

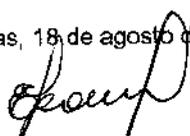
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DA SANIFICAÇÃO DA CASCA DE OVOS
COMERCIAIS POR AGENTES QUÍMICOS

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por JAIR VICENTE DE OLIVEIRA e aprovada pela Comissão Julgadora em 18 de agosto de 1997.

Campinas, 18 de agosto de 1997.



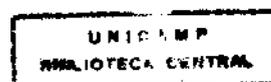
Prof. Dr. EDIR N. DA SILVA
Presidente da Banca

JAIR VICENTE DE OLIVEIRA
Mestre em Ciência de Alimentos

ORIENTADOR: PROF. DR. EDIR NEPOMUCENO DA SILVA

Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos Departamento de Tecnologia de Alimentos para obtenção do Grau de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

CAMPINAS 1997



UNIDADE	BC		
N.º CHAMADA:	1000000000		
V.	Ex		
TELEFONO	00/32.365		
PROC.	281197		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	03/12/97		
N.º CPD			

CM-00103706-2

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

O14a

Oliveira, Jair Vicente de

Avaliação da sanificação da casca de ovos comerciais por agentes químicos / Jair Vicente de Oliveira. -- Campinas, SP: [s.n.], 1997.

Orientador: Edir Nepomuceno da Silva
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

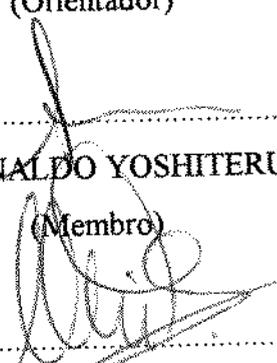
1.Saneamento. 2.Ovos. 3.Casca de ovo. 4.Limpeza.
I.Silva, Edir Nepomuceno da. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III.Título.

BANCA EXAMINADORA



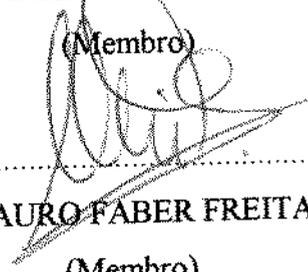
PROF. DR. EDIR NEPOMUCENO DA SILVA

(Orientador)



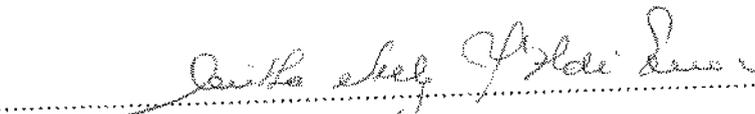
PROF. DR. ARNALDO YOSHITERU KUAYE

(Membro)



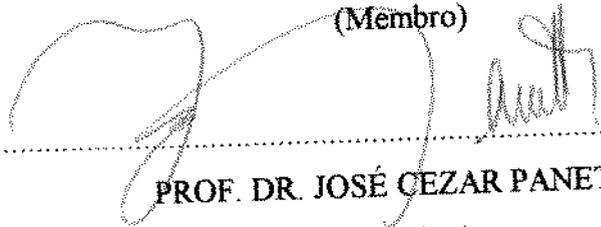
PROF. DR. MAURO FABER FREITAS LEITÃO

(Membro)



DRA. MIRTHA NELLY UBOLDI EIROA

(Membro)



PROF. DR. JOSÉ CEZAR PANETTA

(Membro)

PROF. DR. ANTONIO DE MELO SERRANO

(Suplente)

PROF. DR. JOSÉ LUIZ PEREIRA

(Suplente)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência e pelo
meu trabalho.

Ao Professor Edir Nepomuceno da Silva, pela amizade, orientação e conhecimentos transmitidos

A Fapesp que deu suporte financeiro com bolsa auxílio pesquisa para execução do experimento.

A Granja Forchetti de Monte Mor pelo fornecimento dos ovos

A Granja Irmãos Shishido pela cedência da máquina higienizadora

Ao Laboratório CBM e à Hoechst do Brasil pelo fornecimento dos sanificante para a execução deste trabalho

As colegas do Laboratório Raquel, Jacinta Dirce Lucia e Helena pela colaboração

Àqueles que diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho,

Muito obrigado

Aos meus pais (in memoriam Francisca),

à minha esposa Elizabeth e aos filhos
Eduardo, Marcelo e Nayara pelo
estímulo e compreensão

ÍNDICE	Página
Resumo.....	001
Summary.....	003
1.0-Introdução.....	005
2.0-Hipóteses.....	007
3.0-Objetivos.....	008
3.1-Gerais.....	008
3.2-Específico.....	009
4.0-Revisão bibliográfica.....	010
4.1-Contaminação de ovos por microrganismos.	010
4.2- <i>Salmonella</i> em ovos.....	012
4.2.1-Geral.....	012
4.2.2 - <i>Salmonella enteritidis</i> em ovos	014
4.2.3 - <i>Salmonella enteritidis</i> e saúde pública.....	016
4.3 - Sanificação de ovos.....	020
4.3.1 - Compostos clorados.....	022
4.3.2 - Composto quaternário de amônia.....	028
4.3.3 - Ácidos orgânicos	031
4.4 - Injúria bacteriana.....	033
5.0 - Materiais e métodos.....	036
5.1 - Materiais.....	036
5.1.1 -Ovos amostrados.....	036
5.1.2 - Sanificantes utilizados.....	036
5.1.2.1.-Hipocloritode sódio.....	036
5.1.2.2- Composto quaternário de amônio.....	037
5.1.2.3- Ácido acético.....	037
5.2 - Métodos.....	038

5.2.1 - Preparo das soluções de sanificantes e sua dosagem.....	038
5.2.1.1 - Hipoclorito de sódio.....	038
5.2.1.2 - Composto quaternário de amônio.....	039
5.2.1.3 - Ácido acético.....	040
5.2.1.4 - Lavagem com água destilada.....	040
5.2.2. - Avaliação da carga microbiana dos ovos sem lavagem	040
5.2.3 - Avaliação da eficácia dos sanificantes na inativação dos.....	
microrganismos presentes na casca do ovo.....	041
5.2.3.1- Sanificação dos ovos em laboratório..	041
5.2.3.2 - Sanificação dos ovos com ajuda de máquina	045
5.2.4 - - Análise microbiológica.....	046
5.2.4.1 - Contagem total de bactérias mesófilas e psicrotrófilas.....	047
5.2.4.2 - Pesquisa de coliformes totais e fecais.....	047
5.2.4.3 - Contagem de bolores e leveduras.....	048
5.2.5. - Efeito dos sanificantes na inativação de <i>Salmonella enteritidis</i>	048
5.2.5.1 - Contaminação artificial da casca dos ovos com <i>S. enteritidis</i>	048
5.2.5.2 - Avaliação da população de <i>Salmonella enteritidis</i>	
resistente ao ácido nalidíxico, encontradas na casca do ovo.....	050
5.2.5.3 - Contagem de <i>S. enteritidis</i> , após tratamento dos ovos com.....	
sanificante.....	051
5.2.5.4 - Determinação da presença ou ausência de <i>S. enteritidis</i> em.....	
experimentalmente contaminados e a seguir sanificados.....	051

6.0 - Resultados e discussão.....	053
-Contaminação da casca dos ovos após postura.....	056
Contaminação da casca dos ovos sanificados.....	058
-Hipoclorito de sódio.....	062
-Composto de amônio quaternário.....	078
-Acido acético.....	093
-Água destilada.....	101
-Comparação do efeito dos sanificantes utilizados.....	107
-Contaminação da casca dos ovos após lavagem em máquina.....	111
-Controle da população microbiana do Afluente de Efluente.....	113
6.3 - Redução da população <i>Salmonella enteritidis</i> pelo uso dos.....	
sanificantes.....	114
7.0 - Conclusões.....	116
8.0 - Sugestões.....	118
9.0 - Referências bibliográficas.....	119

RESUMO

Considerando os contaminantes da casca do ovo e o emprego deste em alta escala na indústria de alimentos, o ovo passa a ser uma matéria prima que oferece riscos a saúde do consumidor, e riscos econômicos ao produtor e ao setor industrial. Com o objetivo de aumentar a eficiência na limpeza e sanificação dos ovos, utilizamos, isoladamente, hipoclorito de sódio nas concentrações de 5,8, 50 e 100 mg/L de cloro ativo, um composto de amônio quaternário (cloreto de alquil dimetil benzil amônio) concentrado a 50% nas diluições 1/500 e 1/1000 e um composto de amônio quaternário comercial contendo 20% do ingrediente ativo em suspensão alcalina, em concentrações de acordo com as recomendações do fabricante. Também foi utilizado um ácido acético nas concentrações de 2,0% e 3,0%. Todos os sanificantes foram aplicados por 15 e 30 segundos, na temperatura de 25°C e 40°C, e comparados com o emprego da água sem sanificantes. Realizou-se a contagem global de bactérias mesófilas e psicrótróficas aeróbias, bolores, leveduras, coliformes totais e fecais antes da aplicação dos sanificantes (para acompanhamento dos contaminantes oriundos da granja) e após a sanificação compreendendo o período de estocagem de sete e quatorze dias (para avaliação da sanificação). Em outro experimento usamos uma cepa de *Salmonella enteritidis* ácido nalidixico resistente a 100µg/ml, aplicando-se o mesmo procedimento com a finalidade de melhor avaliar os sanificantes. Na prática da aplicação em laboratório, encontramos que a microbiota da casca do ovo foi reduzida de 2 a 3 ciclos logarítmicos quando usado os compostos de amônio quaternário (CAQ). O CAQ na concentração de 50% e diluído 1/500, 1/1000 quando empregado sobre a casca do ovo contaminado previamente com uma população de 10⁴ UFC/mL de *S. enteritidis* ácido nalidixico resistente, propiciou uma redução total da bactéria, o mesmo ocorrendo para o hipoclorito na concentração de 100 mg/L. Para os demais produtos

não houve redução da *Salmonella enteritidis*. Este procedimento demonstrou que a sanificação ajuda na conservação dos ovos e aumenta a sua vida de prateleira. Por isso é importante a monitoração da água empregada na lavagem da casca dos ovos, ressaltando dessa forma a importância do uso de sanificantes na prática rotineira das granjas. Uma contribuição para a legislação brasileira quanto a lavagem e emprego de sanificantes na higienização da casca dos ovos comerciais pode ser alcançada com a elaboração de um roteiro prático e especificando as condições de uso dos sanificantes.

SUMMARY

Considering the high level of contamination on the egg shell and its high level of use on an industrial scale, eggs have become an important health risk to the consumer and a source of economic loss to the producer and the industrial sector. The objective of this work was to increase the efficiency of cleaning and sanitation using chlorinated compounds (sodium hypochlorite) in concentrations of 5.8, 50 and 100 mg/L active chlorine, a 50% quaternary ammonium compound (alkyldimethylbenzyl ammonium chloride) in dilutions of 1/500 and 1/1000, a commercial quaternary ammonium compound containing 20% of the active ingredient in alkaline solution at concentrations recommended by the manufactures and an organic acid (acetic acid) in concentrations of 2% and 3%. All the sanitizing agents were tested using 2 variables: time (15 and 30 seconds) and temperature (25°C and 40°C), and were compared with the use of water with no sanitizing agent. In this experiment total counts of mesophilic and psychophilic aerobic bacteria, molds, yeasts, coliforms and fecal coliforms, were carried out both before applications (to follow contamination from the hatchery laying house) and after 7 and 14 days of storage in order to evaluate the sanitation process. In another experiment the same treatment was applied to a nalidixic acid resistant (100 µg/ml) strain of *Salmonella enteritidis* in order to better analyse the sanitizing agents. In the laboratory a decrease in egg shell microbial flora of 2-3 logarithmic cycles was observed when quaternary ammonium compounds (QAC) were used. The use of 50% QAC diluted by factors of 1/500 and 1/1000 completely eliminated a 10⁴ CFU/mL population of nalidixic acid resistant *Salmonella enteritides*, this also occurring with the use of 100 mg/L sodium hypochlorite but not with the other sanitizing agents. This method showed the influence of sanitation in the shelf life of eggs and the importance of analysing the waters used to wash the eggs, emphasizing

the routine use of sanitizing agents in laying houses. A contribution to the brazilian legislation related to the washing and use of sanitizing agents in the cleaning of commercial eggs could be made by producing a routine for this process and the necessary concentration of the sanitizing agents.

1.0 - INTRODUÇÃO

O ovo de galinha é largamente utilizado como alimento na forma de consumo direto ou na composição de tantos outros como produtos de confeitaria, biscoitos, maionese, alimentos infantis, sorvetes, molhos para saladas (FORSYTHE, 1970). Alguns destes alimentos não sofrem tratamento térmico antes do consumo ou o tratamento é subletal para a maioria dos microrganismos. Desta maneira, alimentos contendo ovos ou seus produtos podem ser veiculadores de microrganismos ao homem, especialmente *Salmonella sp.*

O ovo não é um alimento estéril e a sua casca não constitui uma barreira absoluta à entrada de microrganismos. Na verdade, antes da postura alguns ovos já podem estar contaminados com microrganismos do oviduto da galinha, ou pela passagem do ovo através da cloaca, que é um orifício comum por onde, também, passam as fezes. Logo após a postura os ovos entram em contato com ambientes que podem estar altamente contaminados, a começar pelo ninho e outras sujidades do ambiente. A penetração de microrganismos através da casca depende de vários fatores, entre eles: a qualidade da mesma, medida pela sua densidade específica, sua integridade, tempo e condições de armazenagem.

A contaminação interna dos ovos pode contribuir para a redução da vida de prateleira dos mesmos ou levar riscos à saúde do consumidor. A contaminação microbiana das cascas dos ovos de consumo e a sua posterior penetração por microrganismos pode ser minimizada através de vários procedimentos: a) coleta dos ovos nos galpões várias vezes ao dia (reduzindo dessa forma o tempo de exposição ambiental); b) sanificação da casca após coleta; c) armazenamento sob refrigeração.

Estes procedimentos não são totalmente praticados nas condições brasileiras em postura comercial, principalmente, no que diz respeito a sanificação. Pior ainda, algumas vezes as práticas de manejo dos ovos de consumo por falta de orientação, aumentam mais o risco de contaminação pois os ovos são simplesmente “lavados” em um tanque com água fria contaminada sem reciclagem.

Quando os ovos são lavados em tanque sem renovação da água ou do sanificante, durante o transcorrer do processo, a água fica carregada de matéria orgânica e impurezas. A ausência de controle e as condições impróprias de temperatura e pH da água podem acarretar aumento da carga bacteriana nos ovos após a etapa de lavagem.

A legislação brasileira não prevê nem exige a sanificação dos ovos e sua armazenagem sob refrigeração.

Inúmeros surtos de infecção alimentar tem sido atribuídos a *Salmonella enteritidis* veiculada por ovos e seus produtos. Estes surtos têm ocorrido, praticamente, em todo o mundo (BEAN & GRIFFIN, 1990). Acredita-se que a contaminação, via casca, seja a principal fonte de infecção (ELLIOT & HOBBS, 1980). No Brasil de 1994 a 1995 já foram registrados 3.430 casos de infecção alimentar causados por *Salmonellas spp.* publicado na imprensa através do jornal Folha de S. Paulo de 28/11/95, BIANCARELLI (1995). Existem também dados científicos relatados nos trabalhos publicados por IRINO *et alii* (1996); TAUNAY *et alli* (1996).

Sanificantes como o hipoclorito de sódio e os quaternários de amônio são utilizados na indústria de alimentos para destruir microrganismos existentes em superfícies que entram em contato com os alimentos. Alguns agentes de sanificação como ácidos orgânicos, podem eliminar microrganismos em superfície de alimentos sólidos.

2.0 - HIPÓTESES

2.1 - Há um aumento crescente de surtos de infecção alimentar por cepas fago tipo 4 (PT4) de *S. enteritidis* no Brasil. Segundo o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo a *S. enteritidis* teve sua freqüência no Estado de S. Paulo aumentada de 0,2% a 2,0% no período de 1975-1992, este sorotipo teve aumento significativo atingindo 65,2% em 1993, 99,7% em 1994 e 98,4% em 1995 (IRINO *et alii* 1996).

2.2 - Alimento contendo ovos têm sido os mais implicados nos surtos de infecção por *S. enteritidis* em todo mundo, inclusive no Brasil.

2.3 - Os ovos se contaminam, geralmente pelo depósito das salmonelas na superfície dos mesmos através do contato com fezes, outros ovos contaminados e ambiente.

2.4 - A penetração das salmonelas via casca dos ovos é facilitada pela qualidade e integridade da mesma, ausência de sanificação após postura, tempo e temperatura de armazenagem.

2.5 - O transporte e comercialização de ovos no Brasil são feitos em temperatura ambiente, muitas vezes em feiras livres e mercados, com temperaturas elevadas e sem identificação da data de produção no produto.

2.6 - A legislação brasileira não exige a refrigeração dos ovos da produção à comercialização. A adoção da rede de frio poderá acarretar custos que a avicultura de postura comercial não suportará ou não conseguirá repassar ao consumidor.

2.7 - A adoção da higienização da casca dos ovos comerciais com sanificantes pode representar uma melhora sanitária na qualidade dos mesmos contribuindo na redução da sua contaminação microbiana interna, redução dos riscos de infecção alimentar e aumento da vida de prateleira.

3.0 - OBJETIVOS

3.1 - GERAIS

Avaliar o efeito da limpeza e sanificação da casca dos ovos com vários sanificantes, sobre a qualidade dos mesmos, medida pela vida de prateleira e redução da contaminação.

3.2 - ESPECÍFICOS

3.2.1 - Avaliar o efeito da limpeza de ovos com água e o uso de sanificantes como o hipoclorito de sódio, composto de amônio quaternário e ácido acético na redução da carga microbiana da casca de ovos para consumo.

3.2.2 - Avaliar a capacidade de diferentes sanificantes na redução da contaminação artificial da casca de ovos de consumo por *S. enteritidis*.

3.2.3 - Quantificar e determinar a carga microbiana da casca de ovos tratados com diferentes sanificantes e mantidos em diferentes temperaturas por períodos diferentes de tempo.

4.0 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para efeito de redação a *Salmonella enteritidis* sorovar Enteritidis, durante o nosso relato, será denominada apenas de *S. enteritidis* SE (MINOR, 1984)

O ovo, por ser rico em nutrientes, tem sido utilizado como matéria prima nos mais diversificados processamentos alimentícios, tais como em padarias, restaurantes, manufaturas de biscoito, doces, alimentos infantis, merengues, sobremesas, gelados comestíveis, bebidas, produtos de leite, suprimentos, misturas secas, macarrão, maionese, molho para saladas, sopas, ligantes para carnes, alimentos para animais, ainda com emprego em cosméticos como xampus e também como adesivo e em litografia (FORSYTHE, 1970).

4.1 - CONTAMINAÇÃO DE OVOS POR MICRORGANISMOS

Um ovo recém botado, raramente contém microrganismos, mas existem espécies que podem ocasionalmente penetrar no ovo ainda em formação, no ovário ou oviduto. Apesar disso, o mais comum é a contaminação no momento da postura. Assim que os ovos são postos, eles começam a se contaminar através do material fecal do trato intestinal da ave, sujidade do ninho, caixa de postura, poeira, pelos alimentos, excretas e pela manipulação (ELLIOT & HOBBS, 1980).

Pode ser encontrada na casca do ovo uma variedade de microrganismos saprófitos e patogênicos. Dentre os bolores mais encontrados contaminando o ovo destacam-se os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Mucor*, sendo a *Rhodotorula* o principal gênero das leveduras (HAINES, 1939).

As bactérias com presença ocasional na casca do ovo são as do gênero *Streptococcus*, *Sarcina*, *Aeromonas*, *Proteus*, *Serratia*. Já com presença freqüente, porém em menor número aparecem os gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Escherichia*, destaca-se presença em grande número do gênero *Micrococcus* e raramente presença de bolores e leveduras. (BOARD & TRANTER, 1986), sendo que a quantidade da contaminação pode variar dependendo da origem dos ovos (HARRY, 1963).

A infecção dos ovos se dá mais pela contaminação com fezes durante a postura com penetração via casca, que pela via transovariana (BARROW & LOVELL 1991; GAST & BEARD 1993; GAST & BEARD, 1990a, 1990b; GORHAM *et alii* 1991; HUMPHREY 1991; MAWER & SPAIN, 1989; SHIVAPRASAD *et alii* 1990; TIMONEY *et alii* 1989). A transmissão da salmonela via transovariana se dá durante a fase aguda da infecção, de uma a duas semanas (GAST & BEARD, 1990a). O estresse provocado pela muda forçada de penas em poedeiras aumenta a excreção e colonização intestinal de *S. enteritidis*, mas não a infecção sistêmica (HOLT & PORTER 1992).

Na transmissão vertical, o microrganismo pode infectar o interior do ovo através da contaminação da membrana vitelina durante a ovulação (OPTIZ, 1992). Segundo BAKER, (1989) a *Salmonella enteritidis* (SE), move-se no oviduto e entra no albúmem antes da membrana da casca ser formada.

A legislação brasileira através da portaria nº 001/87 do Ministério da Saúde estabelece a ausência de *Salmonella* em 25g. Já a resolução nº 005/91 CIPOA do Ministério de Agricultura estabelece padrão microbiológico para o ovo integral líquido com ausência para *Salmonella* em 25g, *Staphylococcus aureus* em

0,1g, coliformes fecais em 1,0g e contagem total de mesófilos máximo de 5×10^4 UFC/g.

Os microrganismos patogênicos previstos na legislação podem causar toxinfecções provocando gastroenterite aguda, mais ou menos severa. Dentre esses o que mais preocupa o homem é o gênero *Salmonella sp.* (CIOLA, 1974).

A invasão da casca do ovo pelos microrganismos só se realiza quando a mesma está úmida, ocorrendo nos minutos seguintes à postura ou quando há abaixamento da temperatura ambiental que provoca a liberação de umidade de dentro do ovo (ELLIOT & HOBBS, 1980).

4.2 - SALMONELAS EM OVOS

4.2.1 - GERAL

As salmoneloses das aves são conhecidas como: Pulorose, causada por *Salmonella pullorum*; Tifo Aviário, por *Salmonella gallinarum* e Infecções Paratifoides, determinada pelas demais espécies. A Pulorose e o Tifo encontram-se erradicados ou sob estrito controle na maioria dos países de avicultura desenvolvida. As infecções Paratifoides ocorrem, comumente, em todos os tipos de criação de aves. Em vários países, principalmente nos do primeiro mundo, o relato de infecções paratifoides vem ganhando espaço na imprensa geral e especializada como grave problema sanitário às criações avícolas e como causa de toxinfecções humanas veiculadas por produtos avícolas contaminados (BARROW, 1989; HUMPRHREY, 1990).

LANGONI *et alii* (1995) analisaram gema e clara de 612 ovos obtidos de estabelecimentos comerciais, encontrando 57,8% contaminados por microrganismos, sendo que em 24 ovos, equivalentes a 3,72%, foram encontrados *Salmonella spp.*, agrupadas em 1,96% do sorotipo *enteritidis*; 0,98% sorotipo *virchow* e 0,98% sorotipo *typhimurium*. Os resultados mostraram a importância do ovo de galinha bem como seus subprodutos como veículo de *Salmonella* e também de outros microrganismos, sabidamente incriminados em surtos de toxinfecções alimentares.

BEAN & GRIFFIN (1990) estudaram nos Estados Unidos, as toxinfecções de origem alimentar no período de 1973 a 1987, com 7.458 surtos envolvendo 234.545 casos e constataram que a *Salmonella* foi isolada e incriminada como agente bacteriano em 42% desses surtos. Observaram ainda que em 38 surtos envolvendo 2.225 casos o ovo foi considerado o veículo responsável.

Os ovos líquidos não pasteurizados estão freqüentemente contaminados por *Salmonella sp.* Em 1.002 amostras de ovos líquidos recolhidos de 20 plantas processadoras, 52% estavam contaminadas por *Salmonella sp.*, das quais 13% eram diferentes sorotipos de *S. enteritidis* (EBEL *et alii*, 1993).

BIANCARELLI (1995), escreveu uma matéria no Jornal a Folha de S. Paulo, que Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo registrou entre o ano todo de 1994 a novembro de 1995, um total de 3.430 casos de infecção alimentar provocada por ovos contaminados por salmonela. No total foram registrados 48 surtos com duas mortes e um aborto.

4.2.2 - *S. enteritidis* EM OVOS

O ciclo de infecção de *S. enteritidis* é complexo. O organismo pode ser transmitido através: da ração animal, da planta de processamento, da prole através da contaminação do ovo e disseminação na incubadeira, de um plantel para outro através do ambiente contaminado e de ratos através de suas fezes, pássaros silvestres, sendo os insetos também fonte de contaminação em potencial (KRANDEL, 1989; OPTIZ, 1992).

A *S. enteritidis* tem a capacidade de colonizar o trato digestivo das aves, provocar bacteremia, invadir e alcançar seus órgãos internos, contaminar seus ovos e induzir a produção de anticorpos específicos (GAST & BEARD 1992a; HINTON *et alii*, 1990).

A *S. enteritidis* não é um novo sorotipo em aves. Depois de *S. pullorum* e *S. gallinarum*, ele foi, ao lado da *S. typhimurium*, o mais importante causador de infecções paratífóides em aves (NAGARAJA, 1991).

Galinhas experimentalmente e naturalmente infectadas podem produzir ovos contaminados com *S. enteritidis*.

A bactéria pode penetrar na casca do ovo logo após os primeiros 30 minutos da postura. A penetração através dos poros é facilitada nos primeiros minutos devido a temperatura morna e a umidade relativa do ovo.

Existe uma pequena prevalência de *Salmonella enteritidis* na contaminação das cascas dos ovos. Foi examinado ovos de um plantel associado

com casos de salmonelose humana. Quatro dos 372 ovos (1,1%) foram positivos para SE PT4. Com ovos não implicados em casos de surtos a prevalência de cascas contaminadas foi mais baixa, com somente cinco dos 998 ovos (0,5%) PERALES & AUDICANA (1989), apud HUMPHREY, (1994).

O levantamento de 18 anos de trabalho realizado no estado norte americano de Massachusetts, examinando reprodutoras falso-positivas no teste de pulorose, revelou *S. enteritidis* como a segunda maior taxa de isolamento do ovário e peritônio com 16 aves positivas em 1.050 examinadas (SNOEYENBOS *et alii*, 1969).

O exame bacteriológico do ovário, no descarte de poedeiras comerciais, mostrou que 76,2% (32/42) dos lotes eram portadores de *Salmonella sp.* dos quais, um tinha *S. enteritidis* no ovário (BARNHART *et alii* 1991).

Levantamento recente de poedeiras comerciais levadas ao abate para descarte mostraram, através do exame bacteriológico do ceco, 64,4% (2420/3700) das amostras positivas para *Salmonella sp.*, apenas 0,16% (6/3700) sendo positivas para *S. enteritidis* (WALTMAN *et alii* 1992). Outro levantamento revelou que 24% dos lotes portadores de *Salmonella sp.*, 3% era por *S. enteritidis* EBEL *et alii*, (1992). Num terceiro levantamento realizado nos mesmos moldes revelou 18,7% (359/1920) amostras positivas para *Salmonella sp.*, sendo 1,5% (29/1920) positivas para *S. enteritidis* DREESEN, 1992)

O nível de contaminação interna dos ovos produzidos por lotes naturalmente infectados é geralmente baixo. Apenas 1% de mais de 5.700 ovos continham *S. enteritidis*, mesmo em pequena quantidade, quando foram examinados

15 lotes de poedeiras comerciais infectadas na Inglaterra HUMPHREY *et alii* (1991).

HENZLER *et alii* (1994) pesquisaram a incidência de *S. enteritidis* em ovos, durante campanha realizada pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América. Os ovos eram provenientes de galpões que continham entre 5.000 e 8.000 poedeiras comerciais e os pesquisadores encontraram índice estimado de ovos contaminados entre 0,03 a 0,09%.

A nossa legislação não estipula temperatura de estocagem para os ovos comerciais, sendo que a refrigeração entre 2-8°C é uma das maneiras de se prevenir a multiplicação de *S. enteritidis* nos ovos infectados (GAST & BEARD, 1992b)

Os ovos postos por galinhas infectadas geralmente contem baixo número de *Salmonella* e sua presença é um risco que aumenta durante a estocagem prolongada em temperatura não refrigerada. Segundo GAST(1994), a *Salmonella enteritidis* multiplica-se rapidamente em temperaturas de 10-15°C,

4.2.3 - *Salmonella enteritidis* E SAÚDE PÚBLICA

As doenças causadas por salmonelas são muito importantes em relação a saúde pública, não somente em países desenvolvidos mas principalmente em países subdesenvolvidos. Isso ocorre principalmente devido a mudança de hábito alimentar; à maneira como os alimentos são comercializados e por causa da deficiência na higiene durante a produção, estocagem e distribuição (CAFFER & EIGUER, 1994).

As reações iniciais sobre a associação de toxinfecções humanas por *S. enteritidis* com o consumo de ovos e seus produtos foi de descrédito. Posteriormente, estudos epidemiológicos comprovaram a veracidade do ovo como veículo nestes países e a informação foi divulgada com alarde causando, inclusive, grandes prejuízos aos produtores de ovos. Felizmente, esta situação não chegou a estas proporções na avicultura da América Latina. Entretanto, permanece a ameaça.

Desde 1978, a freqüência de SE tem aumentado na Espanha, região de Basque, onde foi responsável por 78% dos surtos, sendo que ovos e subprodutos foram o veículo para 90% dos surtos causados. A situação pode ser explicada pelas práticas culinárias, como a preparação de maionese em casa ou restaurantes ou ainda o consumo de omeletes levemente cozidos (PERALES & AUDICANA 1988).

Nos Estados Unidos, de acordo com CDC (Center for Disease Control), desde 1985 vem ocorrendo surtos de intoxicação alimentar envolvendo SE, de 340 surtos o veículo foi determinado em 151 dos surtos, sendo que em 125 o ovo foi relacionado como responsável (OPTIZ, 1992).

A primeira forte evidência do envolvimento de *S. enteritidis* com toxinfecção originada do consumo de alimentos preparados com ovos ocorreu em um grande surto de 1986, nos EUA, envolvendo massa comercial congelada (POTTER, 1987). Esta massa foi recheada com uma mistura de queijo, condimentos esterilizados e ovos crus. O levantamento epidemiológico levou ao isolamento de *S. enteritidis* de várias amostras oriundas de granjas que forneceram ovos, além de outras espécies de *Salmonella sp.*

Os surtos de salmonelose humana podem ter custo bastante elevado. Em dois surtos, em 1986, nos EUA, calculou-se apenas o custo direto em 200 e 1300 dólares por paciente. Baseado nos isolamentos de salmonela feitos pelo Centro para o Controle de Doenças (CDC) em 1987, o custo médio e as perdas de produtividade devido as infecções por salmonela foram estimados em um bilhão de dólares (1.000.000.000), naquele ano (ROBERTS, 1988).

Mesmo com todo o desenvolvimento tecnológico na produção de alimentos e a adoção de melhores medidas higiênicas, a incidência de salmonelose humana vem aumentando em várias partes do mundo. Os alimentos de origem animal continuam a ser os principais responsáveis pela infecção humana, entre eles, a carne de aves, ovos e derivados que foram responsáveis por 14% do total das salmoneloses humanas (HOUSTON, 1987).

Uma grande incidência de surtos humanos por *S. enteritidis* nos Estados Unidos, Grã-bretanha e outros países da Europa a partir de 1980 chamou a atenção para fontes comuns da infecção (Center For Disease Control - CDC, 1992). As investigações epidemiológicas identificaram o consumo de ovos ou alimentos contendo ovos como responsáveis pela maioria dos surtos devido a *S. enteritidis* (PERALES & AUDICANA, 1989; St. LOUIS *et alii*, 1988).

Em 1987, 50 surtos de toxinfecção por *S. enteritidis*, envolvendo 2.400 pessoas e 15 mortes foram comunicados ao CDC; 80% destes surtos estavam associados a ovos ou pratos contendo ovos. Em 1989 foram comunicados 60 surtos, comparados com os 38 surtos de 1988 (SPACKMAN, 1989). O isolamento da *S. enteritidis* de infecções humanas alcançou 6.970 em 1988. Em 1990, *S. enteritidis* se aproximou da *S. typhimurium* como o sorotipo mais prevalente. Estudos

iniciados na Grã-bretanha (GB) e confirmados em outros países demonstram que o fagotipo 4 de *S. enteritidis* é o mais envolvido nestes casos (SPACKMAN, 1989).

Nos EUA, durante 1985-1992 foram relatados 437 surtos por SE, resultando em 1734 hospitalizações e 53 mortes. No ano de 1993 durante 4 meses 3 surtos foram causados por SE na Califórnia (EWERT, 1993).

No estado de S.Paulo as cepas de *S. enteritidis* isoladas até 1992 pertenciam ao fagotipo 8 (PT8) atingindo uma frequência de 2% dentre os outros fagotipos, sendo que o fagotipo 4(PT4) começou a predominar a partir de 1993. Cepas deste fagotipo corresponderam em 1993, 94 e 95 a 65,2%, 99,7% e 98,4% respectivamente das amostras fagotipadas no Instituto Adolfo Lutz do Estado de São Paulo. O aumento de *S. enteritidis* em S. Paulo está claramente associado à disseminação de cepas PT4, (IRINO *et alii*, 1996).

EXAME comprova contaminação da salada e maionese por *Salmonella*, em Dezembro de 1995 na cidade de Franca estado de S. Paulo, ocorreram 120 casos de intoxicações (Folha de São Paulo, 29/12/95).

MÉDICA diz que salmonela foi responsável por óbito e outros 16 casos de intoxicação Novembro de 1995, na cidade de Limeira estado de São Paulo (Folha de São Paulo, 10/11/1995).

A *S. enteritidis* tem a mesma resistência térmica que outras salmonelas (BAKER, 1990). Porém algumas cepas de *S. enteritidis* podem sobreviver em ovos cozidos que tem parte da gema líquida (semi-cozida) e torna-se difícil destruir *S. enteritidis* em ovos quando ela está presente em grande quantidade (HUMPHREY

et alii, 1989). A destruição pelo cozimento é mais efetiva se os ovos forem, anteriormente, refrigerados (HUMPHREY, 1990).

4.3 - SANIFICAÇÃO DE OVOS

Na literatura brasileira não foram encontrados trabalhos referentes a experimentos com o uso direto de sanificantes em máquinas para a lavagem das cascas dos ovos comerciais. Contudo existem trabalhos efetuados com sanificantes em experimentos laboratoriais, sem sugerir uma metodologia de rotina para a redução da carga microbiana dos ovos comerciais.

A desinfecção dos ovos deve ser efetuada logo após a postura, pois se houver demora dessa desinfecção os germes podem penetrar pela casca do ovo sendo que a desinfecção por meio de agentes químicos não terá nenhuma eficácia (SCHIRIQUE, 1973).

MOATS (1980) estudou e classificou 432 bactérias isoladas de ovos lavados, não lavados, água da lavagem dos ovos, escovas e esteira transportadora. Encontrou que a contagem de bactérias na superfície dos ovos lavados era apreciavelmente baixa quando comparada com os ovos não lavados, e que a quantidade de bactérias encontrada na água de lavagem era maior que as encontradas na superfície dos equipamentos. A carga de contaminantes nas cascas dos ovos não lavados, era composta de números elevados de *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* e *Aerococcus*, ao passo que na água da lavagem e superfície dos equipamentos havia alta contagem de *Actinomyces*, junto com considerável número de *Alcaligenes* e *Moraxella ssp.*

FORSYTE (1953) já havia observado naquela época que a eficiência da lavagem era melhorada com o uso de detergente alcalino, removendo até 92% das bactérias encontradas na casca do ovo.

CATALANO & KNABEL (1994) pesquisaram a relação entre pH e temperatura da água usada na lavagem da casca e a incidência de *Salmonella*. Eles observaram que em pH 11.0 e nas temperaturas de 32,2 , 37,7 e 43,3° C a *S. enteritidis* morria rapidamente, porém nas temperaturas de 4,4°C e 18,3°C a taxa de destruição era baixa. Em pH 9.0 as cepas foram capazes de sobreviver às temperaturas de 32,2 e 37,7°C, no entanto aos 43,3°C elas morriam rapidamente.

Também HOLLEY & PROULX (1986) já haviam observado em experimento com *Salmonella typhimurium* os efeitos do pH 8,0-11,0 e temperaturas de 6 - 42°C encontrando para as temperaturas entre 38 e 42° e pH entre 9,0 e 10 substancial letalidade das células de *Salmonella* . Já à temperatura de 6,0°C e pH < 11,0 houve sobrevivência, porém mantendo-se a mesma temperatura e elevando-se o pH para 11,0 podia ser observada uma pequena ação letal.

Em estudo anterior KINNER & MOATS (1981) relataram que muitos tipos de bactérias, incluindo os coliformes, morrem rapidamente a temperatura entre 40 e 55°C em pH 10-11 comumente usado na lavagem de ovos.

4.3.1 - COMPOSTOS CLORADOS

Entre os halogênios, o cloro e seus compostos são os mais usados (GUTHRIE, 1972). Tem sido estudado os seus efeitos e variações que dependem de diferentes fatores, tais como a população de células, o pH, a temperatura, matéria orgânica presente no meio, a espécie e forma do microrganismo (ODLAUG, 1981).

Segundo MERCER & SOMMERS, (1957) inicialmente o cloro foi utilizado como anti-séptico por Koch e Dakin. O cloro passou a ser utilizado como sanificante na rede de água de consumo apenas no final do século XIX. A partir de 1912 nos EUA passou então a ser utilizado em indústrias de laticínios na forma de hipoclorito de cálcio. O uso do cloro na indústria foi altamente interessante na prevenção do acúmulo de bactérias e sujidades sobre equipamentos evitando assim odores estranhos devido a fermentação dos resíduos.

Os compostos clorados têm sido usados por muitos anos na sanificação de utensílios de restaurantes e indústrias de alimentos, na sanificação de equipamentos, também em várias superfícies de alimentos como carnes de frango (LILARD, 1979), pedaços de carnes (ANDERSON, *et alii* 1977), alimentos marinhos (GARVIE, & CLARKE, 1955), verduras (LEITÃO *et alii*, 1981) e no tratamento de águas para bebidas ou para uso industrial.

AZEVEDO (1974), considera que ao se examinar o efeito bactericida da cloração, é essencial conhecer os compostos produzidos na água, os quais dependem da natureza das impurezas presentes e do pH da água. Desse modo, dois casos extremos podem ser considerados: reações do cloro com água, com a

formação do cloro residual livre e reação do cloro com amônia e outros compostos nitrogenados formando o cloro residual combinado.

O cloro (Cl_2) quando adicionado a água, hidrolisa-se formando ácido hipocloroso (HOCl). O ácido hipocloroso formado dissocia-se em cátions de hidrogênio (H^+) e anions hipoclorito (OCl^-) (NIELSEN 1978, AOAC 1980).

A proporção relativa do ácido hipocloroso para íons hipoclorito depende do pH, temperatura e força iônica (ODLAUG, 1981).

Os compostos clorados são mais efetivos em pH baixo, quando então a presença de ácido hipocloroso é dominante. Quando o pH é elevado, o íon hipoclorito é dominante e a solução tem menor efeito antimicrobiano (GUTHRIE, 1972).

Em pH ácido eles se mantêm não dissociados (HOCl) forma mais ativa, enquanto que em pH alcalino ele se dissocia H^+/OCl^- e diminui seu poder desinfetante (TROLLER, 1983).

O cloro existente na água na forma de ácido hipocloroso e de íon hipoclorito é definido como cloro residual livre (ROSSIN, 1979).

Quando o cloro é aplicado às águas com presença de matéria orgânica, amônia e/ou compostos amoniacais, forma compostos clorados denominados cloraminas. O cloro sob a forma de ácido hipocloroso, combinando-se com amônia presente na água, forma monocloramina (NH_2Cl), dicloramina (NHCl_2) e tricloreto

de nitrogênio (NCl_3), sendo a dicloramina (NHCl_2) a de maior efeito bactericida (AZEVEDO, 1974).

O resultado da mistura do hipoclorito na água e sua reação com matéria orgânica e inorgânica presente chama-se demanda de cloro. Quando a demanda de cloro adicionado é satisfeita, o que sobrar chama-se cloro residual total, que é a proporção que resta sob a forma livre e combinada. Quando se adiciona quantidades intermitentes de hipoclorito a água, esta vai reagindo com os inativantes até saturá-los, atingindo o ponto de quebra. A partir daí qualquer quantidade adicionada irá levar a um aumento do cloro residual (MERCER & SOMMERS, 1957; TROLLER, 1983).

Em resumo, o cloro quando adicionado a água, não só forma compostos bactericidas, mas também se consome.

(SHANON *et alii*, 1964) usando como constante a concentração do cloro e o tempo de ação do sanificante sobre uma mesma cepa de microrganismo, tendo como variável o pH concluíram que o hipoclorito de sódio era mais efetivo em pH 5,8 que em pH 8,4.

O cloro na concentração de 12,5 ppm. foi mais efetivo contra *Salmonella derby* no pH 5,6 do que no pH 7,2 (MOSLEY *et alii*, 1976).

Quanto a inativação das células microbianas, alguns autores inicialmente pensaram na formação de um composto tóxico N- cloro, responsável pela inibição da oxidação da glicose ou ainda da inibição da oxidação do grupamento sulfidril (ODLAUG, 1978).

FREIBERG (1956), usando cloro radioativo, observou que ao primeiro contato, a reação de oxidação com o micróbio resultava na formação de cloramina no protoplasma celular, não causando destruição inicial da bactéria. Ainda o mesmo autor num outro trabalho usando fósforo marcado radioativamente concluiu que o microrganismo na presença de cloro sofre uma destruição da membrana celular e em consequência alterava-se a permeabilidade da célula (FREIBERG, 1957).

Em um outro trabalho, CAMPER & FETERS (1979), relataram que o cloro prejudica a função da membrana celular no transporte extracelular de nutrientes e que as células tratadas com cloro são incapazes de utilizar carboidratos e aminoácidos.

BERNARD *et alii* (1967), usando dióxido de cloro e marcando o carbono do aminoácido com radioativo, notaram que, para a cepa de *Escherichia coli*, o cloro bloqueia a síntese de proteínas.

O hipoclorito de sódio é enérgico agente oxidante, inativador de proteínas, tendo estas características como propriedade fundamental, sendo por isso letal para todos microrganismos (PARKER & LICHFIELD, 1962).

Vários trabalhos foram realizados referentes às concentrações dos compostos clorados frente a diversos microrganismos, no qual observaram a sua eficácia.

SHANON *et alii* (1964), demonstraram que o cloro pode ser usado efetivamente como um agente saneante contra enterococos, na concentração de 100 ppm no tempo de 0,25 minutos.

SANDOVSKI & FABER (1980), estudaram o efeito do hipoclorito de sódio em culturas de *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium* e verificaram que o cloro quando usado numa concentração de 0,126 ppm de cloro disponível, com o tempo de contato de 30 segundos, reduziu o *Streptococcus faecalis* em 85%. Já quando usava uma concentração de 0,168 ppm mais de 50% da população de *Streptococcus faecium* sobrevivia, ao passo que não se recuperavam células viáveis de *Streptococcus faecalis*.

DAVIS (1968), testou uma solução de hipoclorito de sódio com 10 ppm de cloro livre provocando a destruição de 99,9% das células de *E. coli* no tempo de 15 segundos.

SHANON *et alii* (1964), avaliando diferentes concentrações de cloro, notaram que 10 ppm de cloro livre destruíram parcialmente os enterococos após 2,0 minutos de exposição, ao passo que 5 ppm por 30 minutos não destruíam por completo qualquer linhagem de enterococos.

Por outro lado NIELSEN (1978), notou a inativação completa de fagos de *Escherichia coli* e *Streptococcus* por hipoclorito de sódio com 50 ppm de cloro ativo no tempo de 5 minutos.

Para as bactérias Gram negativas SHEUSNER *et alii*, (1971) observaram que ocorria injúria das células bacterianas quando expostas a uma solução de hipoclorito de sódio com 5,25 ppm de cloro ativo no tempo de 60 segundos.

BARTLETT (1993), misturou cinco cepas de *Listéria monocytogenes*, e inoculou na superfície da casca de ovo de galinha e estocou a 10°C por 14 dias, observou que do primeiro para o sétimo dia houve redução da população inicial, não sendo mais detectável ao décimo primeiro dia. Quando sanificou a casca dos ovos com hipoclorito na concentração de 50 e 100 ppm de cloro livre, o pesquisador observou a eliminação completa da bactéria *Listeria monocytogenes* recém inoculada, num tempo de 30 segundos.

LEE & FRANK (1991), estudaram o efeito do crescimento de *Listéria monocytogenes* em diferentes condições de ambiente de tempo, temperatura e concentração de hipoclorito de sódio de 1 ppm. As células cresceram em caldo tripticase soja às temperaturas de 35, 21 e 6°C sendo depois diluídas 1/15 em meio de caldo nutriente mínimo a 35°C. A seguir as células foram lavadas e expostas a solução de hipoclorito a 1 ppm por um período de 5 minutos. Após 30 segundos de exposição observou-se que as células que cresceram em caldo tripticase soja a 35, 21 e 6°C foram reduzidas de 2,1 para 0,3, de 3,1 para 0,3 e de 3,4 para 0,3 unidades logarítmicas respectivamente, concluindo que a temperatura tinha efeito significativo na inativação da *Listeria monocytogenes* por cloro livre.

Uma população de *Listeria monocytogenes* foi reduzida em 4 ciclos logarítmicos com o uso de uma solução contendo 20 ppm de cloro livre a 42°C e pH 10,5 no tempo 30 minutos LECLAIR *et alii* (1994), a mesma bactéria quando em presença de matéria orgânica (resíduos de ovos) só era reduzida em quatro ciclos quando a temperatura era elevada para 47,4°C e o pH para 10,8.

GUPTA & RAO (1970), contaminaram artificialmente ovos por imersão em caldo de cultura contaminado por *Salmonella typhimurium* e sanificaram com

hipoclorito de sódio na concentração de 0,21% na temperatura de 43°C por 5 minutos. Esta concentração destruiu os microrganismos contaminantes da casca de ovo.

AHN *et alii* (1981), coletaram ovos e examinaram a contaminação microbiológica e o efeito da estocagem; consideraram o grau de contaminação da casca de $3,2 \times 10^7$ UFC/ovo como muito sujo; de $1,9 \times 10^6$ UFC/ovo moderadamente sujo e de $2,7 \times 10^5$ UFC/ovo limpo. Verificaram que houve um aumento dos microrganismos quando estocados a temperatura de 25-30°C. Já nos ovos lavados na solução com 130 ppm de cloro livre a redução microbiana foi de 3 ciclos logarítmicos.

A utilização de hipoclorito de sódio em níveis acima de 5,0 ppm de cloro livre na lavagem de ovos em máquinas, reduz a contagem da superfície mais que quando só lavados com água (GILLESPIE *et alii*, 1950).

4.3.2 - COMPOSTOS DE AMÔNIO QUATERNÁRIO

Estes compostos são substâncias tensoativas catiônicas, com pequena atividade detergente, porém muito ativos como germicidas, agem geralmente inativando as enzimas envolvidas na oxidação ou fermentação, ou ainda, provocando vazamento dos constituintes celulares (GUTRIE, 1972).

A inibição das enzimas que estão envolvidas no transporte de elétrons na fosforilação oxidativa tem sido demonstrado com baixas concentrações de amônia quaternária (HAMILTON, 1971).

A formação de cátions parece ser um importante fator na ação dos compostos de amônio quaternário sobre a membrana bacteriana com a precipitação das proteínas e danos na membrana celular (GADNER & PHILL, 1977).

Os compostos de amônio quaternário possuem a vantagem de permanecer relativamente estáveis na presença de matéria orgânica, altas temperaturas e de serem ativos numa ampla faixa de pH (GUTHRIE, 1972).

DUM (1936); BOTWRIGTH (1946), relataram que a eficiência do composto de amônio quaternário não era afetada na presença de grande concentração de matéria orgânica, nem por refrigeração ou por aquecimento superior a 50°C por 18 dias.

A temperatura da solução pode influenciar a ação deste tipo de sanificante. Um produto quaternário de amônio foi testado por FREKE & HAGGIE (1981) e demonstraram que aos 20° C a ação sobre o *S. aureus* não era eficaz, já aos 53° C foi mais eficiente.

Como desvantagens, cabe salientar que as bactérias Gram positivas são mais susceptíveis que as Gram negativas, porém a atividade contra os Gram negativos pode ser aumentada com o uso do ácido etilenodiamina tetra-acético, pois este precipita alguns componentes da parede celular, facilitando a penetração do composto de amônia quaternária (GARDNER & PHIL, 1977).

TANNER (1989), pesquisando o efeito do composto de amônio quaternário em bactérias Gram positivas e Gram negativas, encontrou que o sanificante foi mais eficaz sobre os *S. aureus* do que sobre as *Pseudomonas*.

Estudos iniciais realizados com composto quaternário de amônia revelaram que a sua eficiência frente aos microrganismos era alta, pois FANSLAU (1939), usando uma solução aquosa na diluição 1/1000 no tempo de 10 minutos observou a destruição total de *Staphylococcus aureus*.

MILLER *et alii* (1950), enxaguaram ovos em água contendo um sanificante mais o microrganismo responsável pela podridão negra, observando que aparecia a deterioração, ao passo que quando adicionavam o composto de amônio quaternário prevenia a ocorrência da deterioração.

BIERER *et alii* (1961), avaliaram a formulação comercial contendo sanificante (composto de amônio quaternário) em ovos contaminados artificialmente com *Salmonella typhimurium* e observaram que reduzia de 52 a 92% quando comparado ao alvejante comercial com 200 ppm de cloro.

SCHEUSNER *et alii* (1971) submeteram células de *E. coli* a ação do composto de amônia quaternária a 100 ppm verificando a destruição de 99,9% no tempo de 2 minutos.

HOFFMANN *et alii* (1994), testaram “in vitro” cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enteritidis* frente aos compostos de alquil-dimetil-benzil-amonio (solução A) e cloreto de alquil-dimetil-benzil-amônio (solução B) os resultados apontaram que a solução B mostrou-se mais eficiente e com pronunciada ação sobre as cepas de *Staphylococcus aureus*.

O uso contínuo do composto de amônio quaternário pode levar a bactéria a adaptar-se ao sanificante (GILLESPIE *et alii*, 1950). Também demonstrado por

SOPREY & MAXCY (1968), que o uso do composto de amônio quaternário sobre as cepas de *Pseudomonas fluorescens* e *Escherichia coli* podia provocar a adaptação das células ao composto.

OLIVEIRA & SERRANO (1984), submeteram células de *Salmonella typhi* e *Clostridium perfringens* ao uso diário do composto quaternário de amônio em concentrações subletais por 56 dias. A recuperação era realizada em meio de caldo nutriente e caldo de carne respectivamente, sendo constatada a adaptação das células ao uso contínuo do sanificante.

PENNIGTON & HEDRICK (1944), realizaram um dos primeiros trabalhos usando composto de amônio quaternário na lavagem da casca do ovo e relataram que da contagem inicial de $3 \text{ a } 6 \times 10^6$, os microrganismos foram reduzidos a poucos milhares ou quase nenhum quando exposto entre 3 a 5 minutos, concluindo que o sanificante foi considerado útil na prevenção da contaminação da casca do ovo.

4.3.3 - USO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Em função da sua baixa toxicidade para os humanos e de alta ação tóxica contra os microrganismos é que se recomenda o uso de ácido acético e láctico como agentes sanificantes (ADAMS & HALL, 1988).

O mecanismo de ação parece estar associado a acidificação do citoplasma, inibindo o crescimento celular e posteriormente, há morte celular (CHERRINGTON, 1990).

Segundo CARLET Jr & BROWN (1980), a ação antimicrobiana desses ácidos resulta de sua natureza lipófila, onde os íons hidrogênio penetram a membrana celular do microrganismo, acidificando o seu interior, inibindo assim o transporte de nutrientes.

BAIRD-PARKER (1980) está de acordo com CARLET Jr. & BROWN (1980) e afirma ainda que apenas os ácidos orgânicos de natureza lipófila apresentam essa atividade. Esse mesmo autor defende a hipótese de que esses ácidos inibem ou eliminam o crescimento dos microrganismos pela interferência na permeabilidade da célula microbiana, afetando o transporte de substâncias e a fosforilação oxidativa do sistema de elétrons.

ANDERSON *et alii*, (1977) afirmam que três fatores são responsáveis pela ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos: o efeito do pH, a dissociação do ácido e a especificidade da molécula de ácido.

Para BAIRD-PARKER, (1980) a molécula do ácido não dissociado é responsável pela ação antimicrobiana; nesse estado, a molécula de alguns ácidos é totalmente solúvel na membrana celular do microrganismo.

A atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos depende da redução do pH, da mínima dissociação do ácido e da toxicidade da molécula. Os ácidos fracos são mais eficientes que os ácidos fortes, visto que os ácidos fracos são capazes de acidificar o interior da célula. São necessários valores de pH inferiores a 5,5 para reduzir o crescimento microbiano ANDERSON *et alii* (1992).

Os ácidos comestíveis (como também muitas outras substâncias conservadoras) sofrem dissociação em sistema aquoso, os íons hidrogênio livres e os componentes não dissociados da solução podem ser fatores decisivos na atividade antimicrobiana desse composto. O ácido acético é fracamente dissociável, atua basicamente pelo mecanismo dos componentes não dissociados (OSTHOLD *et alii*, 1984).

Segundo observações de CUTTER & SIRAGUSA (1994), a eficiência dos ácidos orgânicos no controle de microrganismos patogênicos varia de acordo com sua concentração, temperatura, tempo de contato e tipo de tecido ou organismo contaminante.

O efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos depende de seu pKa e do pH do meio externo (ADAMS & HALL, 1988).

Na prática tem sido utilizada as soluções de ácidos orgânicos na limpeza e sanificação de carcaças de bovinos e frangos. VAN NETTEN *et alii* (1994) estudaram a ação bactericida do ácido láctico a 2,0% em bactérias patogênicas da carne; os testes foram realizados *in vitro* com intervalos de tempo de 30 e 120 segundos. O tratamento foi efetivo contra *Salmonella typhimurium*.

4.4 - INJURIA BACTERIANA

Segundo RAY (1979), a população microbiana inicial após tratamento físico ou químico pode ser dividida em células vivas (não injuriadas, injuriadas) e células mortas.

BUSTA (1976), descreveu que a injúria celular pode ser causada pelo calor, frio, congelamento, irradiação ultravioleta, dessecação e por agentes químicos. Estes agentes químicos usados para sanificação nas indústrias de alimentos, induzem à injúria nas bactérias.

As células quando injuriadas por um ou mais destes fatores apresentam algumas características que as diferenciam das células normais, ocorrendo a incapacidade de se multiplicar e formar colônias visíveis em meios próprios para células não injuriadas, apresentam ainda maior sensibilidade a agentes químicos incorporados em meios seletivos de isolamento e o aumento da fase lag mesmo quando semeadas em meios não inibitórios (BUSTA, 1976).

Também os coliformes, após exposição ao calor ou agentes químicos, apresentaram-se menos reprodutivos nos meios seletivos, comparativamente as células não expostas a tais agentes (SCHEUSNER *et alii* 1971; SORRELLS, 1970).

Os coliformes fecais podem sofrer injúria por fatores como aquecimento, refrigeração, baixa atividade de água, irradiação e contato com desinfetantes (HACKNEY *et alii*, 1979).

Com relação à injúria bacteriana SCHEUSNER *et alii* (1971), detectaram uma maior percentagem de injúria quando baixas concentrações de sanificantes foram utilizadas. Recomendaram assim, certa precaução nos testes de sanificantes. Os mesmos autores quando utilizaram o composto de amônio quaternário, obtiveram uma grande percentagem de células injuriadas nos primeiros

30 segundos estabilizando-se depois, as maiores taxas de injúria bacteriana ocorreram nas temperaturas entre 0° C e 20° C.

A maioria dos produtos alimentícios passam por tratamentos de natureza física ou química que, em maior ou menor intensidade afetam a estrutura ou metabolismo microbiano; além disso, na maioria dos casos, os alimentos apresentam uma microbiota numerosa e variada, muitas vezes com efeitos antagônicos entre as varias espécies, dificultando muito o eventual isolamento de um microrganismo específico (LEITÃO , 1985).

Ainda deve-se considerar a composição do substrato, pH, potencial de oxiredução, atividade de água, tensão superficial, temperatura, agitação, atmosfera, idade da cultura que são fatores que podem atuar na estrutura e metabolismo das células e conseqüentemente, exercer maior ou menor influência na expressão da injúria (BUSTA, 1976).

MOSSEL (1983), relatou que nas injúrias provocadas por sanificantes, reveladas num estudo de ecologia microbiana de alimentos, os compostos clorados afetam as proteínas ou a síntese protéica, o ácido acético atua no RNA ribossômico ou na síntese de RNA; já os detergentes catiônicos provocam danos como vazamento na membrana celular.

BLANKESHIP (1981), relatou que as células de *Salmonella bareilly* sofriam mais injúria que letalidade quando submetidas ao ácido acético 0,03 N.

5.0 - MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - MATERIAIS

5.1.1 -OVOS AMOSTRADOS

Foram utilizados 1.387 ovos comerciais de casca branca obtidos de poedeiras em gaiolas de arame, manejadas e alimentadas segundo as práticas usuais e sem o histórico da ocorrência prévia de problemas sanitários que pudessem afetar a qualidade dos ovos.

Os ovos para o estudo eram coletados, várias vezes ao dia em bandejas de polpa de papelão, transportados ao laboratório e com início das análises no mesmo dia da postura. Na granja, não sofriam nenhuma limpeza prévia ou sanificação.

5.1.2 - SANIFICANTES UTILIZADOS

Para a sanificação da casca dos ovos comerciais foram utilizados os seguintes produtos:

5.1.2.1 - hipoclorito de sódio

Produto com 10-12% de cloro ativo procedente da Quimitrol Comércio e Indústria contido em embalagens plásticas. O produto foi doado pelo laboratório de tecnologia farmacêutica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

5.1.2.2 - composto quaternário de amônio

Foi utilizado o sal quaternário de amônio (cloreto de alquil dimetil benzil amônio) estado físico líquido com $50\% \pm 1,0\%$ de substância ativa , com número de aminas máximo 1,0 e pH 7,0 com ação bactericida, fungicida e anti-séptico para formulações, fabricado e doado pelo laboratório Hoechst de São Paulo, SP. O produto clean shell[®] biodegradável, desinfetante para uso veterinário, também com o mesmo sal quaternário de amônio - cloreto de aquil dimetil benzil amônio 20ml, veículo q.s.p.100ml, licenciado pela CDSA - MARA sob o n° 3798, fabricado e doado pelo Laboratório CBM de Campinas.

5.1.2.3 - acido acético

Foi utilizado o ácido acético glacial a 99,8% padrão analítico marca Merck[®] de uso laboratorial analítico, adquirido no comercio de produtos químicos e reagentes.

5.2 - MÉTODOS

5.2.1 - PREPARO DAS SOLUÇÕES DE SANIFICANTES E SUA DOSAGEM

As soluções de sanificantes foram preparadas momentos antes de cada processo de sanificação

5.2.1.1 - HIPOCLORITO DE SÓDIO

Foi utilizado hipoclorito comercial (Quimitrol). A concentração de cloro livre foi determinada por titulação em triplicata conforme metodologia descrita em STANDARDS METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1985).

A titulação foi feita com sulfato de sódio Na_2SO_4 previamente padronizada com dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) de acordo com a equação:

$$V \text{ (L) } \text{Na}_2 \text{SO}_3 \times N \text{ (Na}^2 \text{SO}_3) = \frac{\text{Massa K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}{\text{Eq K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}$$

Uma vez determinada a Normalidade da solução de Na_2SO_4 , esta foi estocada sob refrigeração em frasco âmbar e utilizada para a determinação do cloro residual livre. O cloro foi determinado por três titulações, utilizando-se solução 10% de iodeto de potássio, ácido acético glacial e indicador de amido, e calculado pela equação:

$$\text{Cloro residual Livre} = \frac{\text{mL gasto de Na}_2\text{SO}_3 \times \text{N (Na}_2\text{SO}_4) \times 3,55 \times 10^4}{\text{mL da amostra}}$$

Após a determinação do cloro residual livre do hipoclorito de sódio, foram preparadas soluções nas concentrações de 5,8, 50 e 100 mg/L de cloro ativo, empregando o tempo de exposição de 15 e 30 segundos nas temperaturas de 25°C e 40°C .

5.2.1.2 - COMPOSTO DE AMÔNIO QUATERNÁRIO

A solução de cloreto dialquildimetilbenzilamônio - Hoeschst® foi diluída a 1/500 e 1/1000 considerando o teor do princípio ativo, e empregada no tempo de exposição de 15 e 30 segundos nas temperaturas de 25°C e 40°C.

O produto clean shell® foi usado na diluição de 1/500 conforme recomendações do fabricante e empregado no tempo de exposição de 15 e 30 segundos nas temperaturas de 25°C e 40°C.

5.2.1.3 - ÁCIDO ACÉTICO

Foi usada solução de ácido acético a 2,0 e 3.0 % no tempo de exposição de 15 e 30 segundos a temperatura de 25 e 40°C.

A solução foi preparadas momentos antes de cada ensaio, seguindo-se as recomendações de OSTHOLD *et alii* (1984),

5.2.1.4.- LAVAGEM COM ÁGUA DESTILADA

Usamos água destilada para lavagem dos ovos no tempo de exposição de 15 e 30 segundos a temperatura de 25°C e 40°C, com a finalidade de observarmos o efeito da água no arraste dos microrganismos da casca dos ovos.

5.2.2 - AVALIAÇÃO DA CARGA MICROBIANA DOS OVOS SEM LAVAGEM

Um lote de 10 ovos foi submetido a análise para microrganismos psicrotróficos, mesófilos, bolores e leveduras, e coliformes totais e fecais, quando recém chegados ao laboratório, para avaliação da microbiota contaminante natural oriunda da postura e ambiente da granja.

5.2.3. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS SANIFICANTES APLICADOS NA INATIVAÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES NA CASCA DO OVO

5.2.3.1 - SANIFICAÇÃO DOS OVOS EM LABORATÓRIO

A sanificação foi realizada de acordo com o fluxograma da figura 1.

Os sanificantes foram aplicados nas cascas dos ovos pelo processo de imersão, usando bolsas plásticas de polietileno para acondicionamento de alimentos medindo 28x45cm com 0,10 mm de espessura, picotados e dobrados no fundo, após o tempo de exposição retirava-se a dobra para a vazão do sanificante, de acordo com o tempo de 15 ou 30 segundos.

No início do experimento, 2 ovos foram sanificados com cada produto químico a temperatura de 40°C pelo tempo de 30 segundos e 2 foram lavados em água destilada a temperatura de 40°C por 30 segundos e após secagem na camara de fluxo laminar foram submetidos a análise microbiológica com a finalidade de avaliar a população dos microrganismos sobreviventes.

Os outros 9 lotes foram divididos em 3 amostragens, de 48 ovos cada, depois de sanificados foram armazenados em temperaturas de 10°C, 25°C e 38,5°C, para análises posteriores . (Figura 1)

Cada lote com 48 ovos foi dividido em dois de 24 ovos; sendo que 24 ovos foram sanificados a 25°C e os outros 24 ovos a 40°C, subdivididos em 12 ovos para exposição ao sanificante por 15 segundos e os outros 12 por 30 segundos

Em continuação cada lote de 12 ovos foi transferidos para bolsa plástica com auxílio de uma colher estéril, e adicionados 250 ml do sanificante. Os ovos ficaram imersos pelo tempo de 15 segundos, e 30 segundos.

Os 12 ovos sanificados, foram divididos em 3 grupos de 4 ovos para serem armazenados às temperaturas de 10°C, 25°C e 38,5°C (Figura 1). Após análise microbiológica os ovos eram quebrados para observar a integridade de clara e gema.

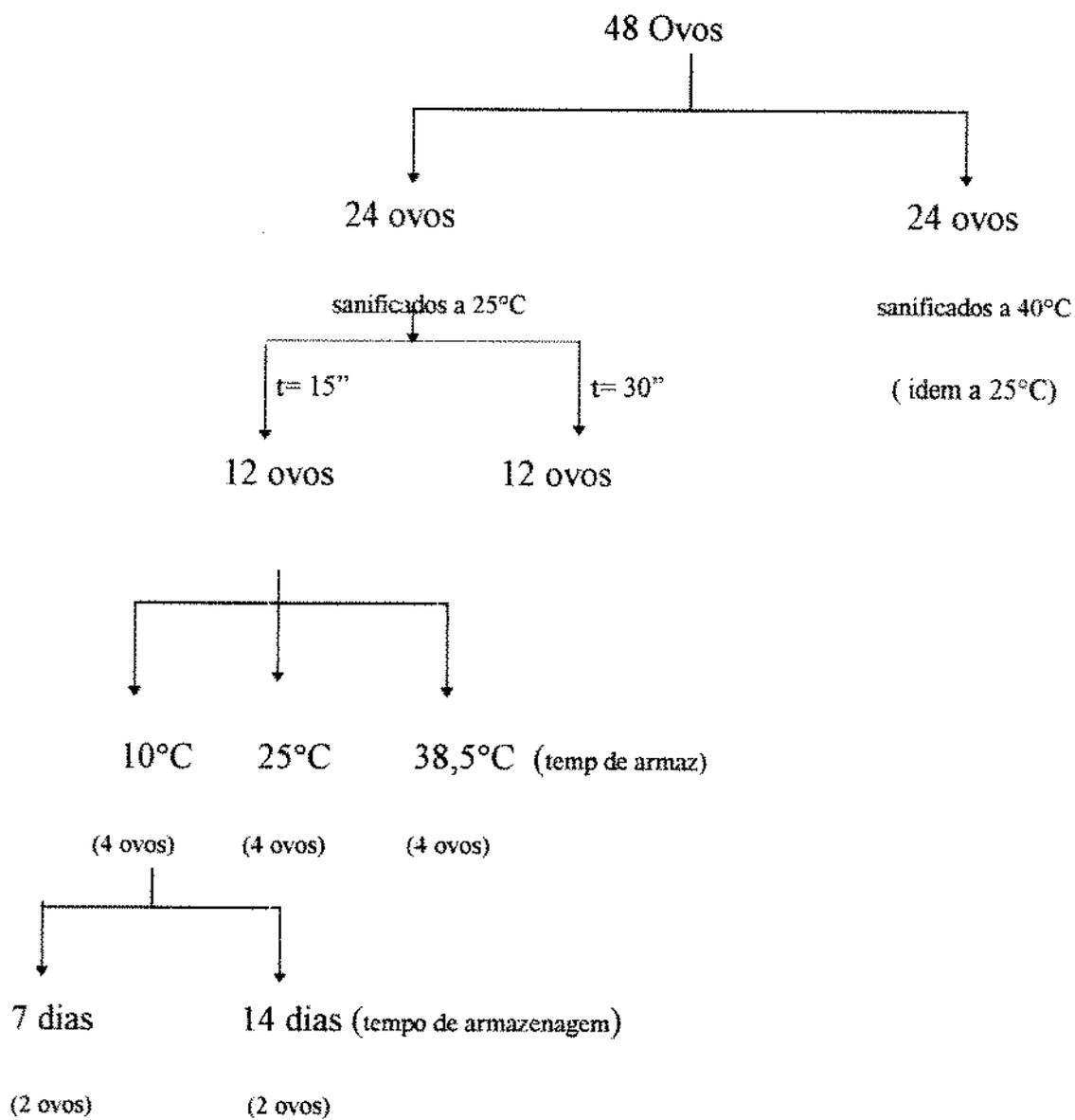
Após atuação do sanificante os ovos submetidos ao composto de amônio quaternário foram imersos rapidamente em um volume de 150 ml de uma mistura da solução de tween 80 a 6 % mais lecitina à 4%, com a finalidade de neutralizar o sanificante. Já os ovos lavados com hipoclorito de sódio foram imersos em 150 ml de uma solução de tiosulfato de sódio a 5%. Conforme recomendação da AOAC,1980.

Para os demais casos utilizamos o mesmo volume de água destilada para efeito de comparação.

Para a lavagem dos ovos com água destilada seguiu-se o mesmo fluxo da figura 1

Aos sete dias, dois ovos eram retirados de cada temperatura de armazenagem para serem submetidos as análises microbiológicas, o mesmo foi feito aos 14 dias de armazenagem. Esquema 1.

Figura 1. Sanificação da casca dos ovos em laboratório (empregado para cada diluição dos sanificantes utilizados no experimento)



Foram utilizados para controle, três lotes de 10 ovos que não foram sanificados e nem lavados com água. Cada lote foi incubado em cada uma das três diferentes temperaturas de armazenamento, sendo também analisados microbiologicamente aos 7 e 14 dias.

5.2.3.2 - SANIFICAÇÃO DOS OVOS COM AJUDA DE MÁQUINA

Utilizamos a máquina classificadora modelo YAMASA® com três compartimentos fechados, o primeiro para lavagem, o segundo para secagem com ar gerado por uma ventilação interna desencadeada por ventoinha, e o terceiro para classificação dos ovos. Foram utilizados na máquina o composto de amônio quaternário Hoechst® na concentração de 50 % na diluição de 1/500, 1/1000, o clean shell® na diluição de 1/500 e hipoclorito de sódio com 100 ppm de cloro residual livre.

5.24 - ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Aos 7 e 14 dias, de armazenamento foram retiradas amostras e submetidas a análises microbiológicas para comparar a contaminação natural e o efeito dos sanificantes.

Foi avaliada a população de bactérias mesófilas, para os ovos armazenados a temperatura de 38,5°C e de psicrotróficos para os armazenados a 10° e 25°C, bolores e leveduras e ainda contagem de coliformes totais e fecais.

As análises microbiológicas das cascas dos ovos, foram realizadas com auxílio de bolsa plástica estéril para acondicionamento de alimentos medindo 28x45cm com 0,10 mm de espessura, no qual colocava-se o ovo adicionando-se em seguida 5 ml de água peptonada a 0,1% (p/v) Difco® e friccionando a casca por aproximadamente 1 minuto, retirava-se 1 ml da água peptonada resultante da lavagem, para as diluições decimais sucessivas, seguindo-se a semeadura nas placas para contagem global dos psicrotróficos e mesófilos aeróbios, bolores e leveduras e nos tubos para contagem dos coliformes totais e fecais.

5.2.4.1. - CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS MESÓFILAS E PSICROTRÓFICAS

Após lavagem da superfície da casca do ovo, 1,0 ml era retirado e diluído em serie de 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} , sendo que 1,0 ml de cada diluição transferia-se para placas de petri, adicionando-se por agitação o ágar para contagem padrão (PCA) em duplicata e incubados a $37^{\circ}\text{C}/48$ hs para os mesófilos e a $20^{\circ}\text{C}/3-5$ dias para as psicrotróficas (A.O.A.C.,1980)

5.2.4.2. - PESQUISA DE COLIFORMES TOTAIS E FECAIS

Esta análise foi realizada pela semeadura de 1,0 ml de cada diluição 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em uma série de três tubos contendo caldo lauril sulfato e incubados a $35^{\circ}\text{C}/48$ hs. O conteúdo dos tubos positivos com produção de gás, no interior do tubo de Duhran (teste presuntivo positivo) foi transferido com alça de platina para os tubos contendo caldo lactosado com verde brilhante e sais biliares a 2%, incubando-se a 35°C por 48 horas para confirmação dos coliformes totais, e para tubos com caldo EC, o qual foi incubado por $44,5^{\circ}\text{C}/24$ hs para confirmar a presença de coliformes fecais (A.O.A.C.,1980)

5.2.4.3 - CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS

A contagem total de bolores e leveduras foi realizada utilizando o método de diluição empregado para a contagem global de mesófilos, do qual 1 mL foi transferido para placa de Petri adicionando-se em seguida por agitação ágar batata dextrose (PDA) acidulado com ácido tartárico 1,0% até o pH 3,0 e incubados a 25°C/5 dias (A.O.A.C.,1980)

5.2.5 - EFEITO DOS SANIFICANTES NA INATIVAÇÃO DE *Salmonella enteritidis*

5.2.5.1 - CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DA CASCA DOS OVOS COM *Salmonella enteritidis*

Utilizou-se uma cepa de *S. enteritidis* isolada de infecção natural e experimental em pintos (FERREIRA *et alii* 1990), na qual foi induzida à resistência ao ácido nalidíxico (Nal^r), para auxílio nas análises. A mutação foi desenvolvida através de transferências sucessivas em meio de caldo nutriente contendo 100µg/ml de ácido nalidíxico (Nal^r) conforme metodologia empregada por WEINACK *et alii* (1982). A cepa foi identificada segundo técnicas pré estabelecidas por EWING, (1986).

Estas cepas foram mantidas no laboratório de Higiene da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP em tubos de ensaio de 13X100 mm contendo ágar nutriente, vedados com rosca e armazenados em geladeira com temperatura entre 4°C e 8°C. Três dias antes do início do experimento as células de

S. enteritidis foram novamente submetidas a reativação, usando-se transferências sucessivas em caldo nutriente contendo 100µg/ml de ácido nalidíxico.

Para contaminar as cascas dos ovos, foi utilizado um recipiente de vidro contendo 500 mL de uma suspensão de *Salmonella enteritidis* contendo 10^7 a 10^8 UFC/mL. Os ovos foram imersos na suspensão com o auxílio de uma colher estéril por um tempo aproximado de 2 segundos, em seguida deixava-se secar em uma bandeja de polpa de papelão na câmara de fluxo laminar vertical, por um tempo aproximado de 10 minutos. Após secagem, os ovos foram colhidos com uma colher estéril e transportados para bolsa plástica de 24x45 cm com 0,10 mm de espessura onde adicionava-se 250 ml da solução do sanificante, deixando atuar pelo tempo de 30 segundos. Cada sanificante foi usado na diluição que demonstrou melhor eficiência na sanificação dos ovos sem lavagem prévia.

Usamos para essa parte do experimento, soluções do composto de amônio quaternário Hoechst® 1/500 e 1/1000, clean shell® 1/500, foram utilizadas soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 50 e 100 ppm de cloro livre. No caso de ácido acético, este foi utilizado na concentração de 2,0 e 3,0%. Em todos os ensaios o tempo de exposição foi de 30 segundos.

Após tratamento dos ovos com sanificantes, neutralizava-se a ação destes conforme recomendações da (AOAC, 1980), deixava-se secar sobre polpa de papelão estéril em câmara de fluxo laminar. Em seguida realizava-se a recuperação das células sobreviventes ao efeito do sanificante.

Dois lotes de ovos após a contaminação e secagem foram analisados quantitativamente para se conhecer a população de *S. enteritidis* presente nas cascas dos ovos antes da sanificação.

5.2.5.2 - AVALIAÇÃO DA POPULAÇÃO DE *S. enteritidis* RESISTENTE AO ÁCIDO NALIDÍXICO NA CASCA DO OVO

Os ovos artificialmente contaminados, cuja concentração de células da solução foi 10^7 a 10^8 UFC/ mL de *S. enteritidis*, foram analisados separadamente, usando-se a metodologia da lavagem da casca em 5 ml de água peptonada dentro de uma bolsa plástica de 25x35 cm com 0,10 mm de espessura e friccionado por mais ou menos 1 minuto. Após diluição decimal em série de 10^{-1} a 10^{-7} foram inoculados com 0,1 ml, em duplicata, em superfície de placas de Ágar MacConkey (Difco®) contendo 100 µg/ml de ácido nalidíxico e espalhadas com espátula de Drigalski.

5.2.5.3- CONTAGEM DE *S. enteritidis* APÓS TRATAMENTO DOS OVOS COM SANIFICANTES

A recuperação de *Salmonella enteritidis* das cascas dos ovos contaminados artificialmente foi feita através da lavagem destes em 5 ml de água peptonada por mais ou menos 1 minuto em saco plástico estéril medindo 25x35 cm com 0,10 mm de espessura.

Aliquotas de 1,0 ml foram utilizadas para diluições decimais em série e plaqueadas com 0,1 ml da diluição e espalhadas com espátula de Drigalski em placas contendo ágar para contagem em duplicata. Após quatro horas (tempo deixado para recuperação das células injuriadas pelo sanificante), foi adicionado uma sobre camada de Ágar MacConkey (Difco), contendo 100µg/ml de ácido nalidixico e incubadas a 37°C por 48 horas em câmaras de BOD.

5.2.5.4 - DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE *S. enteritidis* EM OVOS EXPERIMENTALMETE CONTAMINADOS E A SEGUIR SANIFICADOS

Após retirar a alíquota de 1,0 ml do líquido resultante da lavagem da casca do ovo contaminado com *S. enteritidis* NaI^r exposta ao sanificante, acrescentou-se 5 ml de caldo nutriente, fechando-se a boca da bolsa plástica e incubando-se em seguida a 37°C/24 horas. Após incubação uma alçada da suspensão era transferida para o ágar MacConkey (Difco), contendo 100µg/ml de ácido nalidixico, e

incubado a 37°C/24 horas , para posterior confirmação da presença ou ausência de *Salmonella enteritidis*.

6.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta apresentação dos resultados e discussão queremos enfatizar que o ovo, de um modo geral, pode ser estéril internamente, quando da postura. No momento da postura, o ovo encontra-se recoberto por uma substância mucilaginosa, produzida na parte mais distal do oviduto da galinha, que seca rapidamente ao contato com o ambiente. Esta substância, denominada por vários autores como cutícula, membrana ou película, age como protetora obstruindo os poros, sendo a primeira barreira mecânica.

O ovo, recém posto, contamina-se na cloaca da galinha e, também, no meio ambiente, ar e ninho.

No momento em que a película seca, muitos microrganismos ficam entranhados nesta camada mucóide. Denominamos, assim, de microrganismos ligados, para diferenciar daqueles que contaminam a casca do ovo após a película seca. Essa contaminação pode ser do ambiente ou da manipulação, ao qual chamamos de microrganismos livres na casca. Embora estes microrganismos possam estar agregados ao material orgânico aderido firmemente a casca como é o caso de fezes e sangue.

Quando utilizamos uma solução para lavagem da casca do ovo, obviamente esses microrganismos, que encontram-se livres, são removidos pelo arraste da água. No entanto aqueles, aderidos à matéria orgânica, serão removidos, quando ocorrer a remoção da mesma.

Essa cutícula que recobre a casca do ovo, degenera-se durante a estocagem, facilitando a penetração bacteriana, por isso o manuseio deve ser adequado, para que a contaminação seja a menor possível.

As tabelas que a seguir são apresentadas, foram obtidas das análises microbiológicas realizadas durante o experimento executado no laboratório e na granja.

A Tabela nº 1 mostra a contagem microbiana dos ovos sem a lavagem prévia, com a contaminação oriunda da granja e transporte, já a Tabela nº2 apresenta os resultados do ovos que foram sanificados logo após chegada ao laboratório e sem estocagem, considerado como análise no tempo zero.

As Tabelas de 3 a 20 mostram os resultados da lavagem dos ovos com água e soluções de sanificantes e armazenados em temperaturas controladas de 10, 25 e 38,5°C.

Para cada amostragem usamos a seguinte ordem de apresentação: primeira amostragem a; segunda amostragem b; e terceira amostragem c. O conjunto das três amostragens nos dá condições de compararmos o efeito da limpeza na casca do ovo.

Na Tabela nº21 encontramos os resultados da aplicação dos sanificantes na máquina de limpeza, lembrando que empregamos aqueles sanificantes que apresentaram melhor desempenho de uso, no laboratório.

Os resultados encontrados na tabela nº 22 expressam a qualidade da água dos reservatórios e da água utilizada.

As Tabelas 23 a e 23 b mostram a ação dos sanificantes empregados no experimento sobre a população de *S. enteritidis* resistente a 100µg/ml de ácido nalidixico.

Tabela 1. Contaminação da casca dos ovos imediatamente após postura.

OVOS	MESÓFILOS	PSICROTÓFICOS	COLIFORMES		BOLORES e LEVEDURAS
	UFC**/UNID.	UFC*/UNID.	TOTAIS NMP**/UNID	FECAIS NMP**/UNID.	UFC*/UNIDADE
01	4,3X10 ³	2,6X10 ³	7,5/mL	< 10 ¹	5,0X10 ¹
02	5,0x10 ³	1,5x10 ⁴	1,5/mL	< 10 ¹	1,5x10 ²
03	1,9x10 ⁴	1,2x10 ⁴	3,6/mL	< 10 ¹	4,0x10 ²
04	1,4x10 ⁴	1,1x10 ⁴	1,8/mL	< 10 ¹	3,5x10 ²
05	2,2x10 ⁴	2,2x10 ⁴	< 10 ¹	< 10 ¹	3,0x10 ²
06	3,5x10 ⁴	1,5x10 ⁴	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ²
07	3,6x10 ⁴	7,1x10 ³	< 10 ¹	< 10 ¹	3,0x10 ²
08	9,9x10 ³	3,9x10 ³	< 10 ¹	< 10 ¹	1,5x10 ²
09	1,0x10 ⁴	7,5x10 ³	< 10 ¹	< 10 ¹	1,5x10 ²
10	2,6x10 ⁴	7,8x10 ³	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ²
Média	1,8x10 ⁴	1,0x10 ⁴	1,4	< 10 ¹	2,4x10 ²

*Unidades Formadoras de Colônias

**Numero Mais Provável

Os ovos coletados e submetidos a análise microbiológica imediatamente após postura (sem lavagem prévia) e recém chegados ao laboratório apresentaram um grau de contaminação da casca com média de $1,8 \times 10^4$ UFC/Unidade de bactérias mesófilas aeróbias, de $1,0 \times 10^4$ UFC/Unidade para bactérias psicotróficas e de $2,4 \times 10^2$ UFC/Unidade para bolores e leveduras. Os coliformes totais com o número mais provável de 1,4 células/unidade e os coliformes fecais $< 10^1$ (Tabela 1).

A população microbiana que encontramos na casca dos ovos diferencia-se daquelas encontradas por AHN *et alii* (1981), na qual consideraram o grau de contaminação natural da casca de $3,2 \times 10^7$ UFC/unidade como muito sujo e de $1,9 \times 10^6$ UFC/unidade como moderadamente sujo e consideraram limpos os que possuíam contagem de $2,7 \times 10^5$ UFC/unidade. Os ovos que utilizamos no

experimento possuíam pequenas manchas de fezes e também resíduo de matéria orgânica vistas a olho nu.

Tabela 2. Contaminação da casca de ovos submetidos imediatamente após postura a tratamentos diferentes com várias concentrações de sanificantes e lavagem com água.

Tratamentos	Concentração	Mesófilos UFC*/Unidade	Psicótr. UFC*/Unidade	Coliformes totais NMP**/Unidade	C.fecais NMP**/Unidade	Bolores e Leveduras UFC**/Unidade
CAQ/Hoechst	1/500	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
CAQ/Hoechst	1/1000	2,5x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹
CAQ/Clean Shell	1/500	<10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹
Hipoclorito de sódio/Quimitrol	5,8 mg/L	9,0x10 ²	3,0x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ¹
Hipoclorito de sódio/Quimitrol	50 mg/L	5,0x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	<10 ¹
Hipoclorito de sódio/Quimitrol	100 mg/L	2,5x10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹
Ácido acético Merck	2%	1,5x10 ²	2,0x10 ²	< 10 ¹	<10 ¹	<10 ¹
Ácido acético Merck	3%	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹
ÁGUA destilada		4,0x10 ²	2,5x10 ²	< 10 ¹	<10 ¹	2,0x10 ²
Sem Tratamento		1,8x10 ⁴	1,0x10 ⁴	1,4	<10 ¹	2,4x10 ²

CAQ= composto de amônio quaternário,

* Unidades Formadoras de colônias

**Número Mais Provável

O uso dos sanificantes empregados sobre as cascas dos ovos recém chegados ao laboratório demonstrou, após análise microbiológica, que os melhores resultados foram obtidos com o composto de amônio quaternário Hoechst®, diluído 1/500, como para o produto “clean shell” também na diluição 1/500, ocorrendo, no primeiro caso redução de 4 ciclos logarítmicos, para os mesófilos e 3 ciclos logarítmicos para os psicotróficos, para o segundo caso a redução foi de 4 ciclos logarítmicos tanto para os mesófilos como para os psicrófilos, quando comparado com a média da contagem global dos ovos examinados, logo após terem sido botados. Tabela 1.

O hipoclorito de sódio, na concentração de 100 mg/L também reduziu em 4 ciclos logarítmicos os microrganismos psicrotróficos e em 3 ciclos os microrganismos mesófilos. Nos demais casos a redução ficou em média de 2 a 3 ciclos logarítmicos.

Já a contagem de bolores e leveduras foi reduzida em 2 ciclos logarítmicos para o uso do composto quaternário de amônio diluído 1/500, a partir da concentração de 50%, a fórmula comercial “clean shell”, também reduziu em 2 ciclos, o mesmo acontecendo com o hipoclorito de sódio 100 mg/L e com ácido acético a 2 %. Não foram recuperadas células de coliformes, da casca dos ovos, apresentando-se sempre com contagem $< 10^1$, (Tabela 2). Nas outras diluições, a redução foi de apenas 1 ciclo logarítmico. No uso da água destilada para a lavagem da casca do ovo não houve redução significativa, permanecendo com a mesma população apresentada antes da lavagem.

Na literatura consultada existem trabalhos em que foram usadas concentrações de sanificantes próximas das que usamos no nosso experimento, sendo que as mesmas apresentaram reduções e em alguns casos provocaram injúrias dos microrganismos. No início dos trabalhos realizados com sais quaternários de amônia FANSLAU (1939), usou uma solução aquosa na diluição 1/1000, destruindo cepas de *S. aureus* com o tempo de exposição por 10 minutos, também PENNIGTON & HEDRICK (1944) reduziu a população microbiana de contaminantes da casca do ovo na ordem de 10^6 com o tempo de lavagem entre 3 a 5 minutos.

O tempo que utilizamos no nosso experimento foi de 30 segundos, com isso observamos que, o composto quaternário de amônia na concentração de 1/500,

apresentou redução mais significativa que na diluição 1/1000, podemos considerar que além do efeito bactericida, à ação da espuma produzida durante a agitação e o pequeno grau de detergência do composto também ajudaram na remoção das sujidades da casca do ovo.

O composto de amônio quaternário comercial (Clean shell[®]), embora com o princípio ativo em menor quantidade em relação ao empregado na diluição 1/500 e 1/1000, apresentou também resultados significativos na redução da microbiota da casca do ovo, e aqui devemos considerar mais um fator além dos já considerados anteriormente, que é o pH da solução do Clean shel[®] que permanece em torno de 10. O efeito de uma solução alcalina com pH entre 9,0 e 10 sobre salmonelas causa sua inativação, (HOLLEY & PROULX ,1986). (KINNER & MOATS, 1981) destruíram rapidamente células de coliformes com água de lavagem em pH 10-11.

Neste trabalho verificamos que o hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L, reduziu a população microbiana semelhante ao composto quaternário de amônio. A esta mesma concentração SHANON *et alii* (1964) consideraram como um bom sanificante contra enterococos, no tempo de 15 segundos.

AHN *et alli* (1981), reduziram a microbiota da casca de ovos em 3 ciclos logarítmicos com 130 ppm de cloro livre.

A concentração de 50 mg/L de cloro ativo demonstra uma redução apenas de 2 ciclos logarítmicos para os mesófilos e 3 ciclos para os psicotróficos enquanto que, a 5,8 mg/L, de cloro ativo a redução foi apenas de 2 ciclos para ambas.

Semelhante fato ocorreu com o uso da água destilada, daí acreditamos que o efeito do arraste que a água provoca, removendo os microrganismos da casca do ovo tenha também ocorrido na concentração de 5,8 mg/L de cloro livre, embora SHEUSNER *et alii* (1971) tenham descrito a ocorrência de injúria das células bacterianas expostas a concentração de 5,25ppm de cloro ativo, no tempo de 60 segundos.

A solução de ácido acético a 2% reduziu em 2 ciclos logarítmicos a população de mesófilos, psicrotróficos, bolores e leveduras. Já a solução a 3% reduziu em 2 ciclos logarítmicos os mesófilos e em 3 ciclos os psicrotróficos.

O ácido acético por ser de baixa toxicidade para o ser humano e possuir ação bactericida reconhecida é recomendado como sanificante por ADAMS (1988). Porém reage com os componentes da casca do ovo, principalmente com os sais de cálcio, resultando numa reação ácido/base, provocando a desmineralização, conseqüentemente atacando a integridade da cutícula que envolve o ovo.

Tabela 3 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrót. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	psicrot ufc/unid	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	6,0x10 ²	1,0x10 ²	3,5x10 ³	3,0x10 ²	3,7x10 ²	1,5x10 ²
15"/ 40°C	1,2x10 ³	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	5,7x10 ²	4,2x10 ¹
30"/ 25°C	3,5x10 ²	1,0x10 ²	7,5x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ²	2,0x10 ²	5,4x10 ²	1,3x10 ²
30"/ 40°C	4,0x10 ²	5,0x10 ¹	6,0x10 ²	2,5x10 ¹	4,0x10 ²	5,0x10 ¹	4,7x10 ²	4,2x10 ¹
Controle	2,8x10 ³	2,0x10 ²	2,8x10 ³	2,0x10 ²	2,8x10 ³	2,0x10 ²	2,8x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 3 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,4x10 ³	1,0x10 ²	3,0x10 ²	1,0x10 ²	3,0x10 ²	2,0x10 ²	6,7x10 ²	1,3x10 ²
15"/ 40°C	<10 ¹	2,0x10 ²	4,0x10 ²	1,5x10 ²	2,5x10 ²	2,0x10 ²	2,2x10 ²	1,8x10 ²
30"/ 25°C	6,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ²	1,5x10 ²	4,5x10 ²	2,5x10 ²	5,2x10 ²	1,7x10 ²
30"/ 40°C	3,5x10 ²	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	2,0x10 ²	<10 ¹	2,4x10 ²	1,6x10 ¹
Controle	1,5x10 ³	1,2x10 ³	1,5x10 ³	1,2x10 ³	1,5x10 ³	1,2x10 ³	1,5x10 ³	1,2x10 ³

Tabela 3 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesof. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesófil. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid
15"/ 25°C	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	1,0x10 ²	7,0x10 ²	2,5x10 ²	3,0x10 ²	1,3x10 ²
15"/ 40°C	4,5x10 ³	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	1,0x10 ²	3,5x10 ²	3,0x10 ²	1,7x10 ³	1,5x10 ²
30"/ 25°C	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,5x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,2x10 ²	6,7x10 ¹
30"/ 40°C	1,3x10 ³	1,0x10 ²	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	4,8x10 ²	1,5x10 ²
Controle	3,5x10 ²	2,0x10 ²	3,5x10 ²	2,0x10 ²	3,5x10 ²	2,0x10 ²	3,5x10 ²	2,0x10 ²

Na sanificação da casca dos ovos com o hipoclorito de sódio na concentração de 5,8 mg/L, de cloro livre, após a armazenagem por 7 dias em câmara com temperatura controlada para 10°C, foi constatada redução da população microbiana em 2 ciclos logarítmicos, tanto no tempo de exposição de 15 segundos como no de 30 segundos.

A temperatura da água de 25°C e 40°C, utilizada para a lavagem dos ovos, pouco influenciou na redução das bactérias psicrótróficas, sendo que, em ambas, a redução alcançou 1 ciclo logarítmico comparando a média dos psicrótróficos com o ovo controle (Tabela 3a) e de 2 ciclos logarítmicos quando comparado com a Tabela 1. Já os bolores e leveduras sofreram redução na média de 1 ciclo logarítmico no tempo/temperatura 15"/40°C e 30"/40°C da solução sanificante.

A mesma média ocorreu para as bactérias psicrótróficas encontradas na casca dos ovos armazenados a 25°C, tabela 3b, com destaque para o tempo/temperatura da solução de 15"/40°C, que apresentou contagem <10 na amostragem 1. Os bolores e leveduras no tempo/temperatura 30"/40°C na amostragem 3 também apresentaram população < 10¹.

Já para as bactérias mesófilas encontradas na casca dos ovos armazenados a temperatura de 38,5° C ocorreu redução de 2 ciclos logarítmicos, quando comparado com a Tabela 1. Na tabela 3c podemos observar o tempo/temperatura de 15"/40°C e 30"/40°C da amostragem 1 que a população de 4,5x10³ UFC/unid.e 1,3x10³ UFC/unid., respectivamente, não foram reduzidas. Para esses casos podemos supor que: sendo os ovos imersos na solução de hipoclorito sem limpeza dos resíduos de fezes, as mesmas poderiam ter permanecido,

diminuindo a atividade antibacteriana do hipoclorito, e essa matéria orgânica possa ter contribuído como substrato para a multiplicação das células que encontravam-se na fase de crescimento.

Já para os bolores e leveduras não houve variação na população, quando comparada a contagem com a população inicial e com o ovo controle, apresentando redução de apenas 1 ciclo logarítmico no tempo/temperatura de 30"/25°C

Na leitura dos tubos tanto de caldo lauril sulfato como no caldo verde brilhante o NMP (número mais provável) evidenciou-se que os coliformes apresentaram população <10.

Tabela 4 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bolores ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ²	1,0x10 ²	4,0x10 ²	1,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	3,7x10 ²	9,2x10 ¹
15"/ 40°C	1,1x10 ³	1,0x10 ²	3,0x10 ²	1,5x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ²	5,4x10 ²	1,2x10 ²
30"/ 25°C	1,0x10 ³	5,0x10 ¹	5,0x10 ³	7,0x10 ²	1,1x10 ³	7,0x10 ²	2,4x10 ³	4,8x10 ²
30"/ 40°C	5,0x10 ²	2,0x10 ²	1,3x10 ³	2,5x10 ²	3,0x10 ²	< 10 ¹	7,0x10 ²	1,5x10 ²
Controle	6,2x10 ³	1,5x10 ²	6,2x10 ³	1,5x10 ²	6,2x10 ³	1,5x10 ²	6,2x10 ³	1,5x10 ²

Tabela 4 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	2,5x10 ²	5,0x10 ²	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	1,8x10 ²	2,3x10 ²
15"/ 40°C	1,5x10 ³	2,5x10 ²	3,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ²	3,0x10 ²	7,7x10 ²	2,2x10 ²
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	2,8x10 ³	5,0x10 ¹	8,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,2x10 ³	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,0x10 ²	1,5x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ²	7,5x10 ¹	1,0x10 ²	1,6x10 ²	1,2x10 ²
Controle	5,9x10 ³	7,5x10 ²						

Tabela 4 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 5,8 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	1,5x10 ²	4,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	7,5x10 ¹
15"/ 40°C	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,2x10 ³	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	4,7x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	5,0x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	1,8x10 ²	5,0x 10 ¹
Controle	2,2x10 ³	5,0x10 ²	2,2x10 ³	5,0x10 ²	2,2x10 ³	5,0x10 ²	2,2x10 ³	5,0x10 ¹

No exame da semeadura nas placas para contagem total de psicrotróficos, bolores e leveduras, realizada com ovos sanificados com hipoclorito de sódio na concentração de 5,8 mg/L de cloro livre e armazenados em câmaras com temperaturas controladas a 10°C por 14 dias, Constatamos que não houve redução da população de psicrotróficos, no tempo/temperatura de 30"/25°C para primeira e terceira amostragem, demonstrados na Tabela 4a. Ao considerarmos a média das três amostragens, visualizamos, no tempo/temperatura de 30"/25°C, que a redução é nula quando comparado com o ovo controle, sendo que nos demais casos a redução foi de 1 ciclo logarítmico.

Já a redução dos bolores e leveduras pode ser percebido que foi insignificante no tempo/temperatura 15"/25°C.

Para os ovos estocados a 25°C, observa-se que a média dos psicrotróficos permanece com a população de 10^3 no tempo/temperatura 30"/25°C, enquanto os bolores e leveduras apresentam redução de 1 ciclo logarítmico, para as demais situações a redução dos psicrotróficos foi de 1 ciclo logarítmico sem redução para os bolores e leveduras, comparados com o ovo controle (tabela 4b).

Para os ovos armazenados na temperatura de 38,5°C, após exame microbiológico, a média demonstra redução 2 ciclos logarítmicos para os mesófilos e de 1 ciclo para os bolores e leveduras; no caso dos mesófilos, a redução foi de 3 ciclos logarítmicos para tempo/temperatura 15"/25°C. Já para os bolores e leveduras destaca-se uma redução de 2 ciclos logarítmicos no tempo/temperatura 15"/40°C e 30"/40°C respectivamente, Tabela 4c.

Os coliformes totais avaliados pelo método do Número Mais Provável (NMP), registraram uma população < 10 .

O tempo de exposição dos ovos ao sanificante e a temperatura da solução do sanificante, à primeira vista, parece não ter influenciado na redução da população, pois em ambos os casos a redução ficou próximo de 1 ciclo logarítmico, este resultado pode ser atribuído, provavelmente, ao arraste mecânico das células pela água e também pela ação do sanificante e ainda a injúria provocada pela dessecação, à temperatura de estocagem.

É assim possível que durante a estocagem as células tenham morrido, conseqüentemente, reduzindo a população dos contaminantes.

Os resultados obtidos estão de acordo com os de GILLESPIE *et alii* (1950) que verificaram que a lavagem dos ovos com água, contendo 5,0 ppm de cloro livre, reduz a contagem da superfície mais do que os lavados somente com água.

Nas Tabelas 4a e 4b onde a população permaneceu em torno de 10^3 , supostamente tenha ocorrido a multiplicação dos psicrotróficos após a neutralização do sanificante, sendo que o resíduo de matéria orgânica presente tenha servido como substrato para as bactérias que encontravam-se na fase de multiplicação.

Tabela 5 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid
15"/ 25°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	8,0x10 ²	1,5x10 ²	4,0x10 ²	5,0x10 ¹	4,5x10 ²	8,3x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	1,0x10 ²	7,5x10 ²	2,5x10 ²	7,5x10 ¹	2,0x10 ²	3,1x10 ²	1,8x10 ²
30"/ 25°C	5,0x10 ²	1,5x10 ²	3,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,8x10 ²	1,3x10 ²
30"/ 40°C	7,5x10 ²	< 10 ¹	5,5x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	4,5x10 ²	3,3x10 ¹
Controle	2,3x10 ³	2,0x10 ²						

Tabela 5 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid
15"/ 25°C	4,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,1x10 ³	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	7,5x10 ¹	5,3x10 ²	5,8x10 ¹
15"/ 40°C	3,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	<10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	2,5x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	<10 ¹	6,7x10 ¹	1,2x10 ²
30"/ 40°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,2x10 ²	1,7x10 ¹
Controle	1,8x10 ³	2,0x10 ²						

Tabela 5 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid	bol/lev. ufc/unid
15"/ 25°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ²	1,2x10 ²
15"/ 40°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	1,3x10 ²	9,2x10 ¹
30"/ 25°C	2,0x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	<10 ¹	8,3x10 ¹	8,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	<10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,3x10 ²	< 10 ¹
Controle	2,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ²	2,0x10 ²

A concentração de hipoclorito de sódio de 50 mg/L de cloro livre provocou uma redução constante na média da população microbiana na ordem de 1 ciclo logarítmico para psicrótrofos no ovo armazenado na temperatura de 10°C, quando comparados com o controle e, de 2 ciclos, quando comparados com a Tabela 1.

Já os bolores e leveduras sofreram redução significativa, alcançando até $< 10^1$ para os tempos e temperaturas de 15"/25°C e 30"/40°C (Tabela 5a).

Houve redução de 3 ciclos na contagem dos psicrótrofos na casca dos ovos armazenados a 25°C, a população chegou a $< 10^1$ para o tempo temperatura 30"/25°C. Na média geral a redução foi de 1 ciclo logarítmico. A contagem de bolores e leveduras não diminuiu. Apenas 1 caso foi registrado no tempo/temperatura 30"/25°C que a população reduziu para $< 10^1$, terceira amostragem (Tabela 5b).

A diminuição das bactérias mesófilas na casca dos ovos armazenados a temperatura 38,5°C pode ser vista na Tabela 5c, em que a população se apresentou com semelhança a já vista com os psicrótrofos da Tabela 5b, com redução de 2 ciclos para tempo/temperatura 30"/25°C. No entanto, os bolores e leveduras sofreram uma redução de 1 ciclo logarítmico, no tempo/temperatura 15"/40°C, 30"/25°C e de 2 ciclos, no 30/40°C.

De um modo geral o tempo que apresentou maior eficácia foi de 30 segundos de exposição do sanificante sobre os bolores e leveduras contidos na casca do ovo.

Tabela 6 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	<10 ¹	1,5x10 ²	5,0x10 ¹
15"/ 40°C	6,5x10 ²	2,5x10 ²	5,5x10 ²	2,5x10 ¹	4,5x10 ²	5,0x10 ¹	5,5x10 ²	1,1x10 ²
30"/ 25°C	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,3x10 ²	6,6x10 ¹
30"/ 40°C	6,0x10 ²	<10 ¹	7,0x10 ²	< 10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	5,3x10 ²	< 10 ¹
Controle	8,0x10 ²	3,0x10 ²	8,0x10 ²	3,0x10 ²	8,0x10 ²	3,0x10 ²	8,0x10 ²	3,0x10 ²

Tabela 6 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	6,6x10 ¹	2,5x10 ¹
15"/ 40°C	<10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	<10 ¹	1,5x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	6,6x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹
Controle	1,1x10 ³	2,0x10 ²	1,1x10 ³	2,0x10 ²	1,1x10 ³	2,0x10 ²	1,1x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 6 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 50 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	8,3x10 ¹	9,2x10 ¹
15"/ 40°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,1x10 ²	< 10 ¹
30"/ 40°C	4,5x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ²	< 10 ¹
Controle	5,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ²	2,0x10 ²

Aos 14 dias da armazenagem a 10°C os ovos sanificados com hipoclorito de sódio na concentração de 50 mg/L, vimos que a população das bactérias psicrotróficas, apresentaram-se similar àquela vista aos 7 dias, com redução de 1 ciclo logarítmico. Para os bolores e leveduras a redução foi mais significativa no tempo/temperatura de 30"/40°C (Tabela 6a).

A temperatura de armazenagem a 25°C aponta que na média houve redução apenas de 1 ciclo logarítmico das bactérias psicrotróficas, quando comparada com o ovo controle no tempo/temperatura 15"/40°C. Nas demais situações a redução foi de 2 ciclos logarítmicos. Já os bolores e leveduras foram reduzidos a contagem $< 10^1$ no tempo/temperatura 30"/40°C, sendo que as demais reduções foram de 1 ciclo logarítmico (Tabela 6b).

Para os ovos armazenados à temperatura de 38,5°C, as bactérias mesófilas não foram reduzidas quando comparado com o ovo controle, porém a redução foi em torno de 2 ciclos logarítmicos, quando comparado com a média dos apresentados na Tabela 1, podendo ser destacado como redução o tempo/temperatura de 15"/25°C. Os bolores e leveduras foram reduzidos em 1 ciclo logarítmico, no tempo de exposição de 15 segundos e em 2 ciclos, no tempo de 30 segundos Tabela 6c.

O hipoclorito de sódio, na concentração de 50 mg/L, demonstra uma melhor atuação sobre os microrganismos encontrados livremente na casca do ovo. O experimento realizado por BARTLET (1993) demonstra a eliminação completa das cepas de *Listeria monocytogenes* encontradas livres nas cascas dos ovos, quando lavados com hipoclorito de sódio, na concentração de 50 mg/L.

Tabela 7 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	5,0x10 ³	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	6,7x10 ¹	4,2x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	2,5x10 ³	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,8x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	7,5x10 ¹	3,3x10 ¹	9,2x10 ¹
30"/ 40°C	7,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	4,2x10 ¹	3,3x10 ¹
Controle	3,1x10 ³	5,0x10 ²	3,1x10 ³	5,0x10 ²	3,1x10 ³	5,0x10 ²	3,1x10 ³	5,0x10 ²

Tabela 7 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	1,0x10 ³	2,5x10 ¹	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,8x10 ¹	5,3x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	5,0x10 ³	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	8,3x10 ¹	5,0x10 ¹
30"/ 25°C	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	6,7x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	5,0x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	< 10 ¹
Controle	1,2x10 ³	3,0x10 ²	1,2x10 ³	3,0x10 ²	1,2x10 ³	3,0x10 ²	1,2x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 7 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.	mesóf. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,8x10 ¹	2,5x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹
30"/ 40°C	<10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	4,0x10 ²	3,0x10 ²	4,0x10 ²	3,0x10 ²	4,0x10 ²	3,0x10 ²	4,0x10 ²	3,0x10 ²

O exame microbiológico da casca dos ovos armazenados a 10°C e 25°C aponta que a população dos microrganismos psicrotróficos sofreu redução de 2 ciclos logarítmicos, quando comparados como ovo controle e de 3 ciclos, quando comparado com a Tabela 1, sendo a redução dos bolores e leveduras também constante na ordem de 1 ciclo logarítmico, em função da ação do hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L Tabelas 7a e 7b.

No caso das bactérias mesófilas aeróbias também constatou-se redução de 3 ciclos logarítmicos, no tempo de 15 segundos e de 4 ciclos, no tempo de exposição de 30 segundos, quando comparado com a Tabela 1. Já os bolores e leveduras passaram também por redução significativa, nas temperaturas de armazenagem de 38,5°C (Tabela 7c), demonstrando dessa forma que a concentração de hipoclorito de sódio, com 100 mg/L de cloro livre, foi mais efetivo contra as bactérias mesófilas e também para os bolores e leveduras que encontravam-se na casca do ovo.

Tabela 8 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	1,7x10 ¹
15"/ 40°C	7,5x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	6,7x10 ¹	< 10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	2,0x10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	6,0x10 ²	2,5x10 ²	6,0x10 ²	2,5x10 ²	6,0x10 ²	2,5x10 ²	6,0x10 ²	2,5x10 ²

Tabela 8 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	7,5x10 ¹	6,7x10 ¹	7,5x10 ¹
15"/ 40°C	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	8,3x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	1,0x10 ²	<10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	4,2x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	4,2x10 ¹
Controle	1,2 x10 ³	2,0x10 ²	1,2x10 ³	2,0x10 ²	1,2x10 ³	2,0x10 ²	1,2x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 8 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio contendo 100 mg/mL de cloro livre a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	5,8x10 ¹	3,3x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²

Após armazenagem por 14 dias dos ovos sanitizados com hipoclorito de sódio a 100 mg/L de cloro livre, foi observado redução na média da microbiota da superfície da casca do ovos de 3 ciclos logarítmicos, para as bactérias psicrotróficas e de 2 ciclos para os bolores e leveduras, nos ovos armazenadas a 10°C (Tabela 8a).

Na temperatura de armazenagem a 25°C a redução das bactérias psicrotróficas, bolores e leveduras tiveram o mesmo êxito (Tabela 8b) O mesmo ocorrendo com as bactérias mesófilas também encontradas na casca dos ovos armazenados a 38,5°C, (Tabelas 8c), destacando-se que, o melhor tempo de exposição, foi o de 30 segundos. Onde podemos observar que o resultado da contagem foi independente da temperatura de armazenamento, em alguns casos atingiu índice <10, quando comparado com a contagem da população microbiana da casca dos ovos sem lavagem prévia (Tabela 1). Quando comparado com o ovo controle sem lavagem prévia e armazenado nas mesmas condições, a redução pode ser considerada apenas de 1 ciclo logarítmico. Essa variação se deve talvez que cada ovo seja um referencial isolado, em função que depende da contaminação individual desde a postura até as mãos do coletador.

Com o hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L de cloro livre Tabelas 7 e 8 (a,b,c), tanto para os psicrotróficos, mesófilos, bolores e leveduras a redução foi mais expressiva. Aqui acreditamos ter ocorrido uma ação mais efetiva.

BARTLET (1993) eliminou completamente cepas de *Listeria monocytogenes* encontradas livres nas cascas dos ovos, quando sanitizados com hipoclorito de sódio na concentração de 100 ppm.

No experimento que realizamos, em alguns casos, a redução atingiu população $< 10^1$, então podemos considerar que o hipoclorito tenha reduzido as células que se encontravam livremente na casca dos ovos, resultante da contaminação ambiental após secagem da película que envolve a casca, porém aquelas aderidas a película antes da secagem tenham permanecido após a neutralização do sanificante, aparecendo depois no momento da fricção realizada na casca do ovo, dentro do saco plástico para o exame bacteriológico.

GENTRY & QUARLES (1972) consideraram eficiente o método para determinação das bactérias da casca do ovo, usando bolsa plástica estéril.

Dos ovos que foram submetidos ao hipoclorito de sódio, após serem analisados, não apresentaram contagem para os coliformes pelo método do Número Mais Provável às três concentrações. Testando o efeito do composto clorado com outro indicador de poluição fecal os *enterococos*, SHANON *et alii* (1964) afirmaram que o uso do cloro, com 100 ppm num tempo de 15 segundos, é efetivo como um agente saneante.

O hipoclorito apresenta-se com bons resultados, por isso deve ser considerado como um bom sanificante, porém no uso rotineiro nas granjas pode apresentar certas dificuldades, pois é um produto pouco estável. Se não for usado na concentração certa, não é ativo como sanificante, e perde atividade durante a armazenagem e na presença de material orgânico.

Segundo BIANCO (1986), uma solução de hipoclorito a 5% aos 20°C decompõe-se 3%. O cloro por ser altamente instável em solução não pode ser estocado, TROLLER (1983).

Outra situação em que o composto clorado apresenta desvantagem é nas máquinas usadas para lavagem e classificação dos ovos, pois os pêndulos utilizados para a pesagem são oxidados pelo cloro, danificando as máquinas.

Portanto a concentração de 50 e 100 mg/L torna-se anti econômico tendo em vista a redução da vida útil das máquinas.

Tabela 9(a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	< 10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	0,8x10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	2,7x10 ³	2,0x10 ²	2,7x10 ³	2,0x10 ²	2,7x10 ³	2,0x10 ²	2,7x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 9 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	1,0x10 ²	5,8x10 ¹	6,0x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	1,7x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	3,3x10 ¹
Controle	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²

Tabela 9 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,8x10 ¹	3,3x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	7,5x10 ¹	0,8x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	< 10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	0,8x10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	6,5x10 ²	2,5x10 ²	6,5x10 ²	2,5x10 ²	6,5x10 ²	2,5x10 ²	6,5x10 ²	2,5x10 ²

O composto quaternário de amônio (cloreto di alquil dimetil benzil amônio) na concentração de 50 % diluído 1/500, apresentou uma ação eficaz na redução das bactérias psicrotróficas contaminantes, pois reduziu em 3 ciclos logarítmico a população da casca dos ovos armazenados a 10°C, quando comparada com a população inicial demonstrada na tabela 1, e de 2 ciclos, comparado ao ovo controle, Tabela 9a.

Os bolores e leveduras tiveram redução de um ciclo logarítmico com destaque para a média do tempo/temperatura de 15"/40°C, onde a população foi reduzida a <10.

Pode ser observado, na Tabela 9b, que a população de psicrotróficos foi reduzida em 3 ciclos no tempo de exposição de 15 segundos e de 4 ciclos para o tempo de 30 segundos, quando comparada com a Tabela 1

Os ovos armazenados à temperatura de 38,5°C apresentaram redução das bactérias mesófilas, bolores e leveduras semelhante àquelas apresentadas para as bactérias psicrotróficas encontradas na casca dos ovos armazenados a 10°C e 25°C.

Percebemos que o tempo de exposição e a temperatura da água contendo o sanificante não foram fatores de interferência para uma maior ou menor redução da carga microbiana, pois a redução aconteceu em todas temperaturas de armazenagem, bem como nos tempo de exposição e temperatura da solução para a sanificação da casca do ovo (Tabela 9a,b e c).

O composto de amônio quaternário mostrou-se também efetivo contra os bolores e leveduras, uma vez que na maior parte deste experimento envolvendo as três amostragens, a população ficou reduzida a 10^1 e <10.

Tabela 10 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10 °C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	<10 ¹	8,3x10 ¹	0,8x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	8,3x10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	9,0x10 ²	2,0x10 ²	9,0x10 ²	2,0x10 ²	9,0x10 ²	2,0x10 ²	9,0x10 ²	2,0x10 ²

Tabela 10(b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x 10 ¹	2,0x10 ²	<10 ¹	7,5x10 ¹	0,8x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,7x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	1,7x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 40°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	3,3x10 ¹	< 10 ¹
Controle	8,0x10 ²	5,0x10 ²	8,0x10 ²	5,0x10 ²	8,0x10 ²	5,0x10 ²	8,0x10 ²	5,0x10 ²

Tabela 10 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	1,0x10 ²	7,5x10 ¹	8,3x10 ¹	4,2x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,7x10 ¹	4,2x10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	1,7x10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²

Os ovos sanificados com composto de amônio quaternário na concentração de 50% diluído 1/500 e armazenados por 14 dias em câmaras com temperaturas controladas de 10°C e 25°C, apresentaram redução das bactérias psicrotróficas de 3 ciclos logarítmicos, o mesmo acontecendo com as bactérias mesófilas, dos ovos armazenados a 38,5°C (Tabelas 10a, 10b e 10c), quando comparado com os ovos sem lavagem prévia (Tabela 1).

Comparando o tempo de armazenagem de 7 dias e 14 dias, podemos verificar que não há diferença expressiva na contagem das bactérias das cascas dos ovos, também o mesmo ocorrendo quando relacionamos tempo/temperatura de exposição da casca ao sanificante, em que houve casos em que a população apresentou-se <10 , demonstrando que a importância maior encontra-se no princípio ativo do sanificante utilizado.

De um modo geral a população de bolores e leveduras sofre redução em média de 1 ciclo logarítmico tabela 10a e b, ocorrendo um caso isolado, onde se aponta redução da população para $<10^1$, expressa na Tabela 10b.

Tabela 11 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	<10 ¹	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	6,7x10 ¹	5,0x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ²	7,5x10 ¹	2,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	1,7x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	4,0x10 ³	2,5x10 ²	4,0x10 ³	2,5x10 ²	4,0x10 ³	2,5x10 ²	4,0x10 ³	2,5x10 ²

Tabela 11 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,5x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	3,5x10 ²	2,0x10 ²	3,5x10 ²	9,2x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,7x10 ²	2,5x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹	1,3x10 ²
30"/ 40°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	4,2x10 ¹	5,0x10 ¹
Controle	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 11 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	<10 ¹	4,2x10 ¹	8,3x10 ¹
15"/ 40°C	2,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹	5,0x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
Controle	3,5x10 ²	2,5x10 ²	3,5x10 ²	2,5x10 ²	3,5x10 ²	2,5x10 ²	3,5x10 ²	2,5x10 ²

Aos 7 dias de armazenamento, à temperatura de 10°C, os ovos sanitizados com composto de amônio quaternário, na concentração de 50% na diluição 1/1000, sofreram uma redução de 3 ciclos logarítmicos da contaminação inicial, comparando-se à contagem inicial sem lavagem prévia Tabela 1 e de dois ciclos, quando comparada com o ovo controle Tabela 11a.

Podemos observar que a diferença do tempo/ temperatura de exposição 30"/25°C, a redução foi de apenas 1 ciclo, os bolores e leveduras mantiveram a redução constante de 1 ciclo em todas as temperaturas de exposição do sanitizante.

O mesmo ocorrendo com os ovos armazenados a 25°C, sendo que a redução foi de apenas 1 ciclo para o tempo/temperatura de 15"/40°C Tabela 11b, da mesma forma os ovos armazenados a 38,5° C também apresentaram redução de 1 ciclo logarítmico no tempo/temperatura de 15"/40°C° Tabela 11c.

Para as três amostragens demonstrada na tabela 11c, a redução dos mesófilos foi mais constante no tempo de 30 segundos de exposição, os bolores e leveduras também sofreram a mesma redução.

Tabela 12 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	2,5x10 ¹	3,0x10 ²	5,8x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	7,5x10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	4,2x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	8,3x10 ¹	5,0x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	4,2x10 ¹
Controle	9,6x10 ³	2,0x10 ²	9,6x10 ³	2,0x10 ²	9,6x10 ³	2,0x10 ²	9,6x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 12 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amonia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrót. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	6,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	4,5x10 ²	5,0x10 ¹	3,6x10 ²	7,5x10 ¹
15"/ 40°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	1,5x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	3,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	1,2x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	6,7x10 ²	4,2x10 ¹
Controle	5,5x10 ³	5,0x10 ²	5,5x10 ³	5,0x10 ²	5,5x10 ³	5,0x10 ²	5,5x10 ³	5,0x10 ²

Tabela 12 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a 50% diluído 1/1000 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	4,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	<10 ¹	2,2x10 ²	2,5x10 ¹
15"/ 40°C	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	9,2x10 ¹	4,2x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	<10 ¹	7,5x10 ¹	<10 ¹	7,5x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹
Controle	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²	3,8x10 ³	5,0x10 ²

Os ovos sanificados com composto de amônio quaternário na concentração de 50% diluído 1/1000 e armazenados por 14 dias à temperatura de 10°C, 25°C e 38,5°C, apresentados na tabela 12a, b e c, demonstram também que o composto possui nesta diluição uma ação germicida, pois a redução foi em 3 ciclos logarítmicos para as bactérias psicrotróficas e mesófilas, comparada com a Tabela 1, já os bolores e leveduras na mesma diluição sofreram redução de um ciclo logarítmico nas três diferentes temperaturas de estocagem, tabelas 12a,b e c.

Encontramos uma população em torno de 10^2 nas três diferentes temperaturas de armazenamento, após 14 dias de estocagem numa única variável de tempo/temperatura 15"/25°C. Isto parece que o tempo de exposição é insuficiente para remover as células da casca do ovo e agir sobre as mesmas, pois acreditamos que o quaternário de amônia tem ação removedora, o que facilita a limpeza da superfície e em segundo plano essa concentração teria uma ação leve como germicida.

Na década de trinta, FANSLAU (1939), usando uma solução aquosa na diluição 1/1000 de um composto de amônio quaternário, constatou a destruição de *S. aureus*, no tempo de 10 minutos de exposição.

Na prática rotineira de uma granja, o produto obviamente não será neutralizado da maneira como fizemos no experimento utilizando Twen 80 mais lecitina de soja com o intuito de melhor examinar o tempo de atuação do sanificante. Se considerarmos que, durante a armazenagem dos ovos, o produto continuará atuando, portanto a contagem final será mínima, pois ocorrerá inibição e destruição das bactérias que por ventura venham recontaminar o ovo.

PENNINGTON & HEDRICK (1944), quando submeteram uma população de 6×10^6 na presença de um composto de amônio quaternário com o tempo entre 3 - 5 minutos, encontraram baixa contagem e, em alguns casos, ausência dos contaminantes.

Tabela 13 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	<10 ¹	5,8x10 ¹	6,7x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	7,5x10 ¹	1,7x10 ¹	8,3x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	7,5x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	0,8x10 ¹	2,5x10 ¹
Controle	1,7x10 ³	2,0x10 ²	1,7x10 ³	2,0x10 ²	1,7x10 ³	2,0x10 ²	1,7x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 13 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	<10 ¹	2,0x10 ²	1,0x10 ²	9,2x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	6,3x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	0,8x10 ¹
Controle	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²	1,4x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 13 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	3,3x10 ¹	3,3x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ¹	< 10 ¹
30"/ 25°C	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	0,8x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²

O sanificante “clean shell”, diluído 1/500 apresentou um bom desempenho na redução dos contaminantes da casca de ovo, reduzindo em 3 ciclos logarítmicos as bactérias psicrotróficas dos ovos armazenados por sete dias a temperatura de 10°C, Tabela 13a.

A mesma situação foi verificada com as bactérias psicrotróficas encontradas nos ovos armazenados à temperatura de 25°C, com exceção para o tempo/temperatura de exposição de 15”/25°C, em que a redução foi de apenas 1 ciclo, quando comparado ao ovo controle, porém no tempo/temperatura 30”/25°C a média da população foi $<10^1$ Tabela 13b. A temperatura de armazenagem de 38,5°C (tabela 13c), também no tempo/temperatura 30”/40°C, demonstra que a população permaneceu $<10^1$.

Os bolores e leveduras foram reduzidos em 1 ciclo logarítmico tabelas 13a e 13b, respectivamente, com destaque para a média apresentada no tempo temperatura de 15/40°C, em que a população ficou $<10^1$.

Tabela 14 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	0,8x10 ¹	5,8x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	<10 ¹	1,0x10 ²	7,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	8,3x10 ¹	4,2x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	<10 ¹	0,8x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹
Controle	7,0x10 ²	2,0x10 ²	7,0x10 ²	2,0x10 ²	7,0x10 ²	2,0x10 ²	7,0x10 ²	2,0x10 ²

Tabela 14 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	1,7x10 ¹
15"/ 40°C	< 10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	4,2x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,7x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
Controle	8,5x10 ²	1,5x10 ²	8,5x10 ²	1,5x10 ²	8,5x10 ²	1,5x10 ²	8,5x10 ²	1,5x10 ²

Tabela 14 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de amônia quaternária a (clean shell)diluído 1/500 a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	7,5x10 ¹	6,7x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ¹	<10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	2,5x10 ¹	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	<10 ¹	8,3x10 ¹	0,8x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	3,3x10 ¹
Controle	3,8x10 ³	4,0x10 ²	3,8x10 ³	4,0x10 ²	3,8x10 ³	4,0x10 ²	3,8x10 ³	4,0x10 ²

O sanificante “clean shell”, diluído 1/500, usado na sanificação da casca dos ovos, revelou ser um bom agente sanificante, pois observa-se a redução dos psicrotíficos na análise microbiológica realizada após 14 dias de armazenamento dos ovos, à temperatura controlada de 10°C. A redução foi 3 ciclos logarítmico, quando comparado com a Tabela 1, destacando-se nesta análise o tempo/temperatura de exposição de 30”/40°C, pois a população na média ficou reduzida a $< 10^1$, Tabela 14a.

Para a temperatura de armazenagem a 25°C o destaque é para o tempo/temperatura de 15”/40°C e 30”/40°C, nas quais a população permaneceu $< 10^1$, Tabela 14b.

Os mesófilos aeróbios encontrados nos ovos armazenados a 38,5°C apresentaram na contagem global população com média $< 10^1$, expressa no tempo/temperatura 30”/40°C, Tabela 14c .

Os bolores e leveduras de uma forma geral foram reduzidos em 1 ciclo logarítmico, nas três diferentes temperaturas de armazenagem, exceto em um caso, onde apresentou redução de 10^2 , para o tempo/temperatura 30”/40°C, tabela 14b.

Nesta parte do experimento parece que o tempo de 30 segundos e a temperatura de 40°C foram mais efetivos na redução da população microbiana da casca do ovo.

O composto de amônio quaternário na concentração de 50% apresentou-se como o melhor sanificante, com destaque para a diluição 1/500, o mesmo, ocorrendo para o produto com 20% do princípio ativo em suspensão alcalina (clean

shell) apresentados nas tabelas 9, 10, 13 e 14, respectivamente, a redução foi significativa, cerca de 3 ciclos logarítmico para os mesófilos e psicrótrofos.

O produto pode ser utilizado nas granjas, porque é mais estável durante a armazenagem e não perde o poder do seu princípio ativo, na presença de matéria orgânica GUTHRIE (1972) cita que o composto tem bom desempenho na presença de matéria orgânica, e em pH ácido ou alcalino.

O produto “clean shell” pelo seu pH elevado, propicia maior efeito bactericida, pois CATALANO & KNABEL (1994) potencializaram o efeito do composto de amônio quaternário elevando o pH das soluções. Com estes resultados podemos dispor de mais segurança, independentemente do grau de sujidade da casca do ovo. Podendo ainda ser utilizado, o referido sanificante, tanto em máquinas para lavagem dos ovos, como também nos tanques.

No uso rotineiro do composto quaternário de amônia em máquinas higienizadoras, o mesmo, não será neutralizado como foi feito em nosso experimento laboratorial, portanto após secagem, o composto continuará ativo na casca do ovo, isso ajudará no controle dos recontaminantes.

Para a contagem de coliformes, realizada pelo método NMP, não detectamos crescimento, podendo ter ocorrido uma situação de uma população < 10 na água de diluição, ou talvez injúria e morte da célula. Podemos considerar que SCHEUSNER (1971) destruiu 99,9% dos coliformes com 100 ppm de um composto de amônio quaternário no tempo de 2 minutos.

Com o uso dos neutralizantes, para o composto de amônio quaternário e para o composto clorado, o tempo de exposição de 30 segundos e à temperatura de

40°C, foi mais efetivo para o primeiro composto quaternário de amônia, pois foram recuperadas poucas células, tanto de mesófilas como psicrotróficas.

O produto “clean shell”, com o princípio ativo de quaternário de amônio encontrava-se em solução alcalina, por esse motivo ele apenas com 20% do princípio ativo diluído 1/500, tenha alcançado resultados semelhantes ao que preparamos com concentração de 50%”, na mesma diluição.

Os relatos elaborados por HOLLEY & PROULX (1986) apresentaram bons resultados na associação do pH 9.0-10, à temperatura entre 38-42 C para destruir células de Salmonella. Por sua vez KINNER & MOATS (1981) demonstraram que, à temperatura de 40-55 C ao pH 10-11, os coliformes morriam rapidamente.

Tabela 15 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	8,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	1,0x10 ²	4,3x10 ²	8,3x10 ¹
15"/ 40°C	7,5x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ²	6,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,5x10 ²	2,8x10 ²
30"/ 25°C	1,5x10 ²	1,0x10 ²	9,5x10 ²	8,0x10 ²	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	4,2x10 ²	3,1x10 ²
30"/ 40°C	3,0x10 ²	<10 ¹	1,5x10 ²	<10 ¹	3,5x10 ²	<10 ¹	2,7x10 ²	<10 ¹
Controle	2,5x10 ³	2,0x10 ²	2,5x10 ³	2,0x10 ²	2,5x10 ³	2,0x10 ²	2,5x10 ³	2,0x10 ²

Tabela 15 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	2,0x10 ²	3,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	7,5x10 ¹	1,6x10 ²	1,0x10 ²
15"/ 40°C	1,0x10 ²	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,8x10 ¹	6,3x10 ¹
30"/ 25°C	6,5x10 ²	8,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,3x10 ²	3,3x10 ²
30"/ 40°C	4,5x10 ²	<10 ¹	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	<10 ¹	2,8x10 ²	1,7x10 ¹
Controle	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²	6,0x10 ²	3,0x10 ²

Tabela 15 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	8,3x10 ¹	6,6x10 ¹
15"/ 40°C	3,5x10 ²	5,0x10 ²	2,5x10 ¹	7,5x10 ¹	2,5x10 ¹	1,0x10 ²	1,3x10 ²	2,3x10 ²
30"/ 25°C	2,0x10 ²	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	1,2x10 ²	5,8x10 ¹
30"/ 40°C	7,0x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	2,3x10 ²	0,8x10 ¹
Controle	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²	6,5x10 ²	1,5x10 ²

Os ovos sanificados com solução de ácido acético, a 2% e armazenados por sete dias, apresentaram redução insignificante da carga microbiana da casca dos ovos, na maioria dos casos, a redução tanto dos psicrotróficos como dos mesófilos alcançaram 2 ciclos logarítmicos, quando comparado as tabelas 15a, b e c, com a Tabela 1.

A população permaneceu cerca de 10^2 , nas três amostragens, Tabelas 15a, b e c, a população foi $< 10^1$ para o tempo e temperatura de exposição de 15"/40°C da armazenagem, 25°C, Tabela 15b e no tempo temperatura de 15"/25°C, para os mesófilos, na temperatura de armazenamento de 38,5°C, (Tabela 15c).

A contagem dos bolores e leveduras em placas no meio de ágar batata dextrose, foi insignificante, houve caso em que foi reduzida a população $< 10^1$ (Tabela 15a,).

Os ovos submetidos a sanificação com ácido acético não demonstraram odor após a armazenagem, no entanto foi visível a olho nu a presença de um resíduo branco no interior das embalagens de polpa de papelão que foram armazenados às temperaturas de 10°C, 25°C e 38,5°C, o pó visto pode ser resultante da descalcificação da casca do ovo pela reação do cálcio contido na casca do ovo com o ácido acético.

Ainda durante a lavagem, quando os ovos eram imersos na solução, podia-se observar uma efervescência semelhante a de uma reação ácido/base, em que se podia observar nitidamente as pequenas partículas que se desprendiam, com as bolhas formadas pela reação.

Tabela 16 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	9,0x10 ²	2,0x10 ²	8,0x10 ²	5,0x10 ¹	4,0x10 ²	1,0x10 ²	7,0x10 ²	1,2x10 ²
15"/ 40°C	5,5x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	2,2x10 ²	1,0x10 ²
30"/ 25°C	6,0x10 ²	1,5x10 ²	3,0x10 ²	4,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,3x10 ²	2,0x10 ²
30"/ 40°C	3,5x10 ²	7,5x10 ¹	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,3x10 ²	1,2x10 ²
Controle	1,0x10 ³	3,0x10 ²	1,0x10 ³	3,0x10 ²	1,0x10 ³	3,0x10 ²	1,0x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 16 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	2,2x10 ²	0,8x10 ¹
15"/ 40°C	4,0x10 ²	7,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,2x10 ²	5,8x10 ¹
30"/ 25°C	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,3x10 ¹	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	< 10 ¹	< 10 ¹	4,0x10 ²	< 10 ¹	2,0x10 ²	< 10 ¹	2,0x10 ²	< 10 ¹
Controle	6,5x10 ²	2,0x10 ²	6,5x10 ²	2,0x10 ²	6,5x10 ²	2,0x10 ²	6,5x10 ²	2,0x10 ²

Tabela 16(c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 2% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5 °C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	3,0x10 ²	1,5x10 ²	8,0x10 ²	< 10 ¹	3,0x10 ²	< 10 ¹	4,7x10 ²	5,0x10 ¹
15"/ 40°C	7,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	4,0x10 ²	1,0x10 ²	4,3x10 ²	6,3x10 ¹
30"/ 25°C	1,5x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,2x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	<10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹
Controle	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²

Após 14 dias de armazenagem dos ovos, sanificados com a solução de ácido acético a 2%, verificamos que houve redução de 2 a 3 ciclos logarítmicos para os psicrotóxicos armazenados às temperaturas de 10°C e 25°C e também para os mesófilos armazenados na temperatura de 38,5°C (Tabela 16 a, b, c), quando comparado com a população inicial (tabela 1); porém, quando comparado com o ovo controle sem a lavagem prévia e incubado junto com os sanificados, a redução foi na ordem de 1 ciclo para os psicrotóxicos e de 2 ciclos para os mesófilos.

Os bolores e leveduras apresentaram situações em que não foram reduzidos, a exemplo da temperatura de armazenagem de 10°C, porém na temperatura de armazenagem de 25°C a redução foi de 1 ciclo logarítmico, na média com destaque para o tempo/temperatura de exposição 30"/40°C, em que a população foi $< 10^1$, o mesmo acontecendo para a temperatura de armazenagem de 38,5°C, (Tabelas 16a, b e c).

Tabela 17 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	2,5x10 ²	1,5x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,8x10 ²	1,0x10 ²
15"/ 40°C	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	5,0x10 ²	3,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,7x10 ²	1,9x10 ²
30"/ 25°C	3,5x10 ²	< 10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	1,5x10 ²	1,0x10 ²	2,2x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	2,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	7,5x10 ¹	< 10 ¹	1,1x10 ²	< 10 ¹
Controle	2,2x10 ³	3,0x10 ²	2,2x10 ³	3,0x10 ²	2,2x10 ³	3,0x10 ²	2,2x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 17 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ¹	7,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,8x10 ²	5,8x10 ¹
15"/ 40°C	1,5x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	1,4x10 ²	6,7x10 ¹
30"/ 25°C	4,5x10 ²	1,5x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	1,0x10 ²	2,2x10 ²	1,0x10 ²
30"/ 40°C	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ¹	< 10 ¹	7,5x10 ¹	< 10 ¹	1,2x10 ²	8,3x10 ¹
Controle	7,5x10 ²	3,0x10 ²	7,5x10 ²	3,0x10 ²	7,5x10 ²	3,0x10 ²	7,5x10 ²	3,0x10 ²

Tabela 17 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	6,0x10 ²	2,0x10 ²	3,5x10 ²	1,0x10 ²
15"/ 40°C	5,5x10 ²	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	2,5x10 ¹	3,0x10 ²	1,5x10 ²	3,3x10 ²	6,7x10 ²
30"/ 25°C	3,5x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	3,3x10 ¹
30"/ 40°C	4,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,8x10 ²	< 10 ¹
Controle	9,5x10 ²	5,5x10 ²	9,5x10 ²	5,5x10 ²	9,5x10 ²	5,5x10 ²	9,5x10 ²	5,5x10 ²

Na concentração de 3%, o ácido acético aplicado sobre as cascas dos ovos e armazenados por 7 dias, às temperaturas controladas de 10°C, 25°C e 38,5°C, observamos que a população dos psicrotróficos e mesófilos foi reduzida de 10^4 , para 10^2 (Tabelas 17a, b, c), comparada com a (Tabela 1).

Os bolores e leveduras também foram reduzidos de 10^2 para 10^1 e para $<10^1$, para o tempo de exposição e temperatura da solução sanificante de 30"/40°C, Tabelas 17a e 17b.

Aqui também parece ter influenciado o tempo de exposição de 30 segundos e a temperatura da solução de 40°C sobre os bolores e leveduras, onde a redução foi <10 .

Tabela 18 (a) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ²	1,0x10 ²	3,0x10 ²	6,7x10 ¹
15"/ 40°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ²	5,0x10 ¹	8,5x10 ²	2,0x10 ²	4,8x10 ²	8,3x10 ¹
30"/ 25°C	4,5x10 ²	< 10 ¹	4,0x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	1,5x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	8,3x10 ¹	< 10 ¹
Controle	9,5x10 ²	4,0x10 ²	9,5x10 ²	4,0x10 ²	9,5x10 ²	4,0x10 ²	9,5x10 ²	4,0x10 ²

Tabela 18 (b) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	8,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	2,5x10 ²	< 10 ¹	4,3x10 ²	0,8x10 ¹
15"/ 40°C	7,5x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	4,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	2,8x10 ²	1,8x10 ²
30"/ 25°C	1,5x10 ²	3,0x10 ²	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	1,3x10 ²
30"/ 40°C	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	< 10 ¹	7,5x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	3,3x10 ¹	6,7x10 ²
Controle	6,5x10 ²	3,5x10 ²	6,5x10 ²	3,5x10 ²	6,5x10 ²	3,5x10 ²	6,5x10 ²	3,5x10 ²

Tabela 18 (c) Contaminação da casca de ovos após sanificação por 15 e 30 segundos em solução de ácido acético a 3% a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	1,0x10 ²	2,5x10 ²	1,5x10 ²	2,1x10 ²	1,0x10 ²
15"/ 40°C	< 10 ¹	1,0x10 ²	1,5x10 ²	2,5x10 ²	1,5x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,5x10 ²
30"/ 25°C	4,5x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,8x10 ¹	1,0x10 ²
30"/ 40°C	2,5x10 ¹	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	4,2x10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	3,8x10 ³	6,0x10 ²	3,8x10 ³	6,0x10 ²	3,8x10 ³	6,0x10 ²	3,8x10 ³	6,0x10 ²

Os ovos que foram lavados com a solução de ácido acético a 3,0% e armazenados por 14 dias apresentaram redução das bactérias psicrotróficas semelhante àquela apresentada na armazenagem por 7 dias (Tabela 17 a,b), sendo a redução em média de 2 ciclos logarítmicos, tanto para a temperatura de armazenagem de 10°C como para a de 25°C, Tabela (18 a,b). Nos demais casos a redução foi de 1 ciclo, quando comparada com a Tabela 1.

Os bolores e leveduras apresentaram redução $<10^1$, às temperaturas de armazenagem de 10°C, para o tempo temperatura 30"/40°C, sendo que as demais reduções foi de 1 ciclo, Tabela 18a.

Observamos que após aplicação do ácido acético na superfície da casca do ovo, os resultados apresentam-se diferentes. Parece existir um fator importante no fracasso do seu uso, é o ataque que o ácido faz na casca do ovo removendo o cálcio. De acordo com as observações que realizamos, após cada lavagem e armazenagem, foram os pequenos grânulos branco que apareciam no fundo das caixas de polpa de papelão e que supunhamos ser sais de cálcio.

Por outro lado acreditamos que na remoção da película, provocada pelo ácido, libera os microrganismos que encontram-se presos na mesma, ficando dessa forma livres,

Provavelmente o ácido perde seu efeito antimicrobiano à medida que ocorre a remoção da película e do cálcio que faz parte da constituição da casca do ovo, neutralização sua ação na reação. (OSTHOLD *et alii* 1984).

Tabela 19 (a) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 10°C.

tempo sanitic/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,4x10 ³	2,5x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	2,0x10 ²	5,7x10 ²	9,2x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ²	3,0x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ²	5,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,2x10 ²	1,5x10 ²
30"/ 25°C	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	1,0x10 ²	3,0x10 ²	3,0x10 ²	1,7x10 ²	1,3x10 ²
30"/ 40°C	1,6x10 ³	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	7,0x10 ³	< 10 ¹	7,8x10 ²	< 10 ¹
Controle	2,2x10 ³	3,5x10 ²	2,2x10 ³	3,5x10 ²	2,2x10 ³	3,5x10 ²	2,2x10 ³	3,5x10 ²

Tabela 19 (b) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 25°C.

tempo sanitic/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	3,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	3,0x10 ²	1,8x10 ²	1,2x10 ²
15"/ 40°C	4,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,5x10 ²	1,0x10 ²	7,5x10 ²	5,0x10 ¹	4,8x10 ²	6,6x10 ¹
30"/ 25°C	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	<10 ¹	1,5x10 ²	<10 ¹	1,2x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	6,5x10 ²	3,0x10 ²	2,0x10 ²	<10 ¹	2,5x10 ²	<10 ¹	3,7x10 ²	1,0x10 ²
Controle	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²	7,0x10 ²	3,0x10 ²

Tabela 19 (c) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por sete dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanitic/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	2,5x10 ¹	2,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,7x10 ²	5,8x10 ¹
15"/ 40°C	7,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	3,2x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 25°C	3,5x10 ²	< 10 ¹	5,0x10 ¹	1,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	5,0x10 ¹
30"/ 40°C	2,5x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	8,3x10 ¹	1,7x10 ¹
Controle	5,0x10 ²	2,5x10 ²	5,0x10 ²	2,5x10 ²	5,0x10 ²	2,5x10 ²	5,0x10 ²	2,5x10 ²

A lavagem demonstra que a passagem da água pela casca do ovo arrasta os microrganismos que se encontram menos aderidos na superfície da mesma, pois, em alguns casos, a população das bactérias psicrotróficas dos ovos armazenados, a 10°C e 25°C, apresentaram redução de 2 ciclos logarítmicos, Tabelas 19a e 19b, quando comparados com os ovos examinados sem lavagem prévia, na (Tabela 1).

Os ovos que foram lavados no tempo/temperatura de 30"/40°C, as bactérias mesófilas foram reduzidas em 1 ciclo, quando comparado com o ovo controle (Tabela 19c) . A temperatura da água parece influenciar na remoção dos contaminantes da superfície da casca do ovo.

Já os bolores e leveduras apresentam contagens $<10^1$, em várias situações de tempo/temperatura e de armazenagem (Tabelas 19 a,b e c).

Tabela 20 (a) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 10°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	5,5x10 ²	1,5x10 ²	3,0x10 ²	1,5x10 ²	3,5x10 ²	2,0x10 ²	4,0x10 ²	1,7x10 ²
15"/ 40°C	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	2,0x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ³	7,5x10 ¹	4,5x10 ²	3,3x10 ²
30"/ 25°C	6,5x10 ²	2,5x10 ¹	2,5x10 ²	1,0x10 ²	1,5x10 ²	3,0x10 ²	3,5x10 ²	2,1x10 ²
30"/ 40°C	3,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	2,0x10 ²	1,7x10 ¹
Controle	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²	1,3x10 ³	3,0x10 ²

Tabela 20 (b) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 25°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid	psicrot. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	psicrot. ufc/unid	bol/lev ufc/unid.	psicrot. ufc/unid.	bol/lev ufc/unid.
15"/ 25°C	1,0x10 ²	7,5x10 ¹	6,0x10 ²	2,0x10 ²	3,0x10 ²	2,5x10 ¹	1,7x10 ²	3,3x10 ¹
15"/ 40°C	1,1x10 ³	5,0x10 ¹	3,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ²	5,0x10 ¹	3,3x10 ²	6,3x10 ²
30"/ 25°C	2,3x10 ³	< 10 ¹	4,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	2,1x10 ²	9,3x10 ²
30"/ 40°C	2,0x10 ²	3,5x10 ²	5,0x10 ¹	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,7x10 ¹	1,2x10 ²
Controle	1,4x10 ³	2,5x10 ²	1,4x10 ³	2,5x10 ²	1,4x10 ³	2,5x10 ²	1,4x10 ³	2,5x10 ²

Tabela 20 (c) Contaminação da casca de ovos após lavagem por 15 e 30 segundos com água destilada a 25°C e 40°C e mantidos por quatorze dias na temperatura de 38,5°C.

tempo sanific/ temp. água	Amostragem 1		Amostragem 2		Amostragem 3		Média	
	mesóf. ufc/unid	bol/lev ufc/unid	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesóf. ufc/unid	bol/lev. ufc/unid.	mesófilos ufc/unid.	bol/lev. ufc/unid.
15"/ 25°C	1,3x10 ³	<10 ¹	2,0x10 ²	7,5x10 ¹	2,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,7x10 ²	3,3x10 ¹
15"/ 40°C	2,5x10 ²	2,5x10 ¹	1,5x10 ²	5,0x10 ¹	1,5x10 ²	1,0x10 ²	1,8x10 ²	5,8x10 ¹
30"/ 25°C	6,0x10 ²	5,0x10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	5,0x10 ¹	< 10 ¹	2,3x10 ²	1,7x10 ¹
30"/ 40°C	4,5x10 ²	3,0x10 ²	1,0x10 ²	< 10 ¹	1,0x10 ²	< 10 ¹	2,2x10 ²	1,0x10 ²
Controle	3,5x10 ³	2,5x10 ²	3,5x10 ³	2,5x10 ²	3,5x10 ³	2,5x10 ²	3,5x10 ³	2,5x10 ²

Aos 14 dias de armazenamento, os ovos lavados com água destilada apresentaram redução de psicrotróficos e mesófilos em 1 ciclo logarítmico. Quando comparado com a população inicial (Tabela 1), podemos verificar que a temperatura da água influencia na redução da população microbiana, quando associada ao tempo de exposição, pois os ovos lavados com água, no tempo/temperatura 15"/40°C e 30"/25°C e armazenados a 25°C, a população permaneceu 10^3 (Tabela 20 a), o mesmo acontecendo no tempo/temperatura 15"/40°C e armazenagem à 10°C (Tabela 20c).

Para os bolores e leveduras ocorreu uma redução acentuada principalmente nos casos em que registram uma contagem $<10^1$ (Tabelas 20a,b e c)

A lavagem da casca dos ovos somente com água ajuda a remover as sujidades, arrastando uma pequena quantidade de microrganismos que encontram-se livres na casca, reduzindo dessa forma a população de contaminantes. Entretanto os microrganismos aderidos firmemente à substância mucilaginosa esses, permanecem na casca.

Estes microrganismos presentes na casca dependem do resíduo de matéria orgânica e umidade para multiplicarem durante a armazenagem.

Queremos aqui, comentar o efeito da temperatura da solução, tempo de exposição, temperatura de armazenagem e efeito dos sanificantes.

A temperatura da solução à 40°C, facilitou na remoção das sujidades da casca do ovo, conseqüentemente, removeu mais células de microrganismos, que a solução a 25°C.

O tempo de exposição de 30 segundos mesmo, quando a água foi usada sem agente químico, obtivemos reduções mais significativas que a 15 segundos. Embora a associação do tempo e temperatura tenha influenciado diretamente na redução.

A temperatura de armazenagem não apresentou ser importante no controle da população dos microrganismos, porém a qualidade interna era melhor nos ovos armazenados a 10°C e 25°C que os a 38,5°C, pois, após análise microbiológica, os ovos eram quebrados para observarmos a integridade da clara e gema.

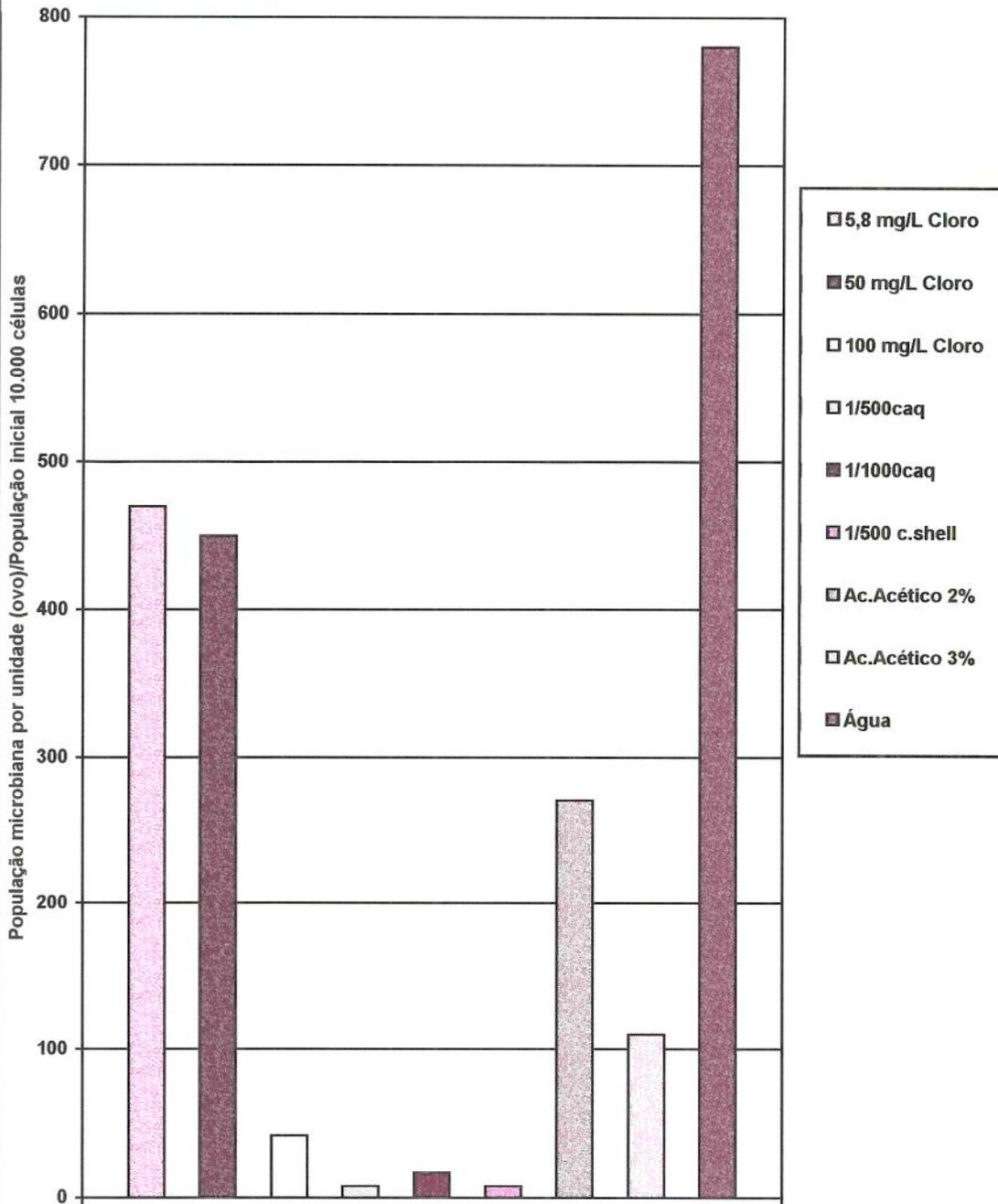
Concluimos que o frio é tão importante quanto a limpeza, pois o controle de temperatura influencia no crescimento e reprodução das bactérias e fungos, sendo também responsável pela conservação dos caracteres físico-químico e organolépticos dos ovos. O controle dos mesófilos também pode ser realizado à temperatura de refrigeração.

TAVER & CHOATE, (1964) relataram que a qualidade dos ovos pode ser oficialmente mantida, utilizando baixas temperaturas de armazenamento, imediatamente após coleta.

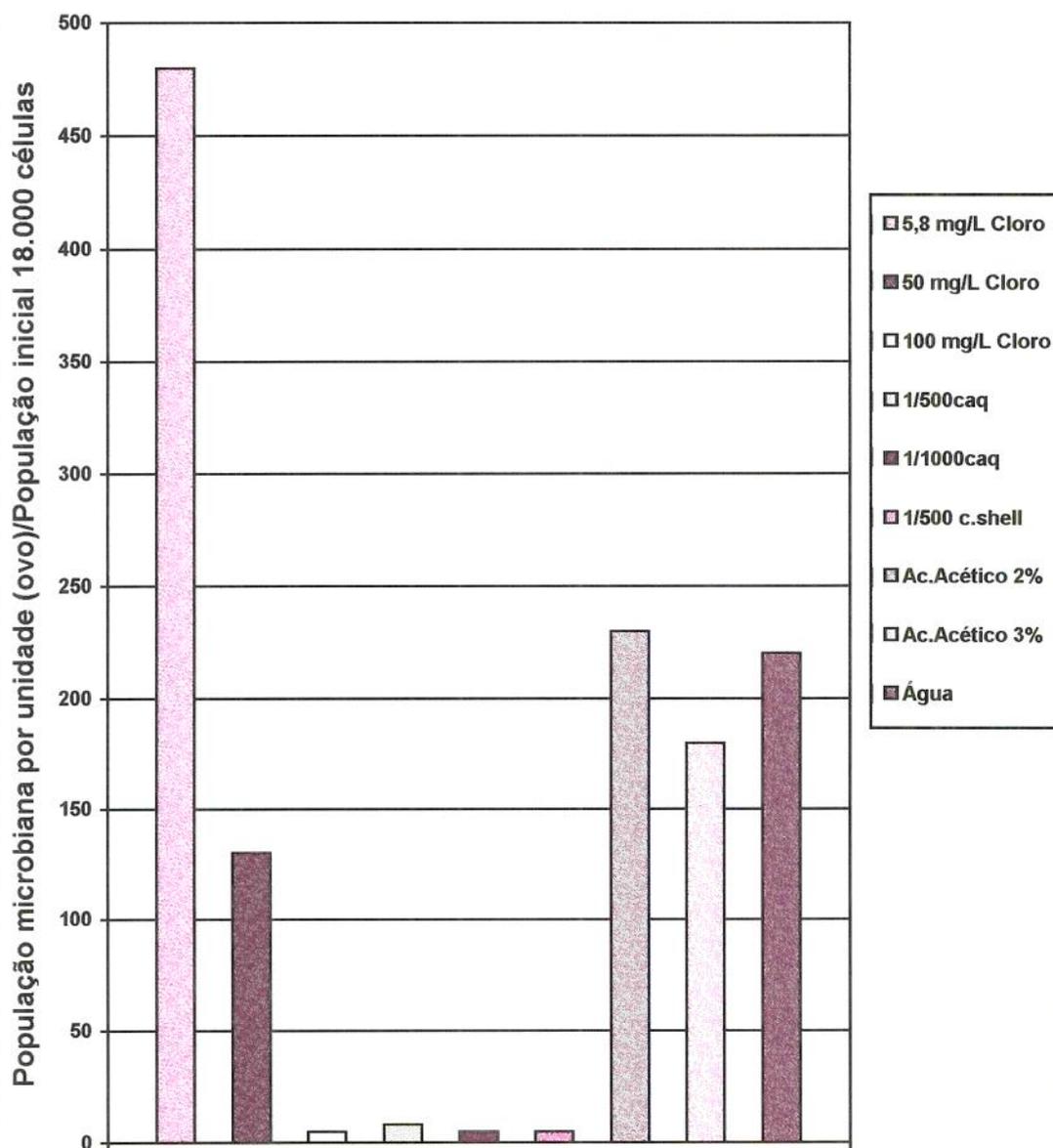
Estas observações foram confirmadas por RODRIGUES,(1979) que avaliou por 21 dias consecutivos a ação da temperatura de armazenamento sobre conservação de ovos de galinha, concluiu que ovos mantidos em temperaturas entre 10 e 12°C foram superiores em todos os aspectos de qualidades, quando comparadas com os demais, mantidos em temperatura superiores as citadas.

Embora GAST (1994) tenha encontrado multiplicação de *S. enteritidis* à temperatura entre 10 - 15°C, com aumento de 8×10 log, à temperatura de 26°C, em 16 dias. No entanto acreditamos que os ovos sanificados podem ser conservados por mais dias, à temperatura de refrigeração

Gráfico 1 - Média dos psicotróficos encontrados nos ovos sanificados no tempo de 30 minutos a 40 C, armazenados por 07 dias a 10 C.



**Gráfico 2- Média dos mesófilos encontrados nos ovos
sanificados no tempo de 30 minutos a 40 C,
armazenados por 07 dias a 10 C.**



Escolhemos a média das bactérias psicrotróficas, encontradas na casca dos ovos sanificados no tempo de 30 segundos à temperatura de 40°C, armazenados por 7 dias, pelo fato, desses serem os melhores resultados encontrados no experimento, dando dessa forma uma visão comparativa da eficiência dos sanificantes (Gráfico 1).

Na Tabela 1, temos uma população inicial de psicrotróficos de $1,0 \times 10^4$ isto é, 10.000 células por unidade de ovo. Já o Gráfico 1 demonstra a redução dessa população pelo efeito dos sanificantes e da lavagem com água destilada. Os resultados apontam que o hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L foi mais eficiente que as outras duas concentrações do mesmo composto clorado, porém quando comparado com o composto quaternário de amônia, observa-se que este foi mais eficaz (Gráfico 1)

Podemos dizer que o composto quaternário de amônia Hoeschst® e Clean shell® na diluição 1/500 foi o que apresentou redução da carga microbiana da casca do ovo, mais satisfatória, em seguida o hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg/L e depois o ácido acético a 3%. (Gráfico 1)

A lavagem com água também reduziu a carga microbiana dos psicrotróficos (Gráfico 1)

A redução das bactérias mesófilas da casca dos ovos também apresentou resultados semelhantes aos encontrados para os psicrotróficos (Gráfico 2). Com a ressalva de que a lavagem com água superou a sanificação com 5,8 mg/L de cloro livre. Talvez nesse caso a população de células encontradas na casca dos ovos antes

da sanificação estivesse mais elevada ou com mais matéria orgânica que os lavados com água. A presença de matéria orgânica reduz a eficácia do cloro (GUTHRIE, 1972).

Tabela 21. Contaminação após lavagem dos ovos na máquina de higienização e classificação com os produtos de amônio quaternário, compostos clorados e lavagem com água.

Sanificantes	Mesófilos Ufc/unid.	Psicrotróf. Ufc/Unid.	Bol/Leved. Ufc/Unid.	ColiformesTotais NMP/Unidade	Coliformes Fecais NMP/Unidade
CAQ 1/500 Hoechst	$2,5 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	-	-	-
CAQ 1/1000 Hoechst	$1,2 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$7,5 \times 10^1$	-	-
CAQ 1/500 CBM	$1,5 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$5,0 \times 10^1$	-	-
Hipoclorito 100 mg/L	$2,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^1$	-	-
ÁGUA	$1,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	$7,5 \times 10^2$	21,5x/ml	-

CAQ= composto de amônio quaternário,
Hipoclorito de sódio.(Quimitrol)

Na lavagem da casca do ovo realizada na máquina marca Yamasa®, usando-se os sanificantes que tiveram melhor desempenho no laboratório, observamos que o composto quaternário de amônio Hoechst®, na concentração de 50%, na diluição 1/500 e 1/1000, o composto de quaternário de amônio Clean shell®, diluído 1/500 conforme recomendação do fabricante, o hipoclorito de sódio, com 100 mg/L de cloro ativo, apresentaram redução de 1 a 2 ciclos logarítmicos, quando comparado com a população inicial, da Tabela 1.

No entanto ao observarmos a tabela 2, na qual se expressa a contagem global de psicrótróficos e mesófilos aeróbios e dos bolores e leveduras executada em laboratório, logo após a sanificação, podemos constatar que, no laboratório, a redução foi de 2 a 3 ciclos logarítmicos. Podemos atribuir essa diferença entre a contaminação da casca dos ovos lavados na máquina e lavados no laboratório, a qualidade da água, que pode ser observada na tabela 22.

MOATS (1981) relatou que a limpeza cuidadosa e diária dos equipamentos mantém uma baixa contagem na superfície dos equipamentos e da

água utilizada, conseqüentemente reduzindo na contaminação da casca dos ovos lavados.

Tabela 22. Contaminação da água sem sanificante, afluente e efluente usada na limpeza dos ovos no laboratório (sacos plásticos) e na granja (maquina yamasa®).

Água	Mesófilos UFC/mL	Psicotróf. UFC/mL	Bol/Leved. UFC/mL	Coliformes Totais NMP/mL	Coliformes Fecais UFC/mL
Afluente da maq.	$4,2 \times 10^3$	$3,8 \times 10^3$	$2,5 \times 10^1$	21,5/ml	-
Efluente da maq.	$4,8 \times 10^5$	$4,2 \times 10^4$	$3,0 \times 10^3$	>110/ ml	> 110/ ml
Afluente do lab.	$5,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	-	-	-
Efluente do lab.	$1,5 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	-	-	-

Na tabela 22 podemos observar que a contaminação da água que alimenta a máquina é maior que a usada no laboratório, onde os mesófilos aeróbios atingem $4,2 \times 10^3$ UFC/mL, os psicrótroficos de $3,8 \times 10^3$ UFC/mL, os bolores e leveduras $2,5 \times 10^1$ UFC/mL, e os coliformes totais de 21,5 NMP/ml. Essa contaminação é proveniente da caixa d'água e que se destina para lavar as cascas dos ovos. No laboratório a água utilizada para a lavagem dos ovos era destilada.

O alto grau de contaminação presente na água, exige desse modo um desempenho do sanificante sobre a matéria orgânica, população microbiana presente na água e ainda na casca dos ovos, por isso, a importância da escolha do sanificante, para lavagem da casca dos ovos.

Observamos que a qualidade da água é de fundamental importância para a lavagem da casca dos ovos, pois a população de microrganismos presente na água pode contaminar ainda mais o ovo, exigindo dessa forma monitoração da água a ser utilizada.

Tabela 23 (a) *Salmonella enteritidis* resistente ao ácido nalidixico em ovos artificialmente contaminados após sanificação*.

	Contagem em Agar Maconkey + ác. nalidixico 100µg/ml	Recuperação quantitativa de <i>Salmonella</i> . <i>enteritidis</i>
CAQ 1/500 Clean shell®	negativo (-)	negativo (-)
CAQ 1/500 Hoechst®	negativo (-)	negativo (-)
CAQ 1/1000 Hoechst®	negativo (-)	negativo (-)
Hipoclorito 50 ppm	negativo (-)	positivo (+)
Hipoclorito 100 ppm	negativo (-)	negativo (-)
Ac. acético 2 %	negativo (-)	positivo (+)
Ac. acético 3 %	negativo (-)	positivo (+)
ÁGUA	positivo (+)	positivo (+)

CAQ= composto de amônio quaternário, hipoclorito de sódio, ácido acético.

* Contaminação inicial = $6,2 \times 10^4$

Tabela 23 (b). *Salmonella enteritidis* resistente ao ácido nalidixico em ovos artificialmente contaminados após sanificação*.

	Contagem em Agar Maconkey + ác. nalidixico 100µg/ml	Recuperação quantitativa de <i>Salmonella</i> . <i>enteritidis</i>
CAQ 1/500 Clean shell	negativo (-)	negativo (-)
CAQ 1/500 Hoechst	negativo (-)	negativo (-)
CAQ 1/1000 Hoechst	negativo (-)	negativo (-)
Hipoclorito 50 ppm	negativo (-)	positivo (+)
Hipoclorito 100 ppm	negativo (-)	negativo (-)
Ac. acético 2 %	negativo (-)	positivo (+)
Ac. acético 3 %	negativo (-)	positivo (+)
ÁGUA	positivo (+)	positivo (+)

CAQ= composto de amônio quaternário, hipoclorito de sódio, ácido acético.

*Contaminação inicial = $2,8 \times 10^4$

Os ovos que foram imersos na suspensão contendo 2.3×10^8 UFC/mL de *S. enteritidis*, após secagem, a contagem efetuada da casca, apresentou população de $6,2 \times 10^4$ UFC/unidade. Depois de sanificados, neutralizado o sanificante, foi feito o exame microbiológico, que não apresentou crescimento, nas placas com meio do ágar MacConkey.

No entanto quando era feito o enriquecimento, onde adicionava-se 5 ml de caldo nutriente no saco plástico que continha o ovo com solução salina e incubava-se por 24 horas a 37°C do conjunto (ovo + solução salina + caldo nutriente), aparecia crescimento com turvação do caldo (confirmado pelo exame microscópico), nos ovos sanificados com hipoclorito de sódio a 50 ppm, ácido acético a 2% e 3% e na lavagem com água,

Uma alçada do caldo com crescimento para o ágar MacConkey contendo $100\mu\text{g/ml}$ de ácido nalidíxico, confirmou a presença de *S. enteritidis*, que não foram destruídas pelos sanificante (Tabelas 23 a, b).

É difícil conseguir a contaminação da casca do ovo com SE de forma artificial simulando condições naturais do ninho. Através do procedimento de imersão dos ovos na suspensão, alcançamos uma população de 10^4 na superfície da casca, porém podemos chamar de células ligadas livremente as que podem ser removidas mais facilmente, daí talvez a maior facilidade dos compostos tensoativos (caq) e oxidantes (cloro) removerem esses contaminates apresentados nas Tabelas 23 a, b.

7.0 - CONCLUSÕES

Com relação a sanificação dos ovos de consumo podemos concluir o seguinte:

a) É importante o emprego de sanificantes na lavagem da casca do ovo comercial, com a finalidade de reduzir a carga microbiana.

b) O melhor sanificante para aplicação na lavagem da casca do ovo, foi o composto de amônio quaternário, independente da marca,

c) O hipoclorito de sódio é um bom sanificante na concentração de 100 mg/L, para empregar-se na lavagem da casca do ovo em tanques como simulamos no laboratório em sacos plásticos.

d) O ácido acético não pode ser empregado na sanificação dos ovos, pois ataca componentes da casca, constatado durante o contato casca/sanificante.

e) A água que alimenta a máquina para a lavagem dos ovos, deve ter um monitoramento microbiológico periódico dos reservatórios.

f) A temperatura de refrigeração contribui para a conservação dos ovos. Quando utilizada a sanificação e refrigeração, os ovos apresentaram uma melhor qualidade, observados aos 14 dias, no momento em que eram quebrados para verificar a aparência interna.

g) Nenhum dos sanificantes empregados no experimento causou alteração de cor ou odor na casca do ovo.

h) O melhor tempo de exposição para sanificar os ovos é de 30 segundos

i) A solução do sanificante a temperatura de 40°C apresentou melhores resultados para a higiene da casca dos ovos.

8.0 - SUGESTÕES

Como sugestão queremos apresentar uma metodologia para limpeza das cascas dos ovos comerciais nas granjas,

1- Usar um composto de amônio quaternário que é mais seguro quanto a armazenagem e ação prolongada.

2- Quando utilizar somente água, manter ligada a resistência elétrica da máquina de lavagem, que aquece a água à temperatura de 40°C

3- Proceder a limpeza da máquina de lavagem diariamente para remover a matéria orgânica procedente dos ovos que se quebram durante a operação de lavagem

4- Realizar análise periódica da água do algibe e caixa d'água alimentadora da máquina.

5- Armazenar os ovos em salas com condicionadores de ar em temperatura $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ou resfria-los a 10°C .

9.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ADAMS, M. R.; HALL, C. J. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic acid and acetic and their mixtures **International Journal Food Science & Technology**. New York v.23, n.3, p.297-301, jun 1988.
- AHN, B. Y.; KIM, J. W.; LEE, Y. B. Studies on the quality of locally produced eggs during marketing end distribution III. Effects of washing treatment and storage temperature on egg quality Eggs and eggs products **Korean Journal of Animal Science**, Hanguk v. 23, n. 2, p. 92-96, 1981.
- ANDERSON, M. E.; HUFF, E.; NAUMANN, H.D.; MARSHALL, R. T. ; DAMARE, J. M.; PRATT, M.; JOHNSTON, R. Evaluation of an automated beef carcass washing and sanitizing system under production **Journal Food Protection**. Iowa v. 50, n .7, p. 562-566, Jul. 1987.
- ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; DICKSON, J. Efficacies of acetic lactic and two mixed acids in reducing numbers of bacteria on surfaces of lean meat **Journal Food Safety** Trumbul v. 2, n. 2, p. 139-147, Feb. 1992.
- ANDERSON, M. E.; MARSHALL, R. T.; STRINGER, W.C.; NAUMANN, H. D. Efficacies of three sanitizers under six

conditions of application to surfaces of beef **Journal Food Science**
Chicago v. 4, n. 2, p. 326-329, Apr. 1977.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official
methods analysis. 13 Th. Washington, 1980.

AZEVEDO NETO, J. M. Desinfetantes principais. Ação bactericida do
cloro, dióxido de cloro, iodo, ozona, raios ultravioleta. In: Secretaria
dos Serviços e Obras Públicas. Desinfecção das águas, São Paulo,
CETESB, 1974.

BAIRD PARKER, A. C. Organic acids In: SILLIKER, J.H. Microbial
ecology of foods. New York, Academic, 1980, v.1 p. 126-135.

BAKER, R. C. Survival of *Salmonella enteritidis* and in shelled eggs
liquid eggs and cooked egg products **Dairy Food and
Environmental Sanitation** Ames v. 10 n.5 p. 273-275 may 1990.

BARTLETT, F. M. *Listeria monocytogenes* survival on shell eggs and
resistance to sodium hypochlorite. **Journal of Food Safety** Trumbul
n. 13, v. 4, p. 253-261, dec. 1993.

BARNHART, H.M., DREESEN, D.W., BASTTIEN, R., PANCORBO,
O. C. Prevalence of *Salmonella enteritidis* and other sorovar in
aviaries of layer hens at time of slaughter **Journal Food Protection**
Iowa v. 54, n. 7, p.488-491, Jul., 1991.

- BARROW, P. A.; LOVELL, M. A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4 **Avian Pathology** Huntingdon v.20, n. 2, p. 335-348, 1991.
- BARROW, P. A. Salmonellosis prospects for microbiological control in poultry **Avian Pathology** Huntigdon v. 18, n. 4, p. 557-561, 1989
- BEAN, N. H.; GRIFFIN, P. M. Food borne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: Pathogens, Vehicles, and Trends. **Journal of Food Protection** Iowa v.53, n. 9, p. 804-817, 1990.
- BERNARD, M. A.; SNOW, W. B.; OLIVER, V. P.; DAVIDSON, B. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide **Applied Microbiology** v.15 p. 257-265, mar. 1967.
- BIANCARELLI, A. Cresce o número de casos de salmonelose, Folha de São Paulo, São Paulo 28 nov.1995, Cotidiano, 3, p.4.
- BIANCO, L.; DAGNA, L; MARUCCHI, M. Il cloro nelle industrie alimentari: Pinerolo impiego, azione e residui nelle carni **Industrie Alimentari** Pinerolo v.25, n. 234, p.11-18,24. jan 1986.
- BIERER, B. W; BARNETT, B. D.; VALENTINE, D. Experimentally killing *Salmonella typhimurium* on egg shell by washing. **Poultry Science** Champaign, v. 40, p. 1009-1014, 1961.

- BOTWRIGHT, W. E. A new germicide for the food industries **Journal Milk Technology** v.9 p. 101-106, 1946.
- BLANKESHIP, L. C. Some characteristics of acid injury and recovery of *Salmonella bairrelly* in a model system **Journal of Food Protection Iowa** v.44 n. 1, p. 73-77 Jan. 1981.
- BOARD, R. G.; TRANTER, H. S. The microbiology of Eggs In: STADELMAN, W. J.; COOTTERILL, O. J. Egg Sci. and Technology, 3 ed. Westport; Avi Publishing Company, INC. 1986, 75-96.
- BRASIL. PORTARIA nº 001 de 28 de Janeiro de 1987. Aprova Padrões microbiológicos para alimentos. D.O, Brasília, 25 de Fevereiro de 1987.
- BRASIL. RESOLUÇÃO nº 005 de 05 de Julho de 1991. Aprova Padrão de identidade e qualidade para ovo integral e ovo em natureza. SIF, Insp. Federal, Brasília, 20 de Novembro de 1991.
- BUSTA, F. F. Pratical implications of injured microorganisms in food. **Journal Milk Food Technology**. Shelbyville v.39, p. 138-145, DEC, 1976.
- CAFFER, M. I.; EIGUER, T. *Salmonella enteritidis* in Argentina **International Journal of Food Microbiology**, v.21, p. 15-19, 1994.

CAMPER, A. K.; MCFETERS, G. A. Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliforme bacterial **Applied Environmental Microbiology** Amsterdam v.37 p. 633-641, 1979.

CARLET Jr., D. A & BROWN, M. H. pH Acidity. In: SILLIKER, J. H. **Microbial Ecology of foods**, New York, Academic, 1980. v.1 p. 92-110.

CATALANO, C. R., KNABEL, S. J. Incidence of *Salmonella* in Pennsylvania egg processing plants and destruction by high pH **Journal of Food Protection** Iowa v. 57 n. 7 p. 587-591, Jul. 1994.

CENTER FOR DISEASE CONTROL - Outbreak of *Salmonella enteritidis* associated with consumption of raw shell eggs, 1991. **MMWR** v. 41, p.369-372, 1992.

CHERRINGTON, C. A; HILTON, M; CHOPRA, I. Effect of short chains organic acids on macromolecule synthesis in *Escherichia coli* **Journal Applied Bacteriology**. London, v.68, n. 1, p. 69-74, Jan. 1990.

CIOLA, A. C. Industrialização do ovo In: YOKOIA, F. **Microbiologia de Processos e Produtos Alimentícios** 1 ed. Campinas: FCTPTA, 1974. v. 1, 184-204.

CUTTER, C. N.; SIRAGUSA, G. R.; Efficacy of organic acids against *Echerichia coli* 0157: H7 attached to beef carcass tissue using a pilot

scale model carcass washer **Journal Food Protection**. Iowa, v. 57,
n. 2, p. 97-103, Feb. 1994.

DAVIS, J. H. Chemical sterilization. **Progress Industrial
Microbiology**, London v. 8, p. 141-206, Jan/Feb. 1968.

DREESEN, D.W. Frequency of *Salmonella enteritidis* and other
Salmonella in the ceca of spent hens at time of slaughter **Avian
Diseases** Kennett Square v. 36, n. 2, p. 247-250, apr - jun, 1992

DUM, C. G. Mixture of high molecular alkyl dimethyl benzyl ammonium
chlorides as an antiseptic **Proc. Soc. Expt. Biol. Med.** v.35 p.427-
429, 1936.

EBEL, E. D.; DAVID, M. J.; MASON, J. Occurrence of *Salmonella
enteritidis* in the U. S. commercial egg industry: Report on a National
Spent Hen Survey **Avian Diseases** Kennett square, v.36, n. 3, p. 646-
654, Jul.-sep. 1992.

EBEL, E. D.; MANSON, J.; FERRIS, K. E.; BECKMAN, M.G;
CUMMINS, R. D.; TUCKER, L. S.; SUTHERLIN, W. D.;
GLASSHOFF, R. L.; SMITHISLER Occurrence of *Salmonella
enteritidis* in unpasteurized liquid egg in the United States **Avian
Diseases**, Kennett square, v. 37, n.1, p. 135-142, Jan-mar, 1993.

ELLIOT, R. P.; HOBBS, B. C. Eggs and egg products In: **Microbiology
Ecology of Foods** Academic press, NY, v.2 p.521, 1980.

EXAME comprova contaminação por maionese, Folha de São Paulo, Franca, 29 dez. 1995, caderno 7, Folha nordeste pag. 3.

EWERT, D. Outbreaks of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis - California, 1993. **Morbidity and Mortality Weekly Report** v.42, n. 41, p. 793-797, Oct., 1993.

EWING, W. H. EDUARDS AND EWING'S Identification of Enterobacteriaceae 4 Th. Edition. Elsevier 1986.

FANSLAU, C. E. Zephyran a new germicide. **Veterinary Medicine**, v.34, p. 120-121, 1939.

FERREIRA, A. J. P.; ITO, N. M. K. BENES, S. M.; NORONHA, A. M. B. Infecção natural e experimental por *S. enteritidis* em pintos, Conferência FACTA, Campinas, SP. pag. 171, 1990.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual for food 6 ed. Arlington, AOAC, 1984 page irreg.

FORSYTHE, R. H. Eggs processing technology progress and sanitation programs **Journal of Milk and Food Technology** Shelbyville v.33 p.64-73 1970.

FORSYTHE, R. H.; AYRES, J. C.; RADIO, J. L. Factors affecting the microbiological populations of shell eggs. **Food Technology** Chicago v.7 n. 3, p. 49-56, Jul. 1953.

FREIBERG, L. Further quantitative studies on the reaction of chlorine with bacterial in water disinfection **Acta Pathology Microbiology Scand.** v. 40 p. 67-80, 1957

FREIBERG, L. Quantitative studies on the reaction of chlorine with bacterial in water disinfection **Acta Pathology Microbiology Scand,** v. 38 p. 135-144, 1956

FREKE, C. D.; HAGGIE, D. Improved bactericidal efficiency of an acidic quaternary compound with increasing temperature **Journal Food Protection** Iowa v.9, n. 44, p. 699-700, sep. 1981.

GADNER, J.; PHILL, D. Principles of antimicrobial activity. In: Seymour & Black, 2 ed. **Disinfection sterilization and Preservation.** Philadelphia, Lea & Febiger, 1977.

GARVIE, E.I.; CLARKE, P. M. The disinfectant properties of quaternary ammonium compounds and sodium hypochlorite: a comparison of results using different test methods. **Journal Applied Bacteriology** London v.18, p. 90-106, 1955.

- GAST, R. K.; BEARD, C. W. Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infections in laying hens **Avian Disease** Kennett square v. 34 n. 3, p. 721-728, Jul.-sep. 1990b
- GAST, R. K.; BEARD, C. W. Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh stored eggs laid by experimentally infected hens **Journal Food Protection** Iowa v. 55, n. 3, p. 152-156, mar. 1992b.
- GAST, R. K.; BEARD, C. W. Evaluation of a chick mortality model for predicting the consequences of *Salmonella enteritidis* infections in laying hens **Poultry Science** Champaign v. 71, n. 2, p. 281-287 Feb., 1992a
- GAST, R. K.; BEARD, C. W. Production of *Salmonella enteritidis* contaminated eggs by experimentally infected **Avian Disease** Kennett square v. 34, n. 2 p. 438-446, apr - Jun. 1990a
- GAST, R. K.; BEARD, C.W. Research to understand and control SE in chickens and eggs **Poultry Science** Champaign v. 72 , n. 6, p. 1157-1163 jun 1993.
- GAST, R. K. Understanding *Salmonella enteritidis* in laying chickens: the contributions of experimental infections **International Journal of Food Microbiology** Amsterdam v. 21, n. 1-2, p.107-116, Jan, 1994.

GENTRY, R. F., QUARLES, C. L., The measurement of bacterial contamination on egg shells **Poultry Science** Champaign v.51 n.3 p. 930-933, 1972.

GILLESPIE, J. M.; SALTON, M. R. J.; SCOTT, W. J. Studies on the preservation of shell eggs. The use of chemical disinfectants in cleaning machines. **Austrian Journal Applied Science** v.1 p. 531-538, 1950.

GORHAM, S. L.; KADAVIL, K.; LAMBERT, H.; VAUGHAN, E.; PERT, B.; ABEL, J. Persistence of *Salmonella enteritidis* in young chickens **Avian Pathology** Huntington v.20 p.433-437, 1991.

GUPTA, B. R.; RAO, S. B. V. Studies on disinfection of egg contaminated with *Salmonella typhimurium* **Indian Veterinary Journal** Madras v. 47, n.5, p. 381-386, 1970.

GUTHRIE, R. K. Food Sanitation, Westport Publishing Company Ind. Conn., 1972.

HACKNEY, C. R.; RAY, B.; SPECK, M. L. Repair detection procedure for enumeration of fecal and enterococci from seafood's and marine environments. **Applied and Environmental Microbiology** Washington v. 37, n. 5, p. 947-953, may 1979.

HAMMACK, T. S. SHERROD, P. S; BRUCE, V. R.; JUNE, G.A.; SATCHELL, F. B; ANDREWS, W. H. Research note: Growth of

Salmonella enteritidis in grade a eggs during prolonged storage
Poultry Science Champaign v. 72, n. 2, p. 373-377, Feb. 1993.

HAYNES, R. B. Microbiology in the preservation of the hen's egg, G B
Dep. Sci. Ind. Res. Food Invest. Board, Spec. Rep., 1939.

HAMILTON, W. A.; Membrane active antibacterial compounds, In:
Hugo, M. G. Inhibition and destruction of the microbial cell.
London, Acad. Press, 1971.

HARRY, E. G. The relationship between egg spoilage and the
environment of the egg when laid British **Poultry Science**
Champaign v. 4, n. 5, p. 91-100, 1963.

HENZLER, D. J., EBEL, E., SANDERS, J., KRADEL, D., MANSON,
J., *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer
flocks implicated in human outbreaks **Avian Diseases** Kennett Square
v. 38, p.37-43, Jan/mar 1994.

HINTON, M.; THRELFALL, E.J.; ROWE, B., The invasive potential of
Salmonella enteritidis phage types for young chickens, Letters in
Applied Microbiology, London v. 10, n.6, p. 237-239, jun, 1990.

HOFFMANN, F. L.; CRUZ, C. H. G.; VINTURINI, T.; FERREIRA, W.
X.; Efeito bactericida de produtos quimicos utilizados para a
desinfecção de ovos, **Higiene Alimentar**, São Paulo v.8, n. 30, p.
26-30, Abril, 1994.

HOLLEY, R.A., PROULX, M. Use of egg washwater pH to present survival of *Salmonella* of moderate temperatures, **Poultry Science** Champaign v.65 n.5 p. 922-928, may. 1986

HOLT, P. S.; PORTER, Jr., R.E. Microbiological and histopathological effects of on an induced-molt fasting procedure on *Salmonella enteritidis* infection in chickens **Avian Disease** Kennett square v. 36, n. 3, p. 610-618, jul-sep 1992.

HOUSTON, D. L. Prod. 91st Annual Mgt. Us Animal Health Association, 1987. pp 445-450.

HUMPHREY, T. J. Growth of salmonellas in intact shell eggs: Influence of storage temperature **Veterinary Record** London v.126, n. 12, p.292, mar. 1990.

HUMPHREY, T. J. Heat resistance in *Salmonella enteritidis* phage type 4: the influence of storage temperatures before heating **Journal Applied Bacteriology** London, v. 69, n. 4, p. 493-497, oct. 1990.

HUMPHREY, T. J.; BASKEVILLE, A.; CHART, A.; RAWE, B.; WHITEHEAD, A. *Salmonella enteritidis* PT4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose **Veterinary Record** London v. 129, n. 22, p. 482-485, nov. 1991a

HUMPHREY, T. J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review **International Journal of Food Microbiology** v. 21, p. 31-40, 1994.

IRINO, K.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G. Progression of *Salmonella enteritidis* phage type 4 strains in S. Paulo, Brazil **Revisita do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, S. Paulo, v. 38, n. 3, p. 193-196, am/gun, 1996.

KINDER, J. A., MOATS, W. A. Effect of temperature, pH and detergent on survival of bacteria associated with shell eggs. **Poultry Science** Champaign v. 60, n. 4, p. 761-767, apr. 1981.

KRANDEL, D. C. *Salmonella enteritidis* in layers where are we where we going WPDC, Pennsylvania, p.203-206, 1989.

LANGONI, H.; PRADO, R. A. T.; PINTO, J. P. A. N.; BALDINI, S.; PIMENTEL, V. L. Isolamento de *Salmonellas* em ovo de galinha oferecido para consumo no comércio de Botocatu - SP. **Higiene Alimentar**, S. Paulo v. 9, n. 37, p. 45-47 Maio/Junho, 1995.

LECLAIR, K.; HEGGART, H.; OGGEL, M.; BARTLETT, F. M.; McKELLAR, R. C. Modeling the inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in simulated egg wash water. **Food Microbiology** London v. 4, n. 11, p. 345-353, aug. 1994.

- LEE, S. H.; FRANK, J. F. Effect of growth temperature and media on inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine, **Journal of Food Safety** Trumbul v. 11, n. 2 p.65-71, 1991.
- LEITÃO, M. F. F. A injúria microbiana e sua importância na avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos **Boletim ITAL** , Campinas, v.22, n. 4, p. 397-416, out/dez, 1985.
- LEITÃO, M. F. F.; MONTEIRO FILHO, E.; DELAZARI, I.; ANGELUCCI, E. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da folha de alface (*Lactuca sativa*). **Boletim. Ital** Campinas, v.18, n. 2, p. 2201-226, 1981.
- LILARD, H. S. Levels of chlorine and chlorine dioxide of equivalent bactericidal effect on poultry processing water. **Journal Water Science**. v.44, p.1954-1957, 1979.
- MAWER, S. L.; SPAIN, G. E. *Salmonella enteritidis* phage type 4 and hens eggs **The Lancet** London v. 1 n. 4, p. 280-281, feb, 1989.
- MÉDICA diz que Salmonella matou aposentado, Folha de São Paulo, Limeira, 10 de nov. 1995. caderno 7, Folha suldeste pag. 3.
- MERCER, W. A.; SOMMERS, I. I. Chlorine in food plant sanitation. **Advances Food Research** New York v. 7, p.129-169, 1957.

- MILLER, W. A. A comparison of various wastewater additives in preventing microbial deterioration in washed eggs that formerly were dirty **Poultry Science** Champaign v. 36, n. 3, p. 579-584, 1957.
- MINOR, LE, L. Genus III *Salmonella* Lignières 1900, 389 AL, 1984, In: Bergey's. Manual of Systematic Bacteriology. v.1, p. 446-447 KRIEG, N, R; HOLT, J. G. (ed) Baltimore Willians Wilkins
- MILLER, M. W.; JOUKOVSKY.; KRAGHT, A. Experiments related to the spoilage of washed eggs **Poultry Science** Champaign v. 29, p. 27-33, 1950.
- MOATS, W.A. Classification of bacteria from commercial egg washed and unwashed eggs **Applied and Environmental Microbiology** Washington v. 40 n. 4, p. 710-714, oct. 1980
- MOATS, W. A. Factors affecting bacterial loads on shells of commercially washed eggs **Poultry Science** Champaign, v. 60, n. 9 p. 2084-2090, sep. 1981
- MOSLEY, E. B.; ELLIKER, P. R.; HAYS H. Destruction of food spoilage, indicator and pathogenic organisms by various germicides in solution and stainless steel surface. **Journal Of Milk Food Technology**, v. 39, n.12, p. 830-836, 1976.
- MOSSEL, D. A . A. Essentials and perspectives of the microbial ecology of foods, In: Roberts, T.A & Skinner, f.A. (eds) Food Microbiology:

- Advances and prospects, Academic press. London, England, P. 1-45, 1983.
- MOUNTNEY, G. J.; DAY, C. Microbiological contamination of water used for washing eggs. **Poultry Science** Champaign v. 49, n. 1, p. 146-149, 1970.
- NAGARAJA, K. V. In: Calnek, B. K. Eds. Disease of Poultry. Ames, Iowa State Univ. Press, 1991 p. 99-130.
- NIELSEN, E. W. Effect of hipochlorite and hydrogen peroxide on bacteriophages. In: International Dairy Congress, 20 Stockholm, 1978.
- ODLAUG, T. E. Antimicrobial activity of halogens **Journal Food Protection** Iowa v. 44, n. 8, p. 608-613, aug. 1981.
- OLIVEIRA, J. V.; SERRANO, A. M. Resistência de *Salmonella typhi* e *Clostridium perfringens* ao uso contínuo de hipoclorito de sódio e de um composto de amônio quaternário, Campinas, 1984 n. paginas 84, Tese de Mestrado em ciências de alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.
- OPTIZ, H. M. Progress being made in *S. enteritidis* reduction on the farm. **Poultry Digest** p. 16-22 mar 1992 a/b

- OSTHOLD, W.; SHIN, H. K.; DRESEL, J.; LEISTTNER, L. improving the storage life of carcasses by treating their surfaces with and acid spray **Fleishwirtschaft** v. 64, n. 7, p. 828-830, jul. 1984.
- PENNINGTON, V.; HENDRIC, L. H. Use of germicide in wash water to reduce bacterial contamination on shell US Egg and Poultry Mag. v. 50 p. 26-27, 47-48, 1944.
- PADRON, M. N. *Salmonella typhimurium* penetration through the eggshell of hatching eggs **Avian Disease**. Kennett Square v.34, n. 2 p. 463-465, apr/jun. 1990.
- PARKER, M. E.; LITCHFIELDS, J. H. Food plant sanitation, New York. Reinhold, 1962.
- PERALES, I.; AUDICANA, A. *Salmonella enteritidis* and eggs **The Lancet** London v. 12, n. 2 p.1133, nov. 1988.
- PERALES, I.; AUDICANA, A. The role of hens eggs in outbreaks of salmonellosis in North Spain **International Journal Food Microbiology** v.8 p.175-180, 1989.
- RAY, B. Methods to detect stressed microorganisms. **Journal Food Protection**, Iowa v.42, n. 4, p.346-345, apr. 1979.

- RISK, S. S.; AYRES, J. C.; KRAFF, A. A. Disinfection of eggs artificially inoculated with Salmonella Application of several disinfectants. **Poultry Science** Champaign v. 45, p. 764-769, 1966.
- RISK, S. S.; AYRES, J. C.; KRAFF, A. A. Effect of holding condition on the development of Salmonella in artificially inoculated hens eggs **Poultry Science** Champaign v.45 p. 825-829, 1966.
- ROBERTS, T. Salmonellosis control: Estimated economic costs **Poultry Science**, Champaign v. 67 n.6 p. 936-943 jun, 1988.
- RODRIGUES, P. C.; LIMA, J. N. F.; ANDRADE, A. N. Características de ovos de casca branca e de cor, **Revista Científica**, Jaboticabal v.7, n. 2, p. 291-293, 1979.
- ROSSIN, C. R. Desinfecção. In: Técnica de abastecimento e tratamento de água 2 ed. São Paulo, **CETESB**, 1979. v.2 p. 883-929.
- SANDOVSKI, A. Y.; FABER, A. *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* in frozen vegetables. Incidence and survival after treatments commonly used at the vegetables freezing plants **Journal Food Safety**, v. 2 p. 59-73, 1980.
- SCHEUSNER, D. L.; BUSTA, F. F.; SPECK, M. L. Injury of the bacteria by sanitizers **Applied Microbiology** Washington v. 21 n.1, p. 41-45, jan. 1971.

SCHIRIKE Medios de lucha contra las salmonelosis avícola, **Plantel** p. 14-20, octubre 1973.

SHANON, E. L.; CLARCK, W. S.; REINBOLD, G. W. Chlorine resistance of enterococci **Journal of Milk and Food Technology** Shelbyville v.21, p. 120-123, 1964.

SHIVAPRASAD, H. L.; TIMONEY, J. F.; MORALES, S.; LUCIO, B.; BAKER, R. C. Pathogenesis of *S. enteritidis* infection in laying chickens I. studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses **Avian Disease** Kennett Square v. 34, n. 3, p. 548-557, jul-sep 1990.

SNOEYENBOS, G. H.; SMYSER, C. F.; ROEKER, H. VAN *Salmonella* infections of the ovary and peritoneum of chickens **Avian Disease** Kennet Square v.3 p. 668-670, 1969.

SOPREY, P. R.; MAXCY, R. B. Tolerance of bactericidal for quaternary ammonium compound. **Journal Food Science** Chicago v. 33, n. 5, p. 536-540, sep/oct 1968.

SORRELLS, K. M. Pathogenicity of *Salmonella gallinarum* after metabolic injury by freezing **Applied Microbiology** v. 1 p. 39-43, 1970.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WASTES
AND WASTERWATERS. APHA Washington, 16^a ed 1985. pg 294-
300.

SMULDERS, F. J. M.; BARENDSEN, P.; VAN LOGTESTIJN, J. G.;
MOSSEL, D. D. A.; VAN DER MAREL, G. M. Review: Lactic acid:
considerations in favour of its acceptance as a meat descontaminat.
Journal of Food Technology Oxfords v.21, n.4, p.419-436, aug.
1986.

SPACKMAN, D. West. Poultry Disease Conference Davis, CA 1989 pp.
207-210

St. LOUIS, M. E.; MORSE, D. L.; PORTER, M. E.; DEMELFI, T. M.;
GUZEWICH, J. J.; TAUXE, R. V.; BLAKE, P. A. The emergence of
grade A eggs as major souse of *S. enteritidis* infections **Journal**
American Medicine Association v. 259 p. 2103-2107, 1988.

TANNER R. S. Comparative testing and evaluation of hard surface
disinfectants **Journal Industrial Microbiology** v.4, p.145-154,
1989.

TAUNAY, A. E.; FERNANDES, S.A.; TAVENCHIO, A. I.; NEVES, B.
C.; DIAS; A. M.G; IRINO, K. The role of Public Heath Laboratory
in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brasil **Revista do**
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo v.38, n.2, p.
119-127, mar-abr. 1996.

TAVER, F. V.; CHOATE, R. E. Influence of rapid coding and storage conditions on shell egg quality **Food Technology** Chicago v. 18, p. 1604-1606, 1964.

TIMONEY, J. F.; SHIVAPRASAD, A. L.; BAKER, R. C.; ROWE, B. Egg transmission after infection of hens with *S. enteritidis* phage type 4 **Veterinary Record** v. 125, n. 24 p.600-601, dec 1989.

TROLLER, J. A. Sanitation in food processing, Orlando, Academic, Press, inc EUA 1983 p.79-110.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOOSER, R. D. F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods 15 ed. Washington, D.C. APHA 1992, 1219p.

VAN NETTEN, P.; HUIS in't VELD, J. H. J.; MOSSEL, D. A. A. The immediate bactericidal effect of lactic acid on meat borne pathogens **Journal of Applied Bacteriology** London, v. 77, n. 5, p. 490-496, nov. 1994.

WALTMAN, W. D.; HORNE, A. M.; PIRKLE, C.; JOHNSON, D. C.; Prevalence of *Salmonella enteritidis* in spent hens **Avian Disease** Kennett Square v.36, n. 2, p. 251-255, apr-jun. 1992.

WEINACK, O. M.; SNOEYENBOS, G. H.; SMYSER, C. F.; SDERJADI, A. S. Reciprocal competitive exclusion of *Salmonella*

and *Escherichia coli* by native intestinal microflora of the chickens and turkeys **Avian Disease** Kennet Square v.26, n. 3, p. 585-595, jul/sep. 1982.