércio estavam de acordo com os padrões legais vigentes.

### REFERÊNCIAS

AGROLINK. As 10 maiores empresas do mundo: produção de ovo. 2016. Disponível em: <[http://www.agrolink.com.br/noticias/as-10-maiores-empresas-do-mundo--producao-de-ovo\\_366541.html](http://www.agrolink.com.br/noticias/as-10-maiores-empresas-do-mundo--producao-de-ovo_366541.html)>. Acesso em: 23 mar. 2017.

ABPA. Produção de ovos do Brasil cresce 6,1% e chega a 39,5 bilhões de unidades. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/noticia/producao-de-ovos-do-brasil-cresce-61-e-chega-a-395-bilhoes-de-unidades-1550>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

BARANCELLI, Giovana Verginia; MARTIN, José Guilherme Prado; PORTO, Ernani. *Salmonella* em ovos: relação entre produção e consumo seguro. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 19, n. 2, p. 73-82, jan. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.20396/san.v19i2.8634612>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

BRASIL. ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União Poder Executivo, de 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. 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. Diário Oficial da União Poder Executivo, de 26 de agosto de 2003.

CARDOSO, A. et al. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descavado. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 19-22, jan./jun. 2001. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/arqib/article/view/25845>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

DUARTE, Sabrina Castilho; RAUECKER, Ursula Nunes; REZENDE, Cíntia Silva Minafra E. Mecanismos de invasão do ovo por Salmonella sp. Avicultura Industrial, [S.L], n. 2, p. 16-19, fev./mar. 2017.

FLÔRES, M. L. et al. Análise da contaminação por Salmonella em ovos do tipo colonial através da reação em cadeia da polimerase. Ciência Rural, Santa Maria v.33, n.3, p.553-557, 2003.

FRANCO, Bernadette D. Gombossy De Melo; LANDGRAF, Mariza. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, p. 50-60, 2005.

MAROSO, Michele Tainá Derks. Efeito da redução de temperatura de carcaças de frango na multiplicação de microrganismos. Dissertação de Mestrado, UFRGS, Porto Alegre, p. 22-28, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14066/000659024.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 23 mar. 2017.

JONES D.R.; MUSGROVE M.T. Identification of Enterobacteriaceae on Vacuum Loaders in Shell Egg Processing. Poultry Science, v.87 p.1678-1681, 2008.

PINTO, Andrea Troller. Análise de perigos e pontos críticos de controle em ovos in natura. Higiene Alimentar, Porto Alegre, v. 22, n. 162, p. 23-26, jun. 2008.

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, v.103, p.78-82, 2008.



Sobre o(s) autor(es)

\* Acadêmicos do Curso de Bacharelado em Biotecnologia Industrial - UNOESC

\*\* Professora orientadora - Componente curricular Microbiologia II - Curso Biotecnologia Industrial - UNOESC

E\_mails:

cristian.antunesdealmeida@gmail.com;

dadifriebel@hotmail.com;

rafa\_brizola@hotmail.com;

jane.gelinski@unoesc.edu.br.

Tabela 1 - Contagem de enterobactérias (UFC.g<sup>-1</sup>) a partir das cascas de ovos de galinha do comércio e coloniais

<b>Origem das amostras de casca de ovos</b>	<b>Amostra</b>	<b>Contagem (UFC. g<sup>-1</sup>)</b>
Mercado	A	< 10 Est.
Mercado	B	1,0 x10 <sup>4</sup>
Colonial	A	1,0 x10 <sup>4</sup>
Colonial	B	4,2 x10 <sup>5</sup>

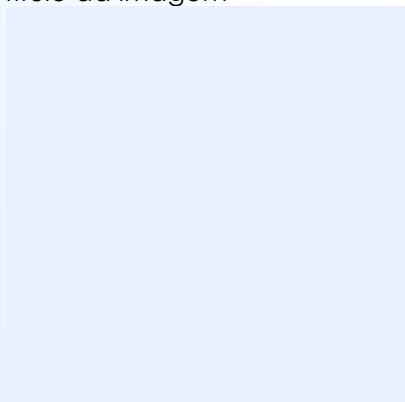
Fonte: Os autores (2017).

Tabela 2 - Pesquisa de Salmonella em gema do ovo cru

<b>Origem das amostras de gemas de ovos crus</b>	<b>Amostra</b>	<b>Pesquisa de Salmonella sp.</b>
Mercado	A	Ausência em 25 g
Mercado	B	Ausência em 25 g
Colonial	A	Presença em 25g
Colonial	B	Ausência em 25 g

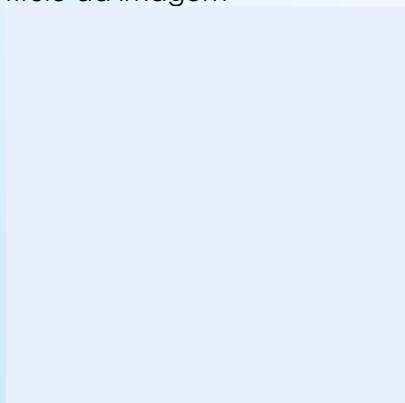
Fonte: Os autores (2017).

Título da imagem



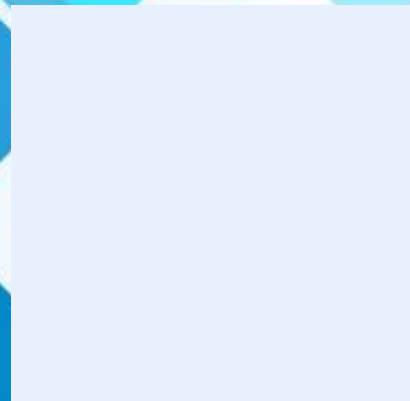
Fonte: Fonte da imagem

Título da imagem



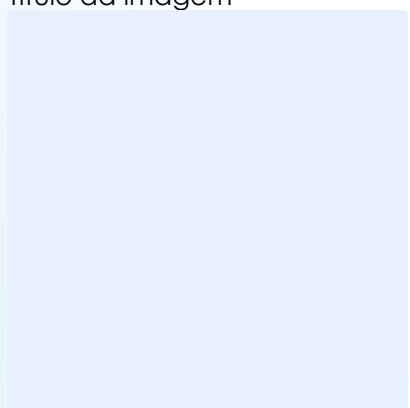
Fonte: Fonte da imagem

Título da imagem



Fonte: Fonte da imagem

Título da imagem



Fonte: Fonte da imagem