

ANA CAROLINA LOPES RUIVO

**A INFLUÊNCIA DE *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM*
NA QUALIDADE DO OVO**

Orientadora: Doutora Laurentina Pedroso

Co-Orientador: Mestre Ricardo Assunção

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2013

ANA CAROLINA LOPES RUIVO

**A INFLUÊNCIA DE *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM*
NA QUALIDADE DO OVO**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientadora: Doutora Laurentina Pedroso
Co-Orientador: Mestre Ricardo Assunção

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2013

AGRADECIMENTOS

À Orientadora, Professora Doutora Laurentina Pedroso, por ter, prontamente, aceite orientar este trabalho e pela sua dedicação à “nossa” Faculdade de Medicina Veterinária – ULHT.

Ao Co-Orientador, Dr. Ricardo Assunção, um especial agradecimento, pela sua ajuda científica, orientação e, acima de tudo, pela sua simpatia e amizade.

À responsável externa, Eng^a. Cecília Gaspar, pela simpatia, compreensão e orientação.

Ao Dr. Mauro Bragança, pelo auxílio imprescindível na análise dos dados e pela sua prestabilidade ímpar.

Agradeço também aos responsáveis das empresas *Derovo Group*, *Uniovo, Lda.* e *Rações Zêzere, S.A.*, por me terem permitido estagiar e, assim, poder realizar o meu estudo.

A todos os colaboradores das empresas, pelo profissionalismo, disponibilidade e amizade que demonstraram ao longo deste período de estágio, em especial à Eng^a. Ana Rita Lopes e ao Dr. Tiago Grosso, os meus sinceros agradecimentos.

A todas as outras pessoas que, pontual ou assiduamente, no decorrer desta caminhada, comigo partilharam os diversos estados de alma, normalmente, norteados pela habitual ansiedade que, teimosamente, insiste em não se dissipar, fica aqui registada a minha imensa gratidão.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo, estudaram-se 420 ovos provenientes de três bandos de poedeiras comerciais; dois bandos infetados (60 e 102 semanas de idade) e um bando controlo (32 semanas de idade), em três datas diferentes, num período compreendido entre 21.12.2011 e 10.01.2012. Após a recolha, os ovos foram analisados laboratorialmente para os seguintes parâmetros físico-químicos: forma do ovo, coloração da casca, peso do ovo, casca, albúmen e gema, espessura da casca, percentagem de casca, albúmen e gema, pH, °Brix, percentagem de extrato seco e viscosidade do albúmen e gema, coloração e presença de manchas na gema e relação gema : albúmen. Analisaram-se os parâmetros microbiológicos: pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, bem como parâmetros nutricionais – proteínas e lípidos – em laboratório externo de referência.

Os resultados obtidos permitem afirmar que *Mycoplasma gallisepticum* parece não afetar a qualidade do ovo, o mesmo não se verificando para o parâmetro forma do ovo. A presença de múltiplos fatores, tais como: idade do bando, stress, realização de muda, fatores genéticos e estados patológicos recentes, bem como reduzido tamanho da amostra para os parâmetros proteínas e lípidos, poderão ter contribuído para a inconclusividade dos resultados.

Este trabalho, pioneiro na avicultura intensiva de postura em Portugal, pretendeu contribuir para um maior conhecimento técnico-científico das repercussões que a infeção por *Mycoplasma gallisepticum* acarreta à qualidade do ovo.

Palavras chave: *Mycoplasma gallisepticum*, ovo, parâmetros físico-químicos, parâmetros microbiológicos, parâmetros nutricionais.

ABSTRACT

Aiming to evaluate the influence of *Mycoplasma gallisepticum* in egg quality, it was studied 420 eggs from three flocks of laying hens, two infected flocks (60 and 102 weeks of age) and a control group (32 weeks old), at three different dates in the period between 21.12.2011 and 10.01.2012. After collecting the eggs, these were analyzed in the laboratory for the following physical and chemical parameters: egg shape, shell color, egg, shell, albumen and yolk weight, shell, albumen and yolk percentage, shell thickness, pH, °Brix, solids percentage and viscosity of the albumen and yolk, staining and soiling of yolk and yolk : albumen ratio. It was also analyzed microbiological parameters, such as detection of *Salmonella* spp. and counting of *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*, as well as nutritional parameters - lipids and proteins - laboratory external reference.

The results have revealed that the *Mycoplasma gallisepticum* did not affect egg quality, however this does not apply to the egg shape parameter. Nevertheless, the presence of many factors, such as age of the flock, stress, performing changes, genetic factors and recent pathological conditions, as well as reduced sample size parameters for proteins and lipids, may have contributed to the inconclusiveness results.

Pioneer in intensive poultry farming laying in Portugal, this work intends to contribute to a better understanding of the technical and scientific implications that *Mycoplasma gallisepticum* causes in the egg quality.

Keywords: *Mycoplasma gallisepticum*, egg, physico-chemical parameters, microbiological parameters, nutritional parameters.

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C. | Antes de Cristo
Ac's | Anticorpos
ADN | Ácido desoxirribonucleico
API | *Analytical Profile Index*
AFLP | *Amplified Fragment Length Polymorphism*
ARP | Aglutinação Rápida em Placa
ART | Rinotraqueíte aviária
°C | Graus Celsius
Cap. | Capítulo
CE | Comissão Europeia
cf. | Confrontar
CO₂ | Dióxido de Carbono
CRD | *Chronic Respiratory Disease*
DGAV | Direção Geral de Alimentação e Veterinária
DOA | Doenças de origem alimentar
E. coli | *Escherichia coli*
ELISA | *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*
EDS 76 | *Egg Drop Syndrome*
FMG | Estirpe vicinal F de *Mycoplasma gallisepticum*
g | Grama
H₂CO₃ | Ácido Carbónico
HACCP | *Hazard Analysis and Critical Control Points*
HDL | *High Density Lipoprotein*
HORECA | Hotelaria, Restauração e Catering
IBV | Vírus da Bronquite Infeciosa
Ig | Imunoglobulina
INE | Instituto Nacional de Estatística
KJ | Kilojoule
Kcal | Kilocaloria
Kg | Kilograma
L | *Large*
LDL | *Low Density Lipoprotein*
M | *Medium*

mg | miligrama

MG | *Mycoplasma gallisepticum*

mL | mililitro

mm | milímetro

mPa | milipascal

nº | Número

n. d. | *no date*

PCR | *Polymerase Chain Reaction*

p. ex. | Por exemplo

OIE | Organização mundial de saúde animal

RAPD | *Random Amplified Polymorphie*

Reg. | Regulamento

S | *Small*

S6MG | Estirpe vicinal S6 de *Mycoplasma gallisepticum*

sec⁻¹ | Unidade por segundo

ts-11MG | Estirpe vicinal ts-11 de *Mycoplasma gallisepticum*

Ufc | Unidades formadoras de colónia

VLDL | *Very Low Density Lipoprotein*

XL | *Extra Large*

6/85MG | Estirpe vicinal 6/85 de *Mycoplasma gallisepticum*

µm | Micrómetro

% | Percentagem

≥ | Maior ou igual

< | Menor

≅ | Aproximado

± | Mais ou menos

ÍNDICE GERAL

BREVE DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO DO ESTÁGIO CURRICULAR.....	11
I. INTRODUÇÃO	13
1. CONTEXTUALIZAÇÃO	13
2. CHRONIC RESPIRATORY DISEASE - <i>MYCOPLASMA GALLISEPTICUM</i>	14
2.1. INTRODUÇÃO	14
2.2. ETIOLOGIA	15
2.3. EPIDEMIOLOGIA	15
2.4. TRANSMISSÃO	17
2.5. PATOGENIA	18
2.6. SINAIS CLÍNICOS	19
2.7. LESÕES	19
2.8. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS	20
2.9. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	20
2.10. PROFILAXIA	21
2.11. TRATAMENTO	22
3. PROCESSO DE FORMAÇÃO DO OVO	23
3.1. APARELHO REPRODUTOR DA GALINHA	23
3.2. FORMAÇÃO DO OVO	24
4. O OVO	25
4.1. INTRODUÇÃO	25
4.2. ESTRUTURA DO OVO	26
4.2.1. Gema	26
4.2.2. Albúmen	27
4.2.3. Casca	27
4.3. COMPOSIÇÃO DO OVO	28
4.3.1. Proteínas	29
4.3.2. Lípidos	29
4.3.3. Hidratos de carbono, vitaminas e minerais	30
5. PARÂMETROS DE QUALIDADE DO OVO	30
5.1. INTRODUÇÃO	30
5.2. QUALIDADE DO OVO	32
5.3. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	32
5.3.1. Peso do ovo e seus constituintes	32
5.3.2. Forma do ovo	33
5.3.3. Coloração da casca	34
5.3.4. Percentagem de ovo, casca, gema e albúmen	34
5.3.5. Espessura da casca	35
5.3.6. Câmara de ar	35
5.3.7. Coloração da gema	36
5.3.8. pH	36
5.3.9. Viscosidade	37
5.3.10. °Brix	40
5.3.11. Extrato seco	40
5.3.12. Relação gema : albúmen	41
5.4. PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS	41
5.4.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	41
5.4.1.1. <i>Salmonella</i> spp.	42
5.4.2. <i>Bacillus cereus</i>	43
5.4.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	44
5.5. PARÂMETROS NUTRICIONAIS	45

5.5.1. Proteínas e lípidos	45
6. QUALIDADE DO OVO	46
6.1. FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DO OVO	46
6.1.1. Fatores relacionados com a galinha	46
6.1.1.1. Genética – Estirpe das aves	46
6.1.1.2. Idade	47
6.1.1.3. Precocidade sexual	49
6.1.1.4. Aspectos fisiológicos	49
6.1.1.5. Muda induzida	49
6.1.2. Fatores ambientais	50
6.1.2.1. Altas temperaturas	50
6.1.2.2. Instalações	51
6.1.3. Stress	51
6.1.4. Fatores nutricionais	51
6.1.5. Fatores relacionados com a terapêutica	52
6.1.6. Estados patológicos	53
6.1.6.1. <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	55
6.1.7. Contaminação física	58
6.1.8. Alterações microbiológicas do ovo	58
6.1.8.1. <i>Bacillus cereus</i>	60
6.1.8.2. <i>Enterobacteriaceae</i>	60
6.1.8.3. <i>Salmonella</i> spp.	60
6.1.8.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
6.1.9. Alterações químicas	61
7. A INFLUÊNCIA DO MYCOPLASMA GALLISEPTICUM NA QUALIDADE DO OVO -	
OBJETIVOS	62
II. MATERIAL E MÉTODOS	64
1.1. DESCRIÇÃO DO ESTUDO	64
1.2. AMOSTRAGEM	64
1.2.1. Aves	64
1.2.1.1. Testes de diagnóstico	65
1.2.2. Ovos	65
1.2.2.1. Ensaios físico-químicos	66
1.2.2.2. Ensaios microbiológicos	68
1.2.2.3. Ensaios nutricionais	70
1.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	70
III. RESULTADOS	71
2.1. AVALIAÇÃO DE VARIÁVEIS NUMÉRICAS	71
2.1.1. Características físicas externas no ovo	71
2.1.2. Características físico-químicas do albúmen	71
2.1.3. Características físico-químicas da gema	72
2.1.4. Parâmetros nutricionais	73
2.2. AVALIAÇÃO DE VARIÁVEIS CATEGÓRICAS	74
2.2.1. <i>Salmonella</i> spp. versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	74
2.2.2. <i>Enterobacteriaceae</i> versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	74
2.2.3. <i>B. cereus</i> versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	75
2.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	75
2.2.5. Forma do Ovo versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	75
2.2.6. Coloração da casca versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	76
2.2.7. Manchas na gema versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	76
IV. DISCUSSÃO	77

V. CONCLUSÃO	90
4.2. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	91
4.3. ALGUMAS SUGESTÕES	91
4.4. ESTUDOS FUTUROS.....	92
VI. BIBLIOGRAFIA	94
APÊNDICES.....	I
ANEXOS	I

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Formação do ovo nos diversos segmentos do oviduto.....	25
Tabela 2. Composição do albúmen, gema e ovo inteiro.....	28
Tabela 3. Resultados dos parâmetros físicos dos ovos analisados.....	29
Tabela 4. Critérios microbiológicos aplicados aos ovoprodutos, segundo Reg. (CE) nº 1441/2007 – <i>Enterobacteriaceae</i>	42
Tabela 5. Critérios microbiológicos aplicados aos ovoprodutos, segundo Reg. (CE) nº 1441/2007 – <i>Salmonella</i>	43
Tabela 6. Plano de recolha de ovos.....	65
Tabela 7. Resultados dos parâmetros físicos dos ovos analisados.....	71
Tabela 8. Resultados dos parâmetros físico-químicos do albúmen dos ovos analisados.....	72
Tabela 9. Resultados dos parâmetros físico-químicos da gema dos ovos analisados.....	73
Tabela 10. Resultados dos parâmetros nutricionais dos ovos analisados.....	74
Tabela 11. <i>Enterobacteriaceae</i> versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	74
Tabela 12. <i>Bacillus cereus</i> versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	75
Tabela 13. Forma do ovo versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	75
Tabela 14. Coloração da casca versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	76
Tabela 15. Manchas na gema versus <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	76
Tabela 16. Resultados ⁽¹⁾	II
Tabela 17. Resultados ⁽²⁾	IV
Tabela 18. Resultados ⁽³⁾	VI
Tabela 19. Quadro resumo de protocolos microbiológicos.....	XVII

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição mundial de <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	16
Figura 2. Representação esquemática do aparelho reprodutor da galinha.....	24
Figura 3. Representação esquemática da estrutura do ovo.....	26
Figura 4. Representação esquemática das formas do ovo.....	34
Figura 5. Metodologia aplicada na realização dos ensaios físico-químicos (Parte 1).....	66
Figura 6. Avaliação da transparência do albúmen por método visual e coloração da gema, com Escala de Roche®.....	67
Figura 7. Metodologia aplicada na realização dos ensaios físico-químicos (Parte 2).....	67
Figura 8. Preparação das cascas para posterior medição da espessura, por intermédio do micrómetro digital quantum Maschinen Germany®.....	68
Figura 9. Metodologia aplicada na realização dos ensaios microbiológicos.....	69
Figura 10. Quebra do ovo para dentro do saco do Stomacher.....	69
Figura 11. Metodologia aplicada na realização dos ensaios nutricionais.....	70
Figura 12. Câmara de fluxo laminar (Faster® Two-30).....	XVIII
Figura 13. Pipetador automático (IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort).....	XVIII
Figura 14. Agitador de tubos (Busen® Série AGT-9).....	XIX
Figura 15. Stomacher (Seward® 400 circulator).....	XIX
Figura 16. Estufa (WTC® binder).....	XIX
Figura 17. Estufa (Selecta®).....	XX
Figura 18. Estufa (WTC binder®).....	XX
Figura 19. Leque colorimétrico (Escala DSM - Roche®).....	XX
Figura 20. Micrómetro digital (quantum® Maschinen Germany).....	XXI
Figura 21. Potenciómetro (HANNA Instruments® HI221).....	XXI
Figura 22. Mini-Vidas (Biomérieux® Mini Vidas Automated Immunoassay Analyzer).....	XXI
Figura 23. Viscosímetro de Brookfield (Thermo Haake® Visco Tester 6 ^L).....	XXII
Figura 24. Medidor de extracto seco (Mettler Toledo® – HB43 Halogen Moisture Analyzer).....	XXII
Figura 25. Refractómetro (ATAGO® digital hand-held “Pocket” refractometer PAL- α)..	XXIII
Figura 26. Balança analítica (AND® GF-3000).....	XXIII

BREVE DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO DO ESTÁGIO CURRICULAR

O Mestrado Integrado em Medicina Veterinária tem a duração de onze semestres, visando, o último, a realização de um estágio curricular, numa área à escolha do mestrando, ao qual se segue a redação de uma dissertação.

O estágio curricular que serviu de base à realização desta Dissertação teve início a 17 de outubro de 2011 nas empresas *Uniovo, Lda.* e *Rações Zêzere, S.A.*, em Ferreira do Zêzere, durante 33 dias, seguindo-se a empresa *Derovo*, durante 64 dias.

A coordenação do estágio esteve sob a alçada da Eng^a. Cecília Gaspar, diretora do departamento da qualidade e inovação na empresa *Derovo*, como orientadora, Doutora Laurentina Pedroso, diretora do curso de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, e como co-orientador, Mestre Ricardo Assunção.

Uniovo, Lda.

O estágio realizado na empresa *Uniovo, Lda.* foi acompanhado pela Eng^a. Ana Rita Lopes, responsável pelo departamento da qualidade desta empresa.

As atividades desenvolvidas foram fundamentais para uma melhor perceção do quotidiano de uma empresa de avicultura de postura. Foi acompanhado o manejo avícola e foram desenvolvidas inúmeras atividades associadas a este setor, como: procedimentos ligados ao vazio sanitário dos pavilhões, receção de pintas do dia (as futuras poedeiras), acompanhamento de controlos a nível do bem-estar animal, alimentação dos animais, bem como corte de bicos e remoção de cadáveres. Foram ainda integradas atividades relacionadas com os programas de iluminação e temperatura dos pavilhões de recria e produção, assim como atividades relacionadas com o centro de classificação de ovos, sobretudo seleção/ inspeção de ovos ao ovoscópio e atualização do plano de pré-requisitos e *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP) da empresa.

Durante o estágio, houve uma sensibilização para a legislação em vigor no setor avícola, enfatizando o Plano Nacional de Controlo de *Salmonella* e o Decreto-Lei 72-F/2003 de 14 de abril.

Rações Zêzere, S.A.

Foram acompanhadas as atividades do Médico Veterinário responsável de produção do Grupo Zêzere e diretor de qualidade da fábrica de rações, Dr. Tiago Grosso, nomeadamente:

- Processos de fabrico inerentes à produção de alimento composto para animais, bem como com a sua formulação, num programa de nutrição desenhado para o efeito;
- Acompanhamento do plano HACCP da empresa;
- Atividades médico-veterinárias relacionadas com o diagnóstico e resolução de casos clínicos presentes nas explorações, e ainda, na área da medicina preventiva. De entre os estados patológicos acompanhados durante o período de estágio, salientam-se, como os mais frequentes: Colibacilose, Coccidiose, Micoplasmose, Metapneumovírus do peru (TRT).

Derovo Group

Na empresa *Derovo*, sediada em Pombal, foram desenvolvidas competências na área alimentar, nomeadamente no acompanhamento do plano de pré-requisitos do HACCP, sistema HACCP implementado, auditorias da qualidade, legislação em vigor no setor, bem como atividades laboratoriais de rotina e ensaios experimentais de melhoramento de clara reidratada. Realizaram-se visitas às empresas *Doce Reina*, *Sobremesas Lda.* e *Gemadouro, produtos de ovos, S.A.*, tendo sido ainda possível assistir a uma sessão de esclarecimento da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), sobre a entrada em vigor do Decreto-Lei 72-F/2003 de 14 de abril.

Além das atividades desenvolvidas, muito do tempo foi dedicado à pesquisa bibliográfica para o trabalho final, recolha de ovos nos pavilhões de postura e realização de ensaios laboratoriais no laboratório *Derovo*, tendo os resultados obtidos, constituído o motor desta Dissertação de Mestrado.

I. INTRODUÇÃO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

As opiniões dividem-se quanto ao local de início da domesticação dos galináceos do género *Gallus*. Segundo Pessoa (2005), para a maioria dos autores, a domesticação iniciou-se na região do Vale do Indus, no atual Paquistão, no ano 2000 a.C., tendo-se seguido a expansão até à China, onde se desenvolveu, passando ao Japão e depois à Europa, através da Rússia, e expandindo-se pela Mesopotâmia até à Grécia e Norte de África. As galinhas, só mais tarde, atingiram a Itália. Daqui, os romanos tê-las-ão levado para o oeste da Europa, chegando, assim, ao nosso atual território, de onde, posteriormente, se difundiu pelo mundo.

Da luta de galos, à beleza da plumagem, da excentricidade das formas, à comercialização de aves, estes foram muitos dos fins que construíram um longo percurso através dos tempos. Os galináceos chegaram, inclusivamente, a ser encarados como máquinas capazes de gerar lucro com a produção de ovos, carne, penas e estrume (Pessoa, 2005).

A Holanda e Dinamarca foram dos países da Europa que maior atenção dedicaram à avicultura, transformando-se em grandes produtores e exportadores de ovos. Relativamente a Portugal, segundo Pessoa (2005), a avicultura manteve-se empírica, artesanal e predominantemente rural, até à década de 50. A mortífera doença de Newcastle, que assolou o nosso país em 1947, veio dar um importante contributo para o avanço da avicultura, tornando possível a instalação de pequenos aviários destinados à produção de ovos. No que diz respeito à investigação científica, o mesmo autor salienta a importância da descoberta de vacinas e fármacos que combatiam as doenças que iam surgindo, evitando, assim, novas catástrofes.

Atualmente, num conceito de avicultura industrial, é imprescindível o cumprimento de boas práticas de higiene e manejo do ovo, não descurando toda a sanidade animal, sob supervisão do médico veterinário responsável. Tais medidas constituem o primeiro passo para a garantia de qualidade e segurança alimentar dos géneros alimentícios provenientes desta indústria (Pessoa, 2005).

Em Portugal, segundo dados do Instituto Nacional de Estatística (INE), atualizados a 11 de junho de 2012, o consumo de ovos *per capita*, respeitante ao ano de 2011, foi de 8,6 Kg/habitante. Segundo a mesma fonte, verificou-se um decréscimo no consumo relativamente ao ano de 2010, onde o consumo de ovos *per capita* rondou os 9,3 Kg/habitante (INE, 2012a).

Durante os anos 2010 e 2011, o setor avícola português produziu cerca de 131.123 e 122.815 toneladas de ovos, respetivamente, segundo dados do INE (INE, 2012b).

Segundo Jorge *et al.* (2004), os principais destinos dos ovos em Portugal são as grandes superfícies comerciais, seguidas pelo canal HORECA (Hotelaria, Restauração e Catering) e, por último, pela indústria de ovoprodutos. Apesar de, os autores não disporem de dados oficiais, referem que: 68% dos ovos produzidos destinam-se a grandes superfícies comerciais e canal HORECA, 30% à indústria de ovoprodutos, e os restantes 2% ao autoconsumo.

2. CHRONIC RESPIRATORY DISEASE - *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM*

2.1. INTRODUÇÃO

A infeção por *Mycoplasma gallisepticum* (MG) é comumente conhecida por Chronic Respiratory Disease (CRD), no caso de galinhas e frangos de carne, e por sinusite infecciosa, em perús (Herenda & Franco, 1996; Kleven, 2003; Ley, 2003; Suñé, 2006; Ley, 2012). Verifica-se, porém, que não é apenas MG que pode estar envolvido na etiologia da doença CRD, mas também agentes patogénios respiratórios secundários, tais como: Coronavírus (Vírus da Bronquite Infecciosa [IBV]), Pneumovírus (Vírus da Rinotraqueíte aviária [ART]) e *Escherichia coli* (*E. coli*) (Ley, 2003; Kleven & Bradbury, 2008).

A primeira descrição exata de sinusite infecciosa dos perús foi realizada por Dodd, ocorreu em Inglaterra, em 1905, e denominou-se “Pneumoenterite Epizootica”. Contudo, foi apenas em 1960 que Edward e Kanarek atribuíram a designação de *Mycoplasma gallisepticum* ao serótipo, até então designado de serótipo A, o primeiro a ser classificado e diferenciado de outros mycoplasmas aviários (Ley, 2003).

A micoplasmose aviária é causada por inúmeras espécies patogénicas de *Mycoplasma*, das quais se destacam *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*, as mais preponderantes e únicas listadas pela World Organisation for Animal Health (OIE) (Kleven & Bradbury, 2008). Ley (2003), Suñé (2006) e The Center for Food Security & Public Health (2007) referem que dentro das micoplasmoses, a infeção por *Mycoplasma gallisepticum* é aquela que causa perdas economicamente mais significativas, justificadas pelas quebras da produção de carne e ovos.

2.2. ETIOLOGIA

Mycoplasma gallisepticum é uma espécie pertencente ao género *Mycoplasma*, família *Mycoplasmataceae* e classe *Mollicutes* (Ley, 2003; Suñé, 2006). São procariotas de aproximadamente 0,25-0,5µm de tamanho, aparência cocóide e, uma vez corados segundo a coloração de Gram, são Gram-negativos (Ley, 2003). Não apresentam parede, mas possuem três camadas de membrana celular (Gerlach, 1994), sendo esta constituída por 2/3 de proteínas e 1/3 de lípidos (Ley, 2003).

Sabe-se que algumas espécies do Género *Mycoplasma* apresentam estruturas com capacidade antigénica, cujas propriedades são fundamentais na patogenia e resposta imunitária à infeção. Destacam-se a adesina e a hemaglutinina, sendo que é graças a esta última que ocorre hemaglutinação de eritrócitos em galinhas e perús (Kleven, 2003; Ley, 2003; Suñé, 2006). Para além das propriedades já referidas, *Mycoplasma gallisepticum* possui ainda capacidade para fermentar glicose e maltose, e para produção de ácido, mas não de gás (Ley, 2003).

A multiplicação do agente ocorre, essencialmente, e de acordo com Gerlach (1994) e Ley (2003), por fissão binária, replicando de igual forma o seu ADN. Pode multiplicar-se em meios de cultura artificiais, contudo, estes deverão ser enriquecidos com nutrientes, como soro de porco, cavalo ou ave (10-15%), glicose e levedura – Meio Frey (Ley, 2003; Suñé, 2006). É necessário que o meio de cultura seja seletivo, permitindo a inibição do crescimento de outros agentes bacterianos e fúngicos. Para tal, o meio de cultura para isolamento de MG deve possuir acetato de tálio em baixa concentração, e penicilina, aos quais *Mycoplasma gallisepticum* apresenta resistência (Ley, 2003; Suñé, 2006; Ley, 2012). São adicionados indicadores de pH aos caldos de cultura, como o vermelho de fenol, para que *Mycoplasma*, através da sua ação fermentadora de glicose, baixe o pH, verificando-se uma mudança de cor, de vermelho para amarelo alaranjado, determinando-se, assim, a presença do agente. *Mycoplasma gallisepticum* tem, como condições ótimas de crescimento, um pH de 7,8 e 37°C de temperatura de incubação, durante 3 a 7 dias (Ley, 2003; Suñé, 2006).

Kleven (2003) reconhece a capacidade de *Mycoplasma gallisepticum* entrar no meio intracelular das células do hospedeiro.

2.3. EPIDEMIOLOGIA

Mycoplasma gallisepticum é um agente que apresenta uma distribuição mundial (cf. Figura 1), e principalmente associado à avicultura industrial (Gerlach, 1994; Ley, 2003; The Center for Food Security & Public Health, 2007; Butcher & Halabi, 2010; Ley, 2012).

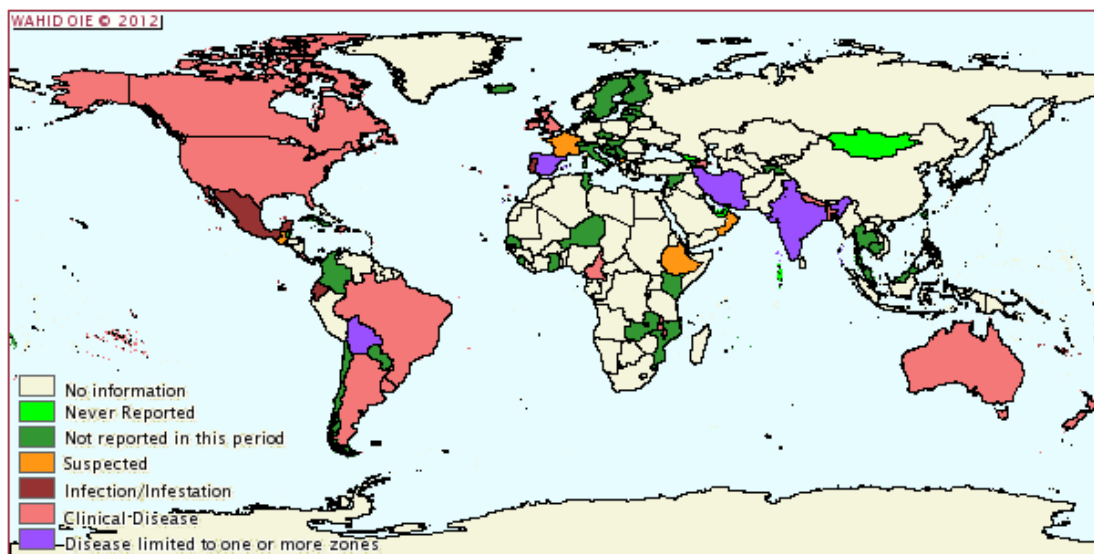


Figura 1. Distribuição mundial de *Mycoplasma gallisepticum*. (Adaptado de World Organisation for Animal Health [2008]).

Este agente infeta exclusivamente aves, não constituindo risco para a saúde pública (Ley, 2003; The Center for Food Security & Public Health, 2007). As galinhas e os perús são os mais frequentemente infetados com *Mycoplasma gallisepticum*. Contudo, outras espécies, como perdizes e faisões, também poderão sê-lo (Ley, 2003; Suñé, 2006). A infecção pode, igualmente, ser observada em pavões, pombos, patos, gansos e psitacídeos, verificando-se, durante o inverno, a ocorrência de surtos mais graves de doença (Ley, 2003, 2012).

Segundo Buim *et al.* (2009), a micoplasmose não apresenta uma transmissão horizontal tão acentuada quando comparada com infecção por outros agentes, nomeadamente o vírus da Influenza ou vírus de Newcastle.

A taxa de morbilidade da micoplasmose situa-se entre os 80 e os 100%, e a taxa de mortalidade, significativamente mais reduzida, assume valores de 5 a 20%. Não obstante, em casos onde se verifica infecção secundária por *E. coli*, a taxa de mortalidade poderá aumentar (Suñé, 2006; The Center for Food Security & Public Health, 2007). No caso da infecção secundária ser por Coronavírus, verifica-se um aumento da gravidade e da duração da patologia (Ley, 2003).

Segundo Ley (2003), a suscetibilidade das aves para contraírem esta doença não é condicionada pela idade. Todavia, aves muito jovens raramente são infetadas em contexto natural.

Para Ley (2012) e Suñé (2006), a virulência do agente é ditada pelas diferentes características genotípicas e fenotípicas da estirpe, estando entre as mais conhecidas, a S6, A5969 e R.

2.4. TRANSMISSÃO

No que se refere à transmissão de *Mycoplasma gallisepticum*, consideram-se dois tipos de transmissão, a vertical e a horizontal. A transmissão vertical caracteriza-se pela transmissão do agente etiológico através do ovo fertilizado e infetado pela fêmea ou macho (Gerlach, 1994; Ley, 2003; Suñé, 2006). A transmissão horizontal, por sua vez, segundo Ley (2003), Suñé (2006) e Butcher (2009), ocorre através do contato direto ou indireto entre aves infetadas, nas fases clínica ou sub-clínica, ou através de fomites, tais como: material infetado (poeiras, gotas, penas) e vetores biológicos (pessoas e animais). Também as descargas nasais, espirros e tosse, constituem algumas das formas através das quais os animais infetados disseminam o agente, levando a que as outras aves sejam infetadas através de aerossóis, via trato respiratório superior e conjuntivas (Ley, 2003; Suñé, 2006).

Nos casos em que ocorre transmissão vertical, a maior percentagem de ovos infetados ocorre na fase aguda da doença (Gerlach, 1994; Ley, 2003; Suñé, 2006), ao passo que a taxa de transmissão através do ovo reduz significativamente, caso as aves tenham sido infetadas antes do início da produção, ou quando a patologia se encontra na fase crónica (Ley, 2003, 2012). Nestes casos, verifica-se uma taxa de infeção, através do ovo, inferior a 3% (Butcher & Halabi, 2010).

Uma vez infetada *in ovo*, tal como afirmam Ley (2012) e Suñé (2006), a pinta poderá não manifestar a doença, nem excretar este agente durante meses. Todavia, quando o bando é submetido a fatores de stress, a transmissão horizontal, via aerossóis, ocorre rapidamente, espalhando a doença por todo o bando (The Center for Food Security & Public Health, 2007; Butcher, 2009).

Os fatores de stress, muitas vezes desencadeados pelas más práticas de manejo, levam a que bandos de galinhas desenvolvam a infeção clínica, próxima do início da produção (Ley, 2003). O mesmo autor (2003, 2012) salienta as práticas inadequadas por parte do pessoal, como deslocações de pavilhões contaminados para indemnes, medidas de biossegurança inadequadas e a entrada de novas aves de idades diferentes e doentes, como as potenciais fontes de contaminação.

Alguns estudos revelam que o agente *Mycoplasma gallisepticum* pode sobreviver durante 4 dias em algodão, 3 dias em pêlo e 24 horas na mucosa nasal humana (Suñé, 2006). Este agente permanece viável em fezes de galinha durante 1 a 3 dias a 20°C, 18

semanas a 37°C, ou 6 semanas a 20°C na gema do ovo, 3 dias em cabelo humano, e 2 a 4 dias em penas (Ley, 2003).

O período de incubação pode oscilar entre 6 a 21 dias, e o aparecimento dos sinais clínicos depende de alguns fatores, tais como: virulência da estirpe, condições ambientais, stress, estado sanitário das aves e doenças concomitantes (Gerlach, 1994; Ley, 2003; Suñé, 2006; The Center for Food Security & Public Health, 2007).

2.5. PATOGENIA

Tal como já foi referido (cf. Cap. 2, 2.4.), acerca da transmissão horizontal, as principais portas de entrada de *Mycoplasma gallisepticum* são as vias áreas superiores e a conjuntiva (Ley, 2003). O epitélio das vias aéreas superiores é mais suscetível a infeção. Quando a patologia se encontra na fase aguda é possível que as vias aéreas inferiores apresentem, igualmente, lesões (Ley, 2012).

De forma resumida, a patogenia associada a *Mycoplasma gallisepticum* caracteriza-se, numa primeira fase, e após entrada do agente, pela sua colonização, através de adesinas da membrana celular do microrganismo. Estas ligam-se aos recetores epiteliais do hospedeiro, facilitando o processo de colonização e infeção, constituindo, por conseguinte, um importante fator de virulência. De seguida, verificam-se alterações à superfície do epitélio traqueal, as quais podem pôr em causa a integridade da membrana e a função da célula do hospedeiro (Gerlach, 1994; Ley, 2003), uma vez que ocorre descamação do epitélio ciliar e não ciliar (Ley, 2003). Nestas circunstâncias, poder-se-á verificar ausência de resposta à terapêutica, e a não ativação dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Gerlach (1994) e Ley (2003) advertem para a possibilidade de não ocorrer produção de anti-corpos. Secundariamente, afirma Ley (2003), poder-se-á instalar a fase crónica da patologia, em que o antigénio se multiplica e transpõe a barreira respiratória, causando infeções sistémicas. Segundo Kleven (2008_b) e Ley (2012), nesta fase da doença são comuns infeções secundárias por *E.coli*, que poderão evoluir para quadros de colibacilose. A infeção dos sacos aéreos, por sua vez, e por contiguidade, poderá provocar infeção do ovário e mucosa do oviduto (Gerlach, 1994; Ley, 2003; Butcher & Halabi, 2010).

O envolvimento de diversos fatores, refere Gerlach (1994), manifesta-se nos bandos, através de uma grande variedade de sinais clínicos e alterações patológicas. Uma vez expostas ao *Mycoplasma gallisepticum*, as aves ficarão permanentemente infetadas (Ley, 2012).

2.6. SINAIS CLÍNICOS

A infecção por *Mycoplasma gallisepticum* varia de assintomática a severa, dependendo de diferentes fatores, nomeadamente estirpe infetante (The Center for Food Security & Public Health, 2007).

Devido ao tropismo do MG para o aparelho respiratório, os sinais clínicos que caracterizam a patologia são: tosse, espirros, descargas nasais e os estertores, verificando-se, ainda, diversos graus de dispneia em galinhas. Sinais como inapetência e perda de peso resultam em maiores índices de conversão (Ley, 2003; Suñé, 2006; Ley, 2012).

Segundo Ley (2003), foram identificados, no Japão, casos de queratoconjuntivite seca em galinhas poedeiras comerciais, infetadas com MG, com idades próximas dos 30 dias.

As aves poedeiras ou reprodutoras, infetadas em período de postura, apresentam uma quebra na produção de ovos (Ley, 2003; Suñé, 2006; Butcher & Halabi, 2010), podendo, inclusivamente, não alcançar o pico de produção. A percentagem de postura do bando, ao longo da vida, poderá também ser inferior ao *Standard* da estirpe (Butcher & Halabi, 2010; Ley, 2012). Os bandos que sejam infetados, ainda jovens, de acordo com Ley (2003), poderão não manifestar sinais clínicos, contudo, serem positivos serologicamente.

2.7. LESÕES

Macroscopicamente, as lesões observadas são inflamações da mucosa com presença de exsudado catarral das fossas nasais, traqueia e brônquios. Verifica-se opacidade dos sacos aéreos com presença de espuma e, em casos de maior gravidade, aerossaculite fibrinopurulenta (Ley, 2003; Suñé, 2006; Ley, 2012).

Gerlach (1994) referencia a presença de conjuntivite serofibrinosa, rinite, sinusite, traqueíte e broncopneumonia focal. Refere ainda que a cavidade nasal e seios infraorbitários exibem, frequentemente, exsudado seroso e, mais tarde, fibrinoso unilateral.

Segundo Ley (2003), as poedeiras infetadas por MG, com queratoconjuntivite associada, apresentam edema palpebral, edema subcutâneo da face e opacidade da córnea ocasional. Sempre que esteja presente infecção secundária por *E. coli*, ao exame *post mortem*, verifica-se traqueíte catarral, exsudado caseoso amarelado nos sacos aéreos, adesões pericárdicas e perihepatite fibrinosa (Herenda & Franco, 1996).

Na fase crónica da micoplasmose, observam-se depósitos caseosos amarelo esverdeado, nos sacos aéreos abdominais (Herenda & Franco, 1996) e salpingites com exsudado espumoso, o que afeta, negativamente, a produção de ovos (Ley, 2003; Suñé, 2006).

2.8. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

As infeções por MG devem ser diferenciadas de outros estados patológicos que se manifestam por sintomatologia respiratória, como é o caso da doença de Newcastle, Bronquite Infeciosa, Colibacilose e Coriza (Ley, 2003; Suñé, 2006; The Center for Food Security & Public Health, 2007). Herenda & Franco (1996) e Butcher & Halabi (2010) sugerem, ainda, como diagnósticos diferenciais de MG, a Influenza Aviária, Criptosporidiose e Cólera Aviária.

A morte embrionária tardia e consequentes lesões observadas, segundo Gerlach (1994) e The Center for Food Security & Public Health (2007), são sugestivas de micoplasmose.

2.9. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Sendo os sinais e lesões causadas pelo *Mycoplasma gallisepticum* não patognomónicas, Suñé (2006) adverte que é fundamental recorrer a métodos complementares de diagnóstico para confirmação do diagnóstico clínico. Segundo este autor, existem dois tipos de métodos complementares de diagnóstico: os diretos e os indiretos. Na primeira situação, confirma-se a presença do agente etiológico, recorrendo a técnicas de isolamento e identificação, como é o caso das técnicas de cultura microbiológica. Hoje, estas técnicas deram lugar a técnicas de biologia molecular, tais como Polymerase Chain Reaction (PCR) e Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) e Sequenciação, quando se pretende identificar a estirpe.

A técnica de PCR é vista como um excelente método de diagnóstico, devido à sua sensibilidade e especificidade (Ley, 2003; Kleven, 2004; Buim *et al.*, 2009; Butcher & Halabi, 2010). A sensibilidade observada neste teste é importante para a deteção do agente patogénico em amostras biológicas recolhidas de animais assintomáticos ou que se encontrem sob efeito de antibioterapia. É ainda possível detetar o agente patogénico antes da resposta imunitária do hospedeiro, ou num hospedeiro cujo sistema imunitário se encontre deprimido, verificando-se, assim, vantagens relativamente aos testes serológicos (Buim *et al.*, 2009).

No que diz respeito aos métodos de diagnóstico complementares indiretos, estes têm por base a serologia (Suñé, 2006). É prática corrente em avicultura industrial recorrer-se a este tipo de métodos, com a finalidade de monitorizar o efetivo em programas de controlo de *Mycoplasma gallisepticum*, de forma a confirmar uma suspeita de infeção (Ley, 2003). Estes apresentam, todavia, como desvantagem, a existência de reações cruzadas,

levando a falsos positivos. Falsos negativos poderão também ocorrer, caso o agente se encontre presente à superfície das mucosas, não estimulando normalmente a produção de anti-corpos (Ac's) (Gerlach, 1994).

A Aglutinação Rápida em Placa (ARP), segundo Gerlach (1994), Suñé (2006) e Butcher & Halabi (2010), é outra técnica de diagnóstico à qual se recorre com muita frequência. Não obstante, é um teste de alta sensibilidade, mas especificidade reduzida (possibilidade de ocorrência de falsos positivos), detetando, essencialmente, imunoglobulina (Ig) M, a partir dos 5 a 7 dias após a infeção.

Outra técnica indireta importante denomina-se ELISA, através da qual é possível detetar IgG cerca de 2 semanas após a infeção, a partir de uma amostra biológica, soro ou gema de ovo (Ley, 2003; Suñé, 2006). Trata-se de um teste sensível e específico, ainda que menos sensível que o teste de ARP (Butcher & Halabi, 2010). De acordo com Suñé (2006), o número de soros a recolher, em explorações com mais de 10 000 aves, para detetar uma infeção com um nível de prevalência de 5% e um grau de confiança de 95%, é de 60 amostras.

Kleven (2004) e Ley (2012) afirmam que os diagnósticos, a partir de ARP e ELISA, são os mais utilizados, porém devem ser confirmados por isolamento e identificação por PCR, uma vez que as aves podem ser infetadas com diferentes estirpes de *Mycoplasma*.

Em avicultura, é comum recolherem-se amostras de animais vivos, cadáveres frescos ou cadáveres congelados imediatamente após a sua morte. Em animais vivos, recorre-se a zaragatoas, com a finalidade de recolher secreções do trato respiratório, sendo o órgão mais comum, a traqueia (The Center for Food Security & Public Health, 2007; Butcher & Halabi 2010). Durante a necropsia, a traqueia, os sacos aéreos, a fenda palatina e os seios nasais, constituem os órgãos de eleição para isolamento e deteção do agente (Suñé, 2006). Estas amostras deverão ser congeladas até chegarem ao laboratório (Herenda & Franco, 1996; Ley, 2012).

2.10. PROFILAXIA

Para se manter um bando livre de *Mycoplasma gallisepticum*, ou outro qualquer agente etiológico, é de extrema importância, em avicultura industrial, a aplicação de medidas de biossegurança e boas práticas de manejo e higiene, a fim de reduzir, ao máximo, o risco de entrada de patógenos numa exploração (Suñé, 2006). Manter um bando de reprodutoras livre de MG, constitui para Ley (2003) e Suñé (2006), uma medida importante a ter em conta, de forma a impedir a disseminação da patologia para a descendência. No caso de complexos multi-idades de galinhas poedeiras, o risco de

contaminação é maior. Nestes casos, é necessário certificar a origem e o estado sanitário do novo bando a introduzir, confirmando que se encontra livre de MG (Herenda & Franco, 1996; Suñé, 2006; Ley, 2012). Tal facto reforça as medidas de manejo tomadas nos pavilhões industriais, nos quais apenas deverá existir um lote com uma só idade, sistema *tudo dentro – tudo fora* (Butcher & Halabi, 2010).

Atualmente, encontram-se disponíveis, no mercado, vacinas vivas e inativadas, sendo que estas últimas são geralmente bacterianas oleosas (Suñé, 2006). O autor Kleven (2004) afirma que as vacinas bacterianas protegem contra aerossaculite e perdas na produção de ovos, mas conferem pouca proteção contra a colonização do MG de campo, sendo, por isso, de pouca utilidade em programas de erradicação. Alguns estudos revelam que a diminuição da percentagem de postura, em aves vacinadas, não é tão significativa, comparativamente com bandos infetados (Suñé, 2006; Butcher & Halabi, 2010).

Segundo Butcher (2009), estão disponíveis vacinas vivas, produzidas a partir de diferentes estirpes de MG (as mais utilizadas em avicultura de postura). A primeira vacina desenvolvida foi a partir da estirpe F, surgindo, mais tarde, vacinas com as estirpes 6/85 e ts-11 (Kleven, 2004; Suñé, 2006). Por outro lado, a maior preocupação inerente às vacinas vivas é a sua segurança (Ley, 2003). Estas têm sido aplicadas em poedeiras comerciais, com resultados favoráveis (Kleven, 2004). Uma vez vacinadas com FMG, as aves produzirão mais ovos, quando comparadas com aves infetadas com estirpes de campo, mas não alcançarão a percentagem de postura de um bando indemne (Burnham *et al.*, 2002a). Butcher & Halabi (2010) referem, ainda, algumas vantagens das vacinas vivas, tais como: menores perdas na produção de ovos, diminuição dos custos associados à terapêutica, melhoria no tamanho do ovo e diminuição da transmissão vertical.

2.11. TRATAMENTO

Mycoplasma gallisepticum é sensível a alguns antibióticos, são eles: a classe dos macrólidos (por exemplo (p. ex.): tilosina, tilmicosina, eritromicina), fluoroquinolonas (p. ex.: enrofloxacina), tetraciclina (p. ex.: doxiciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina) e tiamulina (Gerlach, 1994; Ley, 2003; Suñé, 2006; Gerchman *et al.*, 2011; Ley, 2012). Segundo Gerlach (1994), a espectinomicina pode ser administrada em combinado com clindamicina e pleuromutilina. A enrofloxacina tem sido administrada no tratamento da micoplasmose em avicultura, porém, estudos indicam que, em outras espécies, o tratamento não é eficaz, potenciando a ocorrência de resistências antimicrobianas. A antibioterapia é geralmente administrada na ração ou na água de bebida, durante 5 a 7 dias consecutivos (Gerchman *et al.*, 2011; Ley, 2012).

Num bando infetado por *Mycoplasma gallisepticum*, quando aplicada antibioterapia adequada, verifica-se a redução do nível de contaminação (diminuindo a quantidade de MG no trato respiratório), dos sinais clínicos, bem como das lesões. Há ainda uma melhoria na recuperação da produção de ovos, mas Gerlach (1994), Ley (2003) e Suñé (2006) advertem que, em nenhum caso de tratamento com antibiótico, a infeção por MG será completamente eliminada. Uma vez infetada por *Mycoplasma gallisepticum*, a ave permanecerá infetada de forma crónica (Vance *et al.*, 2008a).

Ainda no âmbito do tratamento desta doença, o médico veterinário deverá ter em conta a Legislação em vigor – Reg. (UE) nº 37/2010 da Comissão de 22 de dezembro de 2009 –, relativo a substâncias farmacologicamente ativas e respetiva classificação, no que respeita aos limites máximos de resíduos nos alimentos de origem animal.

3. PROCESSO DE FORMAÇÃO DO OVO

3.1. APARELHO REPRODUTOR DA GALINHA

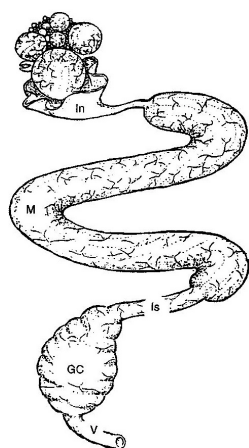
Uma galinha atinge a maturidade sexual por volta das 20 semanas de idade, não obstante, tal como refere Lajusticia (2002), existem alguns fatores que influenciam este processo de maturação, nomeadamente a nutrição, o ambiente (fotoperíodo) e a genética da própria estirpe.

Uma galinha produz, em média, um ovo de 60g a cada 24 - 26 horas (Okubo *et al.*, 1997; Lajusticia, 2002, 2010). Para a formação de uma gema e de um albúmen de elevada qualidade, refere Lajusticia (2010), é necessário que estes constituintes se encontrem protegidos por diferentes membranas e pela casca, e é imperativo que todos os mecanismos que interferem na sua formação estejam ativos e atuem em sinergia. Segundo a mesma autora, qualquer alteração, que ocorra durante todo o processo de formação, dará lugar a anomalias e, inevitavelmente, à diminuição na qualidade do ovo (Lajusticia, 2002).

Na maioria das aves, as fêmeas apenas possuem ovário e oviduto esquerdos desenvolvidos (Aughey & Frye, 2001; Lajusticia, 2002; Johnson, 2006). Numa galinha adulta, o ovário localiza-se na porção dorsal da região média da cavidade celómica (King, 1986; Okubo *et al.*, 1997; Lajusticia, 2002) e apresenta um aspeto irregular, devido à presença de numerosos folículos arredondados e de tamanhos variados, os quais se projetam na superfície ventral do ovário (King 1986; Lajusticia 2010).

Relativamente ao oviduto, este consiste numa estrutura mais ou menos tubular que liga duas estruturas, o ovário e a cloaca (Okubo *et al.*, 1997; Johnson, 2006). O oviduto

pode ser dividido, anatomicamente, em cinco regiões, conforme se pode verificar na Figura 2, de acordo com o seu diâmetro externo, pregas de mucosa e glândulas. São elas: infundíbulo, magno, istmo, útero ou glândula da casca e vagina (King, 1986; Okubo *et al.*, 1997; Aughey & Frye, 2001; Lajusticia, 2010).



Legenda

In. Infundíbulo
M. Magno
Is. Istmo
GC. Glândula da casca ou Útero
V. Vagina

Figura 2. Representação esquemática do aparelho reprodutor da galinha. (Adaptado de Johnson [2006]).

3.2. FORMAÇÃO DO OVO

As diferenças anatômicas e fisiológicas entre aves e mamíferos são notórias, e a ausência de ciclo éstrico bem definido ou gestação, não fogem à regra. Dada a sua especificidade como ovíparas, as aves apresentam aspetos anatomofisiológicos cruciais, tais como: a acumulação de vitelo em torno do folículo (vitelogénese¹), e uma estrutura protetora externa, denominada casca (Johnson, 2006).

O ovo demora, aproximadamente, 25 horas a atravessar o oviduto (King, 1986). Como já fora referido (cf. Figura 2), esta estrutura divide-se em cinco secções, cada uma delas com características estruturais e funcionais muito específicas, as quais se encontram resumidas na Tabela 1.

¹ Inicia-se 8 a 10 dias antes da ovulação. Durante esta fase ocorre uma rápida deposição de vitelo amarelo no interior do folículo ovárico, o qual passa de um peso médio de 0,06 g a 18 g (Briz, 1995; Lajusticia, 2002, 2010). Segundo Johnson (2006), por influência do estradiol, as lipoproteínas, principalmente *very low density lipoprotein* (VLDL) e a proteína vitelogénica, são sintetizadas no fígado, sendo, *à posteriori*, transportadas, via hematogénica, até ao ovário esquerdo, onde são incorporadas nos folículos em desenvolvimento. O vitelo acumulado é depositado em camadas concêntricas. A vitelogénese, por sua vez, e de acordo com Briz (1995) e Lajusticia (2010), varia ao longo do ciclo éstrico, aumentando não só a sua duração como também a quantidade de vitelo depositado.

Tabela 1. Formação do ovo nos diversos segmentos do oviduto.

Segmento	Caraterísticas estruturais	Caraterísticas funcionais	Tempo de permanência
Infundíbulo	Glândulas infundibulares	Captação da gema	15 minutos
		Reserva de espermatozóides	
Magno	Glândulas secretoras:	Secreção: Ovomucina e	3 a 3:30 horas
	Células caliciformes	Avidina	
	Glândulas tubulares	Ovoalbumina e Lisozima	
Istmo	Muito curto	Hidratação do albúmen	60 a 75 minutos
	Glândulas tubulares	Formação de membranas testáceas	
Útero	Glândulas tubulares	Formação da casca	20 a 21 horas
	Muito musculado	Ovoposição (contrações)	
Vagina	Glândulas utero-vaginais	Reserva de espermatozóides	< 5 minutos
	Esfíncter útero-vaginal	Ovoposição (prolapso)	

Fonte: Adaptado de Briz (1995).

Os estímulos ambientais, como: temperatura, nutrição e interações sociais, influenciam o desempenho reprodutivo das aves. Todavia, e de acordo com King (1986), Johnson (2006) e Rutz *et al.* (2007), o fator ambiental decisivo, e o que mais influencia o desempenho reprodutivo das aves, é o estímulo luminoso.

4. O OVO

4.1. INTRODUÇÃO

Para uma correta compreensão dos parâmetros de qualidade do ovo em casca, é imperativo, tal como refere Stadelman (1995), a familiarização com a sua estrutura, bem como com os seus constituintes.

No que se refere à composição do ovo, segundo Barroeta (2008), esta não é constante, uma vez que podem ocorrer variações, desencadeadas por diversos fatores, como: dieta, genética e idade da ave. Destes últimos, apenas a dieta provoca alterações na componente lipídica, vitamínica e mineral. Tal facto permite a produção de ovos enriquecidos em diferentes componentes, quer de interesse nutricional, quer funcional.

4.2. ESTRUTURA DO OVO

O ovo tem como constituintes básicos: a gema – a qual assume uma posição central –, a rodeá-la, o albúmen e, por último, uma estrutura mais externa, a casca (King, 1986; Lajusticia, 2002, 2010).

Segundo Li-Chan & Kim (2008), o ovo de galinha tem, aproximadamente, 27,5% de gema, 63% de albúmen e 9,5% de casca e respectivas membranas. Por sua vez, e de acordo com King (1986), Stadelman (1995), Okubo *et al.* (1997) e Lajusticia (2010), a variação das proporções e do peso total do ovo é uma consequência de variados fatores, como: a estirpe, a fase do ciclo de postura, a nutrição e, essencialmente, a idade da ave.

Para além das estruturas já referidas, o ovo possui outras estruturas como se pode verificar na Figura 3.

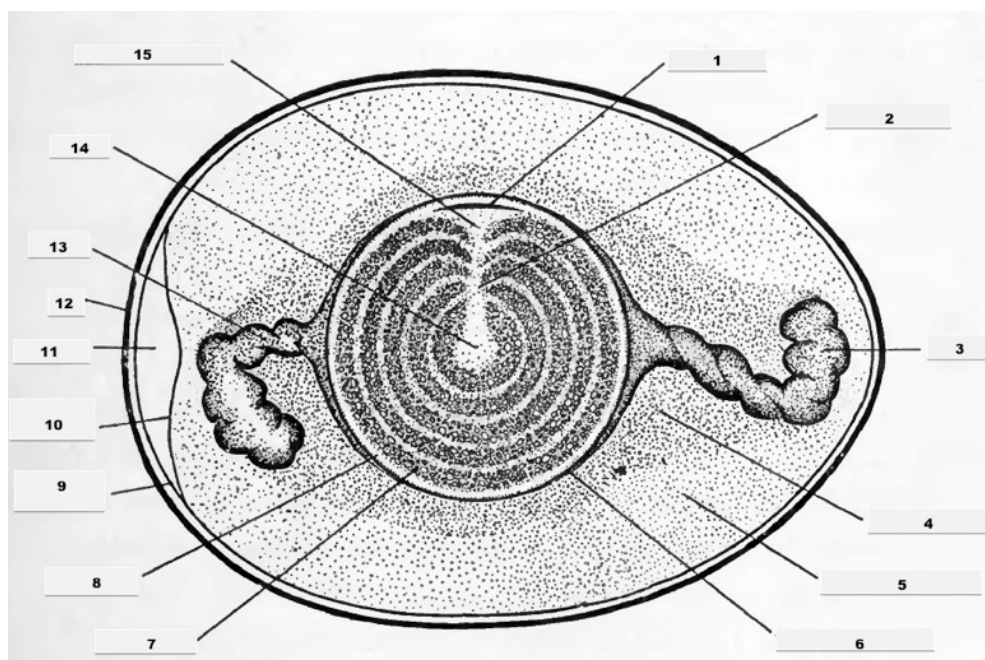


Figura 3. Representação esquemática da estrutura do ovo. (Adaptado de Patten [1920]).

1. Blastocisto, 2. Colo da látebra, 3. Calaza, 4. Albúmen denso, 5. Albúmen fluido, 6. Membrana vitelina, 7. Vitelo amarelo – estrato escuro, 8. Vitelo amarelo – estrato claro, 9. Membrana testácea externa, 10. Membrana testácea interna, 11. Câmara de ar, 12. Casca, 13. Calaza, 14. Centro da látebra e 15. Disco da látebra.

4.2.1. Gema

A gema é rodeada por uma membrana transparente, a membrana vitelina (Okubo *et al.*, 1997), a qual é constituída por quatro camadas, duas de origem ovárica – membrana perivitelina –, e as outras duas de origem infundibular (Lajusticia, 2002).

O disco germinativo, atendendo a King (1986) e a Lajusticia (2010), consiste num pequeno disco citoplasmático, o qual contém os remanescentes do núcleo, dando origem ao

embrião, caso o ovo seja fecundado. Esse disco é, normalmente, visível na superfície da gema do ovo e apresenta-se sob a forma de um ponto branco, opaco e circular, com cerca de 3 - 4mm de diâmetro.

No centro da gema, por sua vez, existe uma esfera de gema branca – o centro da látebra –, que, por seu turno, se liga através de um colo ao disco da látebra, situado imediatamente sob o disco germinativo (King, 1986).

A restante gema, segundo King (1986) e Okubo *et al.* (1997), é chamada gema amarela, a qual é distribuída em estratos concêntricos, intercalando-se estratos escuros (formados durante o dia), com estratos claros (formados durante a noite).

Quanto à coloração da gema, e de acordo com Lajusticia (2010), esta está diretamente relacionada com a ingestão de pigmentos carotenoides, responsáveis pela cor amarela-alaranjada, verificando-se, por conseguinte, diversas variações de cor.

4.2.2. Albúmen

O albúmen é constituído por diferentes porções que, segundo Belitz *et al.* (2009), diferem entre si em termos de viscosidade.

A camada densa interna (cerca de 3% do albúmen total) encontra-se adjacente à membrana vitelina (Stadelman, 1995). Embora esta camada seja fina, o albúmen é extremamente viscoso, formando-se, a partir deste, duas calazas em cada polo da gema, as quais se estendem até aos extremos do ovo (Stadelman, 1995; Belitz *et al.*, 2009), e têm como função, a manutenção da gema suspensa, numa posição centrada (King, 1986).

Segue-se a camada fluída interna, a qual representa cerca de 17% do albúmen total (Li-Chan & Kim, 2008). A rodear esta camada, encontra-se uma outra, denominada camada densa externa (aproximadamente 57% do albúmen total), a qual se caracteriza por uma massa viscosa que se estende a ambos os extremos do ovo (Lajusticia, 2002; Li-Chan & Kim, 2008). Por último, de acordo com Lajusticia (2002, 2010), a camada fluída externa representa cerca de 23% da totalidade do albúmen e encontra-se em contato com as membranas testáceas.

4.2.3. Casca

A casca é uma estrutura que se encontra em contato com o exterior, coberta pela cutícula e assente sobre as membranas testáceas. Possui cerca de 0,35mm de espessura e entre 7000 a 15000 poros, os quais permitem a realização de trocas gasosas com o exterior (Okubo *et al.*, 1997; Lajusticia, 2002, 2010).

Na face interna da casca, refere Lajusticia (2002), identificam-se as membranas testáceas interna e externa, representando cerca de 3% do ovo. Estas são relativamente finas e, segundo Stadelman (1995), constituem uma barreira a invasões bacterianas e encontram-se aderentes, exceto no polo mais largo do ovo. É nesta zona que as membranas se separam, originando a câmara de ar que, por sua vez, aumenta de volume à medida que o ovo envelhece (Belitz *et al.*, 2009).

A casca é constituída por uma parte inorgânica – camada em paliçada –, composta, essencialmente, por 90% de carbonato de cálcio, o qual se deposita sob uma forma mais estável, a calcite. Na casca encontra-se, igualmente, uma parte orgânica, integrada entre os depósitos de calcite. Esta matriz orgânica denomina-se camada mamilar e tem como função a regulação do processo de mineralização, influenciando, por conseguinte, as propriedades mecânicas da casca (Lajusticia, 2010).

A cutícula cobre toda a superfície externa do ovo, possui, aproximadamente, 10µm de espessura e é constituída por proteínas, glícidos e lípidos (Briz, 1995; Okubo *et al.*, 1997). Esta tem como função selar os poros da casca, permitindo, todavia, a saída de dióxido de carbono e água no estado gasoso, bem como a entrada de ar (Stadelman, 1995).

4.3. COMPOSIÇÃO DO OVO

O ovo de galinha consiste numa mistura complexa de água (75%), lípidos (12%), proteínas (12%), e ainda pequenas quantidades de hidratos de carbono e minerais (1%) (Li-Chan & Kim, 2008; Mine & Yang, 2010).

O albúmen é composto por uma solução aquosa a 11% de várias proteínas e minerais (Hernandez, 1995; Li-Chan & Kim, 2008; Belitz *et al.*, 2009), e a gema, por sua vez, pode ser descrita como uma emulsão de, aproximadamente, 50% de água, *low density lipoprotein* (LDL), lípidos, vitaminas, minerais e pigmentos (Lajusticia, 2010). A composição do ovo inteiro e seus componentes encontra-se sumariamente apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição do albúmen, gema e ovo inteiro.

Componentes do ovo	% Proteínas	% Lípidos	% Hidratos de carbono	% Cinzas
Albúmen	9,7 – 10,6	0,03	0,4 – 0,9	0,5 – 0,6
Gema	15,7 – 16,6	31,8 – 35,5	0,2 – 1,0	1,1
Ovo inteiro	12,8 – 13,4	10,5 – 11,8	0,3 – 1,0	0,8 – 1,0

Fonte: Adaptado de de Li-Chan *et al.* (1995).

Segundo Barroeta (2008) e Lajusticia (2010), num ovo de 60g destaca-se um moderado conteúdo energético, 73 - 85Kcal, o que corresponde a 150Kcal por 100g de ovo comestível. Além do conteúdo energético, encontram-se referenciados, na Tabela 3, as quantidades dos principais componentes existentes em 100g de ovo.

Tabela 3. Tabela nutricional do ovo.

Componentes do ovo	Por 100g
Energia, Kcal	149
Energia, KJ	343
Água, g	75,3
Proteína, g	13,0
Gordura total, g	10,8
Ácidos Gordos saturados, g	2,7
Ácidos Gordos monoinsaturados, g	3,9
Ácidos Gordos polinsaturados, g	2,1
Colesterol, mg	408
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	0

Fonte: Adaptado de Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2007).

4.3.1. Proteínas

A nível proteico, o ovo apresenta um perfil de aminoácidos ideal para as necessidades do organismo humano, com cerca de 6g de proteína, repartida entre a gema (16%) e, sobretudo, o albúmen (74%). Dentro das proteínas do albúmen, destaca-se a ovoalbumina (54%) e a ovomucina (11%), responsáveis pela consistência do albúmen, e a lisozima (3,4%), responsável pelas propriedades antibacterianas (Barroeta, 2008; Lajusticia, 2010). A ovotransferina é outra proteína presente, tendo esta a capacidade de retardar o crescimento bacteriano. As restantes proteínas denominam-se ovomucoide, flavoproteína, ovinibidor, avidina, cistatina, de entre outras (Belitz *et al.*, 2009).

Do total proteico presente na gema, Sugino *et al.* (1997) e Belitz *et al.* (2009) referem que as LDL são as que se encontram em maior número (cerca de 68%), e são as principais responsáveis pelas propriedades emulsionantes desta estrutura.

4.3.2. Lípidos

O ovo contém, aproximadamente, 11% de fração lipídica (6g por um ovo de 60g), depositada apenas na gema, totalizando, nesta, 32,6% (Sugino *et al.*, 1997; Barroeta, 2008; Belitz *et al.*, 2009).

Da totalidade de lípidos, 66% são triglicéridos, 28% são fosfolípidos e 5% colesterol (Barroeta, 2008; Belitz *et al.*, 2009; Lajusticia, 2010). Estão ainda presentes na gema, vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e pigmentos carotenoides (cerca de 1%), tais como: luteína, zeaxantina e xantofilas vermelhas, responsáveis pela cor da gema e de grande importância comercial (Barroeta, 2008; Lajusticia, 2010).

Negligencia-se a percentagem de lípidos presente no albúmen, uma vez que a sua percentagem é pouco significativa (0,03%) (Belitz *et al.*, 2009).

4.3.3. Hidratos de carbono, vitaminas e minerais

Os hidratos de carbono constituem o componente em menor quantidade presente no ovo, aproximadamente 1% (Belitz *et al.*, 2009). Estes constituintes encontram-se sob forma livre (0,4 - 0,5%) ou conjugada com lípidos e proteínas (Sugino *et al.*, 1997; Belitz *et al.*, 2009).

No que diz respeito a vitaminas, o ovo contém, na sua constituição, elementos de todos os grupos, à exceção da vitamina C. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K encontram-se exclusivamente na gema, enquanto que as hidrossolúveis estão presentes nas duas estruturas, gema e albúmen. Dentro da ampla variedade de minerais presentes no ovo, destacam-se: o fósforo, o ferro, o zinco, o selénio e o cálcio (Barroeta, 2008; Lajusticia, 2010). Por sua vez, e segundo Sugino *et al.* (1997), a maioria dos minerais encontra-se na forma conjugada, e apenas uma pequena parte está presente como compostos inorgânicos ou iónicos. Quanto à casca, esta possui cerca de 94% dos minerais do ovo, sendo que os restantes 6% se encontram distribuídos pelas restantes estruturas.

5. PARÂMETROS DE QUALIDADE DO OVO

5.1. INTRODUÇÃO

Em avicultura industrial, é de extrema importância a maximização da produção de ovos de grande qualidade e ao menor custo possível. Por outro lado, o fator qualidade do ovo não depende apenas da ave, mas também de fatores externos, os quais podem ser fonte de diminuição do valor do ovo.

A qualidade foi definida por Kramer (1951), como as propriedades de todo o alimento que influenciam a aceitação ou a rejeição desse mesmo alimento pelo consumidor. A qualidade é um termo geral que abrange diversos padrões relacionados com a qualidade interna e externa. A qualidade interna reflete-se na viscosidade e transparência do albúmen

na forma e resistência da gema, e também da câmara de ar. Relativamente à qualidade externa, esta repercute-se na limpeza, textura e forma da casca (Coutts & Wilson, 2007).

Para o **consumidor**, a qualidade relaciona-se com o prazo de validade do produto e com as características sensoriais, como a cor da gema e da casca (Alleoni & Antunes, 2001). Para os **produtores**, a qualidade relaciona-se com: percentagem de ovos partidos e sujos, tamanho, peso e massa do ovo, espessura da casca, ausência de defeitos e manchas de sangue, resultantes de um lote. Por sua vez, para a **indústria processadora**, a qualidade relaciona-se com: facilidade de retirar a casca e separar os componentes do ovo (sem contaminação, especialmente do albúmen), propriedades funcionais e cor da gema. Esta última característica reveste-se de extrema importância, sobretudo quando se pretende utilizar o ovo em processos de panificação (Rossi & Pompei, 1995; Alleoni & Antunes, 2001; Magalhães, 2007; Vidal, 2009; García, R., 2010; Garcia *et al.*, 2010). Além dos referidos critérios e parâmetros, a segurança microbiológica é fundamental e incontornável (Rossi & Pompei, 1995). Para a indústria mundial dos ovos, a produção de ovos com uma boa qualidade da casca e qualidade interna é imprescindível para a viabilidade da mesma (Roberts, 2004).

Numa primeira fase, a indústria de processamento de ovos tinha como principal objetivo o aproveitamento de ovos de baixo peso e as rejeições, ou seja, ovos de categoria B ². Não obstante, com o passar dos anos, a indústria estabeleceu critérios específicos para determinados produtos, visando uma maior produtividade e satisfação das necessidades do mercado. Neste sentido, torna-se imprescindível que os ovos destinados ao processamento apresentem características normais de qualidade interna e externa (Faria *et al.*, 2002).

Os problemas relacionados com a qualidade são responsáveis por perdas económicas, sendo, por isso, uma mais valia o estudo dos fatores que são responsáveis pela diminuição da qualidade interna do ovo, bem como da sua casca (Gole *et al.*, 2012). Com o aumento do processamento de ovos, a integridade da membrana vitelina da gema tem tido uma importância crescente para a indústria de ovoprodutos. Nas operações de quebra de ovos, os produtos derivados de ovos consistem em ovo líquido inteiro, gema de ovo ou albúmen (Kirunda & McKee, 2000).

² Segundo o ponto 4, artigo 2º relativo às características qualitativas dos ovos, do Reg. (CE) nº 589/2008 da Comissão de 23 de junho: “Os ovos de categoria B são os que não correspondem às características qualitativas previstas no nº 1. Os ovos da categoria A que deixarem de corresponder a essas características podem ser classificados na categoria B.”.

5.2. QUALIDADE DO OVO

A qualidade do ovo assenta em diferentes aspetos qualitativos, e cada um destes aspetos relaciona-se com a qualidade interna e externa (Bamelis *et al.*, 2006).

A **qualidade da casca** pode ser medida pelo tamanho do ovo, gravidade específica, cor da casca, quebras e deformações da mesma, peso e percentagem de casca, espessura e resistência, porosidade e conspurcação. À exceção da cor da casca, todos os outros parâmetros avaliados têm como principal função a proteção do ovo contra danos físicos e invasões microbiológicas. No que diz respeito à qualidade interna, avalia-se a qualidade da gema, do albúmen e o tamanho da câmara de ar – um dos principais parâmetros de frescura do ovo. A **qualidade da gema** relaciona-se com a sua aparência, textura, firmeza, forma, cheiro, cor, integridade da membrana vitelina, presença de manchas de sangue e carne. A **qualidade do albúmen** relaciona-se com a sua transparência e limpidez, consistência, alta densidade e altura, pequena fração fluída, comparativamente com a fração densa e baixo pH. Por sua vez, todos estes fatores se relacionam diretamente com a estabilidade química do ovo e com o seu valor nutricional (Pombo, 2003; Roberts, 2004; Magalhães, 2007; Jacob *et al.*, 2011).

5.3. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

O conhecimento da composição físico-química das propriedades e dos valores considerados normais para o albúmen e para a gema é de extrema importância para a interpretação de possíveis alterações que ocorrem durante o armazenamento, a pasteurização, a desidratação e o congelamento. Quaisquer alterações dos componentes do ovo poder-se-ão refletir numa perda de funcionalidade do albúmen (capacidade espumante) e da gema (capacidade emulsionante) (Li-Chan *et al.*, 1995).

5.3.1. Peso do ovo e seus constituintes

A pesagem do ovo constitui um método simples e um dos mais frequentemente analisados. Consiste em colocar o ovo intato em cima de uma balança analítica e, posteriormente, registar o valor verificado; procedendo-se, de igual modo, para cada um dos seus constituintes (Roberts, 2004; Magalhães, 2007; Albrecht, 2011).

Os ovos são vendidos segundo o seu tamanho, e a sua classificação é feita tendo em conta o seu peso. De acordo com o Reg. (CE) nº 589/2008 da Comissão de 23/06, os pesos dos ovos são divididos em 4 classes: XL ou gigante ($\geq 73\text{g}$); L ou grande ($\geq 63\text{g}$ e $< 73\text{g}$); M ou médio ($\geq 53\text{g}$ e $< 63\text{g}$); S ou pequeno ($< 53\text{g}$).

O peso da casca do ovo traduz-se no peso da porção de casca presente num ovo, sendo o método de obtenção desse mesmo peso, variável. As cascas dos ovos podem ser lavadas ou simplesmente escorridas, e as membranas testáceas incluídas no peso ou removidas antes da pesagem (Albrecht, 2011).

O albúmen, denso e fluído, é o componente que melhor se relaciona com o peso do ovo, representando cerca de metade do seu peso. Um ovo médio possui cerca de 35g de albúmen (Lajusticia, 2010).

O coeficiente de correlação entre a gema do ovo e o peso do ovo aumenta com a idade das poedeiras. A seleção genética contribui, igualmente, para o aumento da variável peso do ovo, o que resulta numa maior proporção de albúmen, devido à correlação positiva existente entre essas variáveis (Silversides & Scott, 2001).

Em galinhas poedeiras de 31 semanas de idade e estirpe ISA Brown, para um peso médio de ovo de 58,5g, a casca apresenta um peso médio de 61,3g, a gema um peso médio de 14,1g e o albúmen um peso médio de 38,2g. Os pesos traduzem-se nas seguintes percentagens: 10,49% de casca, 24,2% de gema e 65,3% de albúmen (Scott & Silversides, 2000).

Num estudo realizado por Garcia *et al.* (2010), poedeiras com 26 e 55 semanas de idade apresentam um peso de ovo fresco de 54,39g e 62,69g, respetivamente.

5.3.2. Forma do ovo

A forma normal de um ovo de galinha é elíptica. Os ovos que não são normais na sua forma, tais como aqueles que são alongados e estreitos, redondos ou com um lado achatado (cf. Figura 4), não podem ser classificados como categoria A. Ovos redondos e alongados possuem uma forma que não se adequa, convenientemente, às embalagens, correndo maior risco de quebras durante a expedição, transporte e armazenamento. Por outro lado, a uniformidade da forma dos ovos é importante para a indústria do processamento de ovos, uma vez que a eficiência deste mercado se baseia no uso de partidoras automáticas, sendo a conformidade da forma do ovo, característica essencial para este tipo de maquinaria (Albrecht, 2011; Jacob *et al.*, 2011).

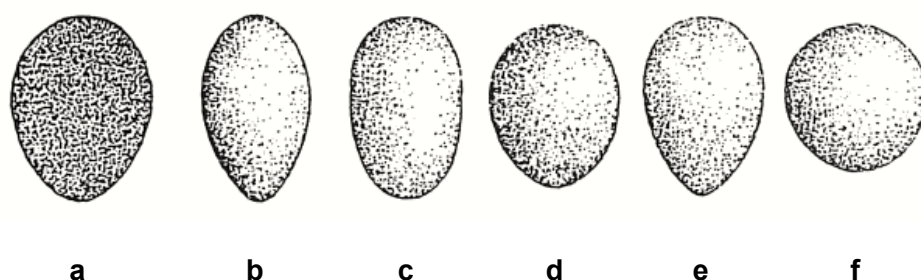


Figura 4. Representação esquemática das formas do ovo. (Adaptado de Roberts V. [1997].)

Legenda: a normal; b bicônico; c elíptico; d oval; e cônico; f esférico.

5.3.3. Coloração da casca

A coloração da casca pode ser avaliada por observação visual, utilizando uma série de *standards* graduados ou, poder-se-á medir através da avaliação da reflexão da casca, sendo a sua deteção feita através da proporção entre a luz incidente e a refletida na casca do ovo, sob condições controladas (Roberts, 2004).

A cor da casca é uma característica fundamentalmente genética, existindo variações entre estirpes e indivíduos, mesmo dentro do mesmo bando (Vackavik & Christian, 2008; Jacob *et al.*, 2011).

5.3.4. Percentagem de ovo, casca, gema e albúmen

Os parâmetros são facilmente calculados através da fórmula que relaciona o peso do respetivo constituinte e o peso total do ovo (Magalhães, 2007).

A fórmula é dada por:
$$\frac{\text{Peso}_{\text{casca,gema,albúmen}}}{\text{Peso total}_{\text{ovo}}} \times 100$$

Consideram-se valores normais para estes parâmetros: 11% de percentagem de casca, 31% de percentagem de gema, e 58%, aproximadamente, de percentagem de albúmen (Vackavik & Christian, 2008).

No estudo elaborado por Garcia *et al.* (2010), poedeiras com 26 semanas de idade apresentam as seguintes percentagens para um peso médio de ovo fresco de 54,39g: albúmen, 61,60%; gema, 24,15% e casca, 9,68%. Poedeiras com 55 semanas de idade e com um peso médio de ovo de 62,69g apresentam as seguintes percentagens de constituintes: albúmen, 62,11%; gema, 25,77% e casca, 9,55%.

5.3.5. Espessura da casca

O cálculo da espessura da casca é obtido através de um método direto e consiste num parâmetro de extrema importância, uma vez que se relaciona diretamente com a resistência da mesma, facultando uma valiosa informação sobre a probabilidade de quebra (Magalhães, 2007; García, J., 2010).

A espessura da casca tem um valor médio de 0,24 a 0,40mm, decorrente do facto de não revelar uniformização; apresentando-se mais densa no polo apical, e mais porosa no polo basal (Hernandez, 1995). Para Lajusticia (2010), a casca tem uma espessura aproximada de 0,35mm. Num estudo elaborado por Zita *et al.* (2009), a espessura da casca em mm, das 20 às 26 semanas de idade, apresenta uma espessura média de 0,3mm; das 36 às 42 semanas, 0,38mm, e das 54 às 60 semanas, 0,38mm de espessura.

Variados métodos têm sido utilizados para medir a espessura da casca, tais como: microscópios, micrómetros e *dial gauge comparators*, sendo este último, o método mais eficiente. Devido ao facto de o ovo ser um esferóide prolato, a espessura da casca não deve ser medida entre duas superfícies planas, devido aos erros de medição que podem advir da superfície curva da casca. No caso do *dial gauge comparators*, tal problema não se coloca, uma vez que a medição da espessura da casca se realiza entre duas estruturas diferentes, uma plana e uma esférica. O método mais comum é o micrómetro, apesar dos resultados obtidos serem passíveis de erros de medição, subjacentes ao próprio aparelho (Fagan *et al.*, 1988).

A resistência da casca é uma das características da qualidade mais preponderantes para o produtor. Aproximadamente 7% da totalidade dos ovos sofre algum tipo de dano na casca, antes de chegar ao consumidor, impossibilitando-o de ser comercializado (Magalhães, 2007).

5.3.6. Câmara de ar

Trata-se de uma importante referência da qualidade e frescura do ovo, podendo a sua estrutura ser avaliada de forma rápida, quer à contra luz, por intermédio de um ovoscópio, quer após a quebra do ovo (García, J., 2010; Jacob *et al.*, 2011).

Logo após a postura, iniciam-se fenómenos que diminuem a sua qualidade e, eventualmente, causam a sua deterioração. O tamanho da câmara de ar vai aumentando durante a maturação e armazenamento do ovo, devido à perda de humidade por evaporação (Magalhães, 2007).

Segundo o Reg. (CE) nº 589/2008 da Comissão, de 23/06, ponto 1, artigo 2.º, relativo às características qualitativas dos ovos, a câmara de ar não deve apresentar uma altura superior a 6mm.

5.3.7. Coloração da gema

Uma característica própria da gema é a sua capacidade corante (Ferreira, 2004). A coloração da gema trata-se, por isso, de um parâmetro de qualidade da preferência do cliente, seja ele o consumidor comum de ovos, seja o cliente de uma empresa de ovoprodutos (García, J., 2010). Esta é, possivelmente, uma das características mais procuradas pelo consumidor, levando, frequentemente, à alteração da dieta das aves, na perspectiva de produzir gemas com coloração específica, e satisfazer as necessidades do mercado (Pérez de los Cobos, 2002; Jacob *et al.*, 2011). Para a indústria, gemas com colorações mais escuras são preferenciais para que os produtos tenham uma tonalidade mais amarela. Há ainda a salientar que os pigmentos da gema são relativamente estáveis, uma vez que não perdem nem sofrem alterações durante a confeção (Jacob *et al.*, 2011).

O método mais comumente utilizado é a popular escala DSM, inicialmente conhecida por escala de Roche (García, J., 2010).

5.3.8. pH

A determinação do pH é uma determinação eletrométrica que avalia a concentração de iões hidrogénio de uma amostra; é, portanto, uma medida indicadora do grau de acidez ou alcalinidade de um produto (Park & António, 2006; Farinha, 2007).

Segundo Kirunda e McKee (2000), o pH de um ovo inteiro fresco, posto em menos de 24 horas, ronda os 7,31, o pH da gema fresca 5,93 e do albúmen fresco 8,95. Hatta *et al.* (1997) e Pérez de los Cobos (2002) referem, por sua vez, que o valor do pH do albúmen fresco ronda os 7,6 - 7,9, enquanto que para Li-Chan *et al.* (1995) e García, J. (2010), um ovo posto recentemente apresenta, para valores de pH do albúmen, 7,6, e 24 horas depois, a 20°C, um pH de 8,5. Há ainda a salientar que o pH do albúmen depende do equilíbrio entre CO₂, o ião bicarbonato, o ião carbonato e constituintes proteicos presentes neste componente do ovo (Li-Chan *et al.*, 1995).

No que diz respeito ao crescimento microbológico, Alleoni e Antunes (2001) relatam que a maioria dos microrganismos crescem em valores de pH de um ovo recentemente posto. Os autores relatam ainda que, em períodos de armazenamento, o pH do albúmen pode mesmo chegar aos 9,5, o qual, em geral, possui efeito inibidor no

crescimento bacteriano. Todavia, em estudo estatístico, não se observaram diferenças entre ovos frescos (pH 7,5) e ovos mais velhos (pH 9,1), contaminados por bactérias esporuladas.

Os autores Li-Chan *et al.* (1995) referem que o pH do albúmen é o maior fator de controlo das propriedades reológicas dos géis formados durante o tratamento térmico do albúmen. O pH dos componentes internos dos ovos relaciona-se diretamente com a qualidade das características funcionais, tratando-se, por isso, de um parâmetro amplamente utilizado nas indústrias de processamento de alimentos, sobretudo na indústria de ovoprodutos. É através da determinação do pH que se torna possível avaliar as medidas a serem tomadas na correção dos produtos em processamento. Para que a determinação do pH seja rápida e simples, recorre-se a um potenciômetro de bancada (Ferreira, 2004; Park & António, 2006).

5.3.9. Viscosidade

A viscosidade constitui uma propriedade física que traduz a resistência ao escoamento e resulta do atrito interno entre as camadas de fluído. Por definição, representa a força de atrito, por unidade de área, entre dois planos, no seio do fluído, que se deslocam com uma diferença de velocidade unitária e estão distanciados entre si, uma unidade (Ferreira, 2004). De uma forma simplificada, define-se como a resistência interna ao fluxo (Daubert & Foegding, 1998). Esta propriedade é medida por um coeficiente que depende do atrito interno em consequência da coesão das partículas dos seus componentes (Ferreira, 2004).

A maioria dos fluídos alimentícios apresenta comportamento não Newtoniano, ou seja, geralmente as suas propriedades reológicas, a uma temperatura constante, dependem da tensão aplicada, ou podem depender, também, do tempo de corte. Os modelos reológicos mais utilizados e adequados para alimentos expressam a relação entre a tensão de corte e a taxa de deformação, apesar de todos eles representarem um mecanismo específico que explica a reação do fluído perante o efeito da tensão de corte (Ohata & Viotto, 2011).

A viscosidade aparente depende de variáveis, tais como: a estrutura físico-química da amostra, a temperatura, a pressão, tempo e taxa de corte (Severa *et al.*, 2009).

O comportamento reológico do albúmen fresco é frequentemente descrito em função do tempo de medição, taxa de corte e temperatura (Li-Chan *et al.*, 1995; Kemps *et al.*, 2010). Segundo Li-Chan *et al.* (1995), com uma taxa de corte constante, a viscosidade do albúmen diminui com o tempo e atinge o equilíbrio em poucos minutos. Um albúmen homogeneizado também apresenta um comportamento pseudoplástico a 10°C, 20°C e

30°C. A relação entre a viscosidade aparente em mPa *versus* a taxa de corte, a 10°C, para 12 amostras de albúmen com sólidos totais de 12,92% e pH de 8,4, com uma taxa de cisalhamento de 24 sec⁻¹, o albúmen homogeneizado apresenta uma viscosidade aparente entre 15 e 27mPa.

Se a taxa de corte aumentar, a viscosidade diminui, tratando-se, por conseguinte, de um alimento com comportamento pseudoplástico (Daubert & Foegding, 1998). Devido às diferentes taxas de corte adotadas pelos diferentes investigadores, torna-se difícil comparar os diferentes valores de viscosidade presentes na literatura. Por outro lado, os diferentes métodos de preparação da amostra dificultam as comparações com outros estudos (Kemps *et al.*, 2010).

Kemps *et al.* (2010) concluem que medições de viscosidade em albúmen intato, não homogeneizado, não podem ser executadas de forma rigorosa. No caso de medições realizadas a albúmen homogeneizado, os valores obtidos são substancialmente mais baixos que os valores obtidos para o albúmen intato, uma vez que a homogeneização do albúmen destrói, parcialmente, as suas propriedades físicas. Embora os valores mais baixos de viscosidade sejam obtidos após a homogeneização da amostra, a variabilidade da viscosidade é, ainda assim, substancial. Para a maioria das amostras, observa-se uma ligeira evolução da viscosidade com o aumento simultâneo da taxa de corte, verificando-se, todavia, exceções em algumas amostras, uma vez que revelam uma viscosidade relativamente elevada. Para amostras de albúmen não homogeneizado, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento. E, face a este quadro, presume-se, de acordo com Kemps *et al.* (2010), que a viscosidade determinada para o albúmen não homogeneizado reflete, sobretudo, a alteração da sua estrutura reológica, por intermédio do movimento da haste, não representando, por isso, uma medida fiável da viscosidade. Tal comportamento do albúmen poder-se-á relacionar com o facto de, a maior parte dos autores homogeneizar as amostras, com o intuito de obter uma estrutura mais homogénea. Estes autores concluíram, ainda, que a medida da viscosidade do albúmen não pode ser usada como indicador de frescura do mesmo.

Matematicamente, a função de viscosidade aparente é o resultado da tensão de corte dividida pela taxa de corte (Daubert & Foegding, 1998).

De salientar que o albúmen denso e o albúmen fluído possuem propriedades reológicas distintas, entre si. Ovos provenientes da mesma galinha são, todavia, relativamente uniformes (Magalhães, 2007; Kemps *et al.*, 2010).

De salientar que são poucos os autores que têm realizado medições de viscosidade ao albúmen. No estudo realizado por Kemps *et al.* (2010), as medições de viscosidade são

efetuadas em albúmen denso, uma vez que a quantidade de albúmen fluído para ovos frescos é limitada, e as medições da viscosidade sobre este tipo de albúmen, nem sempre são exequíveis. Além disso, o albúmen fluído tem uma viscosidade comparável com água e poucas são as mudanças esperadas nas propriedades reológicas deste tipo de albúmen, durante o armazenamento.

A viscosidade do albúmen é uma variável qualitativa importante, uma vez que influencia as características funcionais, tais como: capacidade estabilizante, emulsionante, coagulante, entre outras (Kemps *et al.*, 2010). O albúmen exerce uma grande influência na qualidade interna do ovo, sendo que a diminuição da viscosidade desencadeada, por exemplo, por um aumento do pH, afeta negativamente a capacidade espumante deste constituinte, e leva à diminuição da qualidade do ovo (Hatta *et al.*, 1997; Vidal, 2009).

Usando um viscosímetro rotacional *Brookfield*, amostras de gema com 52,5% e 50,8% de sólidos totais, a 25°C, têm viscosidades de 1462 e 782 mPa, respetivamente (Li-Chan *et al.*, 1995). Num estudo efetuado por Severa *et al.* (2009), a maior parte dos valores para a viscosidade da gema fresca situam-se entre 1000 e 2000mPa. Em Davey *et al.* (1969), a gema fresca, em média, apresenta uma viscosidade de 1366mPa. A empresa *Dero* toma como valores de referência para a viscosidade da gema a 7°C, 500 a 900mPa, e do albúmen, entre 11 e 13mPa.

A determinação deste parâmetro, alerta Farinha (2007), é de extrema importância para a área alimentar, uma vez que possibilita saber qual o comportamento do fluído em estudo e a forma como escoará a uma determinada temperatura, durante o seu futuro processamento, armazenamento e consumo. A viscosidade, por sua vez, assume um importante papel para o controlo da qualidade de ovoprodutos, sobretudo dos que se espera uma consistência particular (Ferreira, 2004).

A viscosidade da gema confere uma boa estabilidade às emulsões, pois existe uma relação linear entre a estabilidade da emulsão e a raíz quadrada da viscosidade. A adição de albúmen à gema diminui a estabilidade das emulsões formadas, e este efeito está essencialmente ligado a um decréscimo da viscosidade. Tal afirmação tem importância, salienta Seibel (2005), uma vez que a gema líquida industrial pode conter até 20% de albúmen na sua constituição.

Podem ser utilizados diversos tipos de viscosímetros com características diversas, contudo, para a determinação da viscosidade de fluídos na indústria alimentar, o mais utilizado é o viscosímetro rotacional do tipo *Brookfield* (Daubert & Foegding, 1998).

5.3.10. °Brix

O °Brix é um dos testes mais significativos realizados nos ovoprodutos. Juntamente com o parâmetro pH, é possível controlar o produto e fazer as correções necessárias (Ferreira, 2004).

O °Brix representa a percentagem mássica de sólidos solúveis, expressa em sacarose. A concentração de sólidos solúveis pode ser relacionada, quer com a densidade da solução, quer com o índice de refração dessa mesma solução. Assim, na determinação do °Brix, recorre-se a aparelhos, os densímetros ou, mais comumente, os refratômetros (Ferreira, 2004). Estes últimos exibem uma escala em percentagem de sacarose, entre 0-50%. No ovo inteiro, o °Brix varia entre 22,5% e 26% a 20°C (Farinha, 2007).

Na empresa *Derovo*, os valores *standard* para o °Brix da gema encontram-se entre 44% e 45%, e para o albúmen, entre 14,5% e 15,5%.

A determinação de sólidos solúveis em materiais biológicos, segundo Park & António (2006), é uma medida muito utilizada no processamento e conservação de alimentos para avaliação de maturação de frutas, elaboração de caldas para frutas em conserva, ponto final de processos de concentração e qualidade de produtos processados. Quanto ao valor obtido na leitura, este é expresso em percentagem de sólidos solúveis ou °Brix.

5.3.11. Extrato seco

Um dos procedimentos analíticos mais importantes, realizados num produto alimentar, é a quantificação da humidade presente nesse mesmo produto. Após a remoção da humidade, a matéria seca presente define-se como sólidos totais (Bradley, 1998). Como definição, entende-se por extrato seco a percentagem total de sólidos totais existentes num produto, quando a este lhe é retirada toda a água (Ferreira, 2004; Farinha, 2007).

Os valores dos componentes do ovo fresco, relativamente ao parâmetro extrato seco, são: sólidos totais do albúmen, 11 - 13% e sólidos totais da gema, 50 - 52,29% (Li-Chan *et al.*, 1995; Vidal, 2009).

No estudo elaborado por Garcia *et al.* (2010), poedeiras com 26 semanas de idade apresentam as seguintes percentagens de sólidos totais para um peso médio de ovo fresco de 54,39g: albúmen, 12,96% e gema, 51,46%. Por sua vez, poedeiras com 55 semanas de idade e com um peso médio de ovo de 62,69 g, apresentam de sólidos totais: 12,15% de albúmen e 53,62% de gema (Bradley, 1998). Na empresa *Derovo*, os valores *standard*, para o extrato seco da gema, situam-se entre 43,80% e 45,60%, e para o albúmen, situam-se entre 11,80% e 12,60%.

O conteúdo de sólidos totais, no ovo inteiro, é influenciado pela proporção de gema e albúmen e também pelos seus conteúdos de sólidos. A proporção de gema e albúmen varia amplamente com o tamanho do ovo. Assim, os ovos mais pequenos possuem menor quantidade de gema, proporcionalmente aos ovos maiores, que ao conterem gemas maiores, também terão maior conteúdo de sólidos totais (Vidal, 2009).

A percentagem de extrato seco é um importante parâmetro de controlo da qualidade do produto final. Assim sendo, a qualidade do produto é diretamente proporcional ao valor deste parâmetro, contudo, a natureza do produto terá de ser sempre tida em conta (Ferreira, 2004).

A gema e o albúmen são utilizados para diferentes fins e possuem características e valores comerciais distintos. Desta forma, o conhecimento do conteúdo de sólidos totais dos ovos é importante do ponto de vista económico, especialmente na produção de ovo desidratado (Bradley, 1998; Vidal, 2009). A medição deste parâmetro efetua-se por meio de um equipamento específico denominado medidor de extrato seco (Farinha, 2007).

5.3.12. Relação gema : albúmen

Como o próprio nome indica, a relação gema : albúmen diz-nos quantas partes de albúmen temos para uma de gema. No que respeita a empresa *Derovo*, o *standard* é 1 : 3 e para Bernardo (2011), a relação gema : albúmen de um ovo de galinha é 34 : 66.

A relação gema : albúmen é um fator determinante na quantidade de sólidos, ou seja, quanto maior for esse índice, maior será a quantidade de sólidos presentes no ovo. Esta relação aumenta à medida que a idade da ave avança (Ahm *et al.*, 1997).

5.4. PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

A contaminação microbiológica do ovo tem uma importância elevada como critério de qualidade, e na determinação do grau de frescura e segurança do alimento (Mora, 2001).

5.4.1. *Enterobacteriaceae*

Segundo F. de Sousa (2000), a família *Enterobacteriaceae* é constituída por bacilos Gram negativos, aeróbios-anaeróbios facultativos, asporogénicos imóveis ou móveis, com flagéolos peritricos, fermentadores da glucose, produtores de catalase e citocromo-oxidase negativo. Alguns membros desta família integram a flora bacteriana do Homem e de outros animais, como é o exemplo de *E. coli*, mas podem também ser causadoras de doença nos mamíferos, como é o caso de *E. coli*, *Salmonella* e *Shigella*. O autor esclarece ainda que as

enterobactérias têm uma distribuição ubiquitária, encontrando-se também presentes nos solos, águas e plantas.

O Reg. (CE) nº 1441/2007 da Comissão, de 5/12, regulamenta a aplicação dos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, obrigando todos os Estados Membros ao seu cumprimento. Relativamente a ovoprodutos, os critérios são os apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Critérios microbiológicos aplicáveis aos ovoprodutos, segundo o Reg. (CE) nº 1441/2007 – *Enterobacteriaceae*. (Adaptado do Reg. (CE) nº 1441/2007 da Comissão de 5/12, pp. 26 do Jornal Oficial da União Europeia.)

Microrganismo	Plano de Amostragem		Limites		Método de análise de Referência ⁽²⁾	Fase em que o critério se aplica	Medidas em caso de resultados insatisfatórios
	n	c	m	M			
<i>Enterobacteriaceae</i>	n = 5	c = 2	m = 10 ufc/g ou mL	M = 100 ufc/g ou mL	ISO 21528-2	Fim do processo de fabrico	Verificação da eficácia do tratamento térmico e prevenção da recontaminação

n = número de unidades que constituem a amostra; c = número de unidades da amostra com valores entre m e M.

⁽²⁾ Utilizar-se-á a edição mais recente da norma.

5.4.1.1. *Salmonella* spp.

Salmonella é um género taxonómico da família *Enterobacteriaceae*, onde se destacam dois serovales de grande importância zoonótica – *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Na maioria dos casos, a salmonelose é adquirida pela ingestão de alimentos e de água contaminados, ou ainda por transmissão fecal-oral (F. de Sousa, 2000; Forsythe, 2005).

A sintomatologia característica de infeções alimentares causadas por *Salmonella* incluem: diarreia, náusea, dor abdominal, pirexia ligeira e tremores, e, por vezes, vómitos, dor de cabeça e fraqueza. O período de incubação é de 16 a 72 horas e a infeção é, normalmente, autolimitante e persiste entre 2 a 7 dias (Forsythe, 2005).

Este agente patogénico, quando presente no ovo, encontra-se na casca, particularmente se a galinha estiver infetada, variando o número de bactérias entre 10^2 e 10^7 por casca, de acordo com o tipo de contaminação: fezes, pó ou solo. Os microrganismos podem ainda estar presentes na água, ventiladores e cintas dos ovos, e penetram

rapidamente até às membranas testáceas, ainda que não contaminem a gema, durante vários dias (Mora, 2001).

Salmonella Enteritidis pode multiplicar-se, preferencialmente, na clara de ovos partidos, sendo, por isso, fundamental que as condições de armazenamento destes sejam mais rigorosas que para os ovos intatos. A estação do ano também influencia o crescimento deste microrganismo, daí que os ovos, postos em estações mais quentes, deverão ser processados mais rapidamente que ovos postos em estações mais frias (Mora, 2001).

Devido ao risco sanitário identificado, salienta Bernardo (2011), os Estados Membros da União Europeia são obrigados a implementar planos de controlo oficial de *Salmonella* em bandos de galinhas poedeiras (Reg. (CE) nº 1168/2006 de 31/7).

Quanto a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (de acordo com o Regulamento (CE) nº 1441/2007, de 05/12), ficam isentos de obrigatoriedade no seu cumprimento, os Estados Membros, nos quais os ovoprodutos sejam concebidos através de processos de fabrico ou de composição do produto que eliminem o risco relativo à *Salmonella*. Os critérios são os apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Critérios microbiológicos aplicáveis aos ovoprodutos segundo o Reg. (CE) nº 1441/2007 – *Salmonella*. (Adaptado do Reg. (CE) nº 1441/2007 da Comissão de 5/12, pp. 16 do Jornal Oficial da União Europeia.)

Microrganismos/ respetivas toxinas e metabolitos	Plano de Amostragem		Limites ⁽²⁾		Método de análise de Referência ⁽³⁾	Fase em que o critério se aplica
<i>Salmonella</i>	n = 5	c = 0	m	M	EN/ISO 6579	Produtos colocados no mercado durante o seu período de vida útil.
			Ausência em 25g			

n = número de unidades que constituem a amostra; c = número de unidades da amostra com valores entre m e M.

⁽²⁾ Nos números 1.1-1.25 m = M.

⁽³⁾ Utilizar-se-á a edição mais recente da norma.

5.4.2. *Bacillus cereus*

Considerando o género *Bacillus*, foram identificadas mais de 30 espécies. São descritos como bacilos Gram positivos e produtores de esporos, quando cultivados em aerobiose. A espécie *B. cereus* destaca-se por ser responsável por doenças de origem alimentar (DOA). Esta espécie apresenta uma distribuição ubiquitária na natureza, sobretudo nos solos e plantas em desenvolvimento, razão pela qual alimentos como arroz,

vegetais, leite em pó e carne, carecem de especial atenção, uma vez que podem ser fonte de DOA, devido à produção de exotoxinas (Lopes, 2000).

B. cereus, segundo Forsythe (2005), encontra-se habitualmente nos alimentos em níveis baixos ($<10^2$ ufc/g), os quais são considerados aceitáveis. Todavia, o seu crescimento acentua-se em alimentos cozidos, devido à destruição da microflora competitiva. O autor esclarece, ainda, que as intoxicações alimentares têm início quando o organismo é sujeito a um elevado binómio tempo/temperatura, criando-se, desse modo, condições para que um baixo nível de organismos se multipliquem até níveis significativos ($>10^5$ ufc/g), os necessários para a intoxicação. Alimentos com valores acima de 10^6 microrganismos/g, é indicativo de crescimento ativo e proliferação de microrganismos, constituindo um potencial perigo para a saúde.

No Reino Unido, o agente foi isolado em misturas de ovos fissurados e ovos partidos e em produtos de pastelaria elaborados com ovo inteiro líquido. A fonte mais provável do microrganismo na mistura terão sido as cascas de ovos fissurados e partidos (Mora, 2001).

Existem dois tipos de intoxicações alimentares causadas por *B. cereus*: diarreico e emético (Schneider *et al.*, 2004; Forsythe, 2005), em que a bactéria produz uma toxina termoestável, resistente ao calor (Lopes, 2000), pré-formada no alimento (Forsythe, 2005). Num período de 1 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado, manifestam-se sinais de náusea e vômito, normalmente, sem diarreia – doença emética. O efeito ou síndrome diarreico é provocado por algumas estirpes produtoras de uma toxina termo-lábil, no intestino do Homem, e cujo período de incubação é de 4 a 16 horas (Lopes, 2000; Schneider *et al.*, 2004). A sintomatologia típica desta intoxicação compreende: diarreia aquosa, dores abdominais, náuseas e, raramente, vômitos (Forsythe, 2005).

Consoante as estirpes, pode resultar uma ou outra intoxicação, mas em ambos os casos, a doença é ligeira e autolimitante (Lopes, 2000).

5.4.3. *Staphylococcus aureus*

O género *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae*, e muitas das espécies deste grupo taxonómico constituem a flora bacteriana da pele e mucosas, incluindo este género, também, alguns dos principais microrganismos patogénicos, nomeadamente, a espécie *Staphylococcus aureus* (Cristino, 2000).

Os estafilococos são cocos Gram positivos, imóveis, capsulados e não esporulados, anaeróbios facultativos e agrupam-se, carateristicamente, em cacho. Ao contrário de todos os estafilococos, *S. aureus* produz uma enzima de elevada importância, a

coagulase, capaz de provocar a coagulação do plasma, conduzindo ao depósito de fibrina em redor dos estafilococos, protegendo-os, assim, da fagocitose (Cristino, 2000; Forsythe, 2005).

Estudos, realizados no Japão, demonstram que os ovos sujos e partidos, ou com fissuras, armazenados durante um longo período de tempo, estão simultaneamente contaminados com *S. aureus* e *Salmonella*. O processo de pasteurização reduz mas não elimina a contaminação (Mora, 2001).

O microrganismo, por si só, raramente é a causa de infeções alimentares após a ingestão de géneros alimentícios crus. As intoxicações no Homem são causadas pela ingestão de toxinas produzidas nos alimentos por alguns serótipos de *S. aureus*, sendo a causa mais comum, a não manutenção do alimento quente, acima de 60°C, ou frio, abaixo dos 7,2°C. Os alimentos mais associados a este tipo de intoxicações são: carnes e seus derivados, frango e derivados de ovos, produtos de pastelaria com creme de pasteleiro, entre outros (Forsythe, 2005).

A bactéria produz enterotoxina estafilocócica, e os sinais que caracterizam a intoxicação são: náusea intensa, vômito, dores abdominais e diarreia moderada, surgindo de 1 a 6h após a ingestão do alimento contaminado (Cristino, 2000).

5.5. PARÂMETROS NUTRICIONAIS

5.5.1. Proteínas e lípidos

A gema e albúmen são muito utilizados na indústria de alimentos, dadas as suas excelentes propriedades organolépticas e funcionais, como: gosto, aroma, cor, viscosidade, capacidades emulsionante, coagulante e espumante (Seibel, 2005).

De acordo com Li-Chan *et al.* (1995), o ovo inteiro possui, na sua constituição, entre 12,8% e 13,4% de proteína e 10,5% e 11,8% de lípidos. Segundo o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2007), por cada 100g de ovo, este apresenta 13,0g de proteína e 10,8g de gordura total. A importância destes dois constituintes maioritários do ovo (proteína e lípidos) para a indústria de ovoprodutos, passa pela sua capacidade espumante, coagulante e emulsionante. O albúmen é um particular agente espumante, o qual é usado no cozimento e na preparação de confeções. A sua capacidade espumante relaciona-se diretamente com a qualidade das proteínas presentes no albúmen (globulina e lisozima), e a espuma forma-se por ação mecânica (emulsão de água e ar) (Ferreira, 2004). Deste modo, uma contaminação ligeira com gema poderá alterar a funcionalidade da proteína e reduzir a capacidade espumante do albúmen (Kirunda & McKee, 2000). E nesta perspetiva, a

resistência da membrana vitelina, e a sua capacidade de resistir ao processo de quebra, constituem um fator chave para o sucesso da separação dos constituintes do ovo, na hora da quebra, e daí para a produção de um albúmen de boa qualidade (Kirunda & McKee, 2000). No que diz respeito à sua estabilidade, é a ovomucina que assume essa função (Ferreira, 2004). Segundo Seibel (2005), as proteínas do albúmen manifestam qualidades de formação de espuma máximas, tanto no seu pH normal (entre 8 e 9), como na faixa do seu ponto isoelétrico (pH entre 4 e 5). Sabe-se, igualmente, que baixas concentrações de lípidos (menos de 0,1%) alteram significativamente a propriedade espumante das proteínas.

Sendo a ovoalbumina, a fração mais importante das proteínas que compõem o albúmen, esta assume o principal papel na capacidade coagulante deste, apesar de constituir uma propriedade igualmente presente na gema. A coagulação tem um papel preponderante na elaboração de produtos de pastelaria, constituindo uma das propriedades mais úteis na confeção de pratos (Ferreira, 2004; Seibel, 2005).

A proteína e os complexos de lipoproteínas (ex: lecitinas) presentes na gema, bem como a sua viscosidade, conferem grande estabilidade às emulsões. Fala-se, então, da capacidade emulsionante da gema, a qual assume um importante papel em diversos produtos alimentares, tais como as maioneses (Davey *et al.*, 1969; Ferreira, 2004).

6. QUALIDADE DO OVO

6.1. FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DO OVO

Vários fatores têm sido identificados como tendo efeitos diretos na qualidade do ovo, tanto ao nível da casca, como ao nível do albúmen e gema. Destes fatores destacam-se: a estirpe e idade da ave, muda induzida, fatores nutricionais (cálcio, fósforo, vitaminas, qualidade da água e contaminação do alimento), stress no geral e stress térmico, sistemas de produção e estados patológicos, tipo e tempo de armazenamento dos ovos (Roberts, 2004; Coutts & Wilson, 2007; García, J., 2010; Gole *et al.*, 2012).

6.1.1. Fatores relacionados com a galinha

6.1.1.1. Genética – Estirpe das aves

A qualidade do ovo e a sua composição são influenciadas pela seleção genética, sendo, por isso, a estirpe das aves, uma escolha importante na hora de produzir ovos (Albrecht, 2011; Jacob *et al.*, 2011).

As diferenças relativamente à qualidade da casca não se verificam, apenas, entre diferentes estirpes de poedeiras, estando também presentes entre os próprios indivíduos. Os parâmetros, tamanho e peso do ovo, número de ovos produzidos por ave ou a persistência de postura, apresentam uma hereditariedade reduzida. Não obstante, a espessura da casca tem uma hereditariedade média, o que permite que a característica seja apurada geneticamente (Roberts, 2004; Zita *et al.*, 2009; García, J., 2010; Albrecht, 2011).

O apuramento genético para determinados índices zootécnicos, como: número de ovos por galinha alojada ou aumento do peso do ovo, poderão afetar negativamente a qualidade da casca (Roberts, 2004).

Linhagens diferentes de galinhas poedeiras apresentam capacidades diferentes de transporte de nutrientes para os ovos, bem como certas particularidades, como a coloração mais ou menos castanha da casca. Estirpes comerciais têm sido selecionadas para que as cascas tenham uma coloração cada vez mais intensa, baseada na avaliação quantitativa da cor (Magalhães, 2007; Lohmann Tierzucht, n. d.).

Embora se tenham detetado diferenças na qualidade do albúmen, entre diferentes estirpes, estas têm diminuído, e atualmente são ínfimas (García, J., 2010).

6.1.1.2. Idade

Durante o envelhecimento das poedeiras, alguns fenómenos são tipicamente observados, tais como: aumento do peso do ovo e proporção de gema, diminuição da percentagem de albúmen denso, diminuição do teor de sólidos do albúmen e diminuição total de lípidos e colesterol da gema. Em idades iguais podem-se observar algumas variações na composição, dependendo do peso do ovo (Rossi & Pompei, 1995). Além de todos estes parâmetros, a qualidade da casca também diminui à medida que o bando envelhece (TNA - Tecnologia e Nutrição Animal, Lda, 1995). Assim sendo, a maioria dos parâmetros qualitativos do ovo são afetados negativamente com a idade da poedeira, à exceção do peso do ovo (Albrecht, 2011).

À medida que a idade da ave avança, o peso do ovo aumenta até 20%, porém, o aumento da produção de carbonato de cálcio pela poedeira é insuficiente, diminuindo a espessura da casca. Esta situação leva a uma maior troca de CO₂ e humidade, do meio interno para o meio externo, e esta alteração repercute-se diretamente na qualidade e composição proteica, lipídica e mineral (Carvalho *et al.*, 2003; Faria *et al.*, 2007). Aliada à diminuição da espessura, há diminuição da resistência da casca, acentuando-se o problema em aves mais velhas, dada a diminuição das reservas de cálcio no tecido ósseo (Pérez de los Cobos, 2002; Magalhães, 2007; García, J., 2010). A perda de espessura e resistência da

casca, segundo Garcia *et al.* (2010), pode incrementar as perdas de humidade através desta estrutura, influenciando, assim, a concentração de sólidos totais do ovo. É a partir das 65 semanas de idade que se verifica uma acentuada deterioração da densidade da casca, uma vez que o útero se torna menos eficiente na deposição ativa de nutrientes minerais, na estrutura da casca (Shane, 2008).

Ao contrário do que acontece nas primeiras fases de postura, o envelhecimento de um bando requer ajustamentos dos níveis de cálcio e fósforo na dieta, bem como o controlo da temperatura ambiente (Shane, 2008).

A coloração da casca é outro parâmetro que é influenciado pelo aumento da idade, uma vez que ela diminui gradativamente, aumentando no final da postura, o número de ovos com cascas pálidas (García, J., 2010; Lohmann Tierzucht, n. d.). Esta situação deve-se ao facto de a quantidade de pigmento depositado na superfície da casca não aumentar proporcionalmente à medida que o tamanho do ovo aumenta (Lohmann Tierzucht, n. d.).

O aumento do tamanho do ovo com a idade resulta do incremento do conteúdo da gema, albúmen e peso da casca, todavia, esses aumentos não são proporcionais. Como já fora referido, aves mais velhas apresentam maior peso do ovo e percentagem de gema, relativamente a aves mais jovens, no entanto, são estas últimas que produzem ovos de melhor qualidade interna (Faria *et al.*, 2007). Para Garcia *et al.* (2010), o peso do ovo e a percentagem da gema aumentam, enquanto que as percentagens de casca e albúmen diminuem em bandos mais velhos.

Rossi & Pompei (1995) afirmam que pesos de albúmen e gema e percentagem de gema, aumentam com a idade da galinha. Como o aumento relativo do peso da gema é maior que o do albúmen, a proporção de gema aumenta à medida que o ciclo de postura progride – aumento da relação gema : albúmen. Ainda assim, quando as aves estão próximas do fim do ciclo de postura, entre as 66 e as 70 semanas, observa-se uma diminuição da quantidade de gema. No estudo de Faria *et al.* (2007), o aumento da faixa etária da ave proporciona um aumento nos valores de percentagem de gema, para as várias poedeiras, incluindo as da estirpe Isa Brown. Segundo estes autores, o tamanho do ovo influencia a percentagem de albúmen, sem que se altere, todavia, a concentração de sólidos totais, quer do próprio albúmen, quer da gema. Deste modo, ovos com gemas maiores apresentam maior conteúdo de sólidos que os ovos de gemas menores. Sendo a idade da ave um fator determinante para a percentagem e o rendimento dos componentes do ovo, a indústria de processamento deve optar, preferencialmente, por ovos de poedeiras com idades superiores a 40 semanas.

Excluindo as patologias, a idade da ave é o fator que mais afeta a qualidade do albúmen de ovos frescos (García, J., 2010; Jacob *et al.*, 2011). Apesar de a idade reduzir a qualidade do albúmen, esta redução não é, por si só, suficiente para gerar relutância por parte do consumidor. Todavia, um ovo de uma galinha mais velha, exposto a determinados fatores ambientais, durante o armazenamento, exibe menor qualidade, comparado com um ovo de uma galinha mais nova (García, J. , 2010).

Quanto ao pH, Rossi & Pompei (1995) mostram existir baixa variabilidade durante o ciclo de postura, principalmente do albúmen.

A viscosidade do albúmen é outro fator que depende da idade da galinha, mas também é influenciado pelo tratamento de mistura, temperatura e taxa de corte (Li-Chan *et al.*, 1995).

Os autores Magalhães (2007) e Jacob *et al.* (2011) salientam a duração da vida das aves como um aspeto também a ter em conta no plano de produção de uma exploração, uma vez que a qualidade do ovo diminui à medida que a idade da ave aumenta.

6.1.1.3. Precocidade sexual

A variabilidade da maturidade sexual influencia o número de ovos produzidos, bem como o peso médio dos mesmos. Em bandos mais precoces, poderá haver maior número de ovos mas menor peso médio, ao contrário de lotes mais tardios, os quais poderão produzir menor número de ovos, ainda que com peso superior (García, R., 2010).

O peso médio do ovo aumenta 1g, caso a maturidade sexual seja retardada uma semana, verificando-se uma diminuição da produção na ordem dos 4 a 5 ovos (TNA, 1995).

6.1.1.4. Aspetos fisiológicos

Os aspetos fisiológicos que afetam, com maior regularidade, a qualidade da casca, relacionam-se com o metabolismo do cálcio e com a regulação da postura. O metabolismo do cálcio é regulado por diversas hormonas, principalmente a calcitonina, o estradiol e a paratormona, assim como o 1,25 dihidroxicolecalciferol. Qualquer alteração fisiológica que interfira na produção de uma destas hormonas poderá influenciar negativamente a qualidade da casca do ovo (García, J. , 2010).

6.1.1.5. Muda induzida

A muda induzida aplica-se a bandos de galinhas mais velhas, com elevadas percentagens de postura. Os ovos produzidos por estas aves apresentam um menor valor comercial, resultante da diminuição da qualidade da casca (Roberts, 2004).

Durante o período de muda decorre o descanso do ovário e regeneração dos tecidos, permitindo que a ave inicie um novo ciclo de postura com uma melhoria significativa da qualidade do ovo, a nível da casca e albúmen (Hernandez, 1995).

6.1.2. Fatores ambientais

O ambiente, os sistemas de alojamento e o stress térmico, são os fatores que possuem um efeito quase direto na qualidade do albúmen de ovos frescos (Jacob *et al.*, 2011).

6.1.2.1. Altas temperaturas

A temperatura ambiente ótima para galinhas poedeiras, em período de produção, situa-se entre os 18 ° e os 24°C. À medida que a temperatura ambiente aumenta, e dada a baixa capacidade de eliminação de calor pela ave, um dos recursos passa pela redução do consumo de alimento. Acima de 30°C, baixa o consumo de alimento e, com ele, a diminuição do peso corporal, bem como o peso do ovo e, eventualmente, a diminuição da postura, com consequente efeito negativo na performance (Kirunda *et al.*, 2001; García-Vao, 2006; Holik, 2009). A qualidade da casca diminui, gradativamente, a partir dos 26 °C. Altas temperaturas associadas a humidade elevada podem causar alterações no equilíbrio ácido-base das aves e, consequentemente, prejudicar a formação do ovo e a sua qualidade. A alcalose respiratória desencadeia um desequilíbrio eletrolítico e mineral que pode resultar em ovos pequenos e de casca fina (Magalhães, 2007). A diminuição do consumo de alimento leva a uma reduzida ingestão de cálcio que, aliada à alcalose respiratória provocada por temperaturas acima dos 38 °C, poderão afetar a qualidade da casca, com consequente aumento de ovos partidos no pavilhão (García-Vao, 2006; Holik, 2009).

O pH sanguíneo aumenta e ocorre uma diminuição da concentração sanguínea de cálcio e bicarbonato, como mecanismo compensatório. A deposição ativa da componente mineral no útero fica comprometida, o que leva à produção de ovos com cascas mais frágeis (García-Vao, 2006; Holik, 2009; García, J., 2010).

O stress térmico leva a uma menor síntese proteica, segundo Kirunda *et al.* (2001), e a um maior aporte de água para o albúmen. Tem sido proposto que o movimento da água para dentro da gema aumente durante períodos de stress térmico, podendo a viscosidade desta diminuir. Os autores indicam, como resultado de um estudo em que os animais estiveram expostos a temperaturas elevadas, o declínio da viscosidade e capacidade emulsionante da gema, e ainda da estabilidade e volume da espuma do albúmen. Referem também que é devido à exposição ao calor que os níveis plasmáticos, precursores das

proteínas da gema diminuem, sendo provável que os sólidos totais (extrato seco) desta possam ser afetados.

Em poedeiras submetidas a temperaturas de 21,1°C *versus* 29,4°C e 21,1°C *versus* 33,3°C, observa-se uma diminuição da quantidade de albúmen e peso da casca nos ambientes de temperaturas mais elevadas. O peso da gema diminui apenas no pavilhão submetido a temperaturas de 33,3°C, sendo esta variável mais tolerante ao stress térmico moderado (29,4°C), comparativamente com as variáveis “quantidade de albúmen” e “peso da casca” (Tharrington *et al.*, 1999).

6.1.2.2. Instalações

Entre os ovos postos em sistemas alternativos ou em baterias, observa-se melhor qualidade neste último. Embora o sistema de baterias seja concebido para este efeito, o seu sucesso deve-se, na verdade, à elevada frequência de recolha, ao maior controlo sanitário e ambiental do que, propriamente, pelo sistema em si (Pérez de los Cobos, 2002). Deficiências no sistema de recolha de ovos e apenas uma tiragem diária, levam ao aumento do número de ovos partidos (TNA, 1995).

6.1.3. Stress

O stress pode ser causado por inúmeros fatores, tais como: alterações de rotina e manejo, mudanças de ambiente (do pavilhão de recria para o de produção), alterações na alimentação, ruídos estranhos, lutas entre aves por elevada densidade populacional e presença de predadores (Lohmann Tierzucht, n. d.).

O stress poderá ser a causa de maior incidência de ovos com sulcos ou marcas, resultado da contração do útero e retenção do ovo, durante os primeiros estágios de formação. Caso o útero contraia no momento da ovoposição, o ovo permanece demasiado tempo nesta estrutura do oviduto, e sobre a casca deposita-se uma fina camada de cálcio extra (Roberts, 2004). Situações de stress, alerta García, J. (2010), desencadeiam a libertação de epinefrina, que influencia negativamente a pigmentação do ovo. Todavia, segundo Roberts (2004), o stress pode afetar a qualidade da casca, no seu todo.

6.1.4. Fatores nutricionais

O alimento utilizado para a alimentação das aves deve ser de elevada qualidade e a sua formulação ajustada à idade dos animais e às suas necessidades nutricionais. A nutrição influencia de forma significativa a composição nutricional do ovo, razão pela qual é imprescindível para uma produção de ovos de excelente qualidade e com elevado valor

nutricional (Magalhães, 2007; Jacob *et al.*, 2011). Tradicionalmente, a bibliografia refere que alimentos mal formulados constituem a principal causa de defeitos da casca. Deficiências ou desequilíbrios nos níveis de cálcio, fósforo, magnésio ou inadequada ingestão de vitamina D₃ são responsáveis pela redução da resistência da casca (TNA, 1995; Shane, 2008).

O efeito da nutrição na qualidade do albúmen não é um fator limitante da qualidade do ovo, todavia, níveis altos de proteína e de certos aminoácidos, tais como a lisina e elementos como o crómio e o magnésio, contribuem para uma boa qualidade do albúmen. Porém, o consumo de água não tem efeito sob a estrutura deste constituinte do ovo (Pérez de los Cobos, 2002; García, J. , 2010).

A autora Roberts (2004) refere que adequados níveis de vitamina C estimulam a saúde do bando, nomeadamente, amenizando os efeitos do stress. A autora refere também que baixos níveis de vitamina A podem aumentar a incidência de manchas de sangue, o que reduz a qualidade interna do ovo e, a contaminação do alimento por micotoxinas poderá reduzir a produção de ovos e a qualidade da casca.

A suplementação de cálcio é fundamental nas formulações de galinhas poedeiras. Para que a absorção deste elemento seja potenciada ao máximo, 60% deve ser sob a forma granulada, de modo a ser absorvido nos vários segmentos do intestino (partículas 2 a 4mm para melhor encasamento) e 40% sob a forma de pó, a fim de evitar a mobilização do cálcio dos ossos longos (TNA, 1995).

Além da casca, também é possível melhorar o peso do ovo por intermédio do alimento, adicionando gordura a níveis de 3 a 4%, níveis altos de ácido linoleico (acima de 2%) e níveis elevados de metionina e cistina. Por outro lado, uma diminuição de 0,5% de proteína, durante um período de quatro semanas, ou uma redução do consumo de alimento pelas aves, levam a uma diminuição do peso do ovo, na ordem das 2g. O inverso é igualmente verdade.

A temperatura da água consumida pelas galinhas determinará a espessura da casca, uma vez que, quanto menor for a sua temperatura, maior será a espessura (García-Vao, 2006).

Salienta-se ainda que os fatores nutricionais não atuam de forma isolada. O manejo alimentar das aves deve estar perfeitamente coordenado com o programa de luz do pavilhão (TNA, 1995).

6.1.5. Fatores relacionados com a terapêutica

É reconhecido o efeito que alguns fármacos têm na qualidade do ovo. Neste sentido, é de realçar o efeito de Nicarbazina, com efeito coccidiostático. Este princípio ativo potencia

o aparecimento de colorações anormais da casca, pois afeta o mecanismo das porfirinas nos eritrócitos e no útero, havendo, por conseguinte, uma diminuição acentuada da sua concentração (García, J. , 2010). Os efeitos negativos não são apenas observáveis ao nível da cor da casca, verificando-se, igualmente, uma diminuição da coloração da gema, comprometimento da taxa de postura e da qualidade interna do ovo (Lohmann Tierzucht, n. d.).

6.1.6. Estados patológicos

Inúmeros estados patológicos, com influência na qualidade da casca e do ovo, têm sido referidos (Roberts, 2004). Estes podem ter etiologia viral, destacando-se os agentes que causam a doença de Newcastle, a Bronquite Infeciosa, *Egg Drop Syndrome* (EDS 76) e o Pneumovírus aviário (ART). Pode ainda ser identificada uma etiologia bacteriana, como a micoplasmose. Em ambas as situações repercussões a nível do oviduto podem ocorrer e, consequentemente, afetar a produção de ovos (Lohmann Tierzucht, n. d.).

Dentro dos estados patológicos referidos, reconhece-se que o que apresenta maior impacto económico, por perdas de produção, é a Bronquite Infeciosa, uma vez que constitui uma patologia respiratória que afeta, não só a qualidade da casca, como também a qualidade interna do ovo (Jacob *et al.*, 2011). Esta patologia é responsável por sérias quedas de produção, acompanhadas por uma elevada percentagem de ovos deformados, ovos com colorações de casca anormais e ovos com cascas finas (Burch, 2009_a; Lohmann Tierzucht, n. d.). Deste modo, os ovos produzidos por aves infetadas exibem formas anormais, *pimples* (depósitos de mineral), especialmente na zona equatorial do ovo, ficando a resistência da casca, geralmente, comprometida (Shane, 2008; García, J, 2010). Além de causar alterações a nível da casca, também afeta negativamente a qualidade interna do ovo, como consequência da destruição das células caliciformes do magno (Pérez de los Cobos, 2002), responsáveis pela síntese de ovomucina, bem como pela estrutura viscosa do albúmen (García, J., 2010). O albúmen torna-se, desta forma, mais aquoso, podendo persistir por longos períodos, mesmo depois da produção de ovos atingir níveis normais (Jacob *et al.*, 2011). Todos estes efeitos negativos podem ser agravados e prolongados, caso existam infeções secundárias, como micoplasmose e colibacilose (Burch, 2009a). O agente etiológico Coronavírus é, em geral, um problema persistente no bando, havendo, por isso, necessidade de um correto programa de vacinação, a fim de prevenir a ocorrência de doença causada por este agente (Pérez de los Cobos, 2002).

Adenovírus é um vírus ubiquitário e o agente etiológico do tão conhecido EDS 76. Caracteriza-se, essencialmente, por uma diminuição da produção de ovos, numa primeira

fase da postura, ou por uma queda súbita da produção, numa fase mais avançada do período de postura (Jacob *et al.*, 2011). Numa fase inicial, poder-se-ão verificar quedas de postura acima de 40%; regra geral, a queda de postura ronda os 10 a 15% (Burch, 2009a). Caso o bando seja exposto ao agente, num período de imunodepressão, durante o período de produção ocorrerão defeitos na casca, caracterizados pela redução da densidade desta e por uma textura arenosa, nos polos do ovo (Shane, 2008), podendo-se, inclusivamente, verificar ausência de casca, casca muito fina e ovos deformados (Jacob *et al.*, 2011).

Por norma, a exposição, a qualquer adenovírus respiratório ou a coronavírus, resulta numa diminuição transitória da intensidade da pigmentação da casca em ovos castanhos (Shane, 2008), a viscosidade do albúmen é afetada negativamente, bem como o peso do ovo, o qual poderá sofrer variações consideráveis (Jacob *et al.*, 2011).

O vírus da Doença de Newcastle provoca quedas de produção e ovos sem casca ou com casca muito fina (Burch, 2009a), podendo, por isso, afetar negativamente a sua resistência (TNA, 1995; García, J., 2010).

As estirpes velogénicas associam-se a um rápido aumento da mortalidade e sinais respiratórios ou neurológicos, com períodos em que a produção de ovos poderá mesmo cessar (Shane, 2008).

Alguns estados patológicos levam ao aparecimento de manchas na gema, sendo a coccidiose, um deles. Dentro do género *Eimeria*, a gravidade da patologia e a área intestinal afetada, constituem fatores decisivos para o grau de pigmentação desta estrutura, sendo a espécie *Eimeria tenella* a que provoca menores problemas ao nível da pigmentação (Seemann, 2000).

Situações de parasitismo por Nemátodes poderão, igualmente, originar efeitos adversos na qualidade do ovo, cascas pálidas e qualidade interna do ovo diminuída, principalmente descolorações da gema (Lohmann Tierzucht, n. d.). Caso não seja instituída a terapêutica devida, estes ascarídeos poderão causar queda de postura crónica; contudo são mais comuns em sistemas de produção extensivos (Burch, 2009a).

Infestações por piolho vermelho são uma causa frequente de stress para as aves e uma potencial causa de problemas, quer para a qualidade da casca, quer para a qualidade interna (Lohmann Tierzucht, n. d.).

As espécies de *Mycoplasma*, habitualmente isoladas em aves, causam, no geral, perdas económicas significativas. *Mycoplasma synoviae* está relacionado com deformações do ápex do ovo (Gole *et al.*, 2012) e é responsável por uma queda de postura entre 1 e 3%, principalmente na sua fase inicial (Burch, 2009a). Por outro lado, não se verificam diferenças significativas entre o estado serológico desta espécie de *Mycoplasma* e os parâmetros da

qualidade da casca, peso do ovo, peso, percentagem, espessura e resistência da casca (Gole *et al.*, 2012).

6.1.6.1. *Mycoplasma gallisepticum*

É reconhecido que a infeção por *Mycoplasma gallisepticum* em aves é a causa de perdas económicas significativas, apesar dos sinais clínicos nem sempre serem observáveis, atendendo às diferentes virulências encontradas em diferentes estirpes. Aquelas que não induzem sinais clínicos detetáveis são passíveis de serem identificadas através de sinais não específicos, como: diminuição do peso das aves em 10 a 20% (Kleven, 1990), redução da percentagem de postura e aumento do índice de conversão alimentar (Stipkovits & Kempf, 1996). Além disso, tem sido assinalada uma redução no consumo de alimento, o que poderá levar a um défice de ingestão de componentes essenciais que assegurem uma adequada produção e formação do ovo (Burnham *et al.*, 2002a). Desta forma, quando não estão presentes infeções secundárias, a micoplasmose é frequentemente subclínica ou leve (Burnham *et al.*, 2003b; Peebles *et al.*, 2006). A infeção por MG, em baixos níveis, pode ser exacerbada pelo aumento da taxa de produção de ovos, tornando-se, assim, fundamental o seguimento do bando durante todo o seu ciclo de produção (Peebles *et al.*, 2006).

Estirpes mais leves de MG poderão ser pouco patogénicas e induzir patologia respiratória, uma vez combinadas com outros agentes, tais como: de IBV, da Laringotraqueíte, da Doença de Newcastle, de Influenza, *E. coli* e *Haemophilus paragallinarum*. Pelo contrário, estirpes mais virulentas poderão causar perdas de produção significativas (Kleven, 1990). Tem sido especulado que a infeção pode ser disseminada via hematogénica, do trato respiratório para o oviduto, causando salpingites, com consequente redução da produção de ovos e diminuição da qualidade dos mesmos, sobretudo ao nível da calcificação da casca (Peebles *et al.*, 2006; Burnham *et al.*, 2002a).

Na fase aguda da doença, as quebras de produção rondam os 10 a 20% (cerca de menos 16 ovos por ave) (Stipkovits & Kempf, 1996; Burch, 2009b). Por sua vez, na fase crónica, a queda de postura ronda os 5 a 10% (Burch, 2009 a; 2009b).

De uma forma geral, aves infetadas acarretam custos para a indústria avícola, uma vez que apresentam menor produção de ovos e menor número de ovos por galinha alojada acumulando, maior índice de conversão alimentar e custos com a terapêutica (Burnham *et al.*, 2002a). É graças à monitorização dos parâmetros zootécnicos que os problemas associados à produção são precocemente detetados, sendo o primeiro sinal de alarme, o aumento da taxa de mortalidade (Burch, 2009a).

No estudo elaborado por Burnham (2002a), verifica-se um declínio na produção de ovos em aves inoculadas a partir das 44 semanas. Esse declínio torna-se significativamente menor, quando comparado com aves indemnes (os ensaios comparativos terminam às 54 semanas de idade). Neste mesmo estudo, aves inoculadas às 12 semanas de idade põem o primeiro ovo, aproximadamente, uma semana após o pavilhão indemne. No geral, cada ave controlo põe, em média, mais 19 ovos que as aves inoculadas durante o mesmo período (até às 54 semanas de idade). Bandos de galinhas poedeiras, positivas à estirpe de campo, produzem menos 16 ovos por galinha/ano que aves negativas ao agente.

Os autores Winner *et al.* (2000) demonstraram que o MG tem a capacidade de atravessar a barreira da mucosa e causar infeções sistémicas, podendo, inclusivamente, isolar-se espécies de *Mycoplasma* a partir de tecido hepático, as quais poderão interferir no metabolismo lipídico. O agente tem sido isolado a partir do fígado – principal fonte primária de lípidos – e região periovariana de galinhas (Vance *et al.*, 2008a). Segundo Burnham *et al.* (2003b), uma vez colonizado por FMG o fígado, a componente em lípidos, triglicéridos, fosfolípidos e lipoproteínas, destinada a ser depositados na gema, poderá ser afetada na sua síntese, com consequente redução da produção de ovos. Os autores Walzem *et al.* (1999) salientam que galinhas ineficientes ou mais velhas parecem perder a capacidade de sintetizar corretamente VLDL da gema, o que resulta numa diminuição da produção.

No estudo de Burnham *et al.* (2002b), nas 12 semanas subsequentes à inoculação pela estirpe F do MG (estirpe correspondente a vacina viva), verificam-se alterações das características hepáticas, ovárias e uterinas. Mostram, ainda, que a composição da gema sofre alterações pela inoculação de FMG, às 12 semanas de idade, concluindo-se que as alterações na produção de ovos, estão associadas com a colonização do fígado pelo agente. Esta colonização é responsável por alterações funcionais no metabolismo lipídico deste órgão e na deposição de lípidos nos folículos ovários, via hematogénea. Demonstra-se, também, que aves inoculadas com a estirpe F de MG, às 12 semanas, têm menos folículos ovários maduros e apresentam uma diminuição das proporções do istmo e vagina do trato reprodutivo, no fim da postura ($\approx$ 60 semanas), comparativamente com galinhas controlo. Salienta-se ainda a maior incidência de síndrome do fígado gordo hemorrágico (Burnham *et al.*, 2002b). Outros estudos versando as características da gema, é referem que a diminuição de lípidos sugere que a vacinação com a estirpe FMG pode inibir a deposição dos lípidos nesta estrutura (Burnham *et al.*, 2003a).

Branton *et al.* (1997) afirmam que a produção de ovos e as suas características, não são significativamente afetados, quando comparadas aves controlo com aves inoculadas com a estirpe F do MG, às 10 semanas. Referem também que a diminuição da

concentração de VLDL no sangue, pode ser diretamente responsável pela redução total de lípidos da gema. No entanto, as características físicas das partículas de VLDL, bem como a concentração de colesterol sérico dentro de cada partícula em circulação de VLDL, LDL e *high density lipoprotein* (HDL), em galinhas poedeiras comerciais, não são afetadas pela inoculação por FMG.

Segundo Burnham *et al.* (2003b), apesar de se terem revelado alterações no fígado, nos órgãos reprodutivos e nas características dos lípidos das gemas de aves, às 12 semanas, FMG não afetou a performance das aves, secundariamente às alterações no diâmetro das partículas de VLDL em circulação ou na relativa distribuição do colesterol sérico entre as classes das três lipoproteínas

As várias estirpes de MG variam em virulência, considerando-se a S6, a estirpe mais virulenta. Quando a S6MG é inoculada diretamente nos sacos aéreos de galinhas indemnes, 90% da população experimental exhibe lesões; uma vez inoculadas via saco vitelino, verifica-se deterioração da qualidade do ovo durante a infecção do trato reprodutivo das galinhas. Verifica também que 25% das aves exibem lesões macroscópicas no oviduto, enquanto que 81% das aves apresentam lesões em toda a extensão deste órgão. A infecção por S6MG é causadora de salpingite e leva a uma diminuição, acima de 4%, da produção de ovos, em poedeiras com 36 semanas de idade, quando alojadas em baterias (Peebles *et al.*, 2006).

A inoculação por S6MG, de acordo com um estudo realizado às 10 semanas de idade, produziu efeitos deletérios na produção de ovos, qualidade interna e qualidade da casca de poedeiras comerciais. Num estudo realizado por Parker *et al.* (2002) e Basenko *et al.* (2005), demonstra-se que a inoculação com S6MG, às 45 semanas, leva a uma redução significativa da qualidade da casca. Os autores mostram, também, que inoculações por S6MG, às 10, 22 e 45 semanas de idade, não têm qualquer efeito na produção de ovos, peso do ovo ou peso relativo da gema, entre as 24 e as 58 semanas.

Segundo Peebles *et al.* (2006), mesmo que o peso do ovo e gema não sejam afetados, o momento da inoculação, às 10, 22 ou 45 semanas de idade, poderá afetar o conteúdo em lípidos totais e ácidos gordos na gema.

Uma vez inoculadas com a estirpe 6/85 MG, é possível que aves produzam ovos alterados, sobretudo internamente, salientando-se a alteração da composição da gema. Tal facto pode influenciar o valor nutricional do mesmo e a aceitabilidade pelo consumidor, não esquecendo que este constitui um motivo de preocupação para a indústria de ovoprodutos (Viscione *et al.*, 2008a).

Vance *et al.* (2008b) afirmam que, apesar dos aumentos da incidência de cascas com *pimples* e manchas de sangue no ovo, estas aparecem numa fase mais avançada da

postura, causadas pela imunização com ts11/10-F/45. A performance de postura não é afetada negativamente pela inoculação simples com ts11/10, ou em conjugação com inoculação posterior, inoculação com a estirpe F do MG, ocorrida durante a postura.

6.1.7. Contaminação física

O esforço realizado pela ave, durante a expulsão do ovo, leva a que, em algumas ocasiões, sobretudo em bandos mais velhos, se liberte matéria fecal, mais ou menos líquida, cobrindo a casca, em maior ou menor grau. Durante esta fase, o ovo poderá não rolar até à cinta dos ovos, permanecendo demasiado tempo sobre a malha das baterias, o que aumenta o risco do ovo ser pisado pelas aves, picado ou conspurcado com matéria fecal. Ainda no momento da ovoposição, quando o tamanho do ovo é demasiadamente grande, poderão ocorrer hemorragias no esfíncter cloacal, ficando os ovos sujos com manchas de sangue, mais ou menos extensas (Moro, 2002).

Um mau estado higiénico dos pavilhões poderá facilitar a presença de insetos nas instalações. Um ectoparasita, relativamente comum em pavilhões de galinhas poedeiras, é o ácaro *Dermanyssus gallinae*, vulgarmente designado de piolho vermelho. A sua presença gera stress e debilidade nas aves, e quando a sua existência atinge um grau de infestação considerável, mancham os ovos com sangue, uma vez que estes rolam por cima dos ácaros presentes nas cintas dos ovos (Moro, 2002). O parasita causa depressão crónica, e afeta, tanto bandos em sistemas de produção extensivos, como em baterias; tornando-se fundamental a adoção de medidas de higiene e controlo (Burch, 2009a).

6.1.8. Alterações microbiológicas do ovo

Para Magalhães (2007), quando o ovo é posto, o seu conteúdo é geralmente estéril. Porém, à medida que o ovo arrefece, os microrganismos podem contaminá-lo através dos poros da casca. Também Moro (2002) admite que o ovo é “praticamente estéril” antes da ovoposição, mas reforça que tal situação é segura apenas em relação às bactérias responsáveis por fenómenos de putrefação. No caso de outros microrganismos, como *S. Enteritidis*, a transmissão vertical tem um papel preponderante.

Quanto às vias de contaminação bacteriana, destacam-se, essencialmente, três vias principais (Moro, 2002):

1. **Transovárica:** A gema é contaminada no momento em que passa para o infundíbulo;
2. **Através do oviduto:** A membrana vitelina e/ou o albúmen são contaminados durante o seu trânsito pelo oviduto;

3. **Através da casca:** Certas circunstâncias permitem a migração das bactérias desde o exterior da casca até ao interior do ovo.

Moro (2002) esclarece ainda que, para além dos perigos biológicos que são transmitidos ao ovo, pela galinha infetada, antes da deposição da respetiva casca, ou após a postura com conspurcação fecal externa, muitos outros agentes podem ser veiculados pelos ovos, penetrando através dos poros da casca. O mesmo autor alerta também para o facto de isto poder suceder em qualquer fase do circuito de comercialização, bastando, para isso, que ocorram deficiências de ordem higiénica ou ambiental, sobretudo relacionadas com a temperatura e humidade. À superfície do ovo, a flora prevalente é Gram-positiva, devido à sua maior tolerância a condições de baixa humidade. No que diz respeito à flora Gram-negativa, as bactérias mais frequentemente encontradas são: *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* e *Aeromonas*.

Efetivamente, os ovos podem ser portadores de agentes microbianos variados, alguns dos quais são suscetíveis de provocar graves DOA aos consumidores que os ingiram, sobretudo quando não submetidos a um processamento térmico adequado. Para além de salmonelose, os ovos podem ser infetados por diversos agentes, apresentando, geralmente, uma flora bacteriana mista, muitas vezes associada a fungos. Diversos estudos revelam que a superfície da casca possui uma elevada carga microbiológica, resultante do contato com diversas superfícies, como: ninhos, baterias, cintas dos ovos, manipulação dos operadores, embalagens, entre outros; sendo, por isso, a flora bacteriana bastante heterogénea (Moro, 2002). Se a carga microbiana inicial for elevada, quanto mais favoráveis forem as condições para o crescimento microbiológico, menor será o período de armazenamento do género alimentício. Não obstante, a suscetibilidade à deterioração do género alimentício não depende unicamente destes dois fatores, sendo também importantes os seus próprios fatores intrínsecos, tais como o pH, a presença de agentes antimicrobianos naturais e a percentagem de água presente no alimento (Forsythe, 2005).

Para alimentos frescos, Forsythe (2005) afirma que as principais alterações na qualidade podem ocorrer devido a dois fatores principais:

- Crescimento e metabolismo bacteriano, os quais poderão originar possíveis alterações de pH e a formação de compostos tóxicos, odores desagradáveis e formação de gás;
- Oxidação de lípidos e pigmentos presentes em alimentos gordurosos, o que resulta em sabores indesejáveis e na formação de compostos que possuem efeitos biológicos adversos ou que favoreçam a descoloração.

Apesar dos riscos associados ao consumo de ovos, estes constituem um género alimentício relativamente seguro, do ponto de vista sanitário, desde que a sua produção seja obtida em bandos sujeitos a um manejo sanitário ajustado ao controlo específico das afeções de natureza microbiana e parasitária, e que lhes sejam aplicados os acondicionamentos mais adequados (Moro, 2002).

6.1.8.1. *Bacillus cereus*

As aves são, provavelmente, contaminadas com *B. cereus*, nos centros de multiplicação, a partir dos ninhos contaminados e via vertical. O alimento composto para estes animal poderá, igualmente, ser uma fonte provável de *B. cereus*, uma vez que algumas matérias primas, como: o trigo e seus derivados, proteínas de carne e vegetal, poderão ser positivas ao agente. Os esporos formados são resistentes aos processos de fabrico e, uma vez ingeridos pela ave, colonizarão o seu intestino (Floriştean *et al.*, 2007). Segundo Bernardo (2011), a bactéria poderá também ser encontrada em ovos putrefatos.

6.1.8.2. *Enterobacteriaceae*

A contaminação por *E. coli* depende da virulência do serótipo, mas a existência de processos infecciosos predispõe à infeção. São eles: a coccidiose, a Bronquite Infeciosa, a Doença de Newcastle, a Doença de Gumboro, Anemia Infeciosa, infeções por *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae*, administração de vacinas vivas (*E. coli*), manejo inadequado e deficiências nutricionais. A contaminação do ovo ocorrerá por contaminação fecal da casca, podendo haver penetração de enterobactérias, sobretudo *E. coli*, para o interior do ovo (Ordóñez, 2006).

6.1.8.3. *Salmonella* spp.

A salmonelose aviária pode surgir na forma subclínica, principalmente em aves mais velhas, tratando-se, esta, da forma mais frequente e importante, numa relação de comensalismo entre os diferentes serótipos e a ave (Ordóñez, 2006; Burch, 2009a).

A infeção pode ocorrer via vertical para alguns serótipos, tais como: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg*; e por via horizontal, em todos os serótipos (Ordóñez, 2006).

Como fatores predisponentes, destacam-se: o stress, o qual poderá levar a um desequilíbrio orgânico, condições ambientais e patologias do trato digestivo, nomeadamente coccidiose (Ordóñez, 2006).

6.1.8.4. *Staphylococcus aureus*

Estafilococose é o termo mais utilizado para denominar o grupo de patologias presentes em aves domésticas, causadas por infecções por *Staphylococcus aureus*. Qualquer tipo de lesão, que tenha contiguidade com a epiderme, poderá constituir um local de possível infecção por estafilococos. Todavia, quando as aves se encontram imunodeprimidas ou sob stress, os estafilococos podem atravessar a superfície do epitélio respiratório e entrar na corrente sanguínea, com consequente septicemia, afetando órgãos como o fígado, o baço e o líquido sinovial de diversas articulações (Ordóñez, 2006).

Este agente potencia condições de septicemia e é responsável por artrites, tenossinovites e claudicações (Burch, 2009a).

6.1.9. Alterações químicas

A qualidade interna do ovo altera-se imediatamente após a postura, devido a fatores, como: oxidações (em especial da proteína do albúmen e gema), perda de água (com consequente perda de peso do ovo), perda de CO₂ (através dos poros da casca), elevação do pH e aumento da percentagem de sólidos totais (albúmen e gema), liquefação do albúmen, distensão e flacidez da membrana vitelina (a qual poderá romper em situações extremas) e alteração da viscosidade. Estas são mudanças responsáveis pela alteração de algumas propriedades funcionais, como a coagulação (Silva, 2006; Magalhães, 2007).

À medida que o ovo envelhece, ocorrem reações químicas no seu interior que transformam o albúmen denso em fluido. Essas reações envolvem o ácido carbônico (H₂CO₃) e causam aumento no pH do albúmen. O H₂CO₃, um dos componentes do sistema tampão do albúmen, dissocia-se, formando água e CO₂, o qual é libertado para o ambiente, através dos poros da casca, elevando o pH até 9,7 (Li-Chan *et al.*, 1995; Hatta *et al.*, 1997; Pérez de los Cobos, 2002; Magalhães, 2007; Severa *et al.*, 2009; Vidal, 2009).

Durante o armazenamento, a gema capta água proveniente do albúmen, tornando-se descentralizada e perdendo viscosidade. O seu volume aumenta, levando ao enfraquecimento e perda de elasticidade da membrana vitelina, o que provoca alteração na forma da gema, levando, ocasionalmente, à sua ruptura. Além disso, o pH da gema aumenta, podendo sofrer variação de 6,0 (ovo fresco) até 6,9, durante o armazenamento (Li-Chan *et al.*, 1995; Pérez de los Cobos, 2002; Vackavik & Christian, 2008; Severa *et al.*, 2009; Vidal, 2009; Jacob *et al.*, 2011). O pH das claras de ovos frescos, de acordo com Alleoni & Antunes (2001), é mais baixo, quando comparado ao pH de ovos armazenados nas temperaturas de 8°C e 25°C, independentemente do período de armazenamento. À temperatura ambiente, o pH de ovos com 7 dias chegou a 9,34 ± 0,03, e para ovos com 14

dias, elevou-se para $9,46 \pm 0,05$. Assim, conforme aumenta o pH do albúmen e gema, a qualidade do ovo diminui (Silva, 2006).

A variação do pH associa-se, ainda, uma fluidez do albúmen (Pérez de los Cobos, 2002). Uma vez aumentado o pH, o complexo de ovomucina dissocia-se, resultando num albúmen pouco viscoso, com grandes perdas da sua capacidade espumante e aglutinante, tão valorizadas na indústria de ovoprodutos (Kirunda *et al.*, 2001; Silva, 2006; Faria *et al.*, 2007).

Segundo Kirunda & McKee (2000), a viscosidade de ovos mais velhos é menor, quando comparada com ovos frescos. O estudo sugere ainda que a viscosidade influencia a resistência da membrana vitelina, e que esta perde integridade estrutural ao longo do tempo de armazenamento. Severa *et al.* (2009) afirmam que, durante este período, a viscosidade da gema também diminui. A gema fresca apresenta uma viscosidade de 2023mPa e, a gema separada de ovo armazenado durante 8 semanas a 16°C, apresenta uma viscosidade de 425mPa.

7. A INFLUÊNCIA DO *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* NA QUALIDADE DO OVO - OBJETIVOS

Graças ao estágio ter decorrido, tanto no setor primário, como no secundário, e tendo em conta que motores como a rentabilidade dos setores são decisivos para o sucesso dos mesmos, surgiu a pergunta de investigação geral: *Que agentes patogénicos afetam, com maior frequência, as galinhas poedeiras, influenciando negativamente a qualidade do ovo?*

Não obstante, em avicultura industrial, o surgimento de estados patológicos não ocorre com frequência, o que, de certa forma, viria a condicionar os possíveis objetos de estudo. Surge então uma outra questão mais específica: *Que agentes patogénicos afetam, com maior frequência, o aparelho respiratório das galinhas poedeiras, influenciando negativamente a qualidade do ovo?*

Foi em resposta a esta pergunta de investigação específica que se realizaram, neste estudo, testes serológicos, a fim de detetar a presença de doença em pavilhões de galinhas poedeiras, surgindo, então, o nosso verdadeiro objetivo geral. Assim sendo, o presente estudo visa avaliar a qualidade do ovo na presença de infeção por *Mycoplasma gallisepticum* em galinhas poedeiras.

Relativamente ao objetivo específico do presente trabalho, este foi definido à *posteriori*. O presente estudo visa avaliar parâmetros da qualidade dos diversos

constituintes do ovo, quer do ponto de vista físico-químico, quer microbiológico, quer nutricional, na presença de infeção por *Mycoplasma gallisepticum*.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. DESCRIÇÃO DO ESTUDO

O estudo “A influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo” foi elaborado durante o estágio curricular previsto no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, realizado nas empresas *Uniovo* e *Derovo*, durante os meses de outubro, novembro e dezembro de 2011, e janeiro de 2012.

Foram submetidas ao estudo, galinhas das estirpes Lohmann Brown e Isa Brown, com idades compreendidas entre 23 e 93 semanas (data de início da recolha de amostras biológicas), pertencentes a explorações associadas a duas empresas de avicultura de postura, sediadas em Ferreira do Zêzere, Portugal.

1.2. AMOSTRAGEM

1.2.1. Aves

Submeteram-se a testes de Elisa e deteção por técnica de biologia molecular (PCR), galinhas poedeiras de sete pavilhões, considerando-se como pavilhão infetado, aquele cujos testes demonstraram resultados positivos ao agente *Mycoplasma gallisepticum*, e pavilhão controlo, quando ambos os testes obtiveram resultados negativos.

O estudo “A influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo” teve como população em estudo, um pavilhão indemne³ de aves da estirpe Lohmann Brown e dois pavilhões infetados, designados por **infetado A** – com aves da estirpe Lohmann Brown – e **infetado B** – com aves da estirpe ISA Brown.

Para as análises de ELISA e deteção por técnica de biologia molecular (PCR) utilizaram-se 12 amostras biológicas de sangue e Swabs traqueais, respetivamente. Foram colhidas 12 amostras por pavilhão, segundo a metodologia em prática nas explorações, baseada em tabela publicada por Puente (2002). Nesta tabela, é possível selecionar o tamanho da amostra, estatisticamente significativa, para os diferentes tamanhos de população, níveis de prevalência e de confiança. Posto isto, o autor sugere que para uma população a estudar com mais de 1000 animais, o número de amostras a recolher é 12, com uma prevalência estimada >20 %, e nível de confiança de 90% (Puente, 2002).

³ Entre os sete pavilhões submetidos a testes de Elisa e deteção do agente por técnica de biologia molecular, apenas um apresentou resultados negativos para ambos os testes, sendo por isso considerado pavilhão indemne, apesar da diferença de idades, comparativamente com os dois pavilhões infetados.

1.2.1.1. Testes de diagnóstico

As amostras de sangue, colhidas aleatoriamente, foram submetidas a centrifugação, sendo, posteriormente, separado o soro, congelado e enviado para um laboratório externo de referência, a fim de detetar, por intermédio de testes de ELISA, anticorpos de: *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, IBV e ART (a pesquisa dos quatro tipos de Ac's, em simultâneo, são prática de rotina das explorações).

Os swabs traqueais, recolhidos em galinhas vivas, foram refrigerados e enviados para laboratório de referência, com a finalidade de detetar o antígeno de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*, através de biologia molecular (PCR).

1.2.2. Ovos

Uma vez identificados os três pavilhões a estudar, procedeu-se à recolha dos ovos e posterior estudo de qualidade. Recolheram-se na totalidade 140 ovos de cada pavilhão, de forma tripartida, segundo o plano na Tabela 6.

Tabela 6. Plano de recolha de ovos.

Data da recolha	População	Idade das aves à data	
		da recolha (Semanas)	Nº de ovos
21.12.2011	Indemne	32	42
	Infetado A	60	42
	Infetado B	102	42
2.1.2012	Indemne	34	42
	Infetado A	62	42
	Infetado B	104	42
10.1.2012	Indemne	35	56
	Infetado A	63	56
	Infetado B	105	56

A recolha de ovos ocorreu de forma aleatória, no cimo, meio e fundo dos pavilhões, em todas as baterias, durante o período da manhã. Os ovos foram colocados em cartões de 30 ovos e assim transportados, com o máximo cuidado, até ao laboratório da empresa *Derovo*. Em laboratório, as amostras foram submetidas a inúmeros ensaios, durante as 48 horas após a postura. Avaliaram-se parâmetros qualitativos, quer do ponto de vista físico-químico, quer microbiológico, quer nutricional, dirigidos a tipos de amostras específicas e calculados segundo determinados métodos de análise. O esquema da

metodologia empregue, para realizar este estudo, encontra-se representado nas Figuras 5, 7, 9 e 11.

Os ovos de cada pavilhão foram separados em grupos de 14 ovos (1 amostra = 14 ovos): 6 para avaliação físico-química, 6 para análise microbiológica e 2 para avaliação nutricional, na totalidade de 10 amostras por pavilhão.

Relativamente aos ensaios físico-químicos, foram efetuados os procedimentos identificados na Figura 5.

1.2.2.1. Ensaio físico-químico

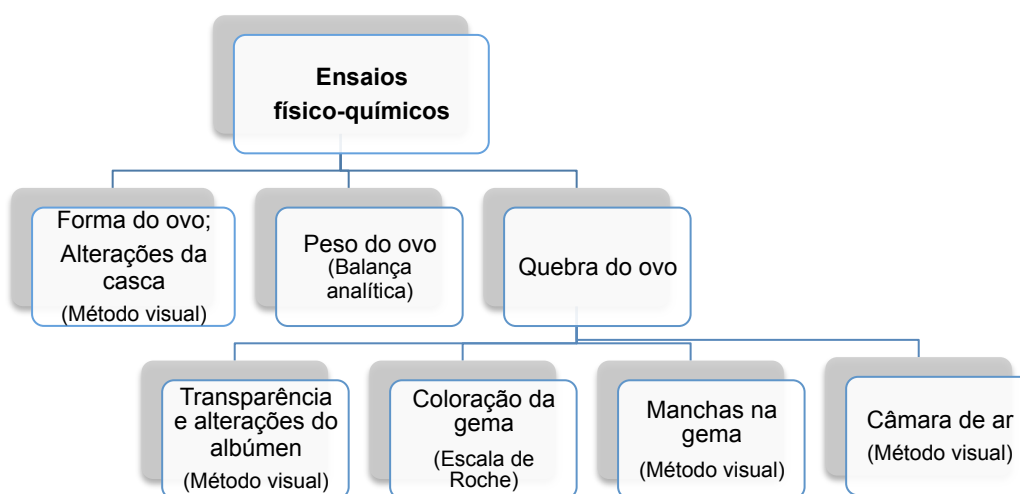


Figura 5. Metodologia aplicada na realização dos ensaios físico-químicos (Parte 1).

Cada grupo de ovos foi avaliado quanto à sua forma e quanto às alterações presentes na casca, através de uma análise meramente visual. De seguida, os ovos foram pesados, um a um, por grupos, em balança semi-analítica AND GF-3000® ($\pm 0,01g$). À *posteriori*, foram cuidadosamente quebrados, de forma a evitar perdas de casca. A gema foi separada do albúmen, e cada um destes constituintes colocado em recipientes distintos. As cascas, por sua vez, foram escurridas e colocadas em placas de Petri. Aquando da quebra dos ovos, a transparência e as alterações do albúmen e gema foram visualmente avaliadas, bem como a coloração desta última, recorrendo à Escala de Roche® (Figura 6). Os parâmetros até então avaliados, foram realizados à luz natural e no mesmo local, de forma a minimizar possíveis erros de leitura.

Apesar de a câmara de ar ser medida, por norma, à luz e mediante uma régua específica para o efeito, dada a postura dos ovos ter ocorrido, no máximo, nas 48 horas antecedentes à avaliação desta estrutura, este parâmetro foi avaliado por método visual, no momento da quebra.



Figura 6. Avaliação da transparência do albúmen por método visual e coloração da gema, com Escala de Roche®. (Foto original.)

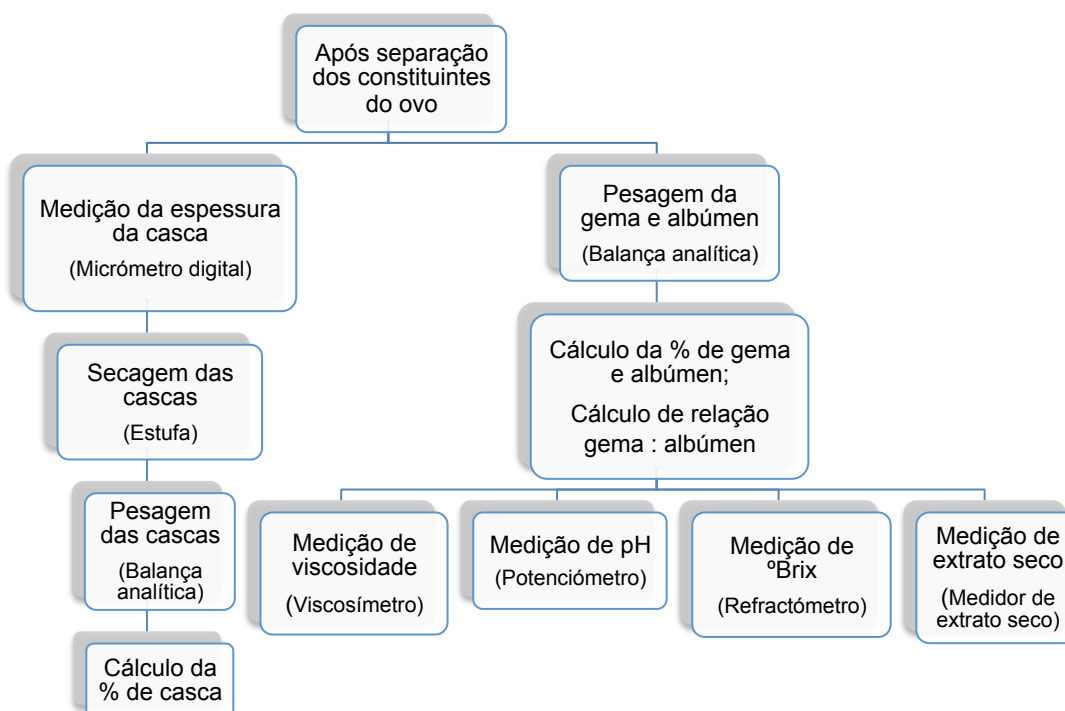


Figura 7. Metodologia aplicada na realização dos ensaios físico-químicos (Parte 2).

O passo seguinte consistiu na medição da espessura das cascas dos 6 ovos, de cada um dos grupos, sem remover as membranas testáceas, recorrendo ao micrómetro digital quantum Maschinen Germany®. De seguida, calculou-se o seu valor médio, por grupo (Figura 8). Após a avaliação do parâmetro espessura da casca, estas foram devidamente identificadas, por grupos, foram colocadas dentro da estufa WTC® binder, a uma temperatura de 50°C (± 1°C), durante 4 horas (± 20 min.) (Magalhães, 2007). Findo o tempo, foram retiradas da estufa e das caixas de Petri e pesadas numa balança semi-analítica AND GF-3000® (± 0,01g).

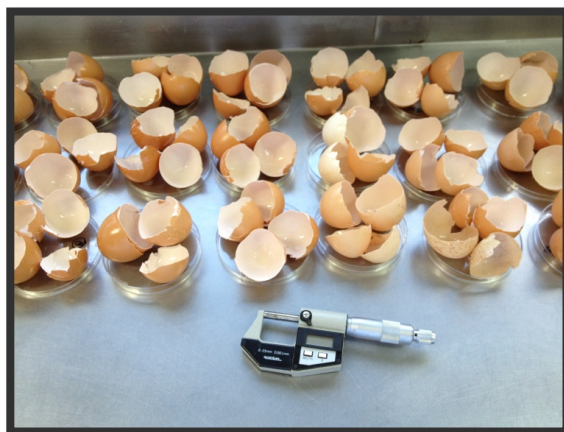


Figura 8. Preparação das cascas para posterior medição da espessura, por intermédio do micrómetro digital quantum Maschinen Germany®. (Foto original.)

As amostras de gema e albúmen foram pesadas, após a quebra do ovo, numa balança semi-analítica AND GF-3000® ($\pm 0,01g$). Com base nos dados obtidos – peso do ovo, gema, albúmen e casca – calcularam-se as percentagens dos mesmos, recorrendo às seguintes fórmulas:

- $\% \text{ Gema} = (\text{Peso}_{\text{Gema}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$
- $\% \text{ Albúmen} = (\text{Peso}_{\text{Albúmen}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$
- $\% \text{ Casca} = (\text{Peso}_{\text{Casca}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$

Com os dados do peso da gema e albúmen foi possível, também, calcular a sua relação (Relação gema : albúmen).

Com o auxílio de uma espátula, o albúmen e a gema foram ligeiramente homogeneizados, determinando-se: a viscosidade das amostras com um viscosímetro e respetivas hastes, Thermo Haake® Visco Tester 6^L, o pH, utilizando um potenciómetro de bancada HANNA Instruments® HI221, o °Brix, por intermédio de um refratómetro ATAGO® digital hand-held “Pocket” refractometer PAL- α , e, por fim, o conteúdo de sólidos totais ou extrato seco, com o auxílio de um medidor de extrato seco Mettler Toledo® – HB43 Halogen Moisture Analyzer.

1.2.2.2. Ensaios microbiológicos

Para os ensaios microbiológicos, e à semelhança dos ensaios físico-químicos, formaram-se 10 grupos de 6 ovos, por pavilhão. A Figura 9 representa, esquematicamente, os ensaios realizados.

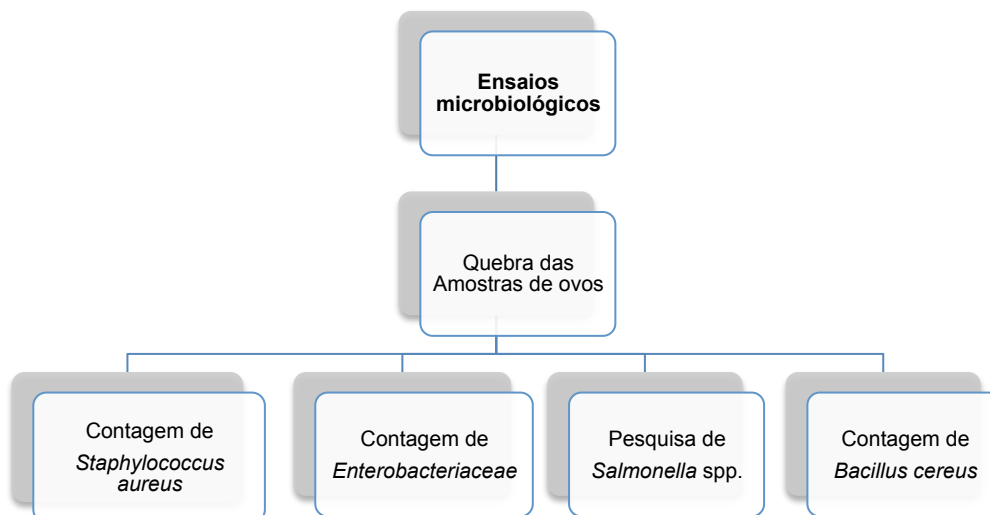


Figura 9. Metodologia aplicada na realização dos ensaios microbiológicos.

As amostras para ensaios microbiológicos foram preparadas, com os devidos cuidados de assepsia, junto do bico de Bunsen. Cada ovo foi limpo com papel absorvente e álcool a 70%, a fim de minimizar possíveis contaminações do ovo, por intermédio da casca, e possíveis contaminações cruzadas. De seguida (cf. Figura 10), procedeu-se à quebra dos ovos para dentro de sacos de Stomacher, onde, *à posteriori*, foram homogeneizadas as amostras, num Stomacher Seward® 400 circulator, durante 2 minutos.

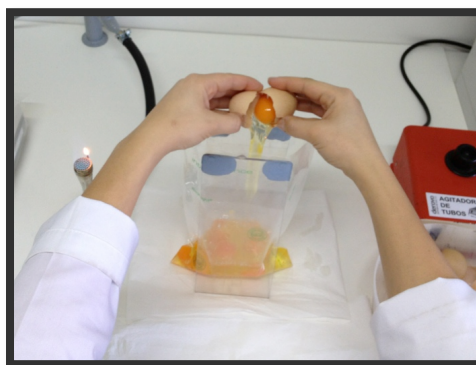


Figura 10. Quebra do ovo para dentro do saco do Stomacher. (Foto original.)

Após a preparação das amostras, procedeu-se à inoculação das placas com meio de cultura respetivo, para contagem de *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* e *Bacillus cereus* e para pesquisa de *Salmonella* spp., em câmara de fluxo laminar.

1.2.2.3. Ensaio nutricionais

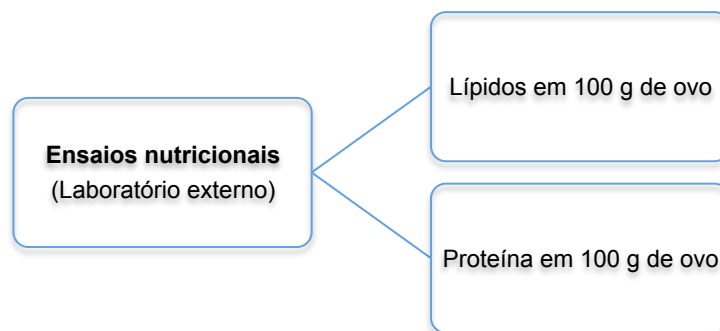


Figura 11. Metodologia aplicada na realização dos ensaios nutricionais.

Os ensaios nutricionais a proteínas e lípidos foram elaborados num laboratório externo de referência. Como amostra, enviaram-se 2 ovos por grupo, totalizando 20 ovos por pavilhão.

1.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A análise estatística deste estudo foi efetuada com *software* adequado (SPSS).

Na avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e nutricionais, expressas como variáveis contínuas, embora se tenha constatado a normalidade, nem sempre se verificou a igualdade de variâncias. Por essa razão, e dado o reduzido tamanho da amostra ($n = 30$ pares), optou-se por uma abordagem não paramétrica. Assim, nas variáveis numéricas a avaliar, as diferenças estatísticas entre os parâmetros em epígrafe e a presença e ausência de *Mycoplasma gallisepticum*, aplicou-se o teste de Mann-Whitney com um nível de significância (valor α) de 5%. No que diz respeito à avaliação das variáveis categóricas e sua relação com a presença de *Mycoplasma gallisepticum*, efetuaram-se tabelas de contingência e aplicaram-se testes de Qui-quadrado de independência e teste Exato de Fisher.

III. RESULTADOS

Os resultados obtidos no estudo encontram-se em Apêndice na página I.

2.1. AVALIAÇÃO DE VARIÁVEIS NUMÉRICAS

2.1.1. Características físicas externas no ovo

Na avaliação das **caraterísticas físicas externas do ovo**, avaliaram-se os seguintes parâmetros e retiraram-se as seguintes conclusões estatísticas, conforme se pode observar na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados dos parâmetros físicos dos ovos analisados.

Parâmetros Físicos	Pavilhões Infetados com MG			Pavilhão Indemne a MG		
	Média	I.C. 95%	p-value caso versus caso	Média	I.C. 95%	p-value casos versus controlo
Peso do Ovo (g)	69,81	[67,72 - 71,90]	0,151	62,32	[57,11-67,53]	0,001
Espessura casca (mm)	0,29	[-1,53 - 2,12]	0,287	0,30	[0,17 - 0,43]	0,466
Peso Casca (g)	6,83	[6,40 - 7,27]	0,879	6,22	[6,09 - 6,35]	0,012
% Casca	9,78	[9,33 - 10,24]	0,545	9,98	[9,34 - 10,62]	0,659

O teste de Mann-Whitney sugere que **existem diferenças estatisticamente significativas** entre os dois pavilhões infetados e o pavilhão controlo, relativamente aos parâmetros **peso do ovo** (p-value = 0,001) e **peso da casca** (p-value = 0,012). Quanto ao parâmetro **peso do ovo**, os pavilhões caso apresentam valores médios de 69,81g e o pavilhão controlo de 62,32g. No que diz respeito ao **peso da casca** ($p \leq 0,05$), o pavilhão livre do agente apresenta valores médios de 6,22g, e os infetados, valores médios de 6,83g.

Para os parâmetros **espessura da casca** e **percentagem da casca**, o teste sugere que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os três pavilhões em estudo, sendo que todos os p-value calculados, apresentam valores superiores a 0,05, como demonstrado na Tabela 7. O pavilhão controlo apresenta valores médios de espessura da casca 0,30mm e de percentagem de casca 9,98%, maiores que os encontrados nos pavilhões infetados, onde a espessura de casca toma o valor médio de 0,29mm, e a percentagem de casca 9,78%.

2.1.2. Características físico-químicas do albúmen

Na avaliação das **caraterísticas físico-químicas do albúmen**, estudaram-se os seguintes parâmetros e retiraram-se as seguintes conclusões do ponto de vista estatístico:

Tabela 8. Resultados dos parâmetros físico-químicos do albúmen dos ovos analisados.

Parâmetros físico-químicos	Pavilhões infetados com MG			Pavilhão indemne a MG		
	Média	I.C. 95%	p-value caso versus caso	Média	I.C. 95%	p-value casos versus controlo
Peso do Albúmen (g)	43,09	[40,67 - 45,51]	0,7	31,56	[-65,77 - 128,89]	0,07
% Albúmen	61,71	[59,35 - 64,07]	0,07	50,73	[-109,75 - 211,21]	0,4
pH Albúmen	8,64	[8,49 - 8,79]	0,26	8,50	[7,36 - 9,64]	0,39
°Brix Albúmen	14,35	[13,80 - 14,90]	0,02	15,55	[14,92 - 16,19]	0,0002
% Extrato Seco Albúmen	11,75	[11,34 - 12,15]	0,03	12,94	[9,26 - 16,62]	0,0002
Viscosidade Albúmen (mPa)	20,50	[17,40 - 23,60]	0,85	24,50	[-7,27 - 56,27]	0,097

O teste de Mann-Whitney sugere que **não existem diferenças estatisticamente significativas** entre os pavilhões em estudo para os **parâmetros peso do albúmen, percentagem de albúmen, pH do albúmen e viscosidade do albúmen**, uma vez que os p-value, sugeridos pelo teste, são sempre superiores ao nível de significância (5%) do estudo. No que diz respeito ao peso do albúmen, o seu valor médio, nos pavilhões infetados pelo agente, é maior (43,09g), comparativamente ao pavilhão controlo (31,56g), o que corresponde a uma percentagem de albúmen média de 61,71% e 50,73%, respetivamente. O valor médio de pH dos pavilhões infetados é de 8,64, bastante próximo do pavilhão controlo, com valores médios de 8,50. A viscosidade média, resultante dos pavilhões infetados, é de 20,50mPa, e do pavilhão indemne, 24,50mPa.

Quanto aos restantes parâmetros, **°Brix de albúmen** (p-value = 0,02) e **percentagem de extrato seco do albúmen** (p-value = 0,03), encontram-se diferenças nos dois pavilhões positivos a *Mycoplasma gallisepticum*, o que é comprovado no teste de Mann-Whitney pelos valores de p-value inferiores a 0,05. Assim, **não se podem atribuir as diferenças ao agente em estudo** e, consequentemente, não é possível comparar os dois pavilhões caso com o pavilhão controlo.

Quanto às variáveis altura da **câmara de ar e transparência do albúmen**, não se realizou análise estatística, uma vez que esteve sempre presente normalidade de resultados para os três pavilhões em estudo.

2.1.3. Caraterísticas físico-químicas da gema

Relativamente às **caraterísticas físico-químicas da gema**, foram estudados os seguintes parâmetros apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados dos parâmetros físico-químicos da gema dos ovos analisados.

Parâmetros físico-químicos	Pavilhões infetados com MG			Pavilhão indemne a MG		
	Média	I.C. 95%	p-value caso versus caso	Média	I.C. 95%	p-value casos versus controlo
Coloração Gema	13,17	[12,5 - 13,96]	0,04	13,5	[7,15 - 19,85]	0,003
Peso Gema (g)	17,15	[16,49 - 17,81]	0,004	14,82	[12,6 - 17,05]	0,0005
% Gema	24,6	[23,05 - 26,15]	0,76	23,79	[22,20 - 25,37]	0,07
pH Gema	6,1	[6,06 - 6,27]	0,14	6,12	[6,05 - 6,18]	0,95
°Brix Gema	48,42	[47,78 - 49,05]	0,058	48,45	[46,54 - 50,36]	0,88
% Extrato Seco Gema	50,54	[49,53 - 51,54]	0,19	50,46	[47,79 - 53,13]	0,77
Viscosidade Gema (mPa)	1073,33	[652,48 - 1494,24]	0,49	900	[-2022,43 - 3822,43]	0,74
Relação Gema : Albúmen	0,40	[0,366 - 0,433]	0,096	0,50	[1,11 - 2,11]	0,63

Tal como sugere o teste de Mann-Whitney, para os parâmetros **percentagem de gema, pH da gema, °Brix da gema, percentagem de extrato seco da gema, viscosidade da gema e relação gema : albúmen**, não se encontram diferenças estatisticamente significativas entre os três pavilhões em estudo, dado os valores de p-value calculados serem superiores a 0,05.

A percentagem de gema média, para os pavilhões infetados, é de 24,6%, ao passo que para o pavilhão controlo é de 23,79%. Os pavilhões positivos a MG apresentam um pH médio de 6,1, e o negativo ao agente, de 6,12. Quanto ao °Brix da gema, esta apresenta valores médios de 48,42%, nos dois pavilhões caso, e 48,45%, no pavilhão controlo. O extrato seco dos pavilhões infetados e do indemne apresentam valores médios de 50,54% e 50,46%, respetivamente. A gema, proveniente de ovos dos pavilhões caso, apresenta uma viscosidade média de 1073,33mPa, ao passo que a viscosidade da gema de ovos controlo apresenta valores médios de 900mPa. No que diz respeito à relação gema : albúmen, esta é maior no pavilhão indemne (0,5 *versus* 0,4).

Contudo, para os parâmetros **coloração e peso gema**, o teste sugere, mais uma vez, a existência de diferenças entre os dois pavilhões caso, com valores de p-value 0,04 e 0,004 ($p \leq 0,05$), respetivamente. Assim, as **diferenças encontradas não poderão ser associadas à presença de *Mycoplasma gallisepticum***, não fazendo sentido comparar os dois pavilhões positivos com o pavilhão indemne.

2.1.4. Parâmetros nutricionais

Para os **parâmetros nutricionais** em 100g de ovo, **proteínas e lípidos**, o teste de Mann-Whitney sugere que **não existem diferenças estatisticamente significativas** entre

os pavilhões caso e o controlo, tal como se pode verificar pelos valores de p-value da Tabela 10. Em 100g de ovo proveniente de pavilhões infetados por MG, existe, em média, 12,58g de proteínas e 9,03g de lípidos, ao passo que em 100g de ovo proveniente do pavilhão indemne, existe, em média, 12,60g de proteínas e 8,65g de lípidos.

Tabela 10. Resultados dos parâmetros nutricionais dos ovos analisados.

Parâmetros nutricionais	Pavilhões infetados com MG			Pavilhão indemne a MG		
	Média	I.C. 95%	p-value caso versus caso	Média	I.C. 95%	p-value casos versus controlo
Proteínas (g/100g)	12,58	[12,17 - 13]	0,66*	12,60	[11,33 - 13,87]	0,52*
Lípidos (g/100g)	9,03	[8,23 - 9,84]	-	8,65	[5,47 - 11,83]	0,905*

*Apesar de se ter efetuado análise inferencial com cálculo de *p-value* para parâmetros como as proteínas e lípidos, o reduzido tamanho da amostra, deve ser tido em consideração. A abordagem não paramétrica, preconizada para este tipo de situações, foi aplicada. As conclusões devem, contudo, atender à deficiência do tamanho amostral nestes parâmetros, e assim serem consideradas preliminares.

2.2. AVALIAÇÃO DE VARIÁVEIS CATEGÓRICAS

2.2.1. *Salmonella* spp. versus *Mycoplasma gallisepticum*

Os resultados conformes quanto à presença ou ausência de *Salmonella* spp. obtidos para todas as amostras sugerem **não haver diferenças** entre os pavilhões positivos a MG e o pavilhão indemne.

2.2.2. *Enterobacteriaceae* versus *Mycoplasma gallisepticum*

Tabela 11. Resultados da contagem de *Enterobacteriaceae* nos ovos analisados.

	<i>Enterobacteriaceae</i>		Total
	Conforme	Não conforme	
Caso	19	1	20
Controlo	10	0	10
Total	29	1	30

Efetuou-se o Teste Exato de Fisher que sugere **não haver diferenças estatisticamente significativas** entre os pavilhões com *Mycoplasma gallisepticum* e o pavilhão indemne (p-value = 0,99).

Salienta-se que, apenas se verifica um resultado não conforme (5%), numa amostra correspondente a um pavilhão caso ($p > 0,05$), pelo que mais dados podem ajudar a esclarecer este resultado.

2.2.3. *B. cereus* versus *Mycoplasma gallisepticum*

Os resultados obtidos de conformidade para todas as amostras relativamente à contagem de *B. cereus* **sugerem não haver diferenças** entre os pavilhões positivos ao agente e o pavilhão indemne.

2.2.4. *Staphylococcus aureus* versus *Mycoplasma gallisepticum*

Tabela 12. Resultados da contagem de *Staphylococcus aureus* nos ovos analisados.

	<i>Staphylococcus aureus</i>		Total
	Conforme	Não conforme	
Caso	13	7	20
Controlo	6	4	10
Total	19	11	30

Efetuuou-se o Teste Exato de Fisher, que sugere **não haver diferenças estatisticamente significativas** entre os pavilhões com *Mycoplasma gallisepticum* e o pavilhão indemne ($p\text{-value} = 0,99$). Dos ensaios realizados para contagem de *Staphylococcus aureus* nos ovos, 35% dos resultados dos ovos provenientes dos pavilhões infetados não se encontram em conformidade, assim como 40% das amostras colhidas no pavilhão controlo.

2.2.5. Forma do Ovo versus *Mycoplasma gallisepticum*

Tabela 13. Resultados da forma dos ovos analisados.

	Forma do ovo		Total
	Conforme	Não conforme	
Caso	5	15	20
Controlo	8	2	10
Total	13	17	30

O Teste Exato de Fisher sugere que **existe uma associação estatisticamente significativa** entre a forma dos ovos dos pavilhões infetados com *Mycoplasma gallisepticum* e o pavilhão indemne ($p\text{-value} = 0,007$). Tal facto revela uma importante relação entre a forma do ovo e a infeção por MG. Dos ovos avaliados dos pavilhões caso, 75% apresentam-

se não conformes quanto à forma, ao passo que no pavilhão controlo, os ovos não conformes representam apenas 20%.

2.2.6. Coloração da casca versus *Mycoplasma gallisepticum*

Tabela 14. Resultados da coloração da casca dos ovos analisados.

	Coloração da casca		Total
	Conforme	Não conforme	
Caso	3	17	20
Controlo	4	6	10
Total	7	23	30

O Teste Exato de Fisher sugere **não haver relação estatisticamente significativa** entre a coloração da casca dos ovos dos pavilhões infetados com *Mycoplasma gallisepticum* relativamente às amostras do pavilhão livre do agente (p-value = 0,143). Os pavilhões caso apresentam 85% de ovos não conformes, e o pavilhão controlo, 60%.

2.2.7. Manchas na gema versus *Mycoplasma gallisepticum*

Tabela 15. Resultados da presença de manchas na gema dos ovos analisados.

	Manchas na gema		Total
	Conforme	Não conforme	
Caso	11	9	20
Controlo	6	4	10
Total	17	13	30

Tal como sugere o Teste Exato de Fisher, a presença de **manchas na gema não se revela significativa, do ponto de vista estatístico**, entre os pavilhões infetados com *Mycoplasma gallisepticum* e o pavilhão indemne (p-value = 0,99). Cerca de 45% dos resultados são de “não conformidade” para os pavilhões caso, e de 40% para o pavilhão controlo.

IV. DISCUSSÃO

Conforme já fora referido (cf. Cap. 6, 6.1.6.1.), a infeção por *Mycoplasma gallisepticum* causa importantes perdas económicas, apesar dos sinais clínicos nem sempre serem observáveis, devido às diferentes virulências entre estirpes. Aquelas que não induzem sinais clínicos detetáveis são passíveis de serem identificadas através de sinais não específicos, tais como: diminuição do peso das aves (Kleven, 1990), redução da percentagem de postura e aumento do índice de conversão alimentar (Stipkovits & Kempf, 1996). Deste modo, aquando da ausência de infeções secundárias, a micoplasmose é, frequentemente, subclínica (Burnham *et al.*, 2003b; Peebles *et al.*, 2006). Na fase aguda da doença, as quebras de produção rondam os 10 a 20% (uma redução de cerca de 16 ovos por ave) (Stipkovits & Kempf, 1996; Burch, 2009b); e na fase crónica, a queda de postura ronda os 5 a 10% (Burch, 2009a; 2009b).

Ao analisar os resultados obtidos no presente estudo, relativos aos parâmetros físico-químicos, observa-se uma diferença significativa entre o **peso do ovo** dos pavilhões infetados e do indemne, sendo, este último, o que apresenta pesos inferiores. Todavia, os valores mais elevados para os pavilhões infetados poderão ser justificados, não pela presença do agente, mas sim pela idade mais avançada dos bandos, o que leva a um aumento, *per si*, do peso do ovo (cf. Cap. 6, 6.1.1.2) (Faria *et al.*, 2007; Garcia *et al.* 2010).

No que diz respeito ao **peso do albúmen**, o seu valor médio nos pavilhões infetados pelo agente é maior que o verificado no pavilhão controlo, correspondendo a uma **percentagem de albúmen** média de 61,71% e 50,73%, respetivamente. Apesar do **peso da gema**, neste estudo, não poder ser associado à presença de MG, a percentagem média desta, para os pavilhões infetados, é de 24,6%, ao passo que para o pavilhão controlo é de 23,79%.

Basenko *et al.* (2005) mostram que inoculações por S6MG, às 10, 22 e 45 semanas de idade, não têm qualquer efeito no peso do ovo ou peso da gema relativo, entre 24 e 58 semanas, o que se encontra em consonância com os resultados obtidos. A reforçar estes resultados, Albrecht (2011), no estudo que compara galinhas selecionadas para baixos e elevados títulos de anticorpos de *Mycoplasma gallisepticum*, afirma que o parâmetro peso do ovo também não sofreu qualquer alteração entre os dois grupos em estudo. Os autores Peebles *et al.* (2006) (cf. Cap. 6, 6.1.6.1.) concluíram que, uma vez inoculadas as aves, embora o peso do ovo e da gema não sejam afetados, o momento da inoculação poderá interferir no conteúdo em lípidos totais e ácidos gordos na gema (a discussão do parâmetro dos lípidos será abordada adiante). Para aves inoculadas com a estirpe S6MG, das 22 às 44 semanas, os autores Basenko *et al.* (2005) afirmam que estas não apresentam alterações

significativas para a percentagem de gema, apesar da idade das aves influenciar, fortemente, a percentagem de albúmen e a relação gema : albúmen (parâmetro discutido em seguida). Os argumentos apresentados afastam a ideia de que as diferenças significativas encontradas no presente estudo para o peso do ovo, e as diferenças não significativas nos parâmetros peso do albúmen, percentagem de albúmen e gema, estão relacionadas com a presença de *Mycoplasma gallisepticum*.

Segundo os autores Faria *et al.* (2007), Magalhães (2007) e Zita *et al.* (2009), a relação íntima existente entre o peso do ovo e o aumento da idade da ave é significativa.

Para Rossi & Pompei (1995), os pesos do albúmen e gema aumentam com a idade da ave, ainda que de forma mais acentuada na gema. A relação é transposta para a percentagem de gema, que aumenta, igualmente, à medida que o ciclo de postura progride. No presente estudo observou-se, igualmente, um maior peso médio de albúmen e de percentagem de albúmen e gema, em ovos provenientes de aves mais velhas.

Já para Silversides & Scott (2001), Faria *et al.* (2007) e Garcia *et al.* (2010), o peso do ovo e a percentagem da gema aumentam, enquanto que as percentagens de casca e albúmen diminuem em bandos mais velhos.

Como já foi referenciado por Faria *et al.* (2007) (cf. Cap. 6, 6.1.1.2.), apesar de aves mais velhas apresentarem maior peso do ovo e percentagem de gema, comparativamente a aves mais jovens, são estas últimas que produzem ovos de melhor qualidade interna⁴.

Relativamente à **relação gema : albúmen**, esta é maior no pavilhão com aves mais jovens, o pavilhão indemne, onde o valor médio (0,5) se aproxima do referenciado por Bernardo (2011) – relação gema : albúmen de um ovo de galinha = 34 : 66 (0,52) (cf. Cap. 5, 5.3.12.). Já o valor médio de relação gema : albúmen, dos pavilhões infetados, é de 0,4, sendo este valor próximo do *standard* assumido pela empresa *Derovo* – 1 : 3 (0,33).

Não foi encontrada bibliografia que estabeleça o paralelismo entre a relação gema : albúmen com a presença de *Mycoplasma gallisepticum*. Porém, num estudo elaborado por Viscione *et al.* (2008b), é referido que a relação gema : albúmen é significativamente mais baixa em aves inoculadas, às 10 semanas de idade, com a estirpe vacinal 6/85MG, em conjugação com uma vacina da estirpe FMG, às 22 semanas, comparativamente com o grupo controlo e o grupo inoculado, às 10 semanas de idade, com 6/85MG, em conjugação com FMG, às 45 semanas.

Há autores que estabelecem uma relação entre a relação gema : albúmen, o tamanho do ovo e a idade da ave. De acordo com Ahm *et al.*, (1997), quanto maior o tamanho do ovo, menor é a relação gema : albúmen; o que está de acordo com os

⁴ Ver conceito de qualidade interna, capítulo 5, ponto 5.2..

resultados do presente estudo. No mesmo estudo, os autores relatam que esta relação aumenta com a idade da ave, contudo, identificam limites. As aves com 97 semanas de idade apresentam uma menor relação gema : albúmen, comparativamente com aves de 78 semanas; presume-se, portanto, que a inversão ocorra neste intervalo de tempo. Estes dados levam a crer que o valor obtido na relação gema : albúmen, nos pavilhões infetados, possa estar relacionado com o facto de um deles (Infetado B) apresentar idades compreendidas entre 102 – 105 semanas.

No que diz respeito ao **peso da casca**, os valores entre o pavilhão livre do agente (valores médios de 6,22g) e os valores dos pavilhões infetados (valores médios de 6,83g) foram estatisticamente significativos. Não obstante, os parâmetros **percentagem** e **espessura da casca** não se revelam estatisticamente significativos, uma vez que apresentam valores médios menores para os pavilhões caso. Apesar de o peso da casca ser superior nos ovos provenientes de pavilhões infetados, o que poderia ser indicativo de melhor qualidade desta estrutura, tal não se verifica quando analisados, simultaneamente, os valores de percentagem de casca (caso = 9,78% *versus* controlo = 9,98%) e de espessura de casca (caso = 0,29mm *versus* controlo = 0,30mm). Daqui conclui-se que o pavilhão indemne possui uma melhor qualidade de casca, comparativamente com os pavilhões infetados, ainda que não significativa. Assume-se, igualmente, que uma média de peso de casca superior nos pavilhões caso deve-se, por isso, a um maior tamanho do ovo.

A espessura da casca tem um valor médio de 0,24 a 0,40mm, contudo, não de uma forma uniformizada, pois apresenta-se mais densa no polo apical e mais porosa no polo basal (Briz, 1995). Para Lajusticia (2010) (cf. Cap. 5, 5.3.5.), a casca tem uma espessura aproximada de 0,35 mm. Comparando os valores obtidos no estudo, com os referenciados pelos autores, é possível observar que a espessura da casca, nos pavilhões infetados e indemne, se enquadra no intervalo indicado por Briz (1995) e é ligeiramente menos espessa que o valor médio sugerido por Lajusticia (2010).

A inoculação por S6MG, às 10 semanas de idade, produz efeitos deletérios na produção de ovos, qualidade interna e qualidade da casca de poedeiras comerciais, em estudo realizado por Parker *et al.* (2002). À semelhança do presente estudo, Basenko *et al.* (2005) demonstram que aves inoculadas com S6MG exibem uma redução significativa da percentagem de casca, a partir das 45 semanas de idade, todavia, tal facto deve-se à influência que a idade tem neste parâmetro. Por outro lado, a infeção por MG, uma vez disseminada via hematogénea, do trato respiratório para o oviduto, poderá ser a causa de salpingites e, por conseguinte, de uma redução na produção de ovos e da sua qualidade, sobretudo, ao nível da calcificação da casca (Burnham *et al.*, 2002a; Peebles *et al.*, 2006).

Basenko *et al.* (2005) reforçam que, em resposta à estirpe S6MG, principalmente em aves mais velhas, o trato reprodutivo poderá ser afetado, levando ao comprometimento da qualidade da casca. Como é referido por Burnham *et al.* (2002a), existe um défice de informação sobre as características da casca, provenientes de aves infetadas por MG. Porém, os ensaios executados pelos autores mostram que a percentagem de peso da casca de aves inoculadas com a estirpe FMG é mais alta, em seis das oito semanas do estudo, sendo em duas delas (às 24 e 34 semanas de idade), significativamente maior, comparativamente com aves livres da estirpe FMG. Ainda, no estudo de Burnham *et al.* (2002a), apenas aves inoculadas às 46 e 52 semanas de idade, apresentam menor percentagem de peso de casca que as aves controlo, ainda que não seja uma diferença significativa. Tal facto pode ser indicativo de que aves inoculadas depositam maior quantidade de carbonato de cálcio na casca do ovo, durante o pico de produção que aves controlo. No estudo de Albrecht (2011), aves, com títulos de anticorpos mais baixos, produzem ovos com cascas mais finas e leves, comparativamente com as que produzem elevado número de títulos.

Além da infeção por MG causar diminuição da qualidade da casca, a idade é outra variável incontornável neste estudo e apoiada por variados autores. Albrecht (2011) (cf. Cap. 6, 6.1.1.2.) afirma que a maioria dos parâmetros qualitativos do ovo é afetada, negativamente, com a idade da poedeira, à exceção do peso do ovo; ao passo que Magalhães (2007) reforça que os parâmetros peso da casca, espessura da casca e percentagem, são menores em ovos de galinhas velhas. O autor Shane (2008) salienta que, a partir das 65 semanas de idade, se verifica uma acentuada deterioração da densidade da casca, consequência da menor eficiência do útero na deposição ativa de nutrientes minerais nessa estrutura. Aliada à diminuição da sua espessura, observa-se a simultânea diminuição da resistência desta, facto esse acentuado pela idade, dada a diminuição das reservas de cálcio no tecido ósseo (Pérez de los Cobos, 2002; Magalhães, 2007; García J. , 2010). Os autores Zita *et al.* (2009) referem que a maior percentagem de casca se verifica na estirpe ISA Brown, em todas as fases do estudo, o que reforça a ideia da influência do genótipo neste parâmetro. Não obstante, à medida que a idade avança, há um aumento do peso da casca, mas diminuição da sua percentagem, qualquer que seja o genótipo.

Diminuída a espessura e resistência da casca, as perdas de humidade e as trocas de CO₂ com o ambiente poderão aumentar. Por conseguinte, o pH aumentará mais rapidamente, levando à diminuição da viscosidade do albúmen denso e, afetando, assim, a percentagem de extrato seco do ovo (parâmetro discutido mais à frente) (Faria *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2010).

Os resultados referentes à **coloração da casca** mostram que os pavilhões caso apresentam 85% de ovos não conformes, e o pavilhão controlo 60%, não sendo a relação deste parâmetro com a presença de *Mycoplasma gallisepticum*, estatisticamente significativa. Não obstante, há fatores que interferem com a coloração da casca, tais como situações de stress, responsáveis pela libertação de epinefrina, e que influenciam negativamente a pigmentação do ovo (García, J., 2010) (cf. Cap. 6, 6.1.3.). Há a salientar que a intensidade da cor da casca diminui gradativamente, à medida que a idade da ave avança, aumentando, assim, o número de ovos com cascas pálidas, no final da postura (Odabaşı *et al.*, 2007; García, J., 2010; Lohmann Tierzucht, n. d.), uma vez que a quantidade de pigmento, depositado na superfície da casca, não aumenta proporcionalmente com o aumento do tamanho do ovo (Odabaşı *et al.*, 2007; Lohmann Tierzucht, n. d.). A maior heterogeneidade da cor da casca ocorre a partir das 40 semanas de idade (cf. Cap. 6, 6.1.1.2.). Assim sendo, esta alteração da coloração da casca nos pavilhões positivos ao *Mycoplasma gallisepticum*, embora não significativa, poderá ser indicativa de uma mais avançada idade dos bandos. Este parâmetro constitui também uma característica essencialmente genética, com variações entre estirpes e indivíduos, mesmo dentro do mesmo bando (Vackavik & Christian, 2008; Jacob *et al.*, 2011).

Quanto ao parâmetro **forma do ovo**, e do ponto de vista estatístico, este revela uma importante relação com a infeção por MG, uma vez que 75% dos ovos provenientes de pavilhões caso são não conformes quanto à forma, ao passo que, no pavilhão indemne, os ovos não conformes representam apenas 20%. No estudo de Albrecht (2011), os ovos provenientes de aves selecionadas para elevados títulos de anticorpos de MG apresentam formas mais próximas do normal, comparativamente com aves selecionadas para baixos títulos de anticorpos.

Um outro fator que influencia a forma do ovo é o stress (cf. Cap. 6, 6.1.3.). Este poderá desencadear uma maior incidência de ovos com sulcos ou marcas, resultado da contração do útero e retenção do ovo, durante os primeiros estágios de formação (Roberts, 2004). Pode-se associar o **pavilhão infetado A** ao fator stress, uma vez que o exterior do pavilhão se encontrava em obras, quer no período antecedente ao estudo, quer durante o mesmo, o que poderia causar algum stress às aves. Todavia, trata-se de uma consideração meramente empírica.

Relacionando o **pH** dos ovos recolhidos dos pavilhões infetados e do indemne, para gema e albúmen, constata-se que as diferenças encontradas não são significativas. A diferença entre os valores médios de pH da gema para os pavilhões caso (6,1) e controlo (6,12) é desprezível; o valor médio de pH do albúmen dos pavilhões infetados é de 8,64,

bastante próximo do pavilhão controlo, com valor médio de 8,50. Para Kirunda & Mckee (2000) (cf. Cap. 5, 5.3.8.), o pH da gema fresca ronda os 5,93, e do albúmen 8,95, para um ovo posto há menos de 24 horas. Estes são resultados que em muito se aproximam aos deste estudo, excluindo, à partida, qualquer relação entre o MG e o pH da gema e albúmen de ovos provenientes de galinhas infetadas. Hatta *et al.* (1997) e Pérez de los Cobos (2002) referem, por sua vez, que o valor do pH do albúmen fresco ronda os 7,6-7,9, enquanto que para Li-Chan *et al.* (1995) e García, J., (2010), um ovo expulso recentemente apresenta, para valores de pH do albúmen, 7,6, e, 24 horas depois, a 20°, um pH de 8,5. Na empresa *Derovo*, os valores *strandard* para o pH da gema encontram-se entre 6,20 e 6,40, e para o albúmen, entre 9,10 e 9,50. Estes valores de pH do albúmen são diferentes dos resultados encontrados, contudo, poder-se-ão justificar pelo não processamento dos ovos em menos de 24 horas.

Rossi & Pompei (1995) (cf. Cap. 6, 6.1.1.2.) demonstram que o pH da gema, mas sobretudo o do albúmen, apresenta baixa variabilidade ao longo do ciclo de postura, mostrando, por isso, a pouca influência do fator idade do bando neste parâmetro, o que corrobora os resultados do presente estudo. Silversides & Scott (2001) acrescentam que o pH do albúmen, além de não ser afetado pela idade da ave, também não o é pela estirpe, podendo, ser usado como parâmetro de frescura, uma vez que o tempo de armazenamento dos ovos leva ao aumento do pH e consequente perda de qualidade.

Relativamente à **viscosidade** do albúmen, o valor médio encontrado nos pavilhões caso é 20,50 mPa, e no pavilhão controlo 24,50 mPa. Quanto à viscosidade da gema, o valor médio nos pavilhões caso é 1073,33 mPa, e no pavilhão controlo 900 mPa. Observa-se, assim, que os pavilhões positivos ao *Mycoplasma gallisepticum* apresentam o albúmen menos viscoso que o pavilhão indemne, ainda que a viscosidade da gema seja maior. À semelhança deste estudo, Severa *et al.* (2009) afirmam que a maior parte dos valores de viscosidade da gema fresca, a temperatura próxima dos 20°C, situam-se entre 1000 e 2000 mPa. Além da temperatura das amostras ser a mesma, a viscosidade da gema obtida no pavilhão caso, do presente estudo, é ligeiramente inferior ao intervalo de Severa *et al.* (2009) (1000 – 2000 mPa). A empresa *Derovo* toma como valores de referência para a viscosidade da gema, a 7°C, 500 a 900 mPa, e do albúmen, entre 11 e 13 mPa.

Como já foi referido anteriormente (cf. Cap. 4, 4.3.9.), Li-Chan *et al.* (1995), recorrendo a um aparelho denominado viscosímetro rotacional *Brookfield*, em tudo semelhante ao usado neste estudo, determinam que a 25°C uma amostra de gema com extrato seco de 52,5%, apresenta 1462 mPa de viscosidade, e que, à mesma temperatura, mas com extrato seco de 50,8%, a viscosidade da amostra assume um valor de 782 mPa.

Relacionando os valores de viscosidade e de extrato seco (parâmetro abordado em seguida) das amostras do atual estudo, observa-se uma relação entre estes dois parâmetros, uma vez que a percentagem de extrato seco da amostra é aparentemente proporcional à viscosidade desta.

Segundo Li-Chan *et al.* (1995), a relação entre a viscosidade aparente em mPa *versus* a taxa de corte a 10°C, para 12 amostras de albúmen com extrato seco de 12,92% e pH de 8,4, com uma taxa de corte de 24 sec⁻¹, o albúmen homogeneizado apresenta uma viscosidade aparente entre 15 e 27 mPa. Quando comparados os resultados dos autores com os obtidos neste estudo, observa-se que a viscosidade de albúmen dos pavilhões caso (20,50 mPa) e do pavilhão controlo (24,5 mPa) se encontra dentro do intervalo de valores obtidos por Li-Chan *et al.* (1995), mesmo com as temperaturas das amostras inferiores às do atual estudo. Há a salientar que os valores de extrato seco, obtidos pelos autores, são em muito semelhantes aos obtidos no atual estudo. E, tal como na gema, evidencia-se a relação direta e proporcional entre o extrato seco e a viscosidade do albúmen.

Para Albrecht (2011), um albúmen mais denso é indicativo de melhor qualidade interna. No seu estudo, a qualidade do albúmen parece não ser afetada no grupo de aves com elevados títulos de anticorpos de MG.

Pérez de los Cobos (2002) afirma que a variação do pH associa-se ainda a uma fluidez do albúmen, ou seja, à sua perda de viscosidade. Autores salientam que, uma vez aumentado o pH, o complexo de ovomucina dissocia-se, resultando um albúmen pouco viscoso, com grandes perdas da sua capacidade espumante e aglutinante, reduzindo, assim, a qualidade do ovo (Hatta *et al.*, 1997; Kirunda *et al.*, 2001; Silva, 2006; Faria *et al.*, 2007; Vidal, 2009).

O stress térmico (cf. Cap. 6, 6.1.2.1.) é outro fator que pode influenciar a viscosidade, pois, conduz a uma menor síntese proteica e maior aporte de água para o albúmen. Relativamente à gema, os autores salientam que o movimento da água para dentro da gema aumenta durante períodos de stress térmico, podendo a viscosidade desta, diminuir (Kirunda *et al.*, 2001).

A idade da ave é outro fator que influencia negativamente a viscosidade do albúmen, contudo, o tratamento de mistura, a temperatura e taxa de corte também podem interferir com este parâmetro (Li-Chan *et al.*, 1995). Kamps *et al.* (2010) acrescentam que medições de viscosidade, realizadas a albúmen homogeneizado, resultam em valores substancialmente mais baixos que os valores obtidos para o albúmen intato, uma vez que a homogeneização do albúmen destrói, parcialmente, as suas propriedades físicas.

Quanto às variáveis **transparência do albúmen** e **altura da câmara de ar**, nada há a apontar, uma vez que está sempre presente normalidade de resultados para os três pavilhões em estudo. Os resultados do parâmetro altura da câmara de ar são de esperar, dada a frescura dos ovos.

Para o parâmetro **coloração da gema**, a análise estatística sugere, mais uma vez, a existência de diferenças entre os dois pavilhões caso, daí não se associarem essas mesmas diferenças à presença de *Mycoplasma gallisepticum*.

À semelhança do presente estudo, Albrecht (2011) preconiza que a cor da gema não sofre alterações entre os seus dois grupos de baixos e elevados títulos de anticorpos para MG, uma vez que o fator que influencia, essencialmente, a coloração da gema, é a alimentação. Papova-Ralcheva *et al.* (2009) ao relacionarem a coloração da gema com a idade das poedeiras, afirmam que aves de idades diferentes não apresentam variações significativas relativamente a este parâmetro, quando analisadas com a escala de Roche. Mais uma vez, associa-se a cor da gema à alimentação das aves.

Relativamente ao parâmetro **°Brix** do albúmen, este não é passível de ser relacionado com o *Mycoplasma gallisepticum*, uma vez que são encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois pavilhões positivos (o bando infetado A apresenta, a maior parte das vezes, resultados superiores ao bando infetado B, Tabela 8). Todavia, comparando os valores médios obtidos nos pavilhões caso (14,35%) e controlo (15,55%), verifica-se que estes são muito semelhantes aos valores *standard* da empresa *Deroovo* (°Brix (%) _{albúmen líquido} [14,5 – 15,5]). Seria, por isso, interessante, em trabalhos futuros, explorar este parâmetro, em bandos com idades próximas ou idealmente iguais, a fim de minimizar, ao máximo, a influência do fator idade das poedeiras.

Quanto ao °Brix da gema, esta apresenta valores médios de 48,42% nos dois pavilhões caso, e 48,45% no pavilhão controlo. E, mais uma vez, comparando com os valores *strandard* da empresa *Deroovo* (°Brix (%) _{gema líquida} [44 – 45]), observa-se que os resultados obtidos no estudo são superiores; sendo tal facto indicativo de melhor qualidade da gema. Contudo, há a salientar que os valores *standard* apresentados são para gema líquida, a qual tem na sua constituição albúmen, levando esta adição a uma diminuição °Brix do produto final, comparativamente com os valores obtidos diretamente da matéria prima.

À semelhança do °Brix do albúmen, também a **percentagem de extrato seco** deste constituinte do ovo não pode ser relacionado com a infeção por *Mycoplasma gallisepticum*, devido às diferenças estatisticamente significativas, encontradas entre os bandos infetados. Os resultados obtidos podem justificar-se com o facto de as idades dos bandos infetados não serem as mesmas, e de um desses bandos ter sido sujeito a muda

forçada. Esta análise vai ao encontro dos resultados de Ahm *et al.*, (1997), uma vez que aves com 97 semanas de idade (após muda forçada) produzem ovos com menor conteúdo de extrato seco de albúmen (ou sólidos totais) que aves com idades compreendidas entre 55 e 78 semanas. Os resultados obtidos mostram, precisamente, uma menor percentagem de extrato seco em amostras provenientes do pavilhão B (também submetido a muda), comparativamente com o pavilhão A. Segundo os mesmos autores, à medida que as aves envelhecem, a percentagem de extrato seco de albúmen diminui, enquanto que a de gema aumenta. Deste modo, seria interessante explorar melhor, em trabalhos futuros, a análise deste parâmetro, anulando, de antemão, o fator idade do bando.

Os resultados obtidos de extrato seco da gema dos pavilhões infetados e do indemne mostram que, quanto a este parâmetro, as diferenças encontradas não se revelam estatisticamente significativas dado que apresentam valores médios de 50,54% e 50,46%, respetivamente. Na empresa *Derovo*, os valores *standard* para o extrato seco da gema encontram-se entre 43,80% e 45,60% (cf. Cap. 5, 5.3.11.), sendo estes inferiores aos resultados obtidos. Todavia, a explicação sugerida é coincidente com a já exposta no parâmetro °Brix da gema, devendo-se, tal facto, à adição de albúmen à gema durante o processo de fabrico.

Comparando os resultados do presente estudo com os valores obtidos por Li-Chan *et al.* (1995) e Vidal (2009), para o mesmo parâmetro em ovos frescos (extrato seco: albúmen 11 - 13%; gema 50 - 52,29%), observa-se a semelhança de valores entre os dois estudos. Num estudo realizado por Garcia *et al.* (2010), poedeiras com 26 semanas de idade apresentam as seguintes percentagens de sólidos totais, para um peso médio de ovo fresco de 54,39 g: 12,96 % de albúmen e 51,46 % de gema. Por sua vez, poedeiras com 55 semanas de idade e com um peso médio de ovo de 62,69 g, apresentam de sólidos totais: 12,15% de albúmen e 53,62% de gema. Garcia *et al.* (2010), Ahm *et al.* (1997) e Faria *et al.* (2007) referem que a percentagem de extrato seco da gema é influenciada, positivamente, pela idade da ave, ao passo que o extrato seco de albúmen, diminui (cf. Cap. 6, 6.1.1.2.). Tal relação vai ao encontro dos resultados obtidos neste estudo, apesar do aumento da percentagem de extrato seco da gema nos bandos infetados (mais velhos) ser mínima, quando comparado com o bando controlo (mais novo).

Um outro fator que contribui para uma menor percentagem de extrato seco é a exposição das aves ao calor (stress térmico). Tal como já foi referido (cf. Cap. 6, 6.1.2.1.), os níveis plasmáticos de precursores das proteínas da gema diminuem, sendo provável que os sólidos totais da mesma possam ser afetados (Kirunda *et al.*, 2001), contudo este fator não consistiu numa das variáveis em estudo, no presente trabalho.

A presença de **manchas na gema** não se revela significativa, do ponto de vista estatístico, quando comparados os pavilhões caso (45% não conforme) com o pavilhão controlo (40% não conforme). Este tipo de manchas é mais comum à superfície da gema e tem como origem pequenas hemorragias durante a ovulação. Os tamanhos das manchas são variados, bem como as suas tonalidades, as quais poderão ser influenciadas pelo aumento do pH do albúmen (Pérez de los Cobos, 2002). Tal facto é passível de ser analisado no presente estudo, dado que os pavilhões infetados apresentam mais 5% de manchas na gema e, paralelamente, maior pH de albúmen, conforme já fora discutido. A anormal rotura de vasos sanguíneos, no ovário ou oviduto, poderá ter como causas: inadequados níveis de vitaminas, A e K, antagonistas da vitamina K, toxinas em geral, inadequados programas de iluminação, stress, variações de temperatura, encefalomielite aviária e estirpe da ave (Hernandez, 1995; Coutts & Wilson, 2007), não se encontrando, todavia, relação com a micoplasmose, neste estudo.

Quanto aos parâmetros **proteínas e lípidos**, em média, existem 12,58g de proteínas e 9,03g de lípidos em 100g de ovo, provenientes de pavilhões infetados por MG, ao passo que em 100g de ovo, proveniente do pavilhão indemne, existe, em média, 12,60g de proteínas e 8,65g de lípidos. De acordo com Li-Chan *et al.* (1995) (cf. Cap. 5, 5.5.1.), o ovo inteiro possui, na sua constituição, de 12,8 a 13,4% de proteína, e de 10,5 a 11,8% de lípidos. Segundo o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2007), por cada 100 g de ovo, este apresenta 13,0 g de proteína e 10,8 g de gordura total. Apesar dos valores referência apresentados não serem muito díspares, quando comparados com os resultados obtidos neste estudo, é relativamente ao teor de lípidos que as diferenças são mais notórias, quer nos bandos positivos ao agente, quer no bando indemne.

Os autores Peebles *et al.* (2006), após análise dos efeitos da inoculação por S6MG em três idades diferentes, concluem que, durante as 47 e 58 semanas, os lípidos totais da gema são significativamente menores em ovos postos por galinhas inoculadas com S6MG, às 10 semanas, comparativamente com ovos postos por galinhas inoculadas às 45 semanas. Este resultado pode, contudo, ser indicativo de que, sem afetar a performance, peso do ovo ou gema, a idade da inoculação do agente pode alterar o teor de lípidos total da gema. Tal facto pode sugerir que, no atual estudo, a infeção dos bandos por *Mycoplasma gallisepticum* poderá ter ocorrido numa idade mais avançada. Peebles *et al.* (2006) referem, ainda, que a menor concentração de lípidos hepáticos poderá ser a causa do conteúdo deste constituinte na gema se encontrar afetado, devido à infeção por S6MG. Não obstante, as aves do estudo de Peebles *et al.* (2006) estavam alojadas em unidades de isolamento, por isso não se pode excluir a possibilidade de se obterem resultados diferentes, ou mais

significativos, na composição da gema de aves infetadas com S6MG (na fase de pré-postura, no início da postura, ou numa fase mais avançada da mesma), comparativamente com aves alojadas em instalações, onde estão aumentados os níveis de stress ambiental, como é o caso do presente estudo.

Burnham *et al.* (2003b) mostram que a estirpe FMG tem a capacidade de invadir as células e de interferir com o metabolismo lipídico do fígado. Uma vez colonizado, as componentes em lípidos, triglicéridos, fosfolípidos e lipoproteínas do fígado, destinadas a serem depositadas na gema, poderão ser afetadas na sua síntese, com consequente redução da produção de ovos (cf. Cap. 6, 6.1.6.1.). Os autores Burnham *et al.* (2003a) salientam que a composição da gema sofre alterações pela inoculação de FMG, às 12 semanas de idade, concluindo que as alterações, na produção de ovos, se encontram associadas à colonização do fígado pelo agente, com consequentes distúrbios funcionais no metabolismo lipídico deste órgão e na deposição de lípidos nos folículos ovários, via hematogénea. Uma vez inoculadas com a estirpe 6/85 MG, Viscione *et al.* (2008a) admitem que as aves produzem ovos alterados, sobretudo internamente, salientando-se a composição da gema. Tal facto pode influenciar o valor nutricional do mesmo e a aceitabilidade pelo consumidor, não esquecendo, também, que constitui um motivo de preocupação para a indústria de ovoprodutos (cf. Cap. 6, 6.1.6.1.).

Os autores Batista & Garcia (2011) observam um efeito significativo da idade da poedeira, somente para os valores de proteína bruta, demonstrando maiores quantidades deste nutriente em ovos de poedeiras jovens. Por outro lado, Sartori *et al.* (2009) preconizam que aves mais velhas apresentem valores mais elevados na quantidade de lípidos depositados nos ovos. Ahm *et al.* (1997) defendem que ovos de tamanho XL possuem maior quantidade de lípidos quando comparados com ovos L, e que estes, por sua vez, possuem menor quantidade de proteínas que ovos de tamanho M. Os resultados destes autores coincidem com os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que os bandos infetados são mais velhos e produzem ovos de maior peso. Estes dados poderão sugerir que, mesmo que o teor de lípidos esteja diminuído pela presença de infeção os fatores idade mais avançada das aves e maior peso de ovo, poderão ser suficientes para mascarar uma menor concentração lipídica nos ovos provenientes de galinhas infetadas. Idealmente, seria importante repetir os ensaios, com bandos de idades similares, bem como aumentar o número de amostras a analisar, para que os resultados obtidos fossem mais representativos.

Os resultados obtidos para ***Salmonella spp.*** e ***B. cereus*** estão em conformidade para todas as amostras, sugerindo, portanto, não existir relação entre a presença destes

agentes e a infeção por *Mycoplasma gallisepticum*. Os resultados obtidos para *Salmonella* spp. são os esperados, uma vez que os pavilhões em estudo são negativos ao agente, mediante análises periódicas contempladas no Plano Nacional de Vigilância e Controlo de *Salmonella* em galinhas poedeiras, elaborado de forma a assegurar o cumprimento dos objetivos previstos nos Regulamentos Comunitários (CE) nº 1003/2005, (CE) nº 1168/2006, (CE) nº 1177/2006 e (CE) nº 1237/2007. À semelhança de *Salmonella* spp., os resultados mostram que não há crescimento de colónias de *B. cereus* a partir das amostras dos pavilhões em estudo. Como já fora referido por Forsythe (2005) (cf. Cap. 5, 5.4.3.), é necessário que os microrganismos se multipliquem até níveis significativos ($> 10^5$ ufc/g), para que seja possível causarem uma intoxicação alimentar. Mora (2001) diz ainda que, no Reino Unido, o agente *B. cereus* foi isolado em misturas resultantes de ovos fissurados e partidos, bem como em produtos de pastelaria, elaborados com ovo inteiro líquido, sendo a fonte mais provável de contaminação, as cascas dos ovos. No presente estudo, os ovos analisados são frescos, pelo que, seria interessante realizar a mesma análise ao produto acabado, cujo lote de ovos provém da mesma amostra. No entanto, tal não seria exequível uma vez que o mesmo produto acabado advém de matérias primas distintas.

Dos ensaios realizados para contagem de *Enterobacteriaceae*, apenas se obteve um resultado não conforme num pavilhão caso, correspondendo a 5% do total de amostras analisadas. O resultado obtido poder-se-á explicar por uma possível contaminação fecal, através de sujidade presente na casca. Moro (2002) (cf. Cap. 6, 6.1.7.) diz que o esforço realizado pela ave, durante a expulsão do ovo, leva a que, ocasionalmente, sobretudo em bandos mais velhos, se liberte matéria fecal, mais ou menos líquida, cobrindo mais ou menos a casca. O ovo pode, também, permanecer demasiado tempo sobre a malha das baterias, e caso não role até à cinta dos ovos, a probabilidade de ser pisado, picado ou conspurcado com matéria fecal, aumenta. O autor aponta ainda diversos estudos, os quais revelam que a superfície da casca possui uma elevada carga microbiológica e bastante heterogénea, resultante do contato com diversas superfícies, tais como ninhos, baterias, cintas dos ovos e manipulação dos operadores, não se excluindo também estas fontes de contaminação para justificar o resultado obtido – não conforme.

Quanto à contagem de *Staphylococcus aureus*, 35% das amostras analisadas nos pavilhões infetados não se encontram em conformidade, tal como 40% das amostras do pavilhão controlo. Não obstante, a análise estatística diz-nos que os resultados obtidos entre pavilhões caso e o pavilhão controlo, não são significativas. Uma vez que *S. aureus* é um microrganismo comensal da pele, penas, porção distal do intestino e mucosas de vários animais, incluindo aves (Ordóñez, 2006), e que cerca de 20 a 40% dos indivíduos humanos

saudáveis são portadores assintomáticos da bactéria na nasofaringe e pele (Cristino, 2000), os resultados obtidos podem ter origem, tanto nas poedeiras, como no manipulador das amostras. Já preconizado por Forsythe (2005), derivados de ovos e produtos de pastelaria, com creme de pasteleiro, constituem alguns dos alimentos suscetíveis de conter o agente, daí a importância da sua pesquisa no presente estudo, uma vez que o processo de pasteurização, tal como alerta Mora (2001), reduz, mas não elimina, a contaminação.

V. CONCLUSÃO

No âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, a realização desta dissertação proporcionou, não só, a aquisição de experiência em produção, sanidade e profilaxia em avicultura de postura, mas também no âmbito da qualidade e segurança alimentar de ovoprodutos. Aplicaram-se os conhecimentos obtidos ao longo do curso e adquiriram-se novas competências e conhecimentos. Foi graças à percepção de todas as etapas existentes desde a pinta, passando pela ovoposição, até ao ovoproduto, que se tornou possível estabelecer relações entre os resultados obtidos e muitos dos fatores que neles interferiram. Ouso então dizer que o estudo dos diversos estados patológicos na qualidade da matéria prima é, cada vez mais, um importante objeto de estudo, a fim de assegurar ao consumidor, produtos finais de excelência.

Neste estudo, a avaliação das variáveis, peso da casca e peso e forma do ovo, permite concluir que existem diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nos resultados obtidos, todavia, apenas se relaciona o parâmetro forma do ovo com a infeção por *Mycoplasma gallisepticum*. O estudo efetuado não permitiu estabelecer relação entre o agente e os parâmetros peso do ovo e peso da casca, devido à forte influência da variável idade. O parâmetro percentagem da casca, vem reforçar a menor qualidade de casca de ovos provenientes de pavilhões infetados, podendo este ser influenciado, igualmente, pela variável idade.

Relativamente aos parâmetros espessura, percentagem e coloração da casca; peso, percentagem, pH e viscosidade do albumen; percentagem, pH, viscosidade, °Brix e extrato seco e manchas na gema; relação gema : albúmen; contagem de *Enterobacteriaceae* e de *Staphylococcus aureus*, verifica-se que as diferenças encontradas não são estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$), concluindo-se que não se identificou uma relação efetiva com a presença de infeção por *Mycoplasma gallisepticum*.

Foi ainda clara a existência de vários fatores relacionados com a idade dos bandos, possível ocorrência de stress, realização de muda, fatores genéticos e estados patológicos recentes, capazes de influenciar de uma forma, mais ou menos marcada, os resultados obtidos no estudo de campo.

Relativamente aos parâmetros nutricionais, proteínas e lípidos, também não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, provavelmente, devido ao baixo número de casos em avaliação (apenas três análises por pavilhão). Este facto deixa o cerne do problema de investigação ainda em aberto, pois seriam necessários mais casos para que os dois parâmetros nutricionais sofressem alterações com a presença de *Mycoplasma*

gallisepticum, especialmente o parâmetro lípidos.

Com a realização desta dissertação, pretendeu-se contribuir para o conhecimento da micoplasmose, cujo agente etiológico é o *Mycoplasma gallisepticum*, e das suas possíveis repercussões na qualidade do ovo, reunindo a literatura existente, relacionada direta ou indiretamente com o tema, e através do estudo de 420 ovos.

Este estudo permitiu também tomar consciência das dificuldades associadas ao estudo das populações, lidando com fatores indesejáveis, porém incontornáveis.

4.2. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O tema desta dissertação foi suscitado por um problema concreto e desenvolvido em cenário real, embora com alguns condicionalismos de ordem metodológica, circunstancial e financeira. Frisa-se, portanto, o pequeno número de amostras a analisar em laboratório, durante o mesmo período, bem como o facto de não ser exequível a determinação de alguns parâmetros, ovo a ovo, sendo, por isso, imperativo, a formação de grupos. Salienta-se ainda o custo das análises em laboratórios externos, justificando o reduzido tamanho da amostra para os parâmetros nutricionais, e a impossibilidade de realização do estudo em bandos com idades iguais ou muito semelhantes. As datas das colheitas, bem como o número de amostras recolhidas e a duração do estudo, foram levadas ao limite, uma vez que um dos pavilhões infetados se encontrava prestes a ir para abate.

4.3. ALGUMAS SUGESTÕES

O porquê do controlo da micoplasmose aviária?

Ao contrário do que se possa pensar, a presença de doença não acarreta, somente, os custos terapêuticos a ela associados. Uma vez instituída a antibioterapia, verifica-se a redução dos sinais clínicos, todavia, a infeção não é suprimida, tornando-se o bando, cronicamente infetado. Salienta-se, também, o aumento do índice de conversão alimentar que se traduz no necessário aumento de ingestão de alimento para produzir o mesmo número de ovos. Por conseguinte, e aliada à redução de ingestão de alimento, diminui o número de ovos por galinha alojada, bem como a percentagem de produção do bando. Da teoria à prática, Burnham (2002a) (cf. Cap. 6, 6.1.6.1.) salienta que cada ave, livre do agente patogénico, põe, em média, mais 16 ovos que aves infetadas com a estirpe de campo, o que se traduz numa **redução de 2 milhões e 400 mil ovos** num pavilhão de 150 mil aves.

Sempre com os olhos postos numa lógica de máxima produtividade e qualidade, torna-se necessária a aplicação ou reforço de medidas preventivas no setor primário, mais exigentes e sistemáticas. Destacam-se, assim, algumas medidas na prevenção da ocorrência de *Mycoplasma gallisepticum*:

- Garantir que as pintas do dia não foram infetadas, via vertical, nos centros de incubação (Suñé, 2006);
- Aplicação de sistemas tudo dentro, tudo fora (*all-in, all-out*), em detrimento de complexos multi idade (Nouzha, 2011);
- Elevada biossegurança e boas práticas de manejo e higiene para reduzir, ao máximo, o risco de entrada do agente na exploração (Suñé, 2006), nomeadamente: rodilúvios e pedilúvios, controlo de pragas, banho de colaboradores e visitantes à saída dos pavilhões, deslocação do pessoal, sempre no sentido dos pavilhões de bandos mais novos para os mais velhos, e uso de equipamentos de proteção individual;
- Realização de testes de rotina, recorrendo a técnicas de diagnóstico existentes, quer de isolamento, quer de identificação do agente etiológico, levando à melhoria das operações de profilaxia e intervenção terapêutica (Nouzha, 2011);
- Vacinação, a profilaxia mais eficaz no controlo da micoplasmose (Suñé, 2006; Nouzha, 2011).

Infelizmente, são vários os estados patológicos que podem interferir, negativamente, na qualidade, assim como outros fatores extrínsecos à ave. Seria, por isso, de grande interesse, ao nível da qualidade do ovo, uma boa profilaxia sanitária e assistência médica veterinária, tanto em pavilhões de recria, como de produção, a fim de garantir, a máxima qualidade, quer da *matéria-prima*, quer do produto final – o *Ovoproduto*.

4.4. ESTUDOS FUTUROS

No decorrer deste estudo, e na tentativa de responder a todas as questões colocadas, eis que surgem novas *inquietações*. E para quem deseja encetar investigação no âmbito da avicultura, aqui deixo algumas pistas de investigação futuras:

- a) Averiguar quais as razões subjacentes aos resultados obtidos no presente estudo (falsos negativos), no âmbito da pesquisa de *Ac's Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*, segundo a técnica de ARP, quando vários autores, tais como Gerlach (1994), Suñé (2006) e Butcher & Halabi

(2010), afirmam que, nestas situações, os erros predominantes são falsos positivos;

- b) Realizar um estudo semelhante ao desenvolvido neste trabalho, recorrendo, porém, a populações com idades iguais ou muito próximas;
- c) Estudo que relacione as lesões, principalmente salpingites, decorrentes da infecção crónica de micoplasmose, com a qualidade do ovo;
- d) Elaborar uma tabela que estabeleça uma relação entre a variação da espessura da casca, ao longo do ciclo de postura da ave, obtendo assim valores *standard*. Um dos propósitos deste tipo de informação seria a elucidação dos avicultores, uma vez que este parâmetro condiciona fortemente a qualidade da casca, a percentagem de ovos de categoria B, bem como uma maior troca gasosa entre o interior do ovo e o meio exterior, com todas as implicações físico-químicas daí decorrentes.

VI. BIBLIOGRAFIA

VI. BIBLIOGRAFIA

- Ahm, D., Kim, S., & Shu, H. (1997). Effect of egg size and strain and age of hens on the solids content of chicken eggs. *Poult Sci.*, 76,914-919.
- Albrecht, H. (2011). *Reproductive soundness and egg quality in chickens selected for low and high antibody response*. Dissertação para obtenção de grau de "Master of Science in Animal and Poultry Science", (pp. 5-18; 75-82)., Blacksburg, EUA: Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Alleoni, A., & Antunes, A. (2001). Unidade haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. *Sci Agric.*, 58 (4),681-685.
- Aughey, E., & Frye, F. L. (2001). Female reproductive system. In: J. Northcott (Ed.), *Comparative Veterinary Histology - With Clinical Correlates* (pp. 208-211). London, Reino Unido: Manson Publishing Ltd.
- Bamelis, F., De Ketelaere, B., Kemps, B., Mertens, K., Decuyper, E., & De Baerdemaeker, J. (2006). *Non invasive methods for egg quality evaluation*. Comunicação apresentada no 12th European Poultry Conference, Verona, Itália.
- Barroeta, A. C. (2008). El huevo y sus componentes como alimento funcional. *Revista de Nutrición Práctica*, 12 (A), 28 - 33.
- Basenko, E., Peebles, E., Branton, S., Whitmarsh, S., & Gerard, P. (2005). Effects of S6-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at ten, twenty-two, or forty-five weeks of age on the performance characteristics of commercial egg laying hens. *Poult Sci*, 84, 1663-1670.
- Batista, N. R., & Garcia, E. R. (2011). Avaliação da composição química de ovos marrons: influência da idade da poedeira e do período de estocagem. *ENIC*, 1 (3).
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Eggs. In: *Food Chemistry* (4^a ed., pp. 546-562). Garching, Alemanha: Springer.
- Bernardo, F. (2011). *Controlo Oficial de Ovos de Consumo: Produção e colocação no mercado* (pp. 2-3; 21-22; 32). Lisboa, Portugal: FMV - Universidade Técnica de Lisboa.
- Bradley, Jr., R. (1998). Moisture and Total Solids Analysis. In: S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (2^a ed., pp. 119-122). Gaithersburg, EUA: An Aspen Publication.
- Branton, S., Lott, B., May, J., Maslin, W., Boyle, C., & Pharr, G. (1997). The effects of F-strain *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, and the dual infection in commercial layer chickens over a 44-week laying cycle when challenged before beginning of lay. I. Egg production and selected egg quality parameters. *Avian Dis*, 41, 832-837.
- Briz, R. (1995). Las bases de la formación del huevo. In: C. B. Carbó (Ed.), *Zootecnia. Bases de producción animal. Tomo V: Avicultura clásica e complementaria* (pp. 80-95). Madrid, Espanha: Mundi-Prensa.

- Buim, M., Mettifogo, E., Timenetsky, J., Kleven, S. & Ferreira, A. (2009). Epidemiological survey on *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* by multiplex PCR in commercial poultry. *Braz J Vet Res Anim Sci.*, 29(7),552-556.
- Burch, D. (2009a). Egg drops - Not so much a syndrome, more a production failure. Acedido a 10 Março 2011 em http://www.octagon-services.co.uk/articles/poultry/Egg_Drops.htm.
- Burch, D. (2009b). *Review of the activity of antibiotics against Mycoplasma spp.* Comunicação apresentada no XXI Congresso Latinoamericano de Avicultura, Havana, Cuba.
- Burnham, M., Branton, S., Peebles, E., Lott, B., & Gerard, P. (2002a). Effects of F-Strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at twelve weeks of age on performance and egg characteristics of commercial egg-laying hens. *Poult Sci* (81),1478-1485.
- Burnham, M., Peebles, E., Branton, S., Jones, M., Gerard, P., & Maslin, W. (2002b). Effects of F-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at twelve weeks of age on digestive and reproductive organ characteristics of commercial egg laying hens. *Poult Sci*, 81,1884-1891.
- Burnham, M., Peebles, E., Branton, S., Maurice, D., & Gerard, P. (2003a). Effects of F-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at twelve weeks of age on egg yolk composition in commercial egg laying hens. *Poult Sci*, 82,577-584.
- Burnham, M. R., Peebles, E. D., Branton, S. L., Walzem, R. L., & Gerard, P. D. (2003b). Effects of F-Strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation on serum very low density lipoprotein diameter and fractionation of cholesterol among lipoproteins in commercial egg-laying hens. *Poult Sci* (82), 1630-1636.
- Butcher, G. D. (2009). *Mycoplasma gallisepticum* - A continuing problem in Commercial Poultry. Acedido a 18 Fevereiro 2011 em <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PS/PS03400.pdf>.
- Butcher, G., & Halabi, W. (2010). *Effectiveness of Antibiotics and Vaccines in Controlling Mycoplasmosis in Breeders*. Comunicação apresentada no 18th Annual ASAIM SE Asian Feed Technology and Nutrition Workshop, Siem Reap, Camboja.
- Carvalho, F., Stringhini, J., & Jardim Filho, R. (2003). Influência da conservação e do período de armazenamento sobre a qualidade interna e de casca de ovos comerciais. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 5,100.
- Coutts, J. A., & Wilson, G. C. (2007). Optimum egg quality: a practical approach. Acedido em 23 janeiro 2012 em <http://www.thepoultrysite.com/publications/1/egg-quality-handbook>.
- Cristino, J. M. (2000). Staphylococcus. In: W. F. Ferreira, J. C. F. de Sousa (Eds.), *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 39-49). Lisboa, Portugal: Lidel.
- Daubert, C., & Foegding, E. (1998). Rheological Principles for Food Analysis. In: S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (2ª ed., pp. 553-560). Gaithersburg, EUA: An Aspen Publication.

- Davey, E. M., Zabik, M. E., & Dawson, L. E. (1969). Fresh and frozen egg yolk protein fractions: emulsion stabilizing power, viscosity, and electrophoretic patterns. *Poult Sci.*, 48 (1), 251-260.
- F. de Sousa, J. C. (2000). Enterobacteriaceae. In: W. F. Ferreira, J. C. F. de Sousa (Eds.), *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 99-109). Lisboa, Portugal: Lidel.
- Fagan, W., Buckley, D., & Tsang, C. (1988). Electronic Eggshell Thickness Gauge. *Poult Sci*, 67,1105-1108.
- Faria, D., Filho, D., & Rizzo, M. (2002). *Interação nutrição e qualidade de ovos para processamento industrial*. Comunicação apresentado no Simpósio sobre nutrição animal - Colégio Brasileiro em nutrição animal, São Paulo, Brasil.
- Faria, D., Silva, F., Rizzo, M., Sakamoto, M., Araujo, L., & Junqueira, O. (2007). Sólidos totais e rendimento dos componentes de ovos de poedeiras brancas e castanhas. *Acta Sci Anim Sci*, 29 (2),173-177.
- Farinha, S. (2007). *Desenvolvimento de um novo produto derivado de ovo: Base para omeleta sem colesterol*. Monografia para obtenção do grau de Licenciado em Engenharia Alimentar, (pp. 20-28). Santarém, Portugal: Escola Superior Agrária de Santarém.
- Ferreira, A. (2004). *Estudo do comportamento do pH, °Brix, extracto seco e viscosidade na pasteurização de ovoproduktos*. Monografia para obtenção do grau de Licenciado em Engenharia Alimentar, (pp. 18-19; 27-32). Coimbra, Portugal: Instituto Politécnico de Coimbra.
- Floriștean, V., Crețu, C., & Carp-Cărare, M. (2007). Bacteriological characteristics of *Bacillus cereus* isolates from Poultry. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, 64 (1-2),425-430.
- Forsythe, S. J. (2005). *Microbiologia da Segurança Alimentar* (pp. 105-111; 162; 171-173; 176-178). São Paulo, Brasil: Artmed.
- Garcia, E., Orlandi, C., Oliveira, C., Cruz, F., Santos, T., & Otutumi, L. (2010). Qualidade de ovo de poedeiras semipesadas armazenados em diferentes temperaturas e períodos de estocagem. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 11 (2), 505-518.
- García, J. (2010). La Calidad del Huevo. In: J. A. Llobet, J. I. Cos, A. C. Lajusticia, S. Calvet, M. Cambra-López, & F. Estellés (Eds.), *Producción del Huevo* (2ª ed., pp. 381-403). Barcelona, Espanha: Real Escuela de Avicultura.
- García, R. (2010). Los resultados de la producción y sus controles. In: J. A. Llobet, J. I. Cos, A. C. Lajusticia, S. Calvet, M. Cambra-López, & F. Estellés (Eds.), *Producción de Huevos* (2ª ed., pp. 185-206). Barcelona, Espanha: Real Escuela de Avicultura.
- García-Vao, A. O. (2006). Stress térmico y alimentación en gallinas ponedoras. Comunicação apresentada no *Encuentro técnico avicultura puesta*, Espanha.

- Gerlach, H. (1994). *Mycoplasma and Rickettsia*. In: B. W. Ritchie, G. J. Harrison, & L. R. Harrison (Eds.), *Avian Medicine: Principles and Application* (pp. 1053-1060). Lake Worth, Florida: Wingers Publishing, Inc.
- Gerchman, I., Levisohn, S., Mikula, I., Manso-Silván, L., & Lysnyansky, I. (2011). Characterization of in vivo-acquired resistance to macrolides of *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated from poultry. *Veterinary Research*, 42 (1),90-99.
- Gole, V., Chousalkar, K., & Roberts, J. (2012). Prevalence of antibodies to *Mycoplasma synoviae* in laying hens and possible effects on egg shell quality. *Preventive Veterinary Medicine*, 106 (1), 75-78.
- Hatta, H., Hagi, T., & Hirano, K. (1997). Chemical and Physicochemical properties of Hen Eggs and Their application in foods. In: T. Yamamoto, L. R. Juneja, H. Hatta, & M. Kim (Eds.), *Hen Eggs. Their Basic and Applied Science* (pp. 117-133). Japão: CRC Press.
- Herenda, D. C., & Franco, D. A. (1996). Respiratory system. In: *Poultry Diseases and Meat Hygiene - A Color Atlas*. (pp. 17-22). Iowa, EUA: Iowa State University Press.
- Hernandez, M. (1995). El huevo comercial: estrutura, composición, calidad y manejo. In: C. B. Carbó (Ed.), *Zootecnia. Bases de producción animal. Tomo V: Avicultura clásica e complementaria* (pp. 268-281). Madrid, Espanha: Mundi-Prensa.
- Holik, V. (2009). Management of laying hens to minimize heat stress. *Lohmann Information*, 44, 16 - 29.
- Instituto Nacional de Estatística. (2012a). Consumo humano de ovos per capita (kg/hab); Anual. Acedido em 8 agosto 2012, em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000217&contexto=bd&selTab=tab2
- Instituto Nacional de Estatística. (2012b). Produção de ovos (t) por tipo de ovos; Anual. Acedido em 8 agosto 2012, em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000917&contexto=bd&selTab=tab2
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2007). Tabela da composição de Alimentos (TCA). Acedido em 3 maio 2012, em <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetalheAlimento.aspx?ID=IS083>
- Jacob, J., Miles, R., & Mather, F. (2011). Egg Quality. Acedido a 17 maio 2011 em <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/PS/PS02000.pdf> .
- Johnson, P. A. (2006). Reprodução de Aves. In: W. O. Reece (Eds.), *DUKES / Fisiologia dos animais domésticos* (12ª ed., pp. 691-701). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan S.A..
- Jorge, M., Ribeiro, I., & Serrano, P. (2004). A Produção de ovos em Portugal, Espanha e França - Caracterização do Sector, Custos de Produção e Desafios colocados pela Directiva 1999/74/CE. Acedido em 10 setembro 2012, em http://agroges.pt/Artigos/sector_ovos.pdf .

- Kemps, B., Bamelis, F., Mertens, K., Decuyper, E., De Baerdemaeker, J., & De Ketelaere, B. (2010). The assessment of viscosity measurements on the albumen of consumption eggs as an indicator of freshness. *Poult Sci*, 89,2699-2703.
- King, A. S. (1986). Aparelho Urogenital das Aves. In: R. Getty (Eds.), *Sisson and Grossman's Anatomia dos animais domésticos* (5ª ed., Vol. 2, pp. 1798 - 1839). Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan S.A.
- Kirunda, D., & McKee, S. (2000). Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vielline membrane strenght as determined by a texture analyzer. *Poult Sci*, (79),1189-1193.
- Kirunda, D., Scheideler, S., & McKee, S. (2001). The efficacy of vitamin E (DL- (ALFA) - tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poult Sci*, (80),1378-1383.
- Kleven, S. (1990). Summary of discussions of avian mycoplasma team international researh program on comparative mycoplasmology babolna. *Avian Pathology*,795-800.
- Kleven, S. H. (2003). Mycoplasmosis. In: Y. Saif, H. Barnes, A. Fadly, J. Glisson, L. McDougald & D. Swayne (Eds.), *Diseases of Poultry* (11ª ed., pp. 719-721). Iowa, EUA: Blackwell Publishing Company.
- Kleven, S. H. (2004). *Mycoplasma gallisepticum* - uma doença emergente. Comunicação apresentada no V Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, Brasil.
- Kleven, S. H. (2008_a). *El papel del Mycoplasma gallisepticum en las reacciones virales post vacunales*. Comunicação apresentada no X Congresso Internacional de Avicultura, Maracaibo: Venezuela.
- Kleven, S. H. & Bradbury, J. M. (2008_b). Avian Mycoplasmosis. In: World Organization for Animal Health (Ed.), *OIE Terrestrial Manual 2008* (6ª ed., Vol. 1, pp. 482-496). OIE.
- Lajusticia, A. C. (2002). Formación del huevo. In: A. S. Gallego, R. M. Gallego, F. T. Cosialls, G. S. Fernández, G. V. García, & C. L. Nomdedeu (Eds.), *Lecciones sobre el huevo* (1ª ed., pp. 45-54). Madrid, Espanha: Instituto de Estudios del Huevo.
- Lajusticia, A. C. (2010). El huevo de gallina. In: J. A. Llobet (Ed.), *Producción de Huevos* (pp. 15 - 41). Barcelona, Espanha: Real Escuela de Avicultura.
- Ley, D. H. (2003). Mycoplasma gallisepticum Infection. In: Y. Saif, H. Barnes, A. Fadly, J. Glisson, L. McDougald & D. Swayne (Eds.), *Diseases of Poultry* (11ª ed., pp. 722-735). Iowa, EUA: Blackwell Publishing Company.
- Ley, D. H. (2012). Mycoplasma gallisepticum Infection in Poultry. Acedido em 2 abril 2012 em http://www.merckmanuals.com/vet/poultry/mycoplasmosis/mycoplasma_gallisepticum_infection_in_poultry.html?qt=mycoplasma%20gallisepticum&alt=sh .
- Li-Chan, E. C., & Kim, H.-O. (2008). Structure and Chemical Compositions of Eggs. In: Y. Mine (Ed.), *Egg bioscience and biotechnology* (pp. 1 - 96). New Jersey, EUA: John Wiley & Sons, Inc.

- Li-Chan, E. C., Powrie, W. D., & Nakai, S. (1995). The Chemistry of eggs and egg products. In: W. J. Stadelman, & O. J. Cotterill (Eds.), *Egg Science and Technology* (4ª ed., pp. 105-175). New York, EUA: Food Products Press.
- Lohmann Tierzucht. (n. d.). Causes of pale egg shells in brown-egg layers. *Poultry News*.
- Lopes, J. A. (2000). Bacillus. In: W. F. Ferreira, J. C. F. de Sousa (Eds.), *Microbiologia* (Vol. 2, pp. 71-74). Lisboa, Portugal: Lidel.
- Magalhães, A. P. (2007). *Qualidade de ovos comerciais de acordo com a integridade da casca, tipo de embalagem e tempo de armazenamento*. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Ciências, (pp. 4-14; 22). Rio de Janeiro, Brasil: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Mine, Y., & Yang, M. (2010). Functional proprieties of egg components in food systems. In: I. Guerrero-Legarreta (Ed.), *Handbook of Poultry Science and Technology* (Vol. 1, pp. 579-630). New Jersey, EUA: A John Wiley & Sons, Inc.
- Mora, M. T. (2001). Microbiologia del Huevo. Comunicação apresentada nas *Jornadas sobre el Huevo y los Ovoproductos* (pp. 1-10). Barcelona: Espanha.
- Moro, F. M. (2002). Contaminación y microbiología del huevo. In: A. S. Gallego, R. M. Gallego, F. T. Cosialls, G. S. Fernández, G. V. García, & C. L. Nomdedeu (Eds.), *Lecciones sobre el huevo* (1ª ed., pp. 76-86). Madrid, Espanha: Instituto de Estudios del Huevo.
- Nouzha, H. (2011). *Etude préliminaire des mycoplasmoses respiratoires aviaires dans la région de Batna*. Dissertação para obtenção de grau de Doutor em Ciências Veterinárias (pp. 64-67). Batna, Argélia: Universite Hadj Lakhdar de Batna.
- Odabaşı, A., Miles, R., Balaban, M., & Portier, K. (2007). Changes in brown eggshell color as the hen ages. *Poult Sci*, 86,356-363.
- Ohata, S., & Viotto, L. (2011). Comportamento reológico de constituintes do ovo. *Braz J Food Technol*, 14 (1),10-18.
- Okubo, T., Akachi, S., & Hatta, H. (1997). Structure of hen eggs and physiology of egg laying. In T. Yamamoto, L. R. Juneja, H. Hatta, & M. Kim, *Hen Eggs - Their Basic and Applied Science* (pp. 1-12). Japan: CRC Press.
- Ordóñez, G. O. (2006). Salmonellosis, Campylobacteriosis y Pasteurellosis. In: M. Suñé, J. B. Valls, F. D. Bartes, C. F. Masgrau, N. F. Casamitjana, J. G. Solsona, *et al.* (Eds.), *Higiene y Patología Aviar* (2ª ed., pp. 45-53). Barcelona, Espanha: Real Escuela de Avicultura.
- Popova-Ralcheva, S., Sredkova, V., Valchev, G. & Bozakova, N. (2009). The effects of the age and genotype on morphological egg quality of parent stock hens. *Archiva Zootechnica*. 12:24-30.
- Park, K., & Antonio, G. (2006). *Análises de Materiais Biológicos*. (pp. 3; 14-16). Campinas, Brasil: Universidade Estadual de Campinas.

- Parker , T., Branton, S., Jones, M., Peebles, E., Gerard, P., Willeford, K., et al. (2002). Effects of an S6 strain of *Mycoplasma gallisepticum* challenge before beginning of lay on various egg characteristics in commercial layers. *Avian Dis*, 46,593-597.
- Patten, M. B. (1920). *Book - The early embyology oh the chick*. Acedido em 9 maio 2012, em: [http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Book - The Early Embryology of the Chick 2](http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Book_-_The_Early_Embryology_of_the_Chick_2)
- Peebles, E., Basenko, E., Branton, S., Whitmarsh, S., Maurice , D., & Gerards, P. (2006). Effects of S6-Strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at ten, twenty-two, or forty-five weeks of age on the egg yolk composition of commercial egg-laying hens. *Poult Sci*. (85), 1502-1508.
- Pérez de los Cobos, P. F. (2002). Calidad interna del huevo y su conservación. In: A. S. Gallego, R. M. Gallego, F. T. Cosialls, G. S. Fernández, G. V. García, & C. L. Nomdedeu (Eds.), *Lecciones sobre el Huevo* (pp. 58-72). Marid, Espanha: Instituto de Estudios del Huevo.
- Pessoa, A. (2005). *Memórias Avícolas - Apontamentos da História da Avicultura em Portugal* (pp. 33-36; 52-56; 68; 78-79). Lisboa, Portugal: SPAMCA - Secção Portuguesa da Associação Mundial de Ciência Avícola.
- Pombo, C. (2003). *Efeito do tratamento térmico de ovos inteiros na perda de peso e caraterísticas na qualidade interna*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia (pp. 74). Niterói, Brasil: Universidade Federal Fluminense.
- Puente, J. (2002). El diagnóstico de la efermedad de Aujeszký. *Xpertisse*, 1, 4.
- Regulamento (CE) nº 1003/2005 da Comissão de 30 de junho de 2005. *Jornal Oficial da União Europeia L 170/12*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (CE) nº 1168/2006 da Comissão de 31 de julho de 2006. *Jornal Oficial da União Europeia L 211/4*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (CE) nº 1177/2006 da Comissão de 1 de agosto de 2006. *Jornal Oficial da União Europeia L 212/3*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (CE) nº 1237/2007 do Conselho de 23 de outubro de 2007. *Jornal Oficial da União Europeia L 280*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (CE) nº 1441/2007 da Comissão de 5 de dezembro de 2007. *Jornal Oficial da União Europeia L 322/12*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (CE) nº 589/2008 da Comissão de 23 de junho de 2008. *Jornal Oficial da União Europeia L 163/6*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Regulamento (UE) nº 37/2010 da Comissão de 22 de Dezembro de 2009. *Jornal Oficial da União Europeia L 15/1*. Bruxelas, Bélgica. Comissão Europeia.
- Roberts, J. (2004). Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens. *Journal of Poultry Science* (41),161-177.

- Roberts, V. (1997). *British Poultry Standards* (5ª ed., pp. 359). Oxford, Reino Unido: Blackwell Science Ltd.
- Rossi, M., & Pompei, C. (1995). Changes in some egg components and analytical values due to hen age. *Poult Sci* (74), 152-160.
- Rutz, F., Anciuti, M. A., Xavier, E. G., Roll, V. F., & Rossi, P. (2007). Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Rev Bras Reprod Anim*, 31, 307-317.
- Sartori, E., Canniati-Brazzaca, S., Cruz, S., & Gaziola, S. (2009). Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29 (3), 481-487.
- Schneider, K., Parish, M., Goodrich, R., & Cookingham, T. (2004). Preventing Foodborne Illness; *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. Acedido a 20 junho 2011 em <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/FS/FS10300.pdf>.
- Scott, T., & Silversides, F. (2000). The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poult Sci*, 79, 1725-1729.
- Seemann, M. (2000). Factors which influence pigmentation. *Lohmann Information* (24), 20-26.
- Seibel, N. (2005). Preservação e conservação de ovos. In: L. Sousa-Soares, & F. Siewerdt (Eds.), *Aves e Ovos* (pp. 91-110). Pelotas, Brasil: Universidade Federal de Pelotas.
- Severa, L., Nedomová, S., & Buchar, J. (2009). Influence of storing time and temperature on the viscosity of an egg yolk. *Journal of Food Engineering* (96), 266-269.
- Shane, S. (2008). Shell defects impact profits. Acedido em 13 novembro 2011 em www.eggindustry-digital.com
- Silva, M. (2006). *Desempenho, qualidade dos ovos e balanço de nitrogénio de poedeiras comerciais alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta, metionina e lisina*. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia (pp. 25-26). Pirassununga, Brasil: Universidade de São Paulo.
- Silversides, F., & Scott, T. (2001). Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poult Sci*, 80, 1240-1245.
- Soler, R. (2001). Los ovoproductos: Tipos y procesos de obtención. Comunicação apresentada nas *Jornadas sobre el Huevo y los Ovoproductos* (pp. 5-8). Barcelona: Espanha.
- Stadelman, W. J. (1995). Quality Identification of Shell Eggs. In: W. J. Stadelman, & O. J. Cotterill (Eds.), *Egg Science and Technology* (4ª ed., pp. 39-63). New York, EUA: Food Products Press.
- Stipkovits, L., & Kempf, I. (1996). Mycoplasmoses in poultry. *Rev sci tech Off int Epiz Journal* (15), 1495-1525.

- Sugino, H., Nitoda, T., & Juneja, L. R. (1997). General chemical composition of hen eggs. In: T. Yamamoto, L. R. Juneja, H. Hatta, & M. Kim (Eds.), *Hen Eggs. Their Basic and Applied Science* (pp. 13 - 24). Japão: CRC Press.
- Suñé, M. (2006). Micoplasmosis, Coriza y Colibacilosis. In: M. Suñé, J. B. Valls, F. D. Bartes, C. F. Masgrau, N. F. Casamitjana, J. G. Solsona *et al.* (Eds.), *Higiene y Patología Aviar* (2ª ed., pp. 63-71). Barcelona, Espanha: Real Escuela de Avicultura.
- Tharrington, J., Curtis, P., Jones, F., & Anderson, K. (1999). Comparison of physical quality and composition of eggs from historic strains of Single Comb White Leghorn chickens. *Poult Sci*, 78,591-594.
- The Center for Food Security & Public Health. (2007). Avian Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). Acedido em 9 fevereiro 2012 em, http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/avian_mycoplasmosis_mycoplasma_gallisepticum.pdf
- TNA - Tecnologia e Nutrição Animal, Lda. (1995). Ficha técnico-formativa: *A qualidade do ovo*. Aveiras de Cima: TNA.
- Vackavik, V., & Christian, E. (2008). Eggs and egg products. In: V. A. Vackavik, & E. W. Christian (Eds.), *Essentials of Food Science* (3ª ed., pp. 205-235). NY, EUA: Springer.
- Vance, A., Branton, S., Collier, S., Gerard, P., & Peebles, E. (2008a). Effects of prelay ts11-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation and time-specific f-strain m. *gallisepticum* inoculation overlays on internal egg and eggshell characteristics of commercial laying hens. *Poult Sci*, 87,1358-1363.
- Vance, A. M., Branton, S. L., Collier, S. D., Gerard, P. D., & Peebles, E. D. (2008b). Effects of time specific F-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation overlays on pre-lay ts11-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation on performance characteristics of commercial laying hens. *Poult Sci*, 87,655-660.
- Vidal, T. (2009). *Qualidade, composição e estabilidade dos ovos de poedeiras alimentadas com farelo da castanha de caju*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (pp. 16-17; 21; 29-31). Fortaleza, Brasil: Universidade Federal do Ceará.
- Viscione, K., Branton, S., Gerard, P., Whitmarsh, S., & Peebles, E. (2008a). Effects of a Prelay 6/85 strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation alone or in conjunction with subsequent f-strain *M. gallisepticum* inoculation during lay on the internal egg characteristics of commercial egg-laying hens. *Poult Sci*, (87),1120-1124.
- Viscione, K. A., Branton, S. L., Gerard, P. D., Whitmarsh, S. K., & Peebles, E. D. (2008b). Effects of 6/85-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation alone at ten weeks of age or in conjunction with F-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation overlays at twenty-two or forty-five weeks of age on the performance of commercial egg-laying hens. *Poult Sci*, 87,588-593.
- Walzem, R. L., Hansen, R. J., Williams, D. L., & Hamilton, R. L. (1999). Estrogen induction of VLDL assembly in egg-laying hens. *J Nutr* (129),467S-472S.

- Winner, F., Rosengarten, R., & Citti, C. (2000). In vitro cell invasion of *Mycoplasma gallisepticum*. *Infect Immun*, 68,4238-4244.
- Zita, L., Tumová, E., & Stolc, L. (2009). Effects of genotype, age and their interaction on egg quality in brown-egg laying hens. *Acta Veterinaria Brno* (78),85-91.

APÊNDICES

IV. APÊNDICES

Tabela 16. RESULTADOS

Data da colheita	Amostra	Pavilhão	Caso Controlo	Peso ovo	Espessura casca	Forma ovo	Coloração casca	Peso casca (g)	% Casca	Câmara de ar (mm)	Peso alb	% Albúmen	pH alb	°Brix _{alb} (%)	Extracto Seco alb (%)	Viscosidade alb (mPa)	Transparência alb
21.12.2011	1	Indemne	Controlo	62.73	0.31	N	Alterado	6.23	9.93	<6	23.9	38.1	8.41	15.5	13.23	22	N
21.12.2011	1	Infetado A	Caso	73.37	0.297	N	N	7.21	9.83	<6	47.19	64.32	8.81	14.9	12.44	20	N
21.12.2011	1	Infetado B	Caso	70.57	0.31	Alterada	Alterado	7.45	10.56	<6	40.94	58.01	8.73	13.4	11.31	16	N
21.12.2011	2	Indemne	Controlo	61.9	0.3	Alterada	Alterado	6.4	10.34	<6	36.19	58.47	8.58	15.6	12.76	19	N
21.12.2011	2	Infetado A	Caso	75	0.295	N	N	7.34	9.79	<6	49.12	65.49	8.97	16.2	13.23	16	N
21.12.2011	2	Infetado B	Caso	74.37	0.28	Alterada	Alterado	7.08	9.52	<6	44.64	60.02	8.75	12.6	11	13	N
21.12.2011	3	Indemne	Controlo	65.63	0.33	N	Alterado	5.92	9.02	<6	40.55	61.79	8.2	14.6	12.46	20	N
21.12.2011	3	Infetado A	Caso	73.32	0.3	N	N	7.05	9.62	<6	47.4	64.65	8.9	14.4	11.61	12	N
21.12.2011	3	Infetado B	Caso	71.12	0.29	Alterada	Alterado	7.12	10.01	<6	41.45	58.98	8.58	13.1	12.26	17	N
2.1.2012	4	Indemne	Controlo	61.91	0.3	Alterada	Alterado	6.21	10.03	<6	39.22	63.36	8.59	15.6	12.65	27	N
2.1.2012	4	Infetado A	Caso	69.46	0.313	Alterada	Alterado	6.44	9.28	<6	43.69	62.89	8.64	14.5	11.64	22	N
2.1.2012	4	Infetado B	Caso	67.64	0.27	Alterada	Alterado	6.43	9.5	<6	41.03	60.65	8.67	14.7	11.54	20	N

Ana Carolina Lopes Ruivo
A influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo

2.1.2012	5	Indemne	Controlo	72.16	0.25	N	Alterado	6.81	9.44	⋈6	46.79	64.85	8.61	15.2	12.3	27	N
2.1.2012	5	Infetado A	Caso	66.6	0.28	N	Alterado	5.39	8.09	⋈6	41.93	62.96	8.45	14.8	11.99	26	N
2.1.2012	5	Infetado B	Caso	71.72	0.26	Alterada	Alterado	6.25	8.75	⋈6	44.37	62.16	8.58	14.3	11.72	23	N
2.1.2012	6	Indemne	Controlo	63.36	0.27	N	Alterado	5.91	9.32	⋈6	39.47	62.29	8.7	16.5	13.21	24	N
2.1.2012	6	Infetado A	Caso	63.21	0.28	Alterada	Alterado	6.33	10	⋈6	37.44	59.23	8.82	14.5	12.09	16	N
2.1.2012	6	Infetado B	Caso	73.71	0.225	Alterada	Alterado	6.64	9	⋈6	46.8	63.47	8.73	14.2	11.38	22	N
10.1.2012	7	Indemne	Controlo	62.81	0.32	N	N	6.17	9.82	⋈6	39.05	62.17	8.77	15.8	13.07	27	N
10.1.2012	7	Infetado A	Caso	68.66	0.33	Alterada	Alterado	6.74	9.81	⋈6	43.33	63.12	8.59	14.3	11.84	25	N
10.1.2012	7	Infetado B	Caso	69.15	0.285	Alterada	Alterado	6.72	9.72	⋈6	42.36	61.26	8.39	14.3	11.71	20	N
10.1.2012	8	Indemne	Controlo	66.76	0.32	N	N	6.52	9.77	⋈6	41.76	62.56	8.39	15.8	13.47	27	N
10.1.2012	8	Infetado A	Caso	63.72	0.3	N	Alterado	6	9.42	⋈6	38.73	60.78	8.43	15.1	12.45	21	N
10.1.2012	8	Infetado B	Caso	70.19	0.28	Alterada	Alterado	6.97	9.9	⋈6	39.56	56.37	8.73	15.1	12.01	26	N
10.1.2012	9	Indemne	Controlo	67.29	0.33	N	N	6.22	9.24	⋈6	43.7	64.95	8.7	15	11.87	18	N
10.1.2012	9	Infetado A	Caso	69.36	0.31	Alterada	Alterado	6.88	9.91	⋈6	43.08	62.11	8.58	14.5	12.17	26	N
10.1.2012	9	Infetado B	Caso	69.4	0.315	Alterada	Alterado	6.28	9.05	⋈6	42.86	61.75	8.15	14.2	11.71	23	N
10.1.2012	10	Indemne	Controlo	68.33	0.34	N	N	6.51	9.53	⋈6	44.49	65.1	8.62	15.3	18.32	24	N
10.1.2012	10	Infetado A	Caso	67.8	0.34	Alterada	Alterado	6.67	9.84	⋈6	41.42	61.17	8.66	13.9	11.62	21	N
10.1.2012	10	Infetado B	Caso	73.43	0.29	Alterada	Alterado	6.42	8.74	⋈6	46.67	63.55	7.98	13.5	11.53	28	N

Tabela 17. RESULTADOS (continuação)

Data da colheita	Amostra	Pavilhão	Caso Controlo	Coloração gema	Manchas gema	Peso gema (g)	% Gema	pH gema	Extracto Seco gema (%)	°Brix gema(%)	Viscosidade gema (mPa)	Gema : Alb.
21.12.2011	1	Indemne	Controlo	14	Mancha	15	23.91	6.12	50.25	48.3	670	0.6
21.12.2011	1	Infetado A	Caso	14	Mancha	16.26	22.16	6.35	49.08	47.3	480	0.3
21.12.2011	1	Infetado B	Caso	14	N	17.07	24.19	6.19	50	48.2	830	0.4
21.12.2011	2	Indemne	Controlo	14	N	16.39	26.48	6.28	49.58	47.4	680	0.5
21.12.2011	2	Infetado A	Caso	14	N	15.88	21.17	6.23	49.87	48.1	710	0.3
21.12.2011	2	Infetado B	Caso	14	Mancha	19.37	26.05	6.32	49.08	47.3	610	0.4
21.12.2011	3	Indemne	Controlo	14	N	15.99	24.36	6.23	48.34	46.6	530	0.4
21.12.2011	3	Infetado A	Caso	13	Mancha	15.7	21.41	6.2	50.02	47.9	610	0.3
21.12.2011	3	Infetado B	Caso	13	N	18.86	26.52	6.19	51.04	48.9	1040	0.5
2.1.2012	4	Indemne	Controlo	13	N	14.65	23.66	6.11	50.67	48.6	1130	0.4
2.1.2012	4	Infetado A	Caso	13	N	17.56	25.28	6.08	51.06	48.7	1030	0.4
2.1.2012	4	Infetado B	Caso	13	Mancha	17.96	26.55	6.13	51.81	48.7	1440	0.4
2.1.2012	5	Indemne	Controlo	14	N	15.9	22.03	6.09	50.91	49.3	1460	0.3
2.1.2012	5	Infetado A	Caso	13	N	16.84	25.28	6.07	50.87	48.6	1030	0.4
2.1.2012	5	Infetado B	Caso	11	Mancha	17.87	25.04	6.15	50.2	48.8	1260	0.4
2.1.2012	6	Indemne	Controlo	13	Mancha	17.12	23.64	6.17	49.29	47.3	730	0.4
2.1.2012	6	Infetado A	Caso	14	N	17.51	27.71	6.07	50.41	48	900	0.5
2.1.2012	6	Infetado B	Caso	12	N	17.62	23.9	6.12	50.96	49.5	1110	0.4

Ana Carolina Lopes Ruivo
A influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo

10.1.2012	7	Indemne	Controlo	14	N	16.04	25.54	6.1	51.76	49.3	900	0.4
10.1.2012	7	Infetado A	Caso	13	N	16.63	24.22	6.08	51.01	49	1580	0.4
10.1.2012	7	Infetado B	Caso	12	N	17.43	25.21	6.17	50.25	48.6	1080	0.4
10.1.2012	8	Indemne	Controlo	14	Mancha	16.22	24.3	6.18	50.75	48.7	1050	0.4
10.1.2012	8	Infetado A	Caso	13	Mancha	16.23	25.47	6.14	50.89	49.1	1400	0.4
10.1.2012	8	Infetado B	Caso	11	N	16.71	23.8	6.19	51.09	49.2	1080	0.4
10.1.2012	9	Indemne	Controlo	14	N	15.68	23.3	6.16	51.59	49.4	1480	0.4
10.1.2012	9	Infetado A	Caso	13	Mancha	17.17	24.75	6.12	46.42	45.3	1470	0.4
10.1.2012	9	Infetado B	Caso	11	Mancha	17.27	24.89	6.15	50.71	48.9	1100	0.4
10.1.2012	10	Indemne	Controlo	14	Mancha	15.61	22.85	6.13	51.3	48.8	1140	0.4
10.1.2012	10	Infetado A	Caso	13	Mancha	16.99	25.8	6.1	50.17	47.5	1080	0.4
10.1.2012	10	Infetado B	Caso	12	N	17.77	24.2	6.17	51.12	49.1	1080	0.4

Tabela 18. RESULTADOS (continuação)

Data da colheita	Amostra	Pavilhão	Caso Controlo	<i>Salmonella</i>	<i>Enterobacteraceae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Proteínas	Lípidos
21.12.2011	1	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme	12,5g	8,4g
21.12.2011	1	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme	12,4g	8,6g
21.12.2011	1	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	12,7g	8,4g
21.12.2011	2	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
21.12.2011	2	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
21.12.2011	2	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
21.12.2011	3	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
21.12.2011	3	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
21.12.2011	3	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
2.1.2012	4	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	12,7 g	8,9 g
2.1.2012	4	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	12,6g	10,2g
2.1.2012	4	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme	12,6g	9,7g
2.1.2012	5	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
2.1.2012	5	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
2.1.2012	5	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		

Ana Carolina Lopes Ruivo
A influência de *Mycoplasma gallisepticum* na qualidade do ovo

2.1.2012	6	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
2.1.2012	6	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
2.1.2012	6	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
10.1.2012	7	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme	11,8g	9,6g
10.1.2012	7	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	13,2g	8,3g
10.1.2012	7	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	12g	9g
10.1.2012	8	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
10.1.2012	8	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
10.1.2012	8	Infetado B	Caso	Conforme	Não Conforme	Conforme	Não conforme		
10.1.2012	9	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
10.1.2012	9	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
10.1.2012	9	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Não conforme		
10.1.2012	10	Indemne	Controlo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
10.1.2012	10	Infetado A	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		
10.1.2012	10	Infetado B	Caso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme		

ANEXOS

V. ANEXOS

- PROTOCOLOS
- **ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**

FORMA DO OVO

A avaliação da forma do ovo foi meramente visual.

- **Normal** = Forma elíptica.
- **Alterada** = Forma longa e estreita, redonda ou plana/ achatada de um dos lados, sulcos e marcas.

ALTERAÇÕES DA CASCA

A avaliação da coloração da casca, sujidade e textura foram meramente visuais.

- **Normal** = Casca de coloração castanha, limpa e de textura lisa.
- **Alterada**
 - Coloração = pálida;
 - Sujidade = manchada (sangue, fezes);
 - Textura = áspera, irregular ou com sulcos, presença de “pimples”, enrugados, “Target egg”.

PESO DO OVO

- Balança analítica AND® GF-3000
1. Pesar os ovos na balança, um a um, por grupos;
 2. Somar o peso dos 6 ovos de cada grupo;
 3. Calcular a média.

TRANSPARÊNCIA E ALTERAÇÕES DO ALBÚMEN

A avaliação da transparência do albúmen foi meramente visual.

- **Normal** = límpido e transparente
- **Alterada** = Manchas de sangue, manchas de carne e colorações anormais.

COLORAÇÃO DA GEMA

- Leque colorimétrico – Escala DSM; Antiga designação: Escala de Roche®
1. Após a quebra do ovo, expõe-se a gema a uma fonte de luz natural;
 2. Abre-se o leque colorimétrico, intercalando a gema que se está a avaliar com as diversas tonalidades deste;

3. Determina-se, por aproximação, a cor mais semelhante à da gema, fazendo-se corresponder um número de 1 a 15.

ALTERAÇÕES DA GEMA

A avaliação da pigmentação da gema foi meramente visual.

- **Normal** = gema redonda, firme, uniforme e sem manchas visíveis (Pérez de los Cobos, 2002).
- **Alterada** = manchas de sangue, manchas de carne, gemas manchadas e descoloradas.

CÂMARA DE AR

Apesar da câmara de ar ser medida, por norma, à luz, mediante uma régua específica para o efeito, dado a recolha dos ovos ter ocorrido no mesmo dia da avaliação desta estrutura, este parâmetro foi avaliado a olho nú, no momento da quebra dos ovos.

PESO DA GEMA E ALBÚMEN

- Gobelés de 250mL e 500mL
 - Balança analítica AND® GF-3000
1. Proceder à tara prévia do recipiente onde irá ser colocada a amostra;
 2. Pesar a gema/ albúmen de cada grupo de 6 ovos na balança analítica e registar resultado;
 3. Calcular a média do resultado.

ESPESSURA DA CASCA

- Placas de Petri descartáveis
 - Micrómetro digital quantum® Maschinen Germany
1. Durante a quebra do ovo na região equatorial, minimizar o mais possível a formação de pequenos fragmentos de casca, evitando grandes erros no parâmetro **peso da casca**;
 2. As cascas dos ovos de cada grupo foram colocadas em placas de Petri, devidamente identificadas;
 3. Medição da espessura das cascas, sem remover as membranas testáceas e recorrendo ao micrómetro digital;

4. Registo de resultados e cálculo da média de cada grupo.

PESO DA CASCA

- Placas de Petri descartáveis
 - Estufa WTC binder®
 - Balança analítica AND® GF-3000
1. Colocar as caixas de Petri com as cascas, devidamente identificadas, por grupos, dentro da estufa;
 2. Quando a temperatura da estufa atingir os 50°C, manter as cascas no interior da estufa durante 4 horas;
 3. Retirar as cascas e esperar cerca de 30 minutos para as cascas adquirirem a humidade ambiente;
 4. Retirar as cascas das caixas de Petri e pesá-las, por grupos, na balança analítica;
 5. Registar o valor.

PERCENTAGEM DE GEMA, ALBÚMEN E CASCA

Para calcular a percentagem de gema, albúmen e casca, recorre-se às seguintes fórmulas:

- $\% \text{ Gema} = (\text{Peso}_{\text{Gema}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$
- $\% \text{ Albúmen} = (\text{Peso}_{\text{Albúmen}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$
- $\% \text{ Casca} = (\text{Peso}_{\text{Casca}} / \text{Peso}_{\text{Ovo}}) \times 100$

pH

- Gobelé 500mL
 - Água destilada
 - Papel absorvente
 - Potenciómetro HANNA Instruments® HI221
1. Ligar o potenciómetro, pressionando o botão ON;
 2. Retirar eléctrodo da Solução tampão, lavar com esguicho de água destilada e limpar com papel científico;
 3. Colocar eléctrodo e sonda de temperatura no recipiente que contem a amostra, agitar levemente e esperar até valores estabilizarem;
 4. Registar valores de pH obtidos;

5. Retirar do recipiente da amostra eléctrodo e sonda de temperatura;
6. Com o auxílio do esguicho de água destilada, lavar eléctrodo e sonda de temperatura e limpar com papel científico;
7. Colocar eléctrodo e sonda de temperatura nos suportes correspondentes do potenciómetro;
8. Colocar eléctrodo em solução tampão de pH=6,32.

VISCOSIDADE

- Copos de precipitação de 250mL em plástico
 - Água destilada
 - Papel absorvente
 - Viscosímetro e respectivas hastes Thermo Haake® Visco Tester 6^L
1. Ligar viscosímetro;
 2. Deixar correr Auto-teste (quanto necessário);
 3. Retirar uma porção da amostra do gobelé inicial para o copo de precipitação de 250mL em plástico;
 4. Seleccionar a haste e a velocidade de rotação (30 rpm – 250 rpm), consoante produto a analisar:
 - Haste L1: Clara
 - Haste L2: Ovo
 - Haste L3: Gema
 5. Mergulhar a haste na amostra até determinada marca, nesta presente, ficar totalmente submersa;
 6. Pressionar e botão START para iniciar a leitura do valor da viscosidade;
 7. Sempre que a leitura der ERRO, diminuir a velocidade de rotação da haste de forma a que seja possível a correcta leitura do valor;
 8. Pressionar em STOP quando valor estabilizar;
 9. Registar valor (mPa).

°BRIX

- Água destilada
- Papel absorvente
- Espátula
- Refractómetro: ATAGO® digital hand-held “Pocket” refractometer PAL- α .

1. Colocar água destilada na face do prisma do refractómetro e pressionar botão ON para calibrar aparelho (0,00); sempre que necessário;
2. Retirar a água destilada e limpar com papel científico;
3. Colocar amostra com o auxílio de uma espátula na face do prisma e pressionar botão ON;
4. Ler o resultado no display;
5. Lavar a face do prisma com água destilada e limpar com papel científico.

EXTRACTO SECO

- Prato de alumínio descartável;
 - Espátula;
 - Medidor de extracto seco: Mettler Toledo® – HB43 Halogen Moisture Analyzer.
1. Pressionar o botão ON/OFF para ligar medidor de extracto seco;
 2. Levantar tampa;
 3. Retirar suporte do equipamento e colocar prato de alumínio no mesmo. Voltar a colocar ambos no medidor;
 4. Baixar tampa para realizar tara (0,000g);
 5. Levantar tampa e colocar amostra com o auxílio de uma espátula (2,100g – 2,900g) e espalhar a amostra no prato com o auxílio da mesma;
 6. Baixar tampa para iniciar leitura;
 7. Aquando do aviso sonoro e valor estabilizado, registá-lo;
 8. Levantar a tampa, retirar o prato e pressionar botão RESET para próxima análise.

RELAÇÃO GEMA : ALBÚMEN

Para calcular a relação gema/albumen, divide-se o peso da gema pelo peso do albumen.

• ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Parte I

- Suporte para sacos;
- Sacos de stomacher;
- Bico de bunsen;
- Papel absorvente;

- Álcool a 70%
 - Stomacher: Seward® 400 circulator.
1. Realizar todo o procedimento junto do bico de bunsen;
 2. Limpar cada ovo com papel absorvente e álcool a 70% minimizando, assim, a contaminação do ovo por intermédio da casca, bem como contaminações cruzadas.
 3. Quebrar os ovos para dentro do saco de stomacher;
 4. Homogeneizar a amostra, colocando o saco dentro do stomacher, durante 2 minutos.

Parte II

Staphylococcus aureus

- Placas de Petri esterilizadas, descartáveis;
 - Pipetas graduadas de 1mL descartáveis;
 - Pipetador automático: IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort;
 - Agitador de tubos: Busen® Série AGT-9
 - Meio Baird Parker;
 - Estufa WTC binder®.
1. Realizar diluições até 10^{-3} ;
 2. Agitar os tubos de diluição no agitador de tubos, até homogeneizar a solução;
 3. Colocar 1mL da solução, devidamente homogeneizada numa placa de Petri esterilizada – inoculação por incorporação;
 4. Adicionar à placa o meio Baird Parker, aproximadamente 15mL, previamente fundido;
 5. Homogeneizar bem a amostra com o meio de cultura, sem levantar a placa;
 6. Deixar solidificar sobre a bancada;
 7. Incubar placas, com tampa invertida, a 37°C, durante 24h;
 8. Contar todas as colónias de cor preta e com halo branco;
 9. Registar resultados expressos em u.f.c./cm³.

Salmonella spp.

- Placas de Petri esterilizadas, descartáveis;

- Pipetas graduadas de 10mL descartáveis;
 - Pipetador automático: IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort;
 - Meio Água peptonada tamponada;
 - Estufa WTC binder®;
 - Micropipeta de 1mL;
 - Pontas de micropipeta;
 - Barquete;
 - Cones;
 - Mini-Vidas: Biomerieux® Mini Vidas Automated Immunoassay Analyzer;
 - Placas SMID;
 - Zaragatoas esterilizadas;
 - Teste de API.
-
1. Colocar 25mL ou 25g da amostra em 225mL de água peptonada tamponada;
 2. Colocar na estufa durante 16/20h a 37°C;
 3. Colocar 800µL da amostra na barquete;
 4. Colocar a barquete e os cones no Mini-Vidas;
 5. Seleccionar a secção A ou B;
 6. Carregar no 1;
 7. ID da amostra;
 8. Voltar para trás até aparecer a secção A;
 9. Inicializar;
 10. ID do técnico;
 11. Efectuar o mesmo procedimento na secção B;
 12. Esperar até aparecer a mensagem “a correr” e a hora em que termina;
 13. Deixar correr os testes;
 14. Retirar as barquetes e os cones;
 15. Mergulhar a zaragatoa no primeiro poço da barquete;
 16. Fazer esfregaço na placa SMID;
 17. Colocar a placa SMID na estufa durante 24h a 37°C;
 18. Após o tempo de incubação, ler a placa. Se aparecerem colónias roxas, confirmar com teste API;
 19. Após realização de API, identificar as colónias, uma vez que podem ou não ser *Salmonella*.

Enterobacteriaceae

- Placas de Petri esterilizadas, descartáveis;
 - Pipetas graduadas de 1mL descartáveis;
 - Pipetador automático: IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort;
 - Agitador de tubos: Busen® Série AGT-9
 - Meio VRG;
 - Estufa WTC binder®.
1. Realizar diluições até 10^{-3} ;
 2. Agitar os tubos de diluição no agitador de tubos, até homogeneizar a solução
 3. Colocar 1 mL da amostra na placa de Petri – inoculação por incorporação;
 4. Adicionar à placa o meio VRBG, aproximadamente 15 mL, previamente fundido;
 5. Homogeneizar bem a amostra com o meio de cultura, sem levantar a placa;
 6. Deixar solidificar sobre a bancada;
 7. Incubar placas, com tampa para baixo, a 37°C, durante 24h;
 8. Contar todas as colónias de cor rosa a vermelho;
 9. Registar resultados expressos em u.f.c./cm³.

Bacillus cereus

- Placas de Petri com o meio MYP Agar;
 - Pipetas graduadas de 1mL descartáveis;
 - Pipetador automático: IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort;
 - Agitador de tubos: Busen® Série AGT-9
 - Semeadores em forma de L, descartáveis;
 - Estufa Selecta®.
1. Colocar 1 mL da amostra na placa de Petri no meio MYP Agar;
 2. Distribuir amostra por sementeira à razão de 0,1mL/placa. Sementeira realizada com um semeador em L;
 3. Incubar placas em posição invertida, a 30°C, durante 24h.
 4. Contar todas as colónias de cor azul, envolvidas por um precipitado.
 5. Registar resultados expressos em u.f.c./cm³

Tabela 19. Quadro resumo de protocolos microbiológicos.

Microorganismo	Meio de cultura	Método de inoculação	Incubação
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker	Inoculação por incorporação	37 °C, durante 24h em estufa WTC® binder
<i>Salmonella spp.</i>	1. Água peptonada tamponada 2. Mini-Vidas: Biomerieux® Mini Vidas Automated Immunoassay Analyzer; 3. Placas SMID; 4. API (se crescimento de colónias em meio SMID)	Inoculação com 25 mL da amostra Inoculação por zaragatoa	1. 37 °C durante 16/20h em estufa WTC® binder 2. - 3. 37 °C, durante 24h em estufa WTC® binder
<i>Enterobactereaceas</i>	VRBG	Inoculação por incorporação	37 °C, durante 24h em estufa WTC® binder
<i>Bacillus cereus</i>	MYP Agar	Inoculação por espalhamento	30 °C, durante 24h em estufa Selecta®

Fonte: Adaptado de protocolos de laboratório *Derovo*.

○ FOTOGRAFIAS DO EQUIPAMENTO UTILIZADO



Figura 12. Câmara de fluxo laminar (Faster® Two-30).



Figura 13. Pipetador automático (IBS – INTEGRA Biosciences® Pipetboy confort).



Figura 14. Agitador de tubos (Busen® Série AGT-9).



Figura 15. Stomacher (Seward® 400 circulator).



Figura 16. Estufa (WTC® binder).



Figura 17. Estufa (Selecta®).



Figura 18. Estufa (WTC binder®).



Figura 19. Leque colorimétrico (Escala DSM - Roche®).

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária

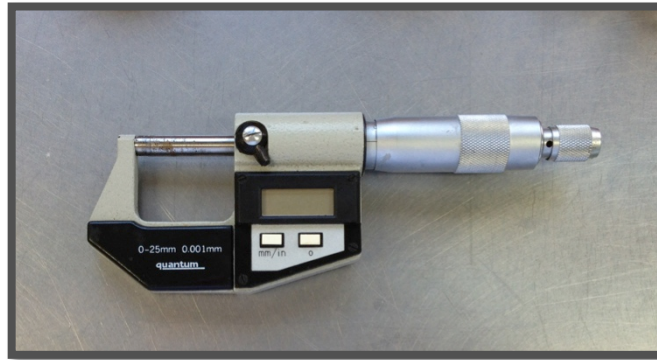


Figura 20. Micrómetro digital (quantum® Maschinen Germany).



Figura 21. Potenciômetro (HANNA Instruments® HI221).



Figura 22. Mini-Vidas (Biomerieux® Mini Vidas Automated Immunoassay Analyzer).

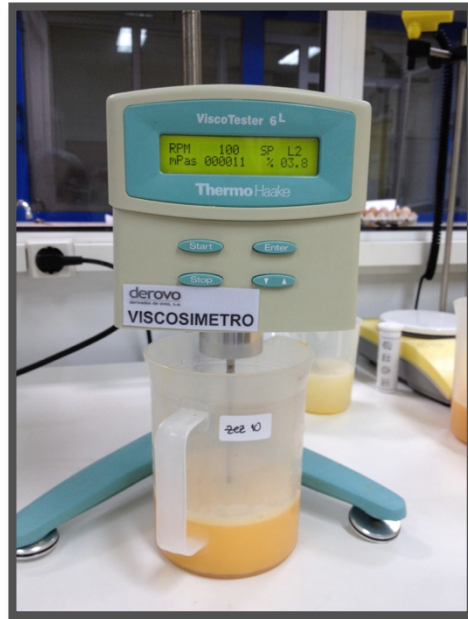


Figura 23. Viscosímetro de Brookfield (Thermo Haake® Visco Tester 6^L).



Figura 24. Medidor de extracto seco (Mettler Toledo® – HB43 Halogen Moisture Analyzer).



Figura 25. Refractómetro (ATAGO®) digital hand-held “Pocket” refractometer PAL- α).

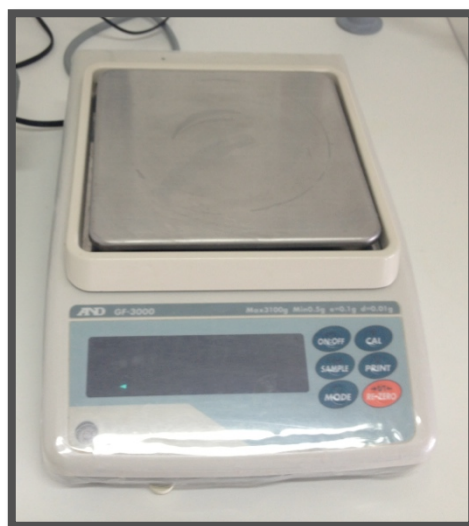


Figura 26. Balança analítica (AND® GF-3000).