

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**MÉTODOS DE DESINFECÇÃO E PRINCÍPIOS ATIVOS DESINFETANTES E  
A CONTAMINAÇÃO, MORTALIDADE EMBRIONÁRIA E ECLODIBILIDADE  
DE OVOS E EMBRIÕES DE AVES**

HULDO COLARES CONY  
Médico Veterinário/PUCRS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de  
Mestre em Zootecnia  
Área de Produção Animal

Porto Alegre (RS) Brasil  
Março de 2007

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter-me dado a vida e a oportunidade de poder estudar.

Aos meus pais, José Berilo Cony e Iara T. Colares Cony por terem me dado a educação e o amor recebidos durante a minha formação pessoal.

À minha noiva, Caroline Leal Segabinazzi, por ter-se mantido ao meu lado, me ajudado e incentivado em todos os momentos.

Ao meu orientador, professor Sérgio Luiz Vieira, pelos ensinamentos e, acima de tudo, pela confiança depositada.

Ao colega Lesser Duarte Salah, exemplo pessoal e profissional em quem tenho me espelhado ao longo dos anos.

Ao grande amigo Hirã Azevedo Gomes, parceiro nesta caminhada, pois sem a sua presença, provavelmente, eu não teria superado todos os obstáculos.

Ao laboratório Porto Belo, em especial à Médica Veterinária Maria T. Poittevin Gilmet (Marita) pela ajuda em um momento de extrema dificuldade.

Ao meu co-orientador professor Vladimir Pinheiro do Nascimento.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino gratuito e de qualidade.

À Avipal SA Avicultura e Agropecuária, por ter tornado possível a execução deste trabalho.

Ao amigo Josemar Berres pelas inúmeras ajudas ao longo destes 2 anos, aos colegas Jorge Coneglian, Dimitri Freitas e a todos os outros que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

# MÉTODOS DE DESINFEÇÃO E PRINCÍPIOS ATIVOS DESINFETANTES E A CONTAMINAÇÃO, MORTALIDADE EMBRIONÁRIA E ECLODIBILIDADE DE OVOS E EMBRIÕES DE AVES<sup>1</sup>

Autor: Huldo Colares Cony

Orientador: Sérgio Luiz Vieira

Co-orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento

## RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de avaliar a eficiência de diferentes princípios ativos desinfetantes e dois métodos de desinfecção de ovos: pulverização e imersão. As desinfecções foram conduzidas na granja de reprodutoras imediatamente após a postura dos ovos. Em cada experimento, houve um tratamento com fumigação e um grupo controle sem desinfecção alguma. Os experimentos tiveram 7 tratamentos: soluções desinfetantes a base de fenol sintético (1040 ppm), digluconato de clorexidina 20% (200 ppm), amônia quaternária 40% (800 ppm), amônia quaternária 40% (400 ppm) e uréia 60% (600 ppm), formaldeído 91% (7,7 g/m<sup>3</sup>), amônia quaternária 13% (130 ppm) e glutaraldeído 37% (370 ppm) e grupo controle. Foram amostrados 40 ovos por tratamento para análise microbiológica buscando avaliar os níveis de mesófilos totais, bolores e leveduras, coliformes totais, *Pseudomonas sp* e *Aspergillus sp*. Após o nascimento, foi conduzido embriodiagnóstico avaliando-se eclodibilidade dos ovos férteis, mortalidade embrionária de 1 a 3 dias, 4 a 7 dias, 8 a 14 dias, 15 a 21 dias, ovos podres e pintos impróprios à criação. Foi utilizado, na análise microbiológica, delineamento completamente casualizado e na análise das mortalidades embrionárias delineamento em blocos ao acaso. Os resultados do embriodiagnóstico foram submetidos à transformação para arco seno. No Experimento 1, em que os ovos foram desinfetados por pulverização, os ovos desinfetados com amônia associada à glutaraldeído tiveram maior contaminação por mesófilos totais, seguido pelo fenol sintético com todos os outros tratamentos sendo similares com menor contaminação. Na avaliação dos outros microorganismos, não foram detectadas diferenças. No embriodiagnóstico, os resultados foram similares não diferindo estatisticamente. No Experimento 2, os ovos foram desinfetados através de imersão e verificou-se maior contaminação no grupo controle por mesófilos e coliformes totais, sendo, na análise de coliformes, seguido pelo tratamento amônia associada à uréia, não diferindo os outros tratamentos entre si e tendo similar resultado na análise dos outros microorganismos. No Embriodiagnóstico, o tratamento com formaldeído teve maior mortalidade embrionária entre 4 a 7 dias, seguido dos demais, diferindo destes como o tratamento com menores mortalidades o grupo desinfetado com amônia quaternária. As demais avaliações não tiveram diferença entre tratamentos.

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (101 p.) Março, 2007.

# METHODS OF DISINFECTION AND DISINFECTANT ACTIVE PRINCIPLES AND CONTAMINATION, EMBRYO MORTALITY AND HATCHABILITY OF EGGS AND EMBRYOS OF BROILER BREEDER HENS<sup>1</sup>

Author: Huldo Colares Cony

Adviser: Sergio Luiz Vieira

Co-adviser: Vladimir Pinheiro do Nascimento

## ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the efficiency of different disinfectant active principles and two methods egg disinfection: spray and immersion. The disinfections were conducted at the breeder farm immediately after egg laying. In each experiment, there was a fumigation treatment and a control group without any disinfection. The experiments had seven treatments: disinfecting solutions with phenol synthetic base (1040 ppm), chlorhexidine digluconate 20% (200 ppm), quaternary ammonium 40% (800 ppm), quaternary ammonium 40% (400 ppm) and urea 60% (600 ppm), formaldehyde 91% (7,7 g/m<sup>3</sup>), quaternary ammonium 13% (130 ppm) and glutaraldehyde 37% (370 ppm) and control group. In each of the treatments, 40 eggs were sampled for microbiological analysis to evaluate the levels of total mesophiles, mold and yeasts, total coliforms, *Pseudomonas sp* and *Aspergillus sp*. After hatching, an embryodiagnosis was conducted to evaluate the hatchability of fertile eggs from 1 to 3, 4 to 7, 8 to 14, 15 to 21 days embryonic mortality, rotten eggs and cull chicks. A completely randomized design was used for the microbiological analysis and a randomized block design was used for the embryonic mortality analysis. The results of the embryodiagnosis were submitted to arcsine transformation. In Experiment 1, eggs were disinfected by spraying, the eggs disinfected with ammonium and glutaraldehyde associated showed greater contamination for total mesophiles, followed by synthetic phenol, with all the other treatments being similar with lesser contamination. In the evaluation of other microorganisms differences were not detected. In the embryodiagnosis the results were similar, not differing statistically. In Experiment 2, the eggs were disinfected by immersion and a greater contamination of mesophiles and total coliforms was verified in the control group; the latter, followed by ammonium and urea associated; the other treatments did not differ among themselves and the analysis of the other microorganisms showed a similar result. In the embryodiagnosis the formaldehyde treatment was the one which showed greater embryonic mortality between 4 to 7 days followed by the others; the group disinfected with quaternary ammonium differed from those, being the treatment with fewer mortalities. In the other evaluation differences were not detected.

---

<sup>1</sup>Master Dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil, (101p.) March, 2007.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. OBJETIVOS .....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ESTRUTURA DOS OVOS .....	4
2.1.1. A casca .....	4
2.1.2. A cutícula .....	5
2.1.3. Os poros .....	6
2.1.4. As membranas.....	8
2.1.5. A gema.....	9
2.1.6. O albúmen .....	10
2.2. O MANEJO NA COLETA DOS OVOS INCUBÁVEIS.....	11
2.3. CONTAMINAÇÃO DOS OVOS INCUBÁVEIS .....	17
2.4. MÉTODOS EMPREGADOS NA DESINFECÇÃO DE OVOS INCUBÁVEIS .....	19
2.4.1. Fumigação .....	20
2.4.2. Pulverização .....	23
2.4.3. Imersão .....	24
2.5. DESINFETANTES.....	25
2.6. COMPOSTOS QUÍMICOS .....	26
2.6.1. Formaldeído .....	26
2.6.2. Glutaraldeído .....	29
2.6.3. Clorexidina .....	33
2.6.4. Amônia quaternária.....	35
2.6.5. Fenóis .....	38
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1. LOCAL E DATAS .....	41
3.2. LINHAGEM UTILIZADA .....	42
3.3. COLETA DO MATERIAL E INSTALAÇÕES NA GRANJA.....	42
3.4. TRATAMENTOS.....	43
3.5. EXPERIMENTO 1.....	44
3.5.1. Preparo das unidades experimentais.....	45
3.6. EXPERIMENTO 2.....	47
3.6.1. Preparo das unidades experimentais.....	48
3.7. MANEJO EXPERIMENTAL.....	50
3.8. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	54
3.9. VARIÁVEIS ANALISADAS E MODELO ESTATÍSTICO.....	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
4.1. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DO EXPERIMENTO 1 .....	57
4.2. RESULTADOS DO EMBRIODIAGNÓSTICO DO EXPERIMENTO 1 .....	61
4.3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DO EXPERIMENTO 2.....	62
4.4. RESULTADOS DO EMBRIODIAGNÓSTICO DO EXPERIMENTO 2 .....	64

5. CONCLUSÕES.....	67
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
7. APÊNDICES.....	74
VITA.....	89

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Princípios ativos e dosagens dos desinfetantes utilizados nos dois Experimentos.....	44
Tabela 2. Análise microbiológica da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	59
Tabela 3. Mortalidade embrionária em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	62
Tabela 4. Análise microbiológica da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	64
Tabela 5. Mortalidade embrionária em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	66

## RELAÇÃO DE APÊNDICES

	Página
Apêndice 1. Composição para cada 100mL /100g dos desinfetantes utilizados em ambos os Experimentos.....	75
Apêndice 2. Preparo das soluções desinfetantes com suas respectivas quantidades, diluições e dosagens no Experimento 1.....	76
Apêndice 3. Preparo das soluções desinfetantes com suas respectivas quantidades, diluições e dosagens no Experimento 2.....	76
Apêndice 4. Temperatura e umidade da sala de ovos na granja de reprodutoras no Experimento 1.....	77
Apêndice 5. Temperatura e umidade da sala de ovos na granja de reprodutoras no Experimento 2.....	77
Apêndice 6. Temperatura da água no momento da imersão de cada tratamento.....	78
Apêndice 7. Localização e identificação dos tratamentos nos carrinhos de incubação e nascimento localizados à esquerda e à direita dentro das máquinas no Experimento 1.....	79
Apêndice 8. Localização e identificação dos tratamentos nos carrinhos de incubação e nascimento localizados à esquerda e à direita dentro das máquinas no Experimento 2.....	80
Apêndice 9. Número de repetições por tratamento no Experimento 1..	81
Apêndice 10. Número de repetições por tratamento no Experimento 2..	81
Apêndice 11. Análise microbiológica de mesófilos totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	82
Apêndice 12. Análise microbiológica de bolores e leveduras da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	82

Apêndice 13. Análise microbiológica de coliformes totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	82
Apêndice 14. Análise microbiológica de <i>Pseudomonas</i> da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	82
Apêndice 15. Análise microbiológica de <i>Aspergillus</i> da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	82
Apêndice 16. Mortalidade embrionária de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	83
Apêndice 17. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	83
Apêndice 18. Mortalidade embrionária de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	83
Apêndice 19. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	83
Apêndice 20. Mortalidade embrionária de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	83
Apêndice 21. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	84
Apêndice 22. Mortalidade embrionária de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	84
Apêndice 23. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	84

Apêndice 24. Quantidade de ovos podres em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	84
Apêndice 25. Quantidade de ovos podres transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	84
Apêndice 26. Quantidade de pintos impróprios à criação em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	85
Apêndice 27. Quantidade de pintos impróprios à criação transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.....	85
Apêndice 28. Análise microbiológica de mesófilos totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	85
Apêndice 29. Análise microbiológica de bolores e leveduras da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	85
Apêndice 30. Análise microbiológica de coliformes totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	85
Apêndice 31. Análise microbiológica de <i>Pseudomonas</i> da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	86
Apêndice 32. Análise microbiológica de <i>Aspergillus</i> da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	86
Apêndice 33. Mortalidade embrionária de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	86
Apêndice 34. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	86

Apêndice 35. Mortalidade embrionária de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	86
Apêndice 36. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	87
Apêndice 37. Mortalidade embrionária de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	87
Apêndice 38. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	87
Apêndice 39. Mortalidade embrionária de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	87
Apêndice 40. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	87
Apêndice 41. Quantidade de ovos podres em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	88
Apêndice 42. Quantidade de ovos podres transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	88
Apêndice 43. Quantidade de pintos impróprios à criação em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	88
Apêndice 44. Quantidade de pintos impróprios à criação transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.....	88

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µm	micrômetro
g	grama
mm	milímetro
cm	centímetro
%	valor percentual
cm <sup>3</sup>	centímetro cúbico
°C	grau Celsius
m <sup>3</sup>	metro cúbico
mL	mililitro
ppm	parte por milhão
DNA	ácido desoxirribonucléico
RNA	ácido ribonucléico
m	metro
A.Q	amônia quaternária
Gtr	glutaraldeído
h	hora
W	watt
mim	minuto
Exp	experimento

## 1. INTRODUÇÃO

A cadeia de produção avícola tem, nos dias atuais, cada vez mais se destacado pela capacidade de produtividade de alimentos de alta qualidade por baixos custos, permitindo à população, especialmente a de baixa renda, tão populosa no Brasil, ter acesso à proteína animal de alta qualidade por um custo acessível quando comparada às carnes de peixe, ovina e bovina, apenas citando algumas.

Todo este sucesso se deve aos altos padrões adquiridos pela avicultura Brasileira ao longo dos anos em todos os pontos da cadeia produtiva, desde a genética, passando pela sanidade, manejo, nutrição e outros menos importantes, fruto de um intenso trabalho dos profissionais da área, citando aí pesquisadores, professores, profissionais da indústria produtiva e da área comercial. Toda esta eficiência já citada da cadeia avícola, como um todo, passa pela produção de ovos incubáveis e pintos de 1 dia, ponto importantíssimo na cadeia de produção.

Ao longo dos anos, diversas práticas relacionadas ao manejo das aves produtoras de ovos férteis têm sido implantadas visando a melhoria desta produção, práticas estas que contribuíram para a conhecida melhoria que os índices produtivos tem com o passar dos anos. Quanto maiores os cuidados relacionados às aves, melhores serão os resultados alcançados na produção de pintos que serão, mais tarde, um alimento que irá à mesa do consumidor.

Uma das tantas práticas relacionadas ao manejo e à sanidade é a desinfecção dos ovos incubáveis poucos instantes após a postura, que, necessariamente, deve ser feita de forma correta e com os desinfetantes adequados. A ineficiência deste processo certamente acarretará em perdas consideráveis na eclodibilidade, assim como aumento da mortalidade de pintos no campo, produção de aves sanitariamente inferiores, pior conversão alimentar, redução dos índices de eficiência e, conseqüentemente, aumento nos custos de produção. Diversos métodos de desinfecção e princípios ativos têm sido utilizados com relativa eficiência; entretanto, varias dúvidas têm surgido com o passar do tempo em relação à eficiência dos processos e desinfetantes utilizados, toxicidade tanto para os embriões quanto para as pessoas que trabalham no processo produtivo, relação custo e benefício, entre outros, além da crescente gama de produtos oferecidos no mercado. Apesar da já citada competência com que a produção avícola é trabalhada neste país, os profissionais da área não possuem um consenso sobre qual o melhor método a ser empregado, assim como qual é o melhor desinfetante. Os métodos mais comumente utilizados para a desinfecção dos ovos incubáveis são a fumigação, a pulverização e a imersão dos ovos, sendo que os princípios ativos utilizados geralmente são o formaldeído e os compostos quaternários de amônia. Existe, no entanto, uma série de outros produtos e métodos à disposição.

### **1.1. Objetivos**

Avaliar a eficiência dos métodos de desinfecção em ovos férteis - imersão e pulverização e seis princípios ativos desinfetantes - formaldeído,

amônia quaternária, amônia quaternária associada à uréia, amônia quaternária associada à glutaraldeído, digluconato de clorexidina e fenol sintético. Foram analisadas a capacidade de redução microbiana na superfície da casca, eclodibilidade dos ovos férteis, contaminação dos ovos incubados, mortalidade embrionária em diferentes momentos do desenvolvimento embrionário e pintos impróprios à criação.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Características gerais da estrutura dos ovos**

#### **2.1.1. A casca**

A casca dos ovos é relativamente lisa, dura, recoberta por calcáreo e ligada intimamente a outras duas membranas (Romanoff & Romanoff, 1963). Whitehead (1991) cita que a casca possui duas funções vitais relacionadas à reprodução: ser fonte de cálcio para o embrião em desenvolvimento e permitir que ocorram trocas gasosas entre o embrião em desenvolvimento e o ambiente sem que ocorram perdas excessivas de água durante o período de incubação. A casca dos ovos das aves pesa cerca de 5g, sua superfície interna é forrada por duas membranas fibrosas com cerca de 70  $\mu\text{m}$  de espessura separadas na extremidade mais grossa do ovo, formando a câmara de ar. Externamente a estas membranas, está a casca que possui entre 300 e 340  $\mu\text{m}$  de espessura e consiste em cerca de 98% de carbonato de cálcio e 2% de proteína (Simkiss & Taylor, 1971).

Segundo North (1972), a casca é depositada sobre as membranas que circundam a gema e o albúmen, denominadas membrana interna e membrana externa da casca. A membrana externa da casca é ligada à camada mamilar que possui centros de cristalização contendo uma pequena massa protéica de onde crescem numerosos cristais de calcita (Simkiss & Taylor,

1971) inserido-se nas fibras da membrana, ligando firmemente a parte calcificada à membrana externa da casca (Nascimento & Pippi Salle, 2003). O crescimento interno é inibido pela membrana da casca e provavelmente através de um rápido crescimento de outros cristais os quais se estendem lateralmente formando a completa espessura da casca (Simkiss & Taylor, 1971). O crescimento lateral produz os chamados cumes basais, com cerca de 20 µm, enquanto o crescimento para fora a partir da camada de nucleação formará a camada dos cones (Nascimento & Pippi Salle, 2003).

### **2.1.2. A cutícula**

Segundo Simkiss & Taylor (1971), a cutícula consiste em uma resistente camada de proteína rica em tirosina, lisina e cisteína. É um complexo de proteína e carboidratos, que inclui na sua composição química fósforo, magnésio, cloro, potássio sódio e enxofre, com vida útil de apenas poucas horas após a ovoposição (Nascimento & Pippi Salle, 2003). É a última camada concêntrica na formação do ovo; contém alto percentual de água, atua como lubrificante no momento da postura, estando úmida nos instantes que a seguem, mas secando logo em breve, obstruindo os poros e evitando trocas desnecessárias de ar e umidade (North, 1972) e a passagem de microorganismos através da casca (Zeidler, 2002). A sua qualidade está diretamente relacionada com a penetração de microorganismos através da casca, diferentemente da porosidade, o que dá suporte à idéia de que a cutícula se estende através dos poros dificultando a entrada de microorganismos, mas permitindo trocas gasosas (Bruce & Drisdale, 1991).

Segundo Sparks & Board (1985), todas as evidências indicam a cutícula como importante barreira adquirida após a postura dos ovos contra a penetração bacteriana através dos poros da casca. Em trabalho realizado, estes autores verificaram menor índice de contaminação em ovos submetidos à contaminação experimental após a cutícula já seca quando comparados a ovos contaminados ainda com a cutícula úmida. Segundo Romanoff & Romanoff (1963), a cutícula está intimamente ligada à casca e distribui-se por toda a superfície, incluindo a entrada dos poros. Embora seja um envelope fechado, não possuindo aberturas visíveis, é permeável para os gases. A espessura usual de cutícula depositada sobre a casca dos ovos das galinhas é de 0,05 a 0,010  $\mu\text{m}$ . A cutícula é composta de duas camadas distintas. Bruce & Drisdale (1991) concluem que a deposição de cutícula declina de acordo com a idade das aves. Estes autores verificaram estas evidências em ovos não nascidos em um experimento, concluindo que a incidência de contaminação era maior nos ovos com pior qualidade da cutícula, enquanto Brake & Sheldon (1990) afirmam que a cutícula pode ser afetada pela aplicação de desinfetantes na casca dos ovos alterando a permeabilidade e o desenvolvimento embrionário.

### **2.1.3. Os poros**

As camadas interna e externa da casca possuem milhares de poros, que permitem a absorção de oxigênio e liberação de dióxido de carbono e umidade (North, 1972; Allcroft & Beer, 1973). No momento da postura, a maioria destes poros são selados pela cutícula; porém, com o aumento da idade das reprodutoras, o número de poros abertos é aumentado (North, 1972).

Segundo Romanoff & Romanoff (1963), os poros são oval-circulares abertos na superfície da casca, possuem vários tamanhos, sendo que os maiores são visíveis a olho nú e separados por espaços irregulares. Simkiss & Taylor (1971), citaram que a camada interna da casca é ligada às membranas por numerosas extensões cônicas pontiagudas incrustadas nas fibras das membranas denominadas poros, enquanto Gilbert (1971) comenta que estes são estruturas em forma de funil que atravessam a casca verticalmente.

A literatura apresenta divergências quanto ao número de poros existentes na casca dos ovos, sendo encontradas referências a números entre 7.500 a 20.000 poros (Romanoff & Romanoff, 1963; Simkiss & Taylor, 1971; North, 1972; Jones, 1991; Mauldin, 2002; Zeidler, 2003). Os poros têm distribuição irregular, estando em maior número na região equatorial e na extremidade mais grossa, sendo escassos na extremidade mais fina do ovo (Romanoff & Romanoff, 1963).

Segundo Romanoff & Romanoff (1963), os poros atravessam a casca ligando o exterior ao interior do ovo alongando-se a partir da sua entrada onde possui maior diâmetro, sendo que a abertura é extremamente estreita possuindo ranhuras as quais espalham-se em comprimento até a superfície interna. Os poros dos ovos das galinhas não são ramificados e seu comprimento depende da espessura da casca, tendo valor médio de 0,20 mm de comprimento, diâmetro de 0,013 mm na extremidade externa e 0,006 mm na extremidade interna; já Simkiss & Taylor (1971) e Gilbert (1971) afirmam os valores como de 15 a 65  $\mu\text{m}$  na extremidade externa e de 6 a 23  $\mu\text{m}$  na interna.

De todos os poros existentes na casca apenas um pequeno número, normalmente entre 1 e 100, são penetrados pelas bactérias, sendo chamados

de “poros patentes” por, coincidentemente, serem alguns daqueles que tem tamanho que permite esta penetração bacteriana e serem inadequadamente fechados pela cutícula (Jones, 1991).

#### **2.1.4. As membranas**

Internamente à casca, existe um envelope de dupla camada com o mesmo formato do ovo, onde o conteúdo deste permanece envolto. As duas camadas deste envelope constituem as membranas da casca (Romanoff & Romanoff, 1963).

Zeidler (2003) afirma que o albúmen é envolto por duas membranas, uma mais espessa, a membrana externa da casca e outra mais fina, a membrana interna da casca, a qual fica em contato direto com o albúmen. São altamente fibrosas e permeáveis à umidade e gases, porém podem prevenir invasões de microorganismos. Gilbert (1971) comenta que as membranas da casca são estruturas fortes, ligeiramente elásticas, esbranquiçadas, e juntas possuindo 70  $\mu\text{m}$  de espessura. As membranas interna e externa da casca são intimamente ligadas, separando-se uma da outra apenas na extremidade mais larga do ovo, formando a câmara de ar (Simkiss & Taylor, 1971). A membrana interna, a qual possui duas camadas distintas de fibras, está situada imediatamente acima do albúmen e possui poros com cerca de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro, enquanto a membrana externa é intimamente ligada à casca e possui três camadas de fibras e poros com tamanho maior que as dimensões bacterianas. As fibras das membranas possuem espessura entre 0,8 e 1  $\mu\text{m}$  possuindo núcleo envolto por camada de mucopolissacarídeo com cerca de 0,5

um (Nascimento & Pippi Salle, 2003). A membrana interna da casca, em contato com o albúmen nas regiões polares absorve algumas fibras de mucina do albúmen nestes pontos formando o “ligamentum albuminis”, situado em ambas as extremidades, o qual é fixo na extremidade fina e despreende-se na extremidade mais larga do ovo com a formação da câmara de ar, a qual forma-se com o resfriamento natural sofrido pelo ovo após a postura. A câmara de ar leva de 6 a 60 minutos para se formar (Romanoff & Romanoff, 1963) e possui 1,8 cm de diâmetro em média. De acordo com a idade das reprodutoras, ocorre uma desidratação fisiológica no ovo e a câmara de ar tendencialmente aumenta em tamanho e profundidade. Este é um indicador da idade das aves; porém, podendo ser alterada de acordo com as condições sob as quais as aves são mantidas. É citado ainda, que em um pequeno número de ovos, a câmara de ar pode formar-se em pontos distintos como a extremidade mais fina ou nos lados (North 1972).

#### **2.1.5. A gema**

Segundo Allcroft & Beer (1973), a gema é a única parte do ovo que se origina dentro do ovário, visto que as demais estruturas constituintes se originam durante o trânsito do ovo através do oviduto. É constituída pelo blastodisco, que se desenvolve quando fertilizado, sendo, então, chamado de blastoderma e é um rico depósito de substâncias alimentícias no interior da membrana vitelínica. Zeidler (2003) afirma que a gema constitui 30 a 32% do peso do ovo. É circundada, além da membrana vitelínica, por anéis brancos e amarelos, sendo que a maioria dos lipídios e colesterol são ligados a

lipoproteínas, mais concentradas nas camadas brancas. Estas camadas são resultantes da deposição alternada de componentes da gema e não podem ser visualizadas a olho nú.

É a porção mais importante dos ovos, por acomodar o blastoderma, o qual vai transformar-se no embrião e também por possuir o material nutritivo que irá sustentar o desenvolvimento embrionário. Nos momentos que sucedem à postura, a gema possui maior gravidade específica que o albúmen tendendo a afundar abaixo do centro do ovo, porém o albúmen torna-se mais concentrado pela perda de água e a gema tende a subir (Romanoff & Romanoff, 1963).

#### **2.1.6. O albúmen**

Segundo North (1972) e Zeidler (2003), o albúmen é composto por quatro camadas distintas, a chalaza (2,7% a 3% do total), o líquido interno branco ou camada interna fina (17 a 17,3%), o branco denso ou camada espessa externa (57%) e brancos finos externos ou finos externos (23%).

A chalaza está situada em duas extremidades da gema, ao longo do eixo do ovo, consistindo em dois filetes de ovomucina retorcidos juntos até a extremidade fina do ovo e um filete até a extremidade larga (Gilbert, 1971). Romanoff & Romanoff (1963) estabelecem que a chalaza que se estende até a extremidade fina do ovo é maior e mais larga, enquanto a que se estende até a extremidade mais larga é menos firme.

Segundo Nascimento & Pippi Salle (2003), o albúmen tem função de defesa contra a penetração de microorganismos, estando entre os

componentes mais importantes para tal função a lisozima, ovotransferrina, avidina, ovoflavoproteína, ovomucóide e ovoinibidor, evidenciando também que a sua alcalinidade, que chega a pH 9,5, e a sua natureza viscosa são importantes aliados nesta função.

## **2.2. O manejo na coleta dos ovos incubáveis**

Na produção avícola, tem-se aprimorado os cuidados relacionados ao manejo dos ovos incubáveis, visto que estes são a matéria prima que dará origem aos pintos de um dia que, futuramente, se tornarão um alimento que chegará a mesa dos consumidores. Bermudez & Brown (2003) concluem que a consideração mais importante relacionada à sanidade dos ovos é o manejo do lote. Pode-se considerar ovos aptos à incubação aqueles que possuem boa aparência, forma ovóide, boa textura de casca, tamanho e limpeza adequados. Ovos com estas características geralmente vão apresentar alta eclodibilidade (Elguera, 1999).

Após a postura, a qualidade dos ovos pode ser piorada ou, no máximo mantida, nunca melhorada. Para que seja possível a manutenção da qualidade, os ovos devem ser mantidos sempre secos e limpos, livres de matéria fecal, que em contato com a casca, contamina o ovo trazendo sérios prejuízos ao embrião ou ao pinto recém nascido (Elguera, 1999).

A biologia dos ovos férteis possibilita que todos os recursos nutricionais necessários para o desenvolvimento embrionário estejam presentes no ovo durante a incubação. O ambiente ideal para o desenvolvimento embrionário é o mesmo necessário para a multiplicação de

microorganismos; portanto, os ovos contaminados disseminarão microorganismos nas incubadoras e nascedouros, reduzindo a eclodibilidade e produzindo pintos de baixa qualidade (Bramwell, 2000). Segundo Scott e Swetnam (1993b), a contaminação dos ovos incubáveis por microorganismos resulta no aumento do número de ovos podres na incubadora, aumento de infecções sistêmicas e, conseqüentemente, aves de pouca qualidade e redução do desempenho zootécnico e viabilidade das aves. Williams (1970) relata que a flora bacteriana existente na superfície da casca pode infectar e matar os embriões em desenvolvimento antes do nascimento, como também aves recém nascidas.

Os ovos sempre terão a presença de microorganismos na casca, podendo contaminar-se antes da ovulação ou durante a formação no trato reprodutivo (Jones, 1991; Sesti, 2005). Parte dos microorganismos é aderida à casca quando o ovo passa pela cloaca, por onde passam também as fezes (Williams, 1970; Sacco et al.1989; Mauldin, 2002). Devido a isso, é muito importante o nível sanitário relacionado tanto ao trato reprodutivo da ave quanto ao ninho (Jones, 1991). Geralmente são encontrados na casca dos ovos entre 300 e 500 microorganismos no momento da postura, podendo estes penetrar cerca de 30 minutos após a mesma; daí a necessidade de uma desinfecção feita no momento e de forma correta (Mauldin, 2002; Sesti, 2005). Williams & Dillard (1973) submeteram ovos à contaminação com culturas de *Salmonella typhimurium* e aguardaram 1,5 horas para procederem à desinfecção dos ovos, verificando que os percentuais de contaminação dos grupos desinfetados eram similares aqueles do grupo controle, o que enfatiza a necessidade de que o processo de desinfecção seja feito o mais rápido

possível após a postura. Segundo North (1972), as bactérias existentes na superfície da casca desenvolvem-se rapidamente após a postura dos ovos, sendo encontrados em média de 100 a 300 microorganismos em ovos recém postos, entre 500 e 600, 15 minutos após a postura e entre 4.000 e 5.000 uma hora após. Williams (1970) afirma que a quantidade e a variedade de bactérias existentes na casca dependem da estação do ano e dos cuidados relacionados com a sanitização dos ovos tanto na granja quanto no incubatório.

Em um aviário de matrizes pesadas, os puleiros, ninhos e cama dos ninhos proporcionam áreas para que ocorram contaminações, pois criam as chamadas áreas ocultas (Bramwell, 2000). As contaminações dos ovos, assim como dos equipamentos relacionados, podem ser minimizadas com boas práticas de manejo. Quarles et al. (1970) compararam os índices de contaminação bacteriana e fúngica no ar, na superfície da casca dos ovos e eclodibilidade dos ovos férteis, entre outros de menor relevância. As aves utilizadas neste experimento foram divididas em dois grupos: criadas em aviários com cama de serragem e ninhos com maravalha de madeira comparadas com aves criadas em aviários com piso de arame e ninhos com sistema plástico de retirada de ovos através de rolagem. O percentual de eclodibilidade foi significativamente inferior; a contaminação bacteriana no ar foi 9 vezes maior com diferença extremamente significativa e a contagem bacteriana foi entre 20 a 30 vezes maior na superfície da casca dos ovos das aves criadas no aviário com cama de serragem e ninho de maravalha. A contaminação fúngica foi semelhante em ambas as amostras.

Jaenisch (2005) relata que a coleta dos ovos deve ser feita no mínimo 7 vezes ao dia, preferencialmente utilizando-se bandejas plásticas por

propiciarem fácil higienização. Acima de tudo os ovos devem ser coletados com maior frequência no início do dia, momento em que a maioria das aves frequenta o ninho (Bermudez & Brown, 2003).

O manejo dos ninhos também é um ponto de extrema importância no processo. Bell (2002) afirma que os ninhos convencionais simples são os preferidos pela maioria dos produtores sendo recomendada uma abertura de ninho para cada 4 ou 5 galinhas e que a quantidade correta de ninhos irá ajudar a reduzir a postura dos ovos na cama. Existem ainda ninhos automáticos, que se diferenciam pelo local de coleta da correia, que pode ser central ou lateral, existindo ainda um terceiro modelo chamado ninho comunitário.

Os ninhos devem ser escuros e terem boa ventilação, possuir cama sempre limpa e seca, devendo serem fechados à noite para impedir que as aves permaneçam dentro deles, evitando assim a contaminação da área com material fecal (Bermudez & Brown, 2003).

Segundo Jones (1991), só se mantém a qualidade dos ovos quando a postura é feita em ninhos limpos contendo material limpo, com coleta frequente, possibilitando desta forma a produção de ovos com baixos níveis de contaminação e conseqüentemente baixa penetração bacteriana para o interior dos ovos, o que é de suma importância visto que, após ocorrer a penetração, os ovos não serão mais desinfetados adequadamente.

Elguera (1999) afirma que se deve evitar o contato dos ovos com meios sujos e contaminados e deve ter-se o cuidado para que a desinfecção seja feita de forma correta. Em trabalho feito com aves de mesma linhagem e idade foram avaliadas práticas de manejo. Foi analisado o desempenho de

lotes com as práticas adequadas e lotes com práticas inadequadas, concluindo-se que as aves que receberam as melhores práticas de manejo tiveram resultado superior em número de ovos incubáveis por galinha alojada, percentual geral de ovos incubáveis, menor mortalidade e conversão alimentar.

Segundo Sparks & Board (1985), a casca dos ovos é particularmente vulnerável à penetração bacteriana no momento que segue à ovoposição, especialmente quando há alto desafio relacionado com postura em ninhos contaminados com fezes vindas da cama e umidade.

O material utilizado no ninho deve ser absorvente, durável e de textura média, para não ser facilmente retirado através de correntes de vento, por exemplo, ou retirado pelas aves para fora do ninho. Outras características esperadas do material incluem pouca quantidade de pó ou poeira, porosidade, absorção de impactos e ser de baixo custo (North, 1972; Mauldin, 2002). O material deve sempre ser colocado em quantidade suficiente no ninho evitando assim trincas, quebras e sujeira nos ovos. Quando úmido, o material se tornará sujo rapidamente e contaminará os ovos postos no ninho. Os materiais que podem ser utilizados no ninho incluem maravalha de madeira, polpa de cana de açúcar seca, casca de arroz, sabugos de milho quebrados em pedaços, feno ou palha (Mauldin, 2002).

Em trabalho feito comparando-se ovos postos em ninhos com material tratado com solução desinfetante e em ninhos com material não tratado, evidenciou-se menor contaminação bacteriana no ninho e nos ovos, porém, o nascimento também foi significativamente menor no grupo de ovos postos no ninho tratado com desinfetante. O resultado contraditório, é atribuído pelos autores à utilização do desinfetante, que, a base de óleo, pode ter

obstruído os poros e restringido a respiração dos embriões (Bruce e Drysdale, 1991).

Segundo Bramwell (2000), o acúmulo de fezes no ninho contribui muito para a contaminação dos ovos até o momento da coleta, citando ainda que, em ninhos automáticos, a correia coletora de ovos deve ser limpa e desinfetada freqüentemente para evitar disseminação de contaminação entre os ovos.

Os ninhos devem ser projetados e dispostos dentro do aviário de forma que favoreçam a manutenção da cama, auxiliando no controle de doenças nas aves e contaminações nos ovos incubáveis (Bermudez & Brown, 2003).

Segundo Mauldin (2002), a qualidade da cama do aviário influencia diretamente na contaminação dos ninhos, visto que, quando em más condições, parte dela é levada pelas patas das aves para dentro deles. Portanto, a cama deve sempre ser mantida seca, pois esta prática auxilia na prevenção de sujeira do ninho e da cama do ninho (Bermudez & Brown 2003). Uma ave supostamente limpa que senta ou deita na cama úmida e suja e depois vai até o ninho para por ovos não irá contribuir para a produção de ovos férteis limpos (Bramwell, 2000).

Bramwell (2000) afirma, ainda, que falhas no manejo dos sistemas de ventilação e água favorecem o umedecimento da cama e proporcionam condições ideais para o desenvolvimento de microorganismos, podendo causar contaminação nos ovos assim como problemas sanitários no lote. Mesmo sendo necessários, os métodos de resfriamento utilizados em algumas regiões através de nebulização são citados como fatores que intensificam o problema

devido ao aumento da umidade do ambiente em que as aves estão produzindo. Quarles et al. (1970) relacionaram a contaminação bacteriana na casca dos ovos à temperaturas elevadas, verificando, em 3 contagens realizadas, médias de 563.000, 1.090.000 e 294.000 microorganismos por ovo quando a temperatura média estava acima de 32°C, não verificando as mesmas quantidades quando a temperatura externa era mais baixa.

### **2.3. Contaminação dos ovos incubáveis**

É amplamente aceito que a contaminação bacteriana é um fator que contribui consideravelmente para a redução de eclosão em incubatórios comerciais e são muito válidos os esforços despendidos na tentativa de minimizar tais infecções (Bruce & Drysdale, 1991).

É afirmado que a temperatura das aves é de 40,6 a 41,7°C, sendo esta a temperatura dos ovos no momento da ovoposição (North, 1972). Segundo Mauldin (2002), durante o processo de resfriamento, o conteúdo interno dos ovos começa a encolher-se produzindo uma pressão negativa, sendo este o momento mais oportuno para as bactérias da superfície da casca penetrarem para o interior do ovo, citando ainda que a qualidade e a espessura da casca são diretamente relacionadas à possibilidade de penetração bacteriana.

Sauter & Petersen (1974) avaliaram o percentual de penetração por diversos sorovares de *Salmonella* em ovos de má qualidade de casca (gravidade específica de 1070), qualidade média (1080) e excelente (1090), concluindo que a penetrabilidade foi superior no grupo em que a casca era de

má qualidade, intermediária no grupo que possuía qualidade média e menor no grupo onde a casca possuía excelente qualidade. Bennet (1992) avaliou os percentuais de eclodibilidade e mortalidade embrionária de ovos oriundos de lotes de reprodutoras de diferentes idades com cascas consideradas espessas, as quais possuíam gravidade específica superior a 1080, e finas, com gravidade específica abaixo de 1080. A eclodibilidade foi superior nos ovos com a casca considerada grossa, obtendo diferença significativa em 4 das 7 idades avaliadas e sendo inferior apenas nos lotes de idade entre 50 e 55,9 semanas, entretanto, sem diferir estatisticamente. As mortalidades embrionárias seguiram o mesmo padrão apresentando geralmente valores menores nos ovos com casca mais grossa, porém sendo detectada diferença estatística em raras comparações.

Como as bactérias atravessam através dos poros assume-se que ovos com mais porosidade tem maior tendência à contaminação do que ovos com menor porosidade; porém, algumas outras variáveis têm papel importante na penetração das bactérias através da casca dos ovos, dentre elas, a cutícula que preenche os poros evitando a penetração (Bruce & Drysdale, 1991), sendo a espessura da cutícula um fator determinante para que ela exerça a sua função, visto que podem existir pontos de diferentes espessuras na superfície da casca dos ovos que podem facilitar a penetração bacteriana (Mauldin, 2002).

Sparks & Board (1985) avaliaram a penetração bacteriana através da casca de ovos contaminados com fezes imediatamente após a ovoposição, ainda com a cutícula úmida e ovos contaminados após a cutícula ter secado. De um total de 12 ovos contaminados com a cutícula já seca apenas 2 tinham

formação de colônias bacterianas nas membranas internas, sendo uma e duas colônias, respectivamente, enquanto os ovos contaminados com a cutícula ainda úmida continham diversas colônias nas membranas internas.

Mauldin (2002) menciona como outras barreiras que têm a função de dificultar a penetração de microorganismos, as membranas interna e externa da casca, o albúmen como um controlador um pouco efetivo da contaminação, e a chalaza com suas propriedades antimicrobianas através da lisozima.

Não se pode deixar de comentar a higienização feita nas incubadoras e nascedouros que, se deficiente, pode colocar a perder todo o trabalho de coleta, armazenagem e desinfecção dos ovos na granja de reprodutoras. Chute & Gershman (1961) avaliaram as contaminações ambientais de incubadoras durante o período de doze meses, concluindo uma tendência para o aumento dos níveis nos meses de inverno, porém sem diferença estatística significativa pela alta variabilidade dos valores das amostras coletadas.

#### **2.4. Métodos empregados na desinfecção de ovos incubáveis**

Sabe-se que no momento da postura os ovos adquirem uma carga de microorganismos que fica aderida à casca (North, 1972; Sesti, 2005). Devido a este fato, se faz necessária a desinfecção dos ovos incubáveis. Segundo Scott e Swetnam (1993b), a maioria dos problemas resultantes da invasão de microorganismos nos ovos incubáveis deve-se a falhas na sanitização dos ovos como também das incubadoras. Este processo tem sido largamente empregado na produção, através de diversas maneiras.

North (1972) afirma que os métodos mais utilizados para a desinfecção dos ovos incubáveis são a fumigação, a pulverização e a imersão.

#### **2.4.1. Fumigação**

A fumigação dos ovos é o ato de propiciar a volatilização de um desinfetante. O formaldeído é o produto químico mais comumente utilizado neste método, podendo-se também utilizar ozônio (Whistler & Sheldon, 1989). A fumigação é, segundo Mauldin (2002), um método muito efetivo para a sanitização de ovos incubáveis e, segundo Scott & Swetnam (1993b), usualmente envolve uma ou mais aplicações de formol.

Jaenish (2005) evidenciou que o processo de fumigação dos ovos pode ser feito com formaldeído em pó, ou com o mesmo produto em estado líquido associado a permanganato de potássio. Segundo North (1972) e Mauldin (2002), recomenda-se na fumigação, duas partes de formaldeído para uma de permanganato de potássio, sendo indicado para cada m<sup>3</sup>, 42 mL de formol a 37% e 21 g de permanganato. No caso da utilização de formaldeído em pó, é recomendada a dosagem de 7,7 g/m<sup>3</sup> diretamente sobre uma chapa aquecida por resistência elétrica que deve atingir a temperatura de 232°C.

O tempo de exposição ao processo de fumigação deve ser seguido corretamente, e deve ser de 15 a 30 minutos (Williams, 1970; North, 1972; Mauldin, 2002), enquanto a temperatura recomendada está entre 25 e 35°C e a umidade relativa do ar acima em 75% (Jaenish, 2005). O processo de fumigação deve ser procedido em câmara de fumigação hermeticamente fechada (Mauldin, 2002).

Ainda, segundo Mauldin (2002), o formaldeído detém um grande poder de eliminação bacteriana e o processo de fumigação tem, entre outras vantagens, o fato de permitir que a desinfecção seja feita em um grande número de ovos simultaneamente. Este autor em contrapartida, evidencia entre as desvantagens do emprego deste método o fato de o formaldeído ter seu uso nos dias atuais restrito em países desenvolvidos, como por exemplo, pela Occupational Safety and Health Administration (OSHA), dos Estados Unidos, por seu potencial poder carcinogênico.

Williams (1970) comparou a redução da população bacteriana na casca dos ovos após a desinfecção através de fumigação com 5 níveis de formaldeído associado a permanganato de potássio repetindo o experimento no inverno e no verão e concluiu que no verão a redução bacteriana não teve diferença estatística sendo de 99,82% na menor concentração e de 99,85% na maior, comprovando a eficácia do processo e do produto. Gerrits (1991), em contrapartida, avaliou o percentual de redução bacteriana na casca de ovos fumigados com formaldeído nos momentos que sucedem à transferência para o nascedouro verificando a redução da população microbiana, mas sem verificar uma ação de desinfecção substancial.

Segundo Scott & Swetnam (1993a), a grande diferença entre a utilização da fumigação com formaldeído e outros desinfetantes para a sanitização de ovos incubáveis é que, neste processo o formaldeído é utilizado na forma gasosa enquanto que os outros desinfetantes são normalmente utilizados na forma líquida. Os desinfetantes usados na forma de gás através da fumigação (pode utilizar-se também o ozônio) são mais difíceis de serem controlados, pois podem escapar para o meio ambiente onde entrarão em

contato com as pessoas que estão trabalhando no local. Whistler & Sheldon (1989) apresentaram trabalho comparando fumigação com formaldeído contra ozônio avaliando contagem microbiológica na casca, perda de umidade e percentual de eclodibilidade dos ovos férteis não detectando diferença estatística entre eles na perda de umidade e contagem microbiológica. Isto ocorreu apesar de terem evidenciado um melhor resultado para o tratamento com formaldeído; porém, evidenciaram diferença amplamente significativa em favor do tratamento com formaldeído na avaliação da eclodibilidade, sendo que o percentual de nascimento dos ovos férteis deste tratamento foi de 89,4% enquanto no tratamento com ozônio foi de 50%.

Sheldon & Brake (1991) compararam mortalidade inicial, final, ovos bicados e contaminados comparando controle seco, pulverização com 5% de peróxido de hidrogênio e fumigação com formaldeído associado a permanganato de potássio não detectando diferenças entre os tratamentos. Porém, em um segundo experimento, onde foi utilizado pulverização com água estéril no tratamento controle, detectaram diferença na avaliação da mortalidade tardia sendo esta 2,5% menor no tratamento com peróxido de hidrogênio do que no tratamento com formaldeído, não sendo detectadas diferenças nos outros parâmetros avaliados já citados. Todavia, Sacco et al. (1989) não detectaram diferenças na mortalidade embrionária aos 7 dias e na eclodibilidade ao compararem grupos desinfetados por fumigação com formaldeído e lavados com amônia quaternária. Gerrits (1991) comparou a eclodibilidade dos ovos transferidos e fumegados com formaldeído contra grupo controle em dois experimentos, verificando melhor resultado para o grupo controle em ambos os experimentos, porém sem significância estatística.

### **2.4.2. Pulverização**

Esta prática de desinfecção consiste em pulverizar os ovos com solução desinfetante através da utilização de um pulverizador simples sendo amplamente utilizada.

Segundo Mauldin (2002), pode-se utilizar soluções contendo quaternários de amônia, formaldeído, peróxido de hidrogênio, misturas de quaternários de amônia, formaldeído e fenóis, citando ainda que uma das desvantagens do método esteja em algumas vezes o pulverizador possuir baixa pressão ocasionando um contato incompleto da solução desinfetante com a superfície dos ovos, além de não ter-se como controlar a temperatura da solução, citando também que este método não é o mais indicado para ovos que possuem matéria orgânica aderida à casca.

Brake & Sheldon (1990) avaliaram em quatro experimentos a eclodibilidade de ovos férteis, mortalidades inicial e tardia, ovos bicados e perda de umidade na incubação de ovos pulverizados com duas concentrações de amônia quaternária em relação a um grupo controle em lotes de reprodutoras em início, meio e final de produção. Verificaram diferença estatística e melhor eclodibilidade nos grupos pulverizados no experimento em com o lote em início de produção (32 semanas), modificando este quadro no experimento em que o lote tinha 62 semanas com nascimento superior no grupo controle, porém, sem diferença estatística. Nos demais pontos avaliados em ambos os experimentos também não foram detectadas diferenças. No mesmo trabalho, em outro experimento onde avaliaram a contagem microbiológica da casca dos ovos pulverizados contra o grupo controle a redução bacteriana foi de 98% após a pulverização com amônia quaternária.

Sheldon & Brake (1991) avaliaram o resultado de contaminação microbiológica de ovos pulverizados com duas concentrações de peróxido de hidrogênio comparando em um primeiro momento apenas com um controle seco e um controle úmido e não verificaram diferença estatística entre os tratamentos. Na avaliação da eclodibilidade além dos controles foi adicionada para avaliação a fumigação com formaldeído e permanganato de potássio, onde foi verificada diferença estatística entre tratamentos apenas para mortalidade tardia (8 a 20 dias) onde o tratamento pulverização foi o que teve menor mortalidade. As demais variáveis analisadas não apresentaram diferença. Quando foi avaliado o embriodiagnóstico em outro experimento sem a presença do tratamento formol, apenas pulverização com peróxido de hidrogênio comparada a um grupo controle foi detectada diferença na contaminação dos ovos, com menor contaminação no grupo pulverizado.

#### **2.4.3. Imersão**

O processo de imersão consiste em mergulhar os ovos em solução desinfetante ou antibiótico, sendo que os dados encontrados na literatura divergem sobre qual deve ser a temperatura e tempo mais indicados encontrando-se trabalhos feitos com imersão em soluções entre 38 e 42°C (Proudfoot et al. 1985), 35°C por 10 segundos (Donassolo & Neto, 2004), 30°C (Soncini & Bittencourt, 2003), 25 e 43°C por 3 minutos (Barros et al, 2001), 45°C por 30 segundos (Oliveira & Silva, 2000), sendo que os dois últimos autores trabalharam com desinfecção de ovos comerciais, não tendo a necessidade, portanto, de proteger os embriões. Segundo Mauldin (2002), a

imersão deve ser feita por 5 minutos, citando que quando a imersão é feita em períodos de tempo excessivamente longos a temperatura do embrião pode elevar-se acarretando em mortalidade embrionária, assim como se o processo é feito em curto espaço de tempo não irá promover a desinfecção adequada. O autor cita como desvantagem do método o fato da solução tornar-se saturada com o passar do tempo o que torna necessária a substituição da solução, porém afirma que quando o processo é feito da forma correta traz ótimos resultados.

Donassolo e Neto (2004) compararam percentuais de nascimento, contaminação microbiológica da casca de ovos imersos em solução desinfetante a base de compostos fenólicos comparando com ovos fumigados com formaldeído associado a permanganato de potássio encontrando vantagem no processo de imersão tanto nas análises microbiológicas quanto na eclodibilidade, mortalidade de 0 a 7 dias de incubação; porém, verificando pior desempenho em relação à mortalidade entre 15 e 18 dias de incubação.

Oliveira e Silva (2000), estudando a ocorrência de *Salmonella enteritidis* em ovos comerciais contaminados artificialmente, testaram imersão de ovos em soluções de amônia quaternária 400 ppm a 45°C e solução de cloro a 50,2 ppm, evidenciando melhor resultado na imersão em solução de amônia.

## **2.5. Desinfetantes**

Segundo Block (1991), na sua definição legal o desinfetante é um agente livre de infecções, usualmente um produto químico que tem a

capacidade de destruir microorganismos nocivos, causadores de doenças ou vírus inativados. O termo é mais comumente usado para designar substâncias químicas que destroem formas em crescimento, mas não necessariamente esporos bacterianos, exceto quando tem seu uso estabelecido especificamente contra microorganismos formadores de esporos ou vírus formadores de esporos, devendo também matar vírus inativados.

Merianos (1991) afirma que a eficácia dos desinfetantes é regulada por seis fatores: a concentração do desinfetante, a natureza e densidade dos microorganismos, o tempo de contato, pH e presença de matéria orgânica. Em relação à desinfecção de ovos a linha de raciocínio é a mesma, sendo a quantidade de matéria orgânica presente na superfície da casca e o tempo decorrido até a desinfecção citados como pontos diretamente relacionados à efetividade dos desinfetantes (Brake & Sheldon 1990). Atualmente os desinfetantes disponíveis tem boa capacidade de cumprirem com o seu papel e reduzir consideravelmente as populações microbianas expostas à eles. Scott & Swetnam (1993b), testaram 23 desinfetantes quanto à sua capacidade de redução da população microbiana na superfície da casca de ovos e verificaram a capacidade de redução de colônias viáveis na casca a quantidades mínimas.

## **2.6. Compostos Químicos**

### **2.6.1. Formaldeído**

O formaldeído é uma molécula da classe dos aldeídos. Aldeídos são originados a partir da oxidação de um álcool (Russel, 1994). Possuem um grupo funcional que consiste de um átomo de carbono com ligação dupla a um

de oxigênio, formando um grupo carbonila e a um átomo de hidrogênio, ficando apenas uma ligação disponível para o radical do hidrocarboneto (um segundo átomo de hidrogênio), ficando assim o grupo carbonila em um terminal de cadeia carbônica. O formaldeído ou metanal é o aldeído mais simples; consiste em um gás incolor frequentemente usado a 37% em solução aquosa chamada formalina, sendo nesta forma utilizado como desinfetante (Ucko, 1992).

O formaldeído é o mais conhecido agente fumegante para desinfecção de estruturas e salas, especialmente na indústria avícola. É reconhecido como efetivo contra esporos e células bacterianas vegetativas (Parisi & Young, 1991). É um gás incolor, irritante para a pele e mucosas com odor característico. Seu mecanismo de ação é através da inativação de proteínas e ácidos nucleicos por condensação com grupos amino livres, formando azometinas e outros compostos, sendo que em baixas concentrações não atua inativando proteínas e sim promovendo a lise da parede celular bacteriana. Tem sua ação afetada na presença de matéria orgânica, sendo necessário maior tempo de exposição para afetar o microorganismo (Demasi, 1991). Favero & Blond (1991) afirmam que o formaldeído possui amplo espectro contra microorganismos atuando através da alquilação com grupos amino e sulfidrilicos das proteínas e dos anéis de nitrogênio nos átomos de purina. Não possui ação residual. Williams e Dillard (1973) desinfetaram ovos através de fumigação com formaldeído em altos níveis alguns momentos antes de imergirem tais ovos em caldo com cultura de *Salmonella typhimurium* comparando-os com grupo controle sem desinfecção e verificaram que em ambos os tratamentos a penetração bacteriana através da casca foi alta.

Diversos trabalhos têm sido feitos a fim de encontrar-se um substituto a altura do formaldeído para desinfecção de ovos incubáveis. Whistler e Sheldon (1990) compararam ovos submetidos à desinfecção através de fumigação com formaldeído e ozônio sendo os resultados com formaldeído superiores tanto no percentual de nascimento quanto na contagem microbiológica, este último item sem diferença estatística significativa. Davidson et al. (1996), em trabalho comparando o desenvolvimento de *Salmonella enteritidis* e *Salmonella cholerasuis* em diversas fontes de água, onde foi diluído formaldeído associado à amônia quaternária, comparando-se com fenóis, cloro, glutaraldeído e amônia quaternária, visando reduzir a multiplicação destas bactérias, verificaram que o formaldeído combinado à amônia e o fenol foram os que surtiram melhores resultados. Sacco et al.(1989) compararam nascimento e viabilidade embrionária no 7º dia pós incubação em ovos fumigados com formol e lavados com amônia quaternária, verificando melhores índices para a fumigação com formaldeído nas duas avaliações, porém sem detecção de diferença estatística entre eles. Scott & Swetnam (1993b) compararam formaldeído e outros vinte e dois desinfetantes em relação à redução microbiana na casca de ovos incubáveis, sendo que apenas quatro não alcançaram a redução na contagem microbiológica diferindo estatisticamente dos demais, não estando entre eles o formaldeído.

Apesar do seu reconhecido poder desinfetante o formaldeído possui diversos pontos negativos, principalmente no que diz respeito à saúde das pessoas sujeitas à exposição diária. Segundo Scott & Swetnam (1993a), a organização norte americana Occupational Safety and Health Administration (OSHA) lista entre outros efeitos potenciais da exposição prolongada ao formol

dores de cabeça, náuseas, sonolência, prejuízos respiratórios, injúrias renais, efeitos neurofisiológicos que podem incluir desordens do sono, irritabilidade, censo de equilíbrio alterado, dificuldades de memorização, perda de concentração entre outros, sendo citadas ainda desordens menstruais e esterilidade secundária nas mulheres. Neste mesmo trabalho foram avaliados os riscos apresentados por vinte e três desinfetantes em relação a seu potencial de agressividade à saúde, sendo constatado o formaldeído como o mais agressivo e perigoso. Além de todos os efeitos citados, é praticamente um consenso sua associação ao câncer (Brake & Sheldon, 1990; Favero & Blond, 1991; Scott & Swetnam, 1993). Nas aves, Gerrits (1991), ao fumegar ovos após a transferência quando cerca de 50% já estavam bicados, na avaliação da traquéia verificou danos epiteliais severos, redução no número de células ciliares, inflamações, hemorragias, proliferações celulares e redução das células mucosas. Portanto, é recomendada a substituição deste produto químico devido ao seu alto poder toxigênico mesmo possuindo indiscutível efetividade em relação à sanitização dos ovos (Scott & Swetnam, 1993a).

### **2.6.2. Glutaraldeído**

Da mesma forma que o formaldeído, o glutaraldeído está também inserido na classe dos aldeídos. Segundo Scott & Gorman (1991), é um poderoso agente biocida que tem a capacidade de continuar sua atividade na presença de matéria orgânica. É o 1,5 pentanodial possuindo cinco átomos de carbono saturados. Possui dois grupos carbonila que reagem com os aminogrupos das proteínas, reagindo também com os grupos íois de enzimas.

Usado normalmente em soluções alcalinas, com pH entre 7,5 e 8,5, sendo esta alcalinidade obtida através da adição de 0,3% de bicarbonato de sódio (Demasi, 1991).

Scott & Gorman (1991) consideram que o glutaraldeído possui amplo espectro de atividade e rápida capacidade de destruição da maioria dos microorganismos. É capaz de destruir todas as formas de vida microbiana incluindo esporos fúngicos e bacterianos, bacilos e vírus. A sua habilidade de destruição de esporos talvez seja a sua mais importante propriedade, visto que a atividade esporicida é uma rara característica em desinfetantes químicos. A 2% é mais eficaz contra esporos que o formaldeído a 8%. Esta molécula tem tido vantagem em relação a outros compostos que alegam ter atividade esporicida, porém algumas combinações como a mistura de hipoclorito e álcool possuem maior capacidade quando comparados ao glutaraldeído. Atua nos microorganismos interagindo com as proteínas das células, causando uma aglutinação destas devido à formação de aberturas na parede celular pela ação do desinfetante nas camadas externas da célula. Causa um efeito inibitório no DNA, RNA e na síntese protéica da célula. Segundo Demasi (1991), em altas concentrações precipita o conteúdo citoplasmático.

Gama et al. (2004) testaram a eficácia de quatro desinfetantes, sendo os respectivos compostos a base de iodo, glutaraldeído associado à amônia, clorexidina e amônia quaternária contra *E. coli* isolada da água de bebida de galinhas poedeiras, sendo que o iodo foi o que apresentou melhor resultado, seguido do glutaraldeído e clorexidina que foram eficazes em menos tempo quando mais concentrados, necessitando de mais tempo para inibir o crescimento bacteriano quando em maiores diluições.

Pinheiro et al. (1992) avaliaram a atividade de cinco desinfetantes a base de hipoclorito de sódio, fenóis associados a cresóis, aldeídos associados à amônia, iodo e compostos fenólicos frente à presença de matéria orgânica concluindo que hipoclorito de sódio, fenóis associados à cresóis e aldeídos associados à amônia foram superiores aos demais, sendo que o hipoclorito de sódio foi o melhor entre os três.

Scott & Swetnam (1993b) ao compararem redução microbiológica na casca de ovos incubáveis encontraram no grupo desinfetado com glutaraldeído redução semelhante a grupos desinfetados com formaldeído, fenóis, clorexidina e amônia quaternária entre outros, não diferindo estatisticamente os resultados. Todavia, em outro trabalho os mesmos autores compararam o custo dos mesmos desinfetantes para cada 10.000 ovos desinfetados e o glutaraldeído foi o mais alto custo entre todos os avaliados.

Apesar da constatada competência como desinfetante de superfície, deve-se ter cuidado em relação à desinfecção de ovos incubáveis com este princípio ativo, visto que Hyatt et al.(1985) imergiram e pulverizaram ovos incubáveis com diversas concentrações de glutaraldeído e avaliaram eclodibilidade e redução bacteriana e fúngica na casca. Tanto nos tratamentos de imersão quanto de pulverização com glutaraldeído em concentrações de 5% e 8% a mortalidade embrionária aumentou significativamente durante a última semana de incubação e quando combinadas imersão e pulverização ocorreu aumento na mortalidade embrionária na segunda semana. Em concentração de 3% não foram evidenciados efeitos adversos no desenvolvimento embrionário e o emprego do desinfetante foi suficiente para retardar a multiplicação bacteriana e fúngica após 30 segundos de exposição a 37°C. Entretanto Scott

& Swetnam (1993c) ao analisarem a eclodibilidade dos ovos desinfetados com o grupo de vinte e três princípios ativos verificaram que o grupo desinfetado com glutaraldeído não diferiu estatisticamente do grupo que teve o melhor percentual de eclodibilidade, diferindo, porém, dos que tiveram os piores percentuais. Proudfoot et al. (1985) analisaram os percentuais de eclodibilidade de quatro experimentos onde os ovos foram imersos em solução de glutaraldeído comparando, respectivamente, com grupo imerso em água destilada, armazenados em sala apropriada, contaminados com matéria fecal (neste caso os dois grupos) e imersos em glutaraldeído e não imersos um dia após a postura concluindo que os grupos tratados com o desinfetante tiveram melhor resultado em três dos quatro experimentos, não sendo, no entanto, detectada diferença estatística significativa para os percentuais de eclodibilidade.

Mast & MacNeil (1978a), em trabalho feito em abatedouro, avaliaram a capacidade de redução microbiana do glutaraldeído comparado a compostos clorados pulverizando superfície de aço inoxidável em várias concentrações, e em material deixado de molho durante diferentes períodos, concluindo que os compostos clorados tiveram melhores resultados gerais nos experimentos feitos com a pulverização; entretanto, o glutaraldeído foi superior quando avaliadas as reduções na contaminação do material deixado de molho nas soluções desinfetantes, possivelmente pelo fato destes materiais serem oriundos de locais mais sujos no processo e conseqüentemente terem maior carga de contaminação e matéria orgânica, o que de certa forma compactua com o conceito de que este principio ativo possui boa atuação mesmo frente à matéria orgânica. Mast & MacNeil (1978b) testaram a redução microbiológica

em carcaças de aves abatidas e armazenadas em “chiller” contendo diferentes desinfetantes: glutaraldeído 50 ppm, hipoclorito de sódio 50 ppm e água destilada (tratamento testemunha) durante diferentes períodos, verificando que as aves colocadas no “chiller” contendo glutaraldeído tiveram menor carga bacteriana após 5 dias e 10 dias, diferindo estatisticamente, sendo, no entanto, inferior ao hipoclorito e superior à água destilada quando armazenadas por 45 minutos, porém sem detectarem diferença estatística entre os tratamentos.

### **2.6.3. Clorexidina**

Segundo Demasi (1991), a clorexidina é uma biguanida. A característica das biguanidas quanto à sua estrutura química é o fato de possuir porções hidrofóbicas e hidrofílicas na molécula. Quimicamente é um 1,6-di(4-clorofenil-diguanido) hexano, uma biguanida catiônica (Denton, 1991).

Denton (1991) relata que a clorexidina foi sintetizada pela primeira vez em 1950, quando foi verificada sua alta capacidade antibacteriana, baixa toxicidade e forte afinidade de ligação com a pele e mucosas, o que a faz ser ainda hoje amplamente utilizada nas áreas oftálmica e odontológica, além do seu uso para desinfecção de estruturas.

A clorexidina mais solúvel, o digluconato, é produzido a 20% em soluções aquosas. As soluções são incolores ou quase, e normalmente sem odor; entretanto, soluções preparadas a partir de sais diacetato ocasionalmente possuem odor de ácido acético. Soluções preparadas a partir de sais possuem gosto altamente amargo que pode ser mascarado em soluções de uso oral. É mais estável em pH entre 5 e 8, mas sua atuação ótima fica entre 5,5 e 7.

Acima de 8 ocorre precipitação e abaixo de 5 ocorre deterioração da atividade devido à perda da estabilidade do composto. Por ser uma molécula catiônica é compatível com outras também catiônicas como os quaternários de amônia, substâncias não iônicas como detergentes reduzem sua atuação dependendo da substância e concentração utilizadas.

Quando em baixas concentrações atua como bacteriostático, quando em concentrações altas, como bactericida. Demassi (1991) relata que a clorexidina é inativa na presença de sangue e outras matérias orgânicas, podendo ser inativada através de reações químicas com os componentes orgânicos, ser absorvida ou dissolvida no material orgânico. Pode ainda, ocorrer a formação de uma camada de matéria orgânica ao redor do microorganismo impedindo o contato deste com a solução desinfetante. A clorexidina possui amplo espectro contra bactérias gram-positivas e bactérias gram-negativas, sendo pouco ativa contra *Pseudomonas* e *Proteus*. Por ser considerada um microorganismo estritamente bactericida, é inativa contra fungos, vírus e bactérias ácido-resistentes.

A atuação contra as bactérias consiste em uma série de modificações citológicas e fisiológicas, passando pela rápida atração pela bactéria, adsorção a compostos de fosfato contidos na superfície bacteriana, superação da parede celular, atração à membrana citoplasmática com conseqüente alteração da mesma, extravasamento de componentes citoplasmáticos de baixo peso molecular como íons potássio e inibição de certas enzimas ligadas à membrana e por fim precipitação do citoplasma com a formação de entidades fosfatadas como adenosina-trifosfato e ácidos nucleicos (Denton, 1991).

Silva & Jorge (2002) avaliaram a atuação de quatro desinfetantes comumente utilizados em odontologia (álcool, iodo, fenol e clorexidina associada a álcool) em relação ao seu poder de desinfecção de superfícies, avaliando a redução microbiológica em quatro pontos distintos: pia, refletor de luz, encosto de cabeça e carter, concluindo que a clorexidina foi o que teve melhor resultado, principalmente contra bactérias gram-positivas, sendo no entanto apenas melhor que o fenol quando foi avaliada a redução de leveduras do gênero *Candida*.

Bambace et al. (2003) testaram a eficácia de soluções aquosas de clorexidina em cinco diferentes concentrações comparando-as com álcool gel e líquido a 70% frente a bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Klebsiella* e leveduras do gênero *Candida* em superfícies de couro, fórmica e aço inoxidável, verificando que a clorexidina foi eficiente em ambas as diluições (entre 0,5 e 4%), assim como o álcool. Entretanto o *Staphylococcus aureus* foi o mais resistente crescendo em ambas as superfícies quando da utilização do álcool e a *Candida albicans* crescendo apenas na diluição de 0,5% de clorexidina na superfície de aço inoxidável; porém, não foi constatada diferença estatística significativa, sendo constatado também que em diluições acima de 2% o preço se torna muito elevado.

#### **2.6.4. Amônia quaternária**

Segundo Merianos (1991), os compostos de amônia quaternária são produtos da substituição nucleofílica pela reação de haletos de alquila com aminas terciárias. Nesta situação, segundo Ucko (1992), o radical de

hidrocarboneto do haleto de alquila passa a ocupar a quarta posição no átomo de nitrogênio, formando um sal quaternário de amônio. É chamado de quaternário de amônia pois possui 4 átomos de carbono ao redor do átomo de nitrogênio. Merianos (1991) afirma que os átomos de carbono são ligados ao de nitrogênio através de ligações covalentes enquanto o ânion no agente alquilante original torna-se ligado ao nitrogênio através de ligações eletrovalentes.

Segundo Demasi (1991), para que a atividade antibacteriana seja desempenhada no mínimo um radical deverá ser de cadeia longa com 8 a 18 átomos de carbono, sendo a porção iônica geralmente um íon cloreto ou brometo, podendo também ser um íon orgânico.

Merianos (1991) afirma que os compostos de amônia quaternária à disposição no mercado tem propriedade algistática, bacteriostática, tuberculostática, esporostática e fungicida em concentrações de 0,5 a 5 ppm, e algicida, bactericida, fungicida, e viricida contra vírus lipofílicos de 10 a 50 ppm. Segundo Demasi (1991), as *Pseudomonas* são particularmente resistentes aos compostos quaternários de amônia, que são inativos na presença de matéria orgânica, além da sua conhecida inatividade contra esporos bacterianos, bactérias ácido-resistente e vírus hidrofílicos. Merianos (1991) explica que são bactericidas para bactérias gram-positivas e gram-negativas, com melhor atividade contra bactérias gram-positivas tanto em ambientes ácidos como alcalinos com melhor resposta quando em soluções alcalinas. O mecanismo de ação não foi ainda completamente elucidado. A explicação mais aceitável atualmente em relação à sua atuação direciona para uma inicial adsorção dos compostos da superfície celular, causando difusão

através da parede celular, ligando-se à membrana citoplasmática e liberando íons potássio e outros constituintes citoplasmáticos acarretando na precipitação do conteúdo celular e conseqüente morte da célula bacteriana.

Brake & Sheldon (1990) compararam redução bacteriana em placas que tiveram contatos com ovos de um grupo controle e grupos desinfetados através de pulverização com amônia quaternária a 1,5 e 3% verificando que a população bacteriana dos ovos sanitizados foi 98% menor que a do grupo controle, não evidenciando, no entanto, diferença significativa entre os grupos pulverizados com 1,5 e 3%.

Sacco et al. (1989) compararam fumigação com formol e desinfecção com amônia quaternária buscando verificar a prevalência bacteriana na casca e na gema de ovos pós-desinfecção, não verificando diferença estatística entre os tratamentos. Comparando também a viabilidade embrionária no 7º dia pós-incubação em ovos submetidos à desinfecção através de lavagem dos ovos com amônia quaternária contra ovos lavados com amônia associada à formol, verificaram que houve significância na redução da viabilidade quando o formol foi associado à amônia, não verificando tal diferença no momento do nascimento das aves. Todavia, Scott & Swetnam (1993c), ao compararem os percentuais de nascimento de ovos desinfetados com formol em comparação com amônia quaternária não evidenciaram diferença estatística entre estes tratamentos. Gama et al. (2004), ao avaliar a redução microbiológica da água destinada à dessedentação das aves, concluíram que a água tratada com amônia não teve presença bacteriana nas maiores concentrações em nenhum dos tempos testados; entretanto foi a que teve mais crescimento bacteriano na menor concentração. Todavia, Barros et

al. (2001) avaliaram a contaminação da casca de ovos comerciais submetidos à contaminação com *Salmonella enteritidis* após imersão prévia em água de torneira deionizada a 25°C, amônia quaternária a 25°C e amônia quaternária a 43°C durante 3 minutos concluindo que a imersão dos ovos nas soluções de amônia quaternária reduziram a presença de *Salmonella enteritidis* na superfície dos ovos analisados.

### **2.6.5. Fenóis**

Segundo O'Connor & Rubino (1991), os compostos fenólicos são atualmente uma das maiores classes de desinfetantes comercializados.

Ucko (1992) afirma que a ligação de um grupo hidroxila a um anel benzênico produz um fenol ou ácido carbólico citando ainda seu potente caráter corrosivo e capacidade de desinfecção. O'Connor & Rubino (1991) concluem que a substituição de um anel fenólico na cadeia alquila acima de 6 carbonos de comprimento aumenta a ação antibacteriana destes compostos possivelmente pelo aumento da superfície de atividade; a halogenação é outra característica que aumenta a capacidade antimicrobiana, sendo a combinação com o ácido nítrico a responsável pelo aumento de toxicidade da molécula tanto para bactérias quanto para outras espécies. Demasi (1991) explica que os derivados halogenados do fenol são aqueles que possuem maior atividade antibacteriana, destacando-se os derivados orto-alquila e os para-halogenados. Segundo O'Connor & Rubino (1991), a halogenação dos compostos fenólicos conduz a uma maior efetividade antibacteriana assim como melhor atuação frente à matéria orgânica. Quanto maior a halogenação dentro dos fenóis,

maior a sua efetividade sendo o mesmo aceito para os bifenóis principalmente em relação à sua atuação contra microorganismos gram-positivos. Segundo Demasi (1991), os derivados halogenados são ligados por anéis fenólicos através de grupos alquila, grupos nitrogenados, por átomos de enxofre e nitrogênio ou podendo ser ainda ligados diretamente.

O'Connor & Rubino (1991) afirmam que os compostos fenólicos possuem diversas formas de atividade bactericida, atuando diretamente no protoplasma, penetrando e desorganizando a parede celular, permitindo a precipitação das proteínas quando em altas concentrações, e inativando enzimas essenciais para a manutenção do microorganismo em baixas concentrações. Quando em quantidades muito pequenas, atuam como bacteriostáticos. Encontram maior resistência nas bactérias gram-negativas.

As formulações comercializadas atualmente são na sua maioria a base de orto-fenilfenol, orto-benzil-paraclorofenol e para-terciário-amilfenol possuindo as seguintes características: Amplo espectro antimicrobiano, sendo bactericida para microorganismos gram-positivos e gram-negativos, fungicida, tuberculocida e viricida contra vírus lipofílicos, alta tolerância à água dura, possuem atividade residual e são biodegradáveis. Não atuam contra esporos e não são recomendados quando é necessária esterilização.

Scott & Swetnam (1993b) ao analisarem diversos desinfetantes quanto à sua capacidade de redução de microorganismos na casca concluíram que os desinfetantes a base de compostos fenólicos, apesar de terem reduzido a população microbiana, não tiveram a mesma eficácia quando comparados ao formol, exceto quando continham EDTA na sua formulação. Os mesmos pesquisadores, no entanto avaliaram a eclodibilidade dos ovos submetidos à

desinfecção com os mesmos desinfetantes e concluíram que, dos quatro que possuíam compostos fenólicos na sua formulação, a melhor eclodibilidade foi a melhor de todos os desinfetantes testados, outros dois não diferiram estatisticamente deste, sendo que apenas um diferiu do melhor, mas não dos outros dois. Davidson et al. (1996) comparando a atuação de vários desinfetantes em diversas fontes de água concluíram que, juntamente com uma mistura de amônia e formol, o fenol teve resultado satisfatório na redução do microorganismo em questão. Shane & Faust (1996) contaminaram ovos previamente à desinfecção com cultura de *E.colli* e depois submeteram os ovos a tratamentos com fenol sintético, peróxido de hidrogênio, compostos experimentais de hipoclorito de sódio, verificando que o peróxido de hidrogênio e o fenol sintético, que tiveram de 100 e 99,82% de redução microbiológica na superfície da casca, foram os mais eficazes, porém, ao avaliarem a relação custo e benefício o peróxido de hidrogênio mostrou-se mais caro, seguido do fenol, apontando para a utilização do hipoclorito, que teve custo mais baixo por litro de solução, porém teve menor redução bacteriana na casca.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local e datas**

Neste trabalho, foram realizados 2 experimentos. Optou-se pela realização de um segundo experimento devido a quantidade de tratamentos a serem avaliados e a capacidade restrita de incubação da incubadora utilizada. A utilização de um experimento único reduziria as repetições dos tratamentos à quantidades que poderiam inviabilizar a análise os resultados.

Os Experimentos 1 e 2 tiveram início no dia 04 de Janeiro e no dia 30 de Maio de 2006 respectivamente, e foram realizados em duas etapas.

No primeiro momento foi feita à coleta dos ovos incubáveis em uma granja de matrizes pesadas, situada no distrito de Itapuã, Município de Viamão, RS.

No segundo momento, foi feita a incubação dos ovos no incubatório experimental do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, situado na cidade de Porto Alegre (RS), 3 dias após a coleta no Experimento 1 e 4 dias após a coleta no Experimento 2. Os ovos não foram armazenados pelo mesmo período em ambos os experimentos pelo fato de que não foi possível repetir os mesmos dias da coleta na semana, na granja de reprodutoras, enquanto os dias da incubação necessariamente deveriam coincidir.

### **3.2. Linhagem utilizada**

Foram utilizados, no Experimento 1, ovos de um lote de reprodutoras pesadas da linhagem ISA Vedette, com 42 semanas de idade e, no Experimento 2, ovos da linhagem AgRoss 308, com 49 semanas de idade.

### **3.3. Coleta do material e instalações na granja**

A coleta dos ovos em ambos os experimentos teve início às 8 h da manhã e foi procedida de tal forma que os ovos foram coletados diretamente dos ninhos antes do resfriamento natural que ocorre alguns minutos após a postura.

A coleta foi feita em um galpão, por quatro pessoas, sendo duas de cada lado do mesmo iniciando a coleta em extremidades opostas indo uma em direção à outra até chegarem ao ponto de partida oposto.

As pessoas que fizeram à coleta dos ovos lavaram as mãos com sabão neutro e utilizaram luvas descartáveis durante o procedimento.

Cada pessoa iniciava a coleta com cinco bandejas de plástico vazias previamente lavadas e secas. À medida que as bandejas eram completadas com os ovos eram colocadas em um carro suspenso móvel que acompanha as pessoas que fazem a coleta através de um sistema de trilho suspenso e roldanas, sendo substituídas por mais cinco bandejas vazias.

Quando as pessoas que estavam coletando os ovos chegavam à extremidade oposta à que iniciaram a coleta, os ovos eram acondicionados em um carro apropriado para o transporte destes até a sala de ovos, que ficava a cerca de 150 m da porta central do galpão. Na sala de ovos, estes foram

submetidos aos tratamentos e, após isso, foram acondicionados até o momento do carregamento.

A sala de ovos havia sido totalmente lavada com água sob pressão e desinfetada com desinfetante a base de glutaraldeído e amônia quaternária na dosagem de 500 ppm, sendo 370 ppm e 130 ppm, respectivamente, e as bandejas e caixas de ovos utilizadas nos experimentos foram lavadas no final do expediente do dia anterior com água sob pressão, e após secas, foram desinfetadas através de fumigação utilizando-se formaldeído a 91% em câmara de desinfecção na dosagem de 7,7 g/m<sup>3</sup>.

### **3.4. Tratamentos**

Os ovos foram desinfetados através de aspersão no Experimento 1 e imersão no Experimento 2, onde foram utilizados os seguintes princípios ativos com as dosagens que estão discriminadas na Tabela 1.

Tabela 1. Princípios ativos e dosagens dos desinfetantes utilizados nos dois experimentos.

<b>Princípio ativo</b>	<b>Dosagem</b>	<b>Exp.1/ Exp.2</b>
Fenol sintético	1040 ppm	Pulverização/Imersão
Clorexidina	200 ppm	Pulverização/Imersão
Amônia Quaternária	800 ppm	Pulverização/Imersão
Amônia Quaternária e Uréia	400 ppm A.Q 600 ppm Uréia	Pulverização/Imersão
Formaldeído	7,7 g/m <sup>3</sup> área	Fumigação seca
Amônia Quaternária e Glutaraldeído	130 ppm A.Q 370 ppm Gtr	Pulverização/Imersão
Testemunha*	---	---

\* Não recebeu tratamento.

As dosagens utilizadas são as recomendadas pelos respectivos fabricantes e as informações com as respectivas composições estão contidas no Apêndice 1.

### **3.5. Experimento 1**

As soluções desinfetantes foram preparadas no dia da coleta, às 6:30 min, utilizando água à temperatura ambiente e foram acondicionadas em bombas costais com capacidade para 5 litros de solução cada, lavadas previamente com água corrente.

Foram colocados 2 litros de água em cada bomba costal e a preparação feita como mostra o Apêndice 2. Cada bomba costal foi identificada com uma etiqueta contendo o nome do princípio ativo utilizado.

Foram preparadas bancadas separadas, sendo cada uma também identificada com etiqueta com o nome do princípio ativo e nestas bancadas foi feita a desinfecção dos ovos.

Os ovos que foram desinfetados através de fumigação seca receberam o tratamento com formaldeído a 91% e foram desinfetados em câmara própria para tal, na dosagem de 7,7 g/m<sup>3</sup> (North, 1972). A fumigação aconteceu em um período de 15 minutos (Williams, 1970) e o formaldeído foi colocado sobre uma chapa aquecida por meio de resistência elétrica causando a volatilização do gás.

Os ovos depois de desinfetados foram armazenados em sala apropriada sob temperatura e umidade que variaram entre 17°C e 21,5°C e 73 e 93%, respectivamente. As medições feitas de hora em hora, com a utilização de um termo-higrômetro digital são encontradas no Apêndice 4.

### **3.5.1. Preparo das unidades experimentais**

Assim que os ovos chegavam do galpão eram colocados sobre a bancada central, com as bandejas empilhadas umas sobre as outras, ficando as bandejas do lado A à direita e as do lado B à esquerda, e bandejas vazias entre elas.

Foram retirados todos os ovos impróprios à incubação (sujos, trincados, com defeitos na casca, pequenos e grandes em excesso).

As bandejas vazias, no centro da bancada, receberam 15 ovos coletados no lado A e 15 no lado B do galpão, desta forma fazendo com que todas tivessem a metade dos ovos coletados de cada lado do galpão.

Após feita a carga das bandejas a serem submetidas aos tratamentos, estas foram separadas e divididas pelo número de tratamentos e o restante dos ovos que sobraram foram descartados.

A desinfecção foi feita após as bandejas com os ovos serem colocadas sobre as respectivas bancadas. A bomba costal foi acionada quando o seu bico estava a uma distância de 20 cm dos ovos. Foram feitas no total quatro bombadas por bandeja, o que totalizou 40 mL de solução desinfetante. Duas bombeadas (20 mL) em um lado molhando abundantemente a superfície dos ovos, quando foi colocada uma segunda bandeja previamente desinfetada sobre os ovos e esses foram virados, permanecendo agora com a superfície seca para cima. Então, foram dadas mais duas bombeadas (20 mL) sobre eles, totalizando 40 mL por bandeja desinfetada. As bandejas foram desinfetadas uma a uma e o procedimento de desinfecção foi o mesmo em todas as bandejas desinfetadas.

Após todos os ovos terem sido desinfetados com as respectivas soluções, inclusive aqueles desinfetados por fumigação seca, estes foram levados à sala de ovos onde permaneceram até as 14:15 h, momento em que foram colocados em um caminhão especial para transporte de ovos sob temperatura de 18°C e levados ao incubatório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para posterior incubação, lá chegando as 16:30 h, sob a mesma temperatura.

Ainda na sala de ovos, no momento em que os ovos recém desinfetados eram acondicionados em suas caixas previamente identificadas, foram retirados três ovos de cada bandeja, sendo um no centro e dois nas extremidades (cantos), de todos os tratamentos; fora acondicionados em sacos

plásticos sem uso dentro de caixas de isopor com gelo, mantidos assim refrigerados, totalizando 40 ovos por tratamento, para serem levados ao laboratório de microbiologia onde foram feitas análises microbiológicas de conteúdo interno e externo, buscando-se analisar a ausência ou presença, e os níveis de contaminação por *Pseudomonas sp*, *Aspergillus sp*, além de detecção e quantificação de bolores e leveduras, mesófilos totais e coliformes totais.

Cada tratamento foi dividido em 8 repetições de 5 ovos cada.

### **3.6. Experimento 2**

Este experimento foi feito procedendo-se à desinfecção dos ovos através do processo de imersão.

Foram utilizadas, para o experimento, caixas de imersão em fibra, contendo uma resistência de 1500 W e um termostato.

As caixas de imersão foram lavadas e desinfetadas no dia anterior à coleta com desinfetante a base de glutaraldeído e amônia quaternária na dosagem de 370 e 130 ppm, respectivamente.

Às 20h do dia anterior à coleta, as caixas de imersão foram cheias de água e ligadas, para que no dia seguinte, a mesma estivesse a uma temperatura de 36°C. Foi utilizada água de poço artesiano.

As soluções desinfetantes foram preparadas no dia da coleta, as 07:30h, adicionando-se o desinfetante na água já aquecida e homogeneizando-se com um bastão plástico. A preparação das soluções desinfetantes foi feita como mostra o Apêndice 3.

Cada Caixa de imersão foi identificada com uma etiqueta contendo o nome do princípio ativo nela utilizado.

Os ovos desinfetados através de fumigação seca receberam o tratamento com formaldeído a 91% e foram desinfetados em câmara própria para tal, na dosagem de 7,7 g por m<sup>3</sup>. A fumigação aconteceu em um período de 15 minutos, e o paraformaldeído foi colocado sobre uma chapa aquecida por meio de resistência elétrica causando a volatilização do gás.

### **3.6.1. Preparo das unidades experimentais**

Assim que os ovos chegaram do galpão, foram colocados sobre a bancada central, com as bandejas empilhadas umas sobre as outras, ficando as bandejas do lado A à direita e as do lado B à esquerda, e bandejas vazias entre elas.

Foram retirados todos os ovos impróprios (sujos, trincados, com defeitos na casca, pequenos e grandes em excesso).

As bandejas vazias, no centro da bancada, receberam 15 ovos coletados no lado A e 15 no lado B do galpão, desta forma fazendo com que todas as bandejas de ovos tivessem a metade dos ovos coletados de cada lado do galpão.

Após feita a carga das bandejas para serem submetidas aos tratamentos, estas foram separadas e divididas pelo número de tratamentos.

Depois da divisão, as bandejas foram acondicionadas sobre a lateral da caixa de imersão, sendo, então, imersas por um período de 15 segundos, sendo após, retiradas e acondicionadas na lateral da caixa de imersão para

que o excesso de solução desinfetante escorresse novamente para dentro da caixa. Após feita a desinfecção dos ovos de cada tratamento, voltou-se ao primeiro tratamento desinfetado e as bandejas com os ovos eram levadas até a sala de ovos onde foram acondicionadas dentro de caixas apropriadas, identificadas com etiquetas contendo o nome do desinfetante utilizado em cada tratamento, permanecendo sob temperatura entre 17°C e 18°C e umidade relativa entre 85% e 90%, até o momento em que foram colocados em um caminhão especial para transporte de ovos sob temperatura de 18°C e levados ao incubatório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para posterior incubação, lá chegando sob a mesma temperatura. As medições da temperatura foram feitas de hora em hora, com a utilização de um termohigrômetro digital são encontradas no Apêndice 5.

É importante salientar que as soluções desinfetantes contidas nas caixas de imersão não foram trocadas durante o processo devido ao tempo necessário para que a água chegasse à temperatura desejada de 35°C.

A solução desinfetante foi homogeneizada com o auxílio de um bastão plástico antes de cada desinfecção. As temperaturas a que os ovos foram submetidos variaram entre 35 e 37,8°C e são mostradas no Apêndice 6.

Assim como no Experimento 1, foi feita coleta de 40 ovos para análise microbiológica buscando-se determinar a ausência ou presença, e os níveis de contaminação por *Pseudomonas sp*, *Aspergillus sp*, além de detecção e quantificação de bolores e leveduras, mesófilos totais e coliformes totais.

Cada tratamento foi dividido em 8 repetições de 5 ovos cada.

### 3.7. Manejo experimental

No incubatório, os ovos foram descarregados e permaneceram estocados durante 67 horas sob temperaturas que variaram entre 15°C e 22°C e umidade entre 57 e 71% no Experimento 1 (Brake, 1999) e 91h05min sob temperaturas que variaram entre 14°C e 19°C e umidade entre 66 e 81% no Experimento 2. A variabilidade nos valores de temperatura e umidade deveu-se à estação do ano, visto que o primeiro experimento foi feito no verão enquanto o segundo foi feito no inverno.

Em ambos os experimentos foi utilizada uma incubadora de estágio único com capacidade máxima para 3600 ovos. Os carrinhos de incubação, assim como as máquinas (incubadora e nascedouro) foram lavados e desinfetados com amônia quaternária a 800 ppm dois dias antes do recebimento dos ovos.

Cada bandeja de incubação foi dividida ao meio, no sentido longitudinal, e foi colocada uma etiqueta de cada lado com a identificação dos respectivos tratamentos, sendo este processo feito em todas as bandejas de incubação.

A visualização da distribuição dos tratamentos dentro da incubadora, assim como o número de repetições por tratamento nos experimentos 1 e 2 estão nos Apêndices 7, 8, 9 e 10.

No Experimento 1, no momento do início da colocação dos ovos nas bandejas, a sala estava a uma temperatura de 18°C e com umidade relativa de 59%, e no momento do término, a 22°C e 62% respectivamente. No Experimento 2 estes valores foram 18°C e 72% de umidade no início e 19°C e 70% de umidade no término do embandejamento.

A pessoa responsável pelo embandejamento dos ovos lavava as mãos com sabão neutro a cada troca de tratamento.

Em ambos os experimentos, o carrinho da esquerda foi o primeiro a ser colocado dentro da máquina seguido pelo da direita, sem diferença de tempo na incubação, visto que as cargas haviam sido feitas anteriormente.

No Experimento 1, no momento da incubação dos ovos, a sala estava a uma temperatura de 22°C com umidade relativa de 63%, a incubadora estava trabalhando vazia a 37,7°C e 60% de umidade. No momento em que os ovos foram colocados dentro da incubadora, a temperatura reduziu para 28,5°C e a umidade elevou-se para 69%, alcançando novamente os 37,7°C após 13 horas.

No Experimento 2, a temperatura e umidade da sala foram 18°C e 75%, respectivamente. A incubadora enquanto vazia estava trabalhando a 37,7°C com umidade relativa de 60%, sendo que no momento da incubação, a temperatura reduziu-se para 23,8°C e a umidade elevou-se para 67%. A temperatura da incubadora chegou aos 37,7°C 11h15min após a incubação dos ovos.

Em ambos os experimentos, a temperatura da incubadora permaneceu a 37,7°C até o 10º dia quando foi reduzida para 37,5°C, e assim até o 12º dia, sendo diminuída para 37,3°C, permanecendo assim até o 15º dia quando foi reduzida para 37,1°C, permanecendo assim mesmo depois dos ovos serem transferidos para o nascedouro, até o momento do nascimento (McQuoid, 2000). A umidade durante o período de incubação foi de 60% até o 18º dia sendo elevada para 70% no momento da transferência dos ovos para o nascedouro.

Nos Experimentos 1 e 2, o nascedouro, que havia sido lavado e desinfetado junto com a incubadora antes da incubação dos ovos, foi novamente desinfetado com amônia quaternária com auxílio de um pano limpo, que foi embebido na solução desinfetante a 800 ppm e passado em toda a superfície interna da máquina três dias antes da transferência dos ovos.

Os carrinhos de nascimento e suas respectivas bandejas, que haviam sido lavadas e desinfetadas juntamente com os carrinhos da incubadora antes da incubação, foram novamente desinfetados com amônia quaternária na dosagem de 800 ppm com a utilização de água sob pressão logo após o nascedouro.

Os carrinhos do nascedouro tiveram suas bandejas divididas ao meio no sentido longitudinal por divisórias de PVC brancas desinfetadas no dia anterior com amônia quaternária a 800 ppm.

Em ambos os experimentos, as divisões obedeceram à mesma ordem das divisões feitas na incubadora, inclusive com os mesmos tratamentos em duplicidade sendo colocados nos mesmos locais. As divisões podem ser vistas nos Apêndices 7 e 8.

A transferência dos ovos da incubadora para o nascedouro foi feita 431h após a incubação no Experimento 1 e 428h15min no Experimento 2.

No processo de transferência, em ambos os experimentos, o carrinho de incubação foi colocado ao lado do carrinho de nascimento, e cada bandeja do carrinho de incubação teve seus ovos transferidos para a bandeja respectiva do carrinho de nascimento, sendo que a transferência foi iniciada pela bandeja situada mais acima, no carrinho da esquerda e pela bandeja situada mais em baixo, no carrinho da direita.

A temperatura do nascedouro foi programada para 37,1°C e a umidade para 70%, permanecendo estes valores inalterados até o momento do nascimento.

A sala de incubação, durante o período em que foi feita a transferência, teve a temperatura entre 27°C e 28°C e a umidade relativa entre 78 e 83% no Experimento 1 e de 21°C a 22°C e de 75 a 79% no Experimento 2.

Tanto no primeiro quanto no segundo experimento, o transcorrer dos três dias restantes ao nascimento não teve maiores incidentes estando as aves prontas para serem retiradas do nascedouro por volta das 24:00h. Em ambos os casos, porém, devido ao horário, foram retiradas da máquina somente às 06:00h do dia seguinte.

As aves foram retiradas uma a uma das bandejas, iniciando-se pelo carrinho da direita, pela bandeja situada mais acima, sempre pela divisão da direita. Todos os ovos não eclodidos permaneceram na bandeja de origem. Após feita a retirada, os pintos foram acondicionados em caixas com capacidade para 100 animais e destinados em caminhão apropriado, para um incubatório industrial, onde foram vacinados, sexados e enviados para a granja de criação.

Assim que os pintos foram levados, os carrinhos de nascimento foram levados até a área externa do incubatório onde foi feito o embriodiagnóstico de todos os ovos não eclodidos, sendo verificados os percentuais de eclodibilidade dos ovos férteis, mortalidade embrionária entre 1 e 3 dias, entre 4 e 7 dias, entre 8 e 14 dias, entre 15 e 21 dias, contaminações visíveis a olho nú e pintos impróprios para criação (Scott & Swetnam, 1993c).

No exame de resíduos, foram analisados 310 ovos no total, perfazendo um percentual geral (incluindo os inférteis) de eclodibilidade de 91,38% no Experimento 1 e no Experimento 2, 614 ovos, configurando uma eclodibilidade geral (incluindo ovos inférteis) de 82,94%.

### **3.8. Delineamento experimental**

Nos experimentos foi utilizado delineamento em blocos ao acaso, onde foram utilizados 7 tratamentos, sendo que em 3 deles (fenol sintético, clorexidina e amônia quaternária) houveram 12 repetições e nos outros 4 (amônia quaternária com uréia, formaldeído, amônia quaternária com glutaraldeído e o grupo controle) houveram 11 repetições no Experimento 1. No Experimento 2, os tratamentos fenol sintético, amônia quaternária com glutaraldeído e o grupo controle tiveram 12 repetições, enquanto os tratamentos clorexidina, amônia quaternária, amônia quaternária com uréia e formaldeído tiveram 11 repetições. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados para bloquear o efeito das possíveis diferenças de temperatura existentes dentro da incubadora e do nascedouro. Todas as repetições tiveram 45 unidades experimentais, perfazendo um total de 3600 ovos incubados em cada experimento.

Na análise laboratorial, foi utilizado delineamento completamente casualizado, com os mesmos 7 tratamentos, com 8 repetições e 5 unidades experimentais por repetição, num total de 280 ovos em cada experimento.

### 3.9. Variáveis analisadas e modelo estatístico

Foram analisados, em ambos os experimentos, os percentuais de eclodibilidade de ovos férteis, mortalidade entre 1 e 3 dias, mortalidade entre 4 e 7 dias, mortalidade entre 8 e 14 dias, mortalidade entre 15 e 21 dias, contaminações e pintos não apropriados para criação em cada tratamento. Para a análise estatística dos dados do embriodiagnóstico, obtidos em percentual, os resultados obtidos, foram submetidos à transformação para arco seno (arco seno  $((\% \text{ mortalidade}/100)+0,05)^{0,5}$ ).

Na análise laboratorial, foram analisadas as superfícies interna e externa da casca buscando-se detectar os níveis de contaminação por *Pseudomonas sp*, *Aspergillus sp*, além de detecção e quantificação de bolores e leveduras, mesófilos totais e coliformes totais.

Foi feita análise de variância através do procedimento General Linear Models do pacote estatístico SAS 8.2 (2001) procurando verificar estatisticamente as diferenças entre os tratamentos. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}, \text{ onde:}$$

$Y_{ijk}$  = Observações das variáveis dependentes correspondentes à repetição da independente k sob o bloco de ordem j e o tratamento de ordem i;

$\mu$  = Média geral das observações;

$\tau_i$  = Efeito do tratamento de ordem i;

$\beta_j$  = Efeito do bloco;

$\varepsilon_{ijk}$  = Efeito do erro aleatório, associado à observação de ordem j sob o tratamento de ordem i.

As variáveis que apresentaram diferença estatística ao teste F foram submetidas ao teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) procurando identificar diferenças entre as médias dos tratamentos.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Resultados microbiológicos do Experimento 1

Foram analisadas numericamente as unidades formadoras de colônias por grama na superfície interna e externa da casca dos ovos através de um “pool” das repetições dos tratamentos.

Devido ao fato do grupo controle não ter recebido nenhum tipo de desinfecção, era esperado que este grupo apresentasse maior contaminação microbiológica, fato ocorrido quando foi analisada a prevalência de coliformes totais, porém sem ter sido encontrada diferença estatística entre os tratamentos. Bolores e leveduras, *Pseudomonas sp* e *Aspergillus sp* não foram encontrados em nenhuma das repetições, o que evidencia o manejo correto no momento da coleta e desinfecção dos ovos assim como a boa qualidade da matéria prima utilizada remetendo à idéia de um manejo adequado na granja de reprodutoras, relacionado à qualidade de cama e ninhos. Quando foi avaliada a prevalência de mesófilos totais, era também esperada maior quantidade no grupo não tratado; entretanto, os resultados obtidos mostram maior contaminação nos ovos desinfetados com o desinfetante a base de glutaraldeído, seguido do grupo desinfetado com o fenol sintético, ambos não diferindo estatisticamente entre si; porém, o grupo desinfetado com o fenol sintético foi também idêntico aos demais tratamentos. O resultado inferior do

glutaraldeído pode ter sido relacionado à quantidade microbiana existente na amostragem ou devido ao pH da água a qual ele foi testado. Segundo Scott & Gorman (1991), esta molécula tem a capacidade de continuar sua atividade na presença de matéria orgânica, possui amplo espectro, é capaz de destruir todas as formas de vida microbiana incluindo esporos fúngicos e bacterianos, bacilos e vírus, entretanto, Pinheiro et al. (1985) submeteu vários desinfetantes à ação de matéria orgânica e verificou que o glutaraldeído, neste experimento associado com formol e amônia quaternária, teve resultado de atuação inferior ao do tratamento com solução desinfetante de hipoclorito de sódio.

Em relação ao resultado obtido pelo grupo tratado com fenol sintético, que segundo O'Connor & Rubino (1991), possui amplo espectro antimicrobiano, sendo bactericida, fungicida, tuberculocida e viricida contra vírus lipofílicos, tem alta tolerância à água dura, e boa atividade residual, os resultados ficaram aquém do esperado. Scott & Swetnam (1993b), ao analisarem diversos desinfetantes quanto à sua capacidade de redução microbiana na casca de ovos, concluíram que os desinfetantes a base de compostos fenólicos, apesar de terem reduzido a população microbiana, não tiveram a mesma eficácia quando comparados ao formol, confirmando o resultado deste experimento. Donassolo e Neto (2004), entretanto, ao avaliarem eclodibilidade, mortalidade embrionária e contaminação microbiológica da casca de ovos desinfetados por imersão em solução desinfetante a base de compostos fenólicos, encontraram resultados superiores ao grupo desinfetado com formaldeído por fumigação, confrontando os resultados obtidos por Scott & Swetnam (1993b) e os resultados microbiológicos encontrados neste trabalho. Davidson et al. (1996)

compararam isolamento de *Salmonella enteritidis* e *Salmonella cholerasuis* de água de diversas fontes tratadas com diversos desinfetantes, sendo eles: formaldeído, fenóis, cloro, glutaraldeído e amônia quaternária, concluindo que o formaldeído combinado à amônia e o fenol foram os que surtiram melhores resultados, confrontando o resultado obtido neste trabalho em relação ao fenol, por outro lado confirmando o resultado obtido pelo glutaraldeído. Scott & Swetnam (1993b), todavia, ao compararem redução microbiológica na casca de ovos incubáveis submetidos à diversas soluções desinfetantes encontraram, no grupo desinfetado com glutaraldeído, redução semelhante aos grupos desinfetados com formaldeído, fenóis, clorexidina e amônia quaternária entre outros confrontando o resultado do trabalho de Davidson et al. (1996) e o resultado obtido neste trabalho.

Os resultados microbiológicos do Experimento 1 estão contidos na Tabela 2.

Tabela 2. Análise microbiológica da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.

Tratamentos	Níveis de contaminação UFC/g				
	Mesófilos totais	Bolores e leveduras	Coliformes totais	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>
Controle	51,3 b	0	16,3	0	0
Formaldeído	3,8 b	0	0	0	0
Amônia 40% Uréia 60%	16,6 b	0	0	0	0
Amônia 13%	966,0 a	0	2,7	0	0
Glutaraldeído 37%	7,9 b	0	0,8	0	0
Clorexidina 20%	16,8 b	0	0	0	0
Fenol Sintético	501,8 ab	0	8,8	0	0
P ≤	0,0067	0	0,5008	0	0
Média	223,4	0	4,1	0	0
CV%	255,74	0	452,75	0	0

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Apêndices 11 a 15.

A desinfecção dos ovos é procedida na granja de reprodutoras visando, além da qualidade dos pintos de 1 dia, a manutenção do nível sanitário existente no incubatório, visto que ovos com grande contaminação

tendem a estourar dentro das incubadoras ou mesmo no momento da transferência para o nascedouro, contaminando milhares de outros ao seu redor e, além disso, aumentando a carga microbiana dentro das incubadoras e conseqüentemente da planta do incubatório.

São práticas comuns, em incubatórios industriais, as análises microbiológicas buscando-se a detecção de mesófilos totais e também de bolores e leveduras. Segundo Tortora et al. (2005), mesófilos totais são todas as bactérias capazes de se desenvolverem em temperaturas entre 10 e 50°C, tendo, no entanto, crescimento ótimo entre 25 e 40°C, sendo o tipo de microorganismo mais abundantemente encontrado. Os bolores e leveduras são diferenciados pela sua estrutura, visto que os bolores (fungos) possuem filamentos multinucleados denominados hifas enquanto as leveduras são unicelulares não-filamentosos e tem característica oval ou esférica. O monitoramento da quantidade destes microorganismos proporciona a avaliação dos níveis de contaminação, visto que detectam a presença de bactérias e fungos praticamente em sua totalidade. A contaminação fúngica por *Aspergillus* é, uma vez instalada, de difícil remoção pelas características deste microorganismo que é capaz de desenvolver-se em ambientes considerados hostís pelas bactérias como ambientes com pouca umidade e pH próximo a 5 (Tortora et al. 2005). Possuem esporos assexuais denominados conídios que estão em suspensão no ar e causam sérios prejuízos à produtividade penetrando através da casca ou de orifícios como os existentes na vacinação em ovos ou mesmo no momento da bicada da casca quando o pinto evolui da respiração alantóide iniciando a respiração pulmonar, sendo aspirados e causando a mortalidade ou contaminação das aves (Kunkle, 2003). Com

relação a *Pseudomonas*, pode-se afirmar que são causadoras de diversos transtornos sanitários quando presentes em incubatórios, pela sua característica resistência à desinfetantes, através da formação de biofilmes, sendo conhecidas pela sua capacidade de se multiplicarem inclusive em soluções desinfetantes a base de amônia quaternária (Wilson, 1975), principalmente quando em pequenas concentrações. Os coliformes são analisados pois são bactérias utilizadas comumente como indicadores de contaminação da água (Tortora et al., 2005) e prejuízos que certamente serão causados à produção se estiverem em excesso no ambiente e nos ovos.

#### **4.2. Resultados do embriodiagnóstico do Experimento 1**

No embriodiagnóstico, foram analisados os percentuais de mortalidade entre 1 e 3 dias de incubação, entre 4 e 7 dias, 8 e 14 dias, 15 e 21 dias, ovos podres, pintos impróprios para a criação e eclodibilidade dos ovos férteis, não sendo detectadas diferenças estatísticas entre tratamentos em nenhuma das variáveis analisadas o que evidencia que não houve diferença entre os desinfetantes quanto à sua capacidade de redução microbiana e mortalidade embrionária. Levando-se em conta os bons resultados obtidos nas variáveis analisadas, todos poderiam ser utilizados sem restrições. Os resultados do embriodiagnóstico do experimento 1 são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Mortalidade embrionária em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 1.

Tratamentos	Fases analisadas				Podres	Impróprios <sup>1</sup>	Eclodibilidade <sup>2</sup>
	1-3 dias	4-7 dias	8-14 dias	15-21 dias			
Controle	2,8	0,8	0,4	1,4	0,0	0,2	94,1
Formaldeído	2,1	1,4	1,1	0,8	0,4	0,0	93,4
Amônia 40% Uréia 60%	1,8	1,1	0,8	1,3	1,0	0,0	93,4
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	1,6	0,8	0,5	2,7	0,4	0,2	93,3
Amônia 40%	1,7	0,3	0,3	2,0	0,4	0,0	94,8
Clorexidina 20%	1,5	1,0	0,1	1,8	0,2	0,0	94,9
Fenol Sintético	2,1	0,8	0,3	1,6	0,3	0,2	93,9
P ≤	0,7714	0,5878	0,6984	0,4086	0,3938	0,5625	0,8681
Média	1,9	0,9	0,5	1,7	0,4	0,0	94,0
CV, %	14,49	10,79	10,50	13,92	9,08	4,08	3,68

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Foi feita transformação para arco seno sendo mantidas as médias reais para tratamentos. Apêndices 16 a 27.

<sup>1</sup>Impróprios: Não aptos à criação. Umbigos não cicatrizados, bico cruzado, vísceras expostas, problemas locomotores, deficiência de empenamento, cegos.

<sup>2</sup>Eclodibilidade: valores expressos sobre os ovos férteis.

### 4.3. Resultados microbiológicos do Experimento 2

No segundo experimento, as análises, assim como os microorganismos em questão foram os mesmos do Experimento 1. Como já era esperado, por não ter recebido desinfecção, o grupo controle teve os níveis de contaminação mais altos, diferindo estatisticamente de todos os outros analisados para contaminação por mesófilos totais. Quando foram analisadas as contaminações por coliformes totais, a tendência se manteve a mesma, com o grupo controle sendo o que teve maior contaminação e diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos, exceto do tratamento com desinfetante a base de amônia quaternária associada à uréia, que foi estatisticamente igual ao grupo controle, porém não diferiu estatisticamente dos outros tratamentos. Este resultado pode ser explicado pela fraca atuação dos compostos quaternários de amônia frente à matéria orgânica (Demasi, 1991). Quando analisada, com o dobro da dosagem, teve resultados satisfatórios,

apesar de ser considerada por Merianos (1991) algicida, bactericida, fungicida, e viricida contra vírus lipofílicos em concentrações de apenas 10 a 50 ppm, bem inferiores aos 400 ppm utilizados no tratamento em questão, não podendo ser descartada a interferência do pH da água, visto que, segundo Merianos (1991), esta molécula dá melhor resposta quando em soluções alcalinas.

Oliveira e Silva (2000), ao imergirem ovos contaminados artificialmente com *Salmonella enteritidis* em soluções de cloro e amônia quaternária, verificaram que a amônia foi mais eficiente que o cloro tanto para redução dos níveis de *Salmonella* quanto de mesófilos totais, de certa forma contrariando os resultados obtidos neste trabalho. Brake & Sheldon (1990), por sua vez, avaliaram a contagem microbiológica da casca dos ovos pulverizados contra um grupo controle e verificaram que a redução bacteriana foi de 98% após a pulverização com amônia quaternária, contrapondo também os resultados encontrados neste trabalho. Da mesma forma, Sacco et al. (1989) compararam fumigação com formol e desinfecção com amônia quaternária a fim de verificar a redução bacteriana na casca e na gema de ovos pós-desinfecção e não encontraram diferenças entre os tratamentos.

Fica claro nos resultados obtidos pela avaliação das análises microbiológicas em ambos os experimentos que a utilização de soluções desinfetantes para desinfecção da casca dos ovos nos momentos subseqüentes à postura bloqueia o desenvolvimento contínuo e exponencial dos microorganismos.

Os resultados microbiológicos do Experimento 2 estão contidos na Tabela 4.

Tabela 4. Análise microbiológica da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no Experimento 2.

Tratamentos	Níveis de contaminação UFC/g				
	Mesófilos totais	Bolores e leveduras	Coliformes totais	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>
Controle	758,8 a	52,0	111,21 a	0	0
Formaldeído	58,1 b	70,9	0 b	0	0,7
Amônia 40% Uréia 60%	118,9 b	1,7	8,3 ab	0,3	0
Amônia 13%					
Glutaraldeído 37%	155,5 b	68,2	0 b	0	0
Amônia 40%	12,0 b	10,8	0 b	0	0
Clorexidina 20%	217,0 b	1,4	0 b	0	0
Fenol Sintético	136,6 b	7,6	0 b	0	0,8
P ≤	0,0017	0,0790	0,0165	0,4361	0,1171
Média	208,1	30,4	17,0	0,0	0,2
CV%	166,26	208,22	403,69	748,33	360,80

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Apêndices 28 a 32.

#### 4.4. Resultados do embriodiagnóstico do Experimento 2

No embriodiagnóstico do segundo experimento, foram avaliadas as mesmas variáveis analisadas no Experimento 1. Os resultados obtidos não mostraram diferença entre os tratamentos quando avaliadas as mortalidades até o 3º dia de incubação. No entanto, quando avaliada a mortalidade embrionária do 4º ao 7º dia foi verificado menor índice no grupo desinfetado com amônia quaternária diferindo do grupo tratado com formaldeído, que propiciou maior mortalidade, fato não esperado visto que, segundo Williams e Dillard (1973), este produto químico não possui efeito residual e o processo de fumigação dos ovos foi feito por 15 minutos conforme citado por Williams (1970) não devendo, portanto, causar mortalidade nesta fase do desenvolvimento. Sacco et al. (1989) compararam nascimento e viabilidade embrionária no 7º dia de incubação em ovos fumigados com formaldeído e lavados com amônia quaternária, verificando melhores resultados nas duas avaliações para o grupo tratado com formaldeído, mesmo sem detecção de diferença estatística, contrapondo o resultado obtido neste experimento.

Quando comparadas as variáveis mortalidades de 8 a 14 dias, mortalidade de 15 a 16 dias, podres, pintos impróprios à criação e eclodibilidade dos ovos férteis não foi detectada diferença estatística entre os tratamentos. Sheldon & Brake (1991), por sua vez, avaliaram eclodibilidade, mortalidade de 1 a 7 dias e mortalidade de 8 a 20 dias em ovos desinfetados através de fumigação com formaldeído comparados com um grupo pulverizado com peróxido de hidrogênio e outro grupo pulverizado com água estéril, evidenciando diferença na mortalidade de 8 a 20 dias, constatando maior mortalidade no grupo tratado com formaldeído, confrontando os resultados obtidos neste experimento.

Whistler & Sheldon (1989) apresentaram trabalho comparando fumigação com formaldeído contra ozônio avaliando a eclodibilidade dos ovos férteis e detectaram diferença amplamente significativa para o grupo tratado com formaldeído sendo a eclodibilidade dos ovos férteis deste tratamento 89,4% enquanto no tratamento com ozônio foi de 50%, não constatando perdas de produtividade relacionadas ao uso do formaldeído.

Os resultados do embriodiagnóstico do Experimento 2 são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Mortalidade embrionária em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Tratamentos	Fases analisadas				Podres	Impróprios <sup>1</sup>	Eclodibilidade <sup>2</sup>
	1-3 dias	4-7 dias	8-14 dias	15 -21 dias			
Controle	2,1	1,4 ab	0,1	3,5	0,1	0,6	91,8
Formaldeído	1,2	1,9 b	0,6	2,3	0,3	0,2	93,1
Amônia 40% Uréia 60%	2,2	0,6 ab	0,1	4,1	0,4	0,2	92,0
Amônia 13%							
Glutaraldeído 37%	1,4	0,6 ab	0,6	2,6	0,9	0,8	92,7
Amônia 40%	1,1	0,1 a	0,2	4,2	0,4	0,1	93,5
Clorexidina 20%	1,6	1,7 ab	0,8	4,3	0,2	0,4	90,7
Fenol Sintético	2,5	0,5 ab	0,2	5,2	1,3	0,6	89,4
P ≤	0,7127	0,0383	0,5667	0,0608	0,0667	0,7808	0,3457
Média	1,7	1,0	0,4	3,7	0,5	0,4	91,9
CV, %	15,79	11,38	8,97	13,42	8,53	9,41	4,86

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Foi feita transformação para arco seno sendo mantidas as médias reais para tratamentos. Apêndices 33 a 44.

<sup>1</sup>Impróprios: Não aptos à criação. Umbigos não cicatrizados, bico cruzado, vísceras expostas, problemas locomotores, deficiência de empenamento, cegos.

<sup>2</sup>Eclodibilidade: valores expressos sobre os ovos férteis.

## 5. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram avaliados ambos os experimentos os resultados permitem concluir que:

1. Na desinfecção através de pulverização, apenas o desinfetante a base de amônia quaternária associada a glutaraldeído e o fenol sintético foram ineficazes para redução microbiológica na casca por mesófilos totais. Quando analisadas as variáveis verificadas através do embriodiagnóstico não foram detectadas diferenças entre os tratamentos.
2. Na desinfecção por imersão, concluiu-se a eficácia do método, visto que o grupo controle foi o mais contaminado para mesófilos e coliformes totais, porém, para coliformes, o desinfetante a base de amônia associada à uréia teve atuação inferior aos demais tratamentos. No embriodiagnóstico, o tratamento com amônia quaternária propiciou menor mortalidade de 4 a 7 dias enquanto o grupo desinfetado através de fumigação com formaldeído teve mortalidade embrionária superior aos demais.
3. O grupo desinfetado com formaldeído através de fumigação, presente em ambos os experimentos mostrou-se eficiente quanto à sua capacidade de redução de microorganismos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLCROFT, W.M.; BEER, A.E. **Incubation and Hatchery Practice**. London: Her Majesty's Stationery Office. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1973. 70 p. (Bulletin 148)
- BAMBACE, A.M.J. et al. **Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies**. Universidade de Taubaté, 2003. Disponível em: <<http://dentalreview.com.br/>>. Acesso em 12 jun.2006.
- BARROS, M.R. et al. Sobrevivência de *Salmonella enteritidis* em ovos contaminados artificialmente após a desinfecção e armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, Campinas, v.3, n.3, 2001.
- BENNET, C.D. The influence of shell thickness on hatchability in commercial broiler breeder flocks. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v.1, n.1, p.61-65, 1992.
- BLOCK, S.S. Definition of terms. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 18-25.
- BERMUDEZ, A.J.; BROWN, B.S. Principles of disease prevention: Diagnosis and control. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11.ed. Iowa: Iowa State Press, 2003. p.17-53.
- BELL, D.D. Management in alternative housing systems. In: BELL,D.D.; WEAVER,W.D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5a.ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 2002. p.1041-1057.
- BRAKE, J. Análisis de riesgo de los puntos críticos em el processo de incubacion para producir pollos bebé de alta calidad. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 16., Lima, 1999. **Anais...** Lima: Apa/Ala, 1999. p.218-228.
- BRAKE, J.; SHELDON, B.W. Effect of a quaternary ammonium sanitizer for hatching eggs on their contamination, permeability, water loss, and hatchability. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.69, p.517-525, 1990.
- BRAMWELL, R.K. Importancia de las prácticas de manejo de las casetas de reproductoras. **Indústria Avícola**, Mount Morris, IL, v.47, n.12, p.8-18, dic. 2000.

- BRUCE, J.; DRYSDALE, E.M. Egg hygiene: Routes of infection. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 257-267. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.
- CHUTE, H.L.; GERSHMAN, M. A New Approach to hatchery sanitation. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.40, p.568- 571, 1961.
- DAVIDSON, S.; BENSON, C.E.; ECKROADE, R.J. Evaluation of disinfectants against *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases**. Kennett Square, Pa, v.40, p.272-277, 1996.
- DEMASI, M. Anti-sépticos, desinfetantes, esterilizantes. In: VALE, L.B.S. et al. **Farmacologia Integrada: fundamentos farmacológicos da terapêutica**. São Paulo: Ateneu, 1991. p. 576- 606.
- DENTON, G.W. Chlorhexidine. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.274-289.
- DONASSOLO, E.; NETO, G.C.C. **Ação do Fenol Sintético e do Aldeído Fórmico na Proteção de Embriões de Gallus Gallus para fins Comerciais**. 2004. 48f. Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Ciências Biológicas) - Universidade Paranaense, Cascavel, 2004.
- ELGUERA, M.A. Relação entre o manejo de reprodutoras de carne a qualidade de ovos incubáveis. In: SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE, 2., Chapecó, 1999. **Anais...** Chapecó: Acav/Embrapa, 1999. p.17-27.
- FAVERO. M.S.; BLOND, W.W. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.617-641.
- GAMA, N.M.S.Q.; GUASTALLI, E.A.L.; CINI, A.C.P. Eficácia de produtos desinfetantes contra a *Escherichia coli* isolada de água destinada à dessedentação de galinhas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.71,supl., p.525-527, 2004.
- GERRITS, A.R. Formalin fumigation during pipping and hatching. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 293-295. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.
- GILBERT, A.B. The Egg: its physical and chemical aspects. In: BELL, D.J.; FREEMAN, B.M. **Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl**. New York: Academic Press, 1971. p1378-1399.

- HYATT, D.T.; GARDNER, F.A.; FANGUY, R.C. Evaluation of glutaraldehyde as a hatching egg disinfectant. **Poultry Science**, Savoy, IL, V.64 (Supl.1), p.119, 1985.
- JAENISCH, F.R.F. **Biossegurança em plantéis de matrizes de corte**. Embrapa, 2005. Disponível em: <<http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave004.htm>>. Acesso em: 22 julho 2005.
- JONES, C.B. Egg hygiene: microbial contamination, significance and control. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 269-276. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.
- KUNKLE, R.A. Fungal Infections. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11<sup>th</sup> ed. Iowa: Iowa State Press, 2003. p.883-893.
- MAST, M.G.; MacNEIL, J.H. Use of glutaraldehyde as a poultry processing equipment sanitizer. **Poultry Science**, Savoy, IL , v.57, p.676-680, 1978a.
- MAST, M.G.; MacNEIL, J.H. Use of glutaraldehyde as a disinfectant in immersion chilling of poultry. **Poultry Science**. Savoy, IL, v. 57, p.681-684, 1978b.
- MAULDIN, J.M. Maintaining hatching egg quality. In: BELL, D.D. ; WEAVER, W.D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5<sup>th</sup> ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 2002. p.707-725.
- McQUOID, D. Operation of multiple-stage and single-stage Incubation systems. **World Poultry**, Doetinchem, Netherlands, v.18, n.2, 2000.
- MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.225-255.
- NASCIMENTO, V.P.; PIPPI SALLE, C.T. O ovo. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**. 2.<sup>a</sup> ed. Campinas : Facta, 2003. p.35-50.
- NORTH, M.O. **Commercial Chicken Production Manual**. Westport:The Avi Publishing, 1972. p. 21-30.
- O'CONNOR, D.O.; RUBINO, J.R. Phenolic compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.204-224.

- OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. *Salmonella* em ovos comerciais: Ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.6, 2000.
- PARISI, A.N.; YOUNG, W. E. Sterilization with ethylene oxide and other gases. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.580-595.
- PINHEIRO, S.R. et al. Influencia da matéria orgânica na atividade micobactericida de cinco desinfetantes químicos de uso pecuário. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.29, n.1, p 51- 60, 1992.
- PROUDFOOT, F.G.; NASH, D.M; HULAN, H.W. Effects of glutaraldehyde-surfactant solution on the hatchability of the hen's eggs. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.64, p. 2400-2402, 1985.
- QUARLES, C.L.; GENTRY, R.F; BRESSLER, G.O. Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.49, p. 60-66, 1970.
- ROMANOFF, A.L.; ROMANOFF, A.J. Structure. In: ROMANOFF, A.L. ; ROMANOFF, A.J. **The Avian Egg**. 2<sup>th</sup> ed. New York : John Wiley e Sons, 1963. p.121-174.
- RUSSEL, J.B. **Química Geral**. 2.ed. São Paulo: Makroon Books, 1994. v.2. 1145 p.
- SACCO, R.E. et al. Effect of hatching egg sanitizers on embrionic survival and hatchability of turkey eggs from different lines and on eggs shell bacterial populations. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.68, p. 1179-1184, 1989.
- SAS Institute. **SAS User's guide: Statistics**. Version 8.0 Edition. Cary, NC, 2001.
- SAUTER, E.A.; PETERSEN, C.F. The effect of egg shell quality on penetration by various *Salmonellae*. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.53, p.2159-2162, 1974.
- SCOTT, E.M.; GORMAN, S.P. Glutaraldehyde. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.596-614.

- SCOTT, T.A.; SWETNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. I. Environmental and user friendliness. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v.2, p.1-6, 1993a.
- SCOTT, T.A.; SWETNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. II. Effectiveness against microorganisms on the egg shell. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v.2, p. 7-11, 1993b.
- SCOTT, T.A.; SWETNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. III. Effect of concentration and exposure time on embryo viability. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, GA, v.2, p. 12-18, 1993c.
- SESTI, L.A.C. Biosseguridade em granjas de reprodutoras. In: MACARI, M.; MENDES, A.A. **Manejo de Matrizes de Corte**. Campinas: Facta, 2005. p. 244-317.
- SHANE, S.M.; FAUST, A. Evaluation of sanitizers for hatching eggs. **Journal Applied Poultry Research**. v.5, n. 2, p.134-138, 1996.
- SHELDON, B.W.; BRAKE, J. Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.70, p.1092-1098, 1991.
- SILVA, C.R.G; JORGE, A.O.C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em odontologia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.16, n.2, p.107-114, 2002.
- SIMKISS, K.; TAYLOR, T.G. Shell formation. In: BELL, D.J. ; FREEMAN, B.M. **Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl**. New York: Academic Press,1971. p.1331-1342.
- SONCINI, R.A.; BITTENCOURT, F.L. Contaminação dos ovos após a postura. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**. 2.ed. Campinas : Facta, 2003. p.442-445.
- SPARKS, N.H.C.; BOARD, R.G. Bacterial penetration of the recently oviposited shell of hens' eggs. **Australian Veterinary Journal**, St.Leonard, NSW, . v.62, n.5, p.169-170, may.1985.
- TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L.; **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.
- UCKO, A.D. **Química para as ciências da saúde**: Uma introdução a química geral, orgânica e biológica. São Paulo: Manolo, 1992. 646p.

- WHISTLER, P.E.; SHELDON, B.W. Bactericidal activity, eggshell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.68, p.1074-1077, 1989.
- WHITEHEAD, C.C. Nutrition of the breeding bird and developing embryo. In: TULLET, S.G. **Avian Incubation**. London: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 227-238. Trabalho apresentado no 22. Poultry Science Symposium.
- WILLIAMS, J.E. Effect of high-level formaldehyde fumigation on bacterial populations on the surface of chicken hatching eggs. **Avian Diseases**, Kennett Square, Pa., v.14, n.2, p.386-391, 1970.
- WILLIAMS, J.E.; DILLARD, L.H. The Effects of external shell treatments on *Salmonella* penetration of chicken eggs. **Poultry Science**, Savoy, IL, v.52, p.1084-1089, 1973.
- WILSON.G.F. The Pseudomonads. In: WILSON, G.F; TOPLEY. F. **Principles of Bacteriology and Immunity**. 6<sup>th</sup> ed. London: Willams e Wilins Company, 1975. v.2, p.802- 823.
- ZEIDLER, G. Shell eggs and their nutritional value. In: BELL, D.D.; WEAVER, W.D. **Commercial Chicken Meat and Egg Production**. 5<sup>th</sup> ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 2002. p.1109-1128.

## **7. APÊNDICES**

Apêndice 1. Composição para cada 100mL /100g dos desinfetantes utilizados em ambos os experimentos:

Fenol sintético	Orto-fenilfenol.....12 mL Orto-benzil paraclorofenol.....10 mL Para-terceário amilfenol.....4 mL Veículo q.s.p.....74 mL
Digluconato de Clorexidina	Digluconato de Clorexidina.....20 mL Veículo q.s.p.....80 mL
Amônia Quaternária	Clotreto de alquil dimetil benzil amônio.....40 mL Veículo q.s.p.....60 mL
Amônia Quaternária e Uréia	Clotreto de alquil dimetil benzil amônio.....40 g Uréia.....60 g
Formaldeído	Paraformaldeído.....91 g Veículo q.s.p.....9 g
Amônia Quaternária e Glutaraldeído	Clotreto de alquil dimetil benzil amônio.....13 mL Glutaraldeído.....37 mL Veículo q.s.p.....50 mL

Apêndice 2. Preparo das soluções desinfetantes com suas respectivas quantidades, diluições e dosagens no experimento 1.

<b>Princípio ativo</b>	<b>Quantidade/ Bomba</b>	<b>Diluição</b>	<b>Dosagem</b>	<b>Método de dosagem</b>
Fenol sintético	8 mL	1:250	1040 ppm	Proveta Naglon cap.100 mL
Clorexidina	2 mL	1:1000	200 ppm	Seringa Hoppner cap. 3 mL
Amônia Quaternária	4 mL	1:500	800 ppm	Seringa Hoppner cap. 3 mL
Amônia Quaternária e Uréia	2 g	1:1000	400 ppm A.Q 600 ppm Uréia	Balança Ohaus prec. 0,01g
Amônia Quaternária e Glutaraldeído	2 mL	1:1000	130 ppm A.Q 370 ppm Gtr	Seringa Hoppner cap. 3 mL

Apêndice 3. Preparo das soluções desinfetantes com suas respectivas quantidades, diluições e dosagens no experimento 2.

<b>Princípio ativo</b>	<b>Quantidade de água na caixa de imersão</b>	<b>Quantidade de desinfetante</b>	<b>Diluição</b>	<b>Dosagem</b>	<b>Método de dosagem</b>
Fenol sintético	80 litros	21,25 mL	1:250	1040 ppm	Proveta Naglon cap.100 mL
Clorexidina	100 litros	100 mL	1:1000	200 ppm	Proveta Naglon cap.100 mL
Amônia Quaternária	100 litros	200 mL	1:500	800 ppm	Proveta Naglon cap.100 mL
Amônia Quaternária e Uréia	100 litros	100 g	1:1000	400 ppm A.Q 600 ppm Uréia	Balança Ohaus prec. 0,01g
Amônia Quaternária e Glutaraldeído	100 litros	100 mL	1:1000	100 ppm A.Q 400 ppm Gtr	Proveta Naglon cap.100 mL

Apêndice 4. Temperatura e umidade da sala de ovos na granja de reprodutoras no experimento 1.

<b>Hora</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Umidade Relativa</b>
08h00min	21°C	93%
09h00min	18°C	78%
10h00min	18°C	73%
11h00min	17°C	73%
12h00min	18,5°C	78%
13h00min	21°C	91%
14h00min	21,5°C	90%

Apêndice 5. Temperatura e umidade da sala de ovos na granja de reprodutoras no experimento 2.

<b>Hora</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Umidade Relativa</b>
08h00min	17°C	85%
09h00min	17°C	88%
10h00min	17,5°C	85%
11h00min	17°C	85%
12h00min	18 °C	90%
13h00min	18°C	90%
14h00min	17,5°C	88%
15h00mim	18°C	85%
16h00mim	18°C	85%

Apêndice 6. Temperatura da água no momento da imersão em cada tratamento.

Temperatura água →	1ª Imersão	2ª Imersão	3ª Imersão	4ª Imersão	5ª Imersão	6ª Imersão	7ª Imersão	8ª Imersão	9ª Imersão
Tratamento↓									
Fenol Sintético	37,1°C	36,6°C	37,0°C	35,5°C	36,1°C	36,9°C	36,4°C	37 ,4°C	37,5°C
Amônia Quaternária e Glutaraldeído	36,1°C	37,3°C	36,8°C	35,8°C	36,7°C	36,4°C	36,7°C	37 ,0°C	36,1°C
Amônia Quaternária	35,1°C	37,4°C	37,1°C	36,2°C	36,0°C	37,1°C	36,8°C	37 ,8°C	37,1°C
Clorexidina	35,0°C	37,8°C	37,2°C	36,2°C	37,0°C	36,2°C	36,5°C	36 ,5°C	---
Amônia Quaternária e Uréia	35,0°C	36,8°C	36,2°C	36,0°C	36,0°C	37,1°C	36,5°C	37 ,1°C	---

Os tratamentos que tiveram uma imersão a mais são aqueles que tiveram uma repetição a mais.

Apêndice 7. Localização e identificação dos tratamentos nos carrinhos de incubação e nascimento localizados à esquerda e a direita dentro das máquinas no experimento 1.

#### **Carrinho da esquerda**

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Clorexidina 20%	Controle

Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%
Fenol sintético	Amônia quaternária 40%

Amônia 40% e Uréia 60%	Controle
Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Controle

Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%
Fenol sintético	Amônia quaternária 40%

Fenol sintético	Controle
Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Amônia quaternária 40%	Controle

#### **Carrinho da direita**

Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Fenol sintético

Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%

Controle	Amônia quaternária 40%
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%

Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético

Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Controle	Controle
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético

Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Clorexidina 20%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%

Apêndice 8. Localização e identificação dos tratamentos nos carrinhos de incubação e nascimento localizados à esquerda e a direita dentro das máquinas no experimento 2.

#### **Carrinho da esquerda**

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Controle

Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%
Fenol sintético	Amônia quaternária 40%

Amônia 40% e Uréia 60%	Controle
Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Controle

Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%
Fenol sintético	Amônia quaternária 40%

Fenol sintético	Controle
Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%

Fenol sintético	Amônia quaternária 40%
Formaldeído 91%	Amônia 13% Glutaraldeído 37%

Clorexidina 20%	Amônia 40% e Uréia 60%
Amônia quaternária 40%	Controle

#### **Carrinho da direita**

Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Fenol sintético

Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%

Controle	Controle
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%
Controle	Controle
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 40% e Uréia 60%	Clorexidina 20%
Controle	Clorexidina 20%
Amônia quaternária 40%	Fenol sintético
Amônia 13% Glutaraldeído 37%	Formaldeído 91%

Apêndice 9. Número de repetições por tratamento no experimento 1.

Fenol sintético	12 Repetições
Digluconato de Clorexidina 20%	12 Repetições
Amônia Quaternária 40%	12 Repetições
Amônia Quaternária 40% e Uréia 60%	11 Repetições
Formaldeído 91%	11 Repetições
Amônia Quaternária 13%, Glutaraldeído 37%	11 Repetições
Controle	11 Repetições

Apêndice 10. Número de repetições por tratamento no experimento 2.

Fenol sintético	12 Repetições
Digluconato de Clorexidina 20%	11 Repetições
Amônia Quaternária 40%	11 Repetições
Amônia Quaternária 40% e Uréia 60%	11 Repetições
Formaldeído 91%	11 Repetições
Amônia Quaternária 13%, Glutaraldeído 37%	12 Repetições
Controle	12 Repetições

Apêndice 11. Análise microbiológica de mesófilos totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	6709604,31	1118267,4	3,42	0,0067
Erro	49	16000295,2	326536,64		
Total corrigido	55	22709899,5			

CV, % =255,74

Apêndice 12. Análise microbiológica de bolores e leveduras da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0	0	0	0
Erro	49	0	0		
Total corrigido	55	0			

CV, % =0

Apêndice 13. Análise microbiológica de coliformes totais da casca dos ovos submetidos a desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	1889,00000	314,83333	0,90	0,5008
Erro	49	17091,12500	348,79847		
Total corrigido	55	18980,12500			

CV, % =452,7551

Apêndice 14. Análise microbiológica de Pseudomonas da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0	0	0	0
Erro	49	0	0		
Total corrigido	55	0			

CV, % =0

Apêndice 15. Análise microbiológica de Aspergillus da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0	0	0	0
Erro	49	0	0		
Total corrigido	55	0			

CV, % =0

Apêndice 16. Mortalidade embrionária de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	12,8868	2,1478	0,52	0,7947
Bloco	9	31,4857	3,4984	0,84	0,5832
Erro	64	266,8425	4,1694		
Total corrigido	79	312,3199			

CV, % = 102,8466

Apêndice 17. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0047	0,0007	0,55	0,7714
Bloco	9	0,0103	0,0011	0,80	0,6195
Erro	64	0,0922	0,0014		
Total corrigido	79	0,1077			

CV, % = 14,4963

Apêndice 18. Mortalidade embrionária de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	8,7037	1,4506	0,83	0,5526
Bloco	9	12,5053	1,3894	0,79	0,6236
Erro	64	112,1883	1,7518		
Total corrigido	79	132,4786			

CV, % = 114,3810

Apêndice 19. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0032	0,0005	0,78	0,5878
Bloco	9	0,0050	0,0005	0,81	0,6049
Erro	64	0,0437	0,0006		
Total corrigido	79	0,0516			

CV, % = 10,7989

Apêndice 20. Mortalidade embrionária de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	6,6284	1,1047	0,66	0,6859
Bloco	9	15,5325	1,7258	1,02	0,4314
Erro	64	107,9291	1,6863		
Total corrigido	79	130,1296			

CV, % = 227,9540

Apêndice 21. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0023	0,0003	0,64	0,6984
Bloco	9	0,0058	0,0006	1,07	0,3991
Erro	64	0,0389	0,0006		
Total corrigido	79	0,0471			

CV, % = 10,5053

Apêndice 22. Mortalidade embrionária de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	25,0359	4,1726	1,12	0,3630
Bloco	9	14,5858	1,6206	0,43	0,9120
Erro	64	239,2623	3,7384		
Total corrigido	79	278,5638			

CV, % = 112,0111

Apêndice 23. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0079	0,0013	1,04	0,4086
Bloco	9	0,0048	0,0005	0,42	0,9191
Erro	64	0,0821	0,0012		
Total corrigido	79	0,0949			

CV, % = 13,9268

Apêndice 24. Quantidade de ovos podres em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	7,5797	1,2632	1,08	0,3847
Bloco	9	10,9451	1,2161	1,04	0,4201
Erro	64	74,9568	1,1712		
Total corrigido	79	94,2538			

CV, % = 251,7327

Apêndice 25. Quantidade de ovos podres transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0028	0,0004	1,06	0,3938
Bloco	9	0,0041	0,0004	1,03	0,4285
Erro	64	0,0284	0,0004		
Total corrigido	79	0,0357			

CV, % = 9,0893

Apêndice 26. Quantidade de pintos impróprios à criação em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	1,0085	0,1680	0,81	0,5624
Bloco	9	1,6032	0,1781	0,86	0,5619
Erro	64	13,2036	0,2063		
Total corrigido	79	15,6336			

CV, % = 520,6402

Apêndice 27. Quantidade de pintos impróprios à criação transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 1.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0004	0,00006	0,81	0,5625
Bloco	9	0,0006	0,00007	0,86	0,5620
Erro	64	0,0054	0,00008		
Total corrigido	79	0,0064			

CV, % = 4,0827

Apêndice 28. Análise microbiológica de mesófilos totais da casca dos ovos submetidos a desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	3040513,335	506752,222	4,23	0,0017
Erro	49	5867982,024	119754,735		
Total corrigido	55	8908495,358			

CV, % = 166,2689

Apêndice 29. Análise microbiológica de bolores e leveduras da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	48873,1421	8145,5237	2,03	0,0790
Erro	49	196432,9350	4008,8354		
Total corrigido	55	245306,0771			

CV, % = 208,2253

Apêndice 30. Análise microbiológica de coliformes totais da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	83219,1786	13869,8631	2,91	0,0165
Erro	49	233215,3750	4759,4974		
Total corrigido	55	316434,5536			

CV, % = 403,6980

Apêndice 31. Análise microbiológica de *Pseudomonas* da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,6171	0,1028	1,00	0,4361
Erro	49	5,0400	0,1028		
Total corrigido	55	5,6571			

CV, % =748,3315

Apêndice 32. Análise microbiológica de *Aspergillus* da casca dos ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	7,6071	1,2678	1,81	0,1171
Erro	49	34,3750	0,7015		
Total corrigido	55	41,9821			

CV, % =360,8012

Apêndice 33. Mortalidade embrionária de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	19,3005	3,2167	6,64	0,6988
Bloco	9	65,8508	7,3167	1,45	0,1851
Erro	64	322,3282	5,0363		
Total corrigido	79	403,9802			

CV, % = 125,7429

Apêndice 34. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 1 a 3 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0061	0,0010	0,62	0,7127
Bloco	9	0,0209	0,0023	1,41	0,2020
Erro	64	0,1057	0,0016		
Total corrigido	79	0,1320			

CV, % = 15,7930

Apêndice 35. Mortalidade embrionária de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	30,6257	5,1042	2,41	0,0364
Bloco	9	42,1203	4,6800	2,21	0,0324
Erro	64	135,3862	2,1154		
Total corrigido	79	207,2047			

CV, % = 141,6934

Apêndice 36. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 4 a 7 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0110	0,0018	2,39	0883
Bloco	9	0,0157	0,0017	2,27	0,0280
Erro	64	0,0492	0,0007		
Total corrigido	79	0,0757			

CV, % = 11,3879

Apêndice 37. Mortalidade embrionária de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	5,5103	0,9184	0,83	0,5497
Bloco	9	4,3180	0,4797	0,43	0,9114
Erro	64	70,6592	1,1040		
Total corrigido	79	80,8864			

CV, % = 245,0948

Apêndice 38. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 8 a 14 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0021	0,0003	0,81	0,5667
Bloco	9	0,0016	0,0001	0,42	0,9196
Erro	64	0,0277	0,0004		
Total corrigido	79	0,0316			

CV, % = 8,9735

Apêndice 39. Mortalidade embrionária de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	70,7010	11,7835	2,20	0,0543
Bloco	9	112,1483	12,4609	2,33	0,0246
Erro	64	342,8061	5,3563		
Total corrigido	79	527,9750			

CV, % = 61,0819

Apêndice 40. Mortalidade embrionária transformada para arco seno de 15 a 21 dias em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0199	0,0033	2,14	0,0608
Bloco	9	0,0313	0,0034	2,24	0,0300
Erro	64	0,0994	0,0015		
Total corrigido	79	0,1511			

CV, % = 13,4291

Apêndice 41. Quantidade de ovos podres em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	12,5080	2,0846	2,10	0,0657
Bloco	9	13,2944	1,4771	1,49	0,1723
Erro	64	63,6154	0,9939		
Total corrigido	79	88,5835			

CV, % = 170,0858

Apêndice 42. Quantidade de ovos podres transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0050	0,0008	2,09	0,0667
Bloco	9	0,0054	0,0006	1,49	0,1705
Erro	64	0,0258	0,0004		
Total corrigido	79	0,0359			

CV, % = 8,5305

Apêndice 43. Quantidade de pintos impróprios à criação em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	4,2354	0,7059	0,55	0,7679
Bloco	9	16,2408	1,8045	1,14	0,2041
Erro	64	82,1016	1,2828		
Total corrigido	79	102,8972			

CV, % = 243,8771

Apêndice 44. Quantidade de pintos impróprios à criação transformada para arco seno em ovos submetidos à desinfecção por diferentes princípios ativos antes da incubação no experimento 2.

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Pr>F
Tratamento	6	0,0015	0,0002	0,53	0,7808
Bloco	9	0,0061	0,0006	1,42	0,1992
Erro	64	0,0307	0,0004		
Total corrigido	79	0,0384			

CV, % = 9,4100

## **VITA**

Huldo Colares Cony, filho primogênito de José Berilo dos Santos Cony e Iara Terezinha Colares Cony nasceu aos 09 de abril de 1976, na cidade de Porto Alegre, RS. cursou o ensino fundamental na Escola Estadual de 1º grau Setembrina e o ensino médio na Escola Técnica de Agricultura Dr. João Simplicio Alves de Carvalho (ETA), ambas na cidade de Viamão, RS. No ano de 1996 entrou para o curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, na cidade de Uruguaiana, RS, obtendo o título de Médico Veterinário em dezembro do ano 2000. Neste mesmo mês foi contratado pela Avipal SA Avicultura e Agropecuária onde trabalhou como extensionista na área de frangos de corte até abril de 2003, quando assumiu o cargo de Médico Veterinário Sanitarista na área de incubatórios, onde permanece até hoje. Ingressou no Curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, RS na área de produção animal em março de 2005.