



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFICIÊNCIA DA LUZ ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE OVOS FÉRTEIS
DE REPRODUTORAS PESADAS**

JOSÉ RENATO DE OLIVEIRA BRANCO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2017**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFICIÊNCIA DA LUZ ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE OVOS FÉRTEIS
DE REPRODUTORAS PESADAS**

Aluno: José Renato de Oliveira Branco

Orientadora: Concepta Margaret McManus Pimentel

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

Publicação: 177/2017

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2017**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

BRANCO, J. R. O. Eficiência da luz ultravioleta na desinfecção de ovos férteis de reprodutoras pesadas. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2017, 58 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Oe	Oliveira Branco, José Renato Eficiência da luz ultravioleta na desinfecção de ovos férteis de reprodutoras pesadas / José Renato Oliveira Branco; orientador Concepta Margaret McManus Pimentel. -- Brasília, 2017. 58 p. Dissertação (Mestrado - Doutorado em Ciência Animal) -- Universidade de Brasília, 2017. 1. veterinária. 2. produção animal. 3. avicultura. 4. desinfecção de ovos. 5. ultravioleta. I. Margaret McManus Pimentel, Concepta, orient. II. Título.
----	---

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFICIÊNCIA DA LUZ ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE OVOS FÉRTEIS
DE REPRODUTORAS PESADAS**

JOSÉ RENATO DE OLIVEIRA BRANCO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

APROVADA POR:

CONCEPTA MARGARET MCMANUS PIMENTEL
Doutora - Universidade de Brasília (ORIENTADORA)

ALINE MONDINI CALIL RACANICCI
Doutora - Universidade de Brasília (EXAMINADORA INTERNO)

PAULO LOURENÇO DA SILVA
Doutor – Universidade Federal de Uberlândia (EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 20 de Fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha esposa Maria Cláudia pelo direcionamento dentro da academia, e aos meus pais pela presença e apoio incondicional.

Aos meus orientadores ao longo do projeto, o professor Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal pela participação na elaboração e execução, e a Dr. Concepta Margaret McManus Pimentel pelo auxílio e esclarecimentos ao longo do processo.

Ao amigo Dr. Bruno Stéfano Lima Dallago pela ajuda na execução e análises estatísticas dos dados.

À Hubbard do Brasil que forneceu os ovos e todo apoio necessário.

À Universidade de Brasília que ofereceu toda a estrutura para execução do projeto.

Aos animais que direta (pintinhos) ou indiretamente (reprodutoras) participaram dessa etapa importante da minha vida!

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
1. CAPÍTULO I.....	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1.2. Problemática e relevância	1
1.1.3. Objetivos.....	3
1.1.3.1. Objetivos específicos.....	3
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	4
1.2.1. A casca do ovo.....	4
1.2.2. Protocolos de desinfecção de ovos férteis	6
1.2.2.1. Formaldeído	9
1.2.2.2. Luz ultravioleta	10
1.2.3. Fatores que influenciam e eclosão	14
2. CAPÍTULO II.....	16
2.1. RESUMO	17
2.2. ABSTRACT	19
2.3. INTRODUÇÃO.....	21
2.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.4.1. Delineamento experimental	23
2.4.2. Coleta de ovos.....	24
2.4.3. Protocolos de desinfecção.....	24
2.4.3.1. Fumigação	24
2.4.3.2. Luz ultravioleta	26
2.4.4. Plaqueamento.....	26
2.4.5. Procedimentos de estocagem e incubação	27
2.4.6. Ovoscopia, mortalidade embrionária e distribuição dos nascimentos	28
2.4.7. Análises estatísticas	30
2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
2.5.1. Avaliação comparativa de UFC entre métodos de desinfecção utilizando luz ultravioleta UV-C 254 nm, paraformaldeído e controle.....	31

2.5.2. Análise da descontaminação das cascas dos ovos após diferentes tempos de tratamento com luz ultravioleta	33
2.5.3. Avaliação das eclosões encontradas após tratamentos UV 9, CP e CN	34
2.5.4. Avaliação da mortalidade embrionária	36
2.5.5. Avaliação da distribuição e tempo total de nascimento.....	37
2.6. CONCLUSÕES	40
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

RESUMO

EFICIÊNCIA DA LUZ ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE OVOS FÉRTEIS DE REPRODUTORAS PESADAS

José Renato de Oliveira Branco¹
Concepta Margaret McManus Pimentel²

1 – Mestrando em Ciências Animais, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

2 – Professora Titular, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

Essa investigação se dividiu em duas etapas. Em um primeiro momento buscou-se avaliar a desinfecção de ovos férteis com luz ultravioleta 254nm (UV-C), comparando-a com um protocolo utilizando paraformaldeído. Ovos de galinhas reprodutoras com 36 semanas de idade foram submetidos aos tratamentos: ovos não desinfetados (CN), ovos expostos durante 1, 3, 5, 7, 9 minutos de luz UV-C (UV 1, UV 3, UV 5, UV 7, UV 9) e ao paraformaldeído 5,3g/m³ (CP). De cada tratamento, 35 ovos foram individual e asépticamente colocados em uma solução de enxague, friccionados durante 1 minutos para extração do conteúdo bacteriano, plaqueados em ágar padrão para contagem e incubados durante 48 horas à 37°C. Foi detectada uma correlação negativa entre o crescimento bacteriano e a duração dos tratamentos UV-C, com redução significativa de 0,68 log₁₀ após 5 minutos de exposição. Não houve diferença estatística entre os tratamentos CN, UV 1 e UV 3. O CP foi significativamente mais eficiente do que todos os tratamentos, exceto pelo UV 9. Os dados foram analisados utilizando o teste ANOVA (P<0.001), e as médias submetidas ao teste Tukey (P<0.05). Em um segundo momento, foram investigados os possíveis impactos do melhor tratamento com luz UV-C encontrado na primeira etapa sobre a eclosão de ovos férteis, mortalidade embrionária e distribuição do nascimento. Foram incubados 35 ovos do tratamento CP, 35 ovos do tratamento UV 9 e 35 ovos do tratamento CN quando as reprodutoras viviam 38, 42 e 48 semanas. Não houve diferença estatística na eclosão de ovos férteis entre os tratamentos (P>0.05), e somente às 42 semanas os tratamentos submetidos a algum protocolo de desinfecção se mostraram mais eficientes do que o o tratamento CN. Foi possível observar vantagem na eclosão dos ovos de reprodutoras mais jovens, quando comparada à eclosão dos ovos de reprodutoras vivendo 48 semanas (P<0.05), independentemente do tratamento. A mortalidade embrionária se apresentou de forma semelhante em todas as baterias de incubação qualquer que fosse a idade ou tratamento, sendo

mais alta na etapa final entre 19 e 21 dias ($P < 0.05$). Os tratamentos CN e UV 9 minutos apresentaram distribuição de nascimento semelhante, enquanto o tratamento CP se diferenciou pela ausência de pico de eclosão em dado momento do nascimento.

Palavras-chave: ultravioleta, paraformaldeído, reprodutoras pesadas, ovos férteis, incubação

ABSTRACT

EFFICIENCY OF ULTRAVIOLET LIGHT ON FERTILE EGGS DISINFECTION OF BROILER BREEDERS

José Renato de Oliveira Branco¹
Concepta Margaret McManus Pimentel²

1 – Master's candidate in Animal Sciences, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

2 – Professor, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

This investigation was divided into two. The first part aimed to evaluate the disinfection of fertile eggs with 254nm ultraviolet light (UV-C), comparing it with a protocol using paraformaldehyde. Eggs of broiler breeders at 36 weeks of age were submitted to treatments: eggs not disinfected (CN), eggs exposed for 1, 3, 5, 7, 9 minutes of UV-C light (UV 1, UV 3, UV 5, UV 7, UV 9) and paraformaldehyde 5.3g/m³ (CP). From each treatment, 35 eggs were individually and aseptically placed in a rinse solution, rubbed for 1 minute to extract the bacterial contents, plated on standard agar for counting and incubated for 48 hours at 37°C. A negative correlation between bacterial growth and duration of UV-C treatments was detected, with a significant reduction of 0.68 log₁₀ after 5 minutes of exposure. There was no statistically significant difference between the CN, UV 1 and UV 3 treatments. CP was significantly more efficient than all treatments except UV 9. Data was analyzed using the ANOVA test (P<0.001), and the means submitted to the Tukey test (P<0.05). In a second moment, the possible impacts of the best treatment with UV-C light found in the first stage on the hatching of fertile eggs, embryonic mortality and hatch distribution were investigated. 35 CP treatment eggs, 35 UV 9 treatment eggs and 35 CN treatment eggs were incubated when the breeders had 38, 42 and 48 weeks. There was no statistical difference on the hatch of fertile eggs between treatments (P>0.05) and only when birds were with 42 weeks of age disinfection protocols were more efficient than CN treatment. It was possible to observe advantage in the hatching of the eggs from younger breeders when compared to the hatching of the eggs from breeding herds living 48 weeks (P<0.05) independently of the treatment. Embryonic mortality was similar in all incubation batteries regardless of age or treatment,

being higher in the final stage between 19 and 21 days ($P < 0.05$). The treatments CN and UV 9 minutes presented a similar hatch distribution, while CP treatment was differentiated by the absence of a peak at a given moment of hatch.

Keywords: ultraviolet, paraformaldehyde, broiler breeders, fertile eggs, incubation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Esquema representativo do corte da seção transversal da casca do ovo de galinhas. Adaptado de: Hincke et al., (2012).	5
Figura 1.2. Esquema representativo dos comprimentos de onda da luz ultravioleta e sua função germicida. Adaptado de: Maclean et al. (2014).....	11
Figura 1.3. Esquema do protótipo utilizado para combinar desinfecções com luz ultravioleta e peróxido de hidrogênio. Adaptado de: AL-JEELI et al. (2016).	14
Figura 2.1. Câmara de fumigação de paraformaldeído.	25
Figura 2.2. Cabine de luxo laminar com lâmpada ultravioleta germicida 254nm.....	26
Figura 2.4. UFC nas placas após 48 de incubação.	27
Figura 2.5. Ovos identificados distribuídos aleatoriamente antes da incubação.	28
Figura 2.6. Ovo infértil retirado durante a ovoscopia.....	29
Figura 2.7. Mortalidade embrionária tardia entre 19 e 21 dias.....	29
Figura 2.8. Distribuição de UFC após realização de todos os tratamentos.	33
Figura 2.9. Regressão linear dos tratamentos com luz ultravioleta.	34
Figura 2.10. Eclosão dos ovos férteis ($P>0.05$).....	35
Figura 2.11. Mortalidade embrionária inicial, intermediária e tardia ($P<0.05$).....	36
Figura 2.12. Mortalidade embrionária tardia em todas as idades testadas ($P<0.05$).	37
Figura 2.13. Distribuição dos nascimentos dos tratamentos CP, CN e UV 9 ($P>0.05$).	38
Figura 2.14. Distribuição acumulada de nascidos dos tratamentos CP, CN e UV 9 ($P>0.05$).	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Média e desvio padrão das unidades formadoras de colônias	31
Tabela 2.2. Comparativo entre eclosão de férteis dos tratamentos e padrão da linhagem.	34

1. CAPÍTULO I

1.1. INTRODUÇÃO

A produção avícola brasileira possui grande destaque no cenário mundial. Segundo relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA (2016), em 2015 o Brasil foi o segundo maior produtor de carne de frango, atrás dos Estados Unidos e a frente da China. Ainda no mesmo relatório, a ABPA coloca o Brasil como maior exportador da carne de frango com 4.304 milhões de toneladas de carne exportada. Essa condição é reflexo de controle rígido de biossegurança, aliado a um grande potencial técnico encontrado em toda a cadeia.

Dentre as etapas do processo, a fase de incubação apresenta papel fundamental. Em condições normais, um lote de reprodutoras pode manter uma eclosão média ao longo da vida de 83% (Heier & Jarp, 2001). Porém, alguns são os fatores que podem influenciar negativamente o nascimento e reduzir a taxa de eclosão média, tais como a linhagem, o manejo adotado antes e durante a incubação, a qualidade e o nível de contaminação do ovo incubado.

1.1.2. Problemática e relevância

No Brasil, o método mais difundido para desinfecção de ovos férteis é a fumigação do formaldeído. Cadirci (2008), após vasta revisão sobre o tema, afirmou que o formaldeído possui excelente potencial para controle bacteriano da casca dos ovos, mas com

importantes ressalvas; pouco potencial de descontaminação quando há sub dosagem ou ambiente com umidade inferior a 60%, risco de mortalidade do embrião quando em excesso, e potencial carcinogênico em humanos.

O INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE (2014) definiu o formaldeído como um gás incolor, de odor intenso e característico, e em virtude do potencial de desencadear mecanismos que levam ao câncer, seus pesquisadores decidiram estudar o potencial genotóxico do formaldeído em profissionais da saúde ligados a serviços de anatomia patológica em hospitais. Após estudarem 85 profissionais, os autores concluíram que os pacientes expostos a índices acima do recomendado pela comissão europeia (0,2ppm), apresentaram aumento significativo de biomarcadores de dano genético quando comparados ao grupo controle.

Desde a década de 1990, algumas pesquisas objetivaram avaliar a luz ultravioleta como potencial desinfetante para ovos férteis. Em 1995, Berrang et al. estudaram e eficiência da luz UV-C 254nm no controle de salmonela presente na casca de ovos férteis, e seu potencial impacto na eclosão. À época, os pesquisadores não notaram diferença quanto ao tempo de exposição, sendo a resposta após 5 minutos de luz UV-C igual àquela encontrada depois de 10 minutos. A aplicação contínua da luz ultravioleta não afetou o desempenho no nascimento nesse estudo.

De Reu et al. (2005) estudaram o efeito da desinfecção comercial com luz ultravioleta, durante 4,7 segundos, na descontaminação da casca de ovos inoculados com *Escherichia coli*. Os pesquisadores encontraram uma redução significativa de 4,47 log₁₀ para 3,57 log₁₀ na casca dos ovos. Por outro lado, não notaram impacto da luz UV-C na redução da contaminação na casca dos ovos sujos, cuja matéria orgânica era excessiva.

O procedimento ideal de desinfecção de ovos férteis deve apresentar capacidade para reduzir as bactérias da casca, segurança ao aplicador, e não menos importante, praticidade e economia. Esse trabalho busca entender se a luz ultravioleta consegue atender a demanda de descontaminação da casca dos ovos, e se potencialmente poderia ser aplicada como alternativa prática, respeitando limites estruturais e de tempo de aplicação da realidade brasileira.

1.1.3. Objetivos

1. Avaliar a capacidade de reduzir bactérias da casca de ovos férteis de galinhas dos protocolos de desinfecção com paraformaldeído e luz ultravioleta.

1.1.3.1. Objetivos específicos

1. Avaliar a capacidade de desinfecção da luz ultravioleta após diferentes tempos de exposição.

2. Estudar o impacto dos protocolos de desinfecção utilizados na eclosão, mortalidade embrionária e distribuição do nascimento.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. A casca do ovo

A casca do ovo é a primeira barreira protetiva de seu conteúdo interno, e no caso de ovos férteis, ela possui particular relevância no controle das trocas gasosas que permitirão o desenvolvimento do embrião. Segundo Narushin & Romanov (2002), para desempenhar esse duplo papel, de proteger e suprir as demandas do embrião, a casca do ovo precisa ser ao mesmo tempo espessa, rígida e porosa, para assim não atuar como barreira ao processo de troca de gases ao longo da incubação.

A relação entre o peso do ovo, a espessura da casca e sua área porosa funcional para trocas gasosas de diferentes espécies de aves foi estudada por Ar et al. (1974). Os autores interpretaram que, independentemente da espécie, a espessura e área de poros sofre interferência do peso do ovo e atuam diretamente na condutância de gases por difusão.

Segundo Hincke et al. (2012), a casca do ovo é composta de dentro para fora pelas membranas interna e externa, camada de cones mamilares, camada paliçada, camada de cristais verticais, poros e cutícula (Figura 1.1). A forma da casca do ovo é definida pela precipitação de carbonato de cálcio nas fibras de sua membrana externa, seguida de uma deposição de mucopolissacarídeos que estrutura a camada mamilar. A camada paliçada se origina da camada mamilar, e forma colunas perpendiculares à superfície da casca até encontro com a camada de cristais verticais, que se apresenta como uma estrutura mais densa do que as anteriores. Ambas, a camada paliçada e de cristais verticais possuem função estrutural muito importante. Os poros atravessam a estrutura do ovo permitindo a difusão de

gases, e a cutícula, último componente a integrar a composição da casca do ovo é formada após a postura, com objetivo de mitigar a entrada de carga microbiana.

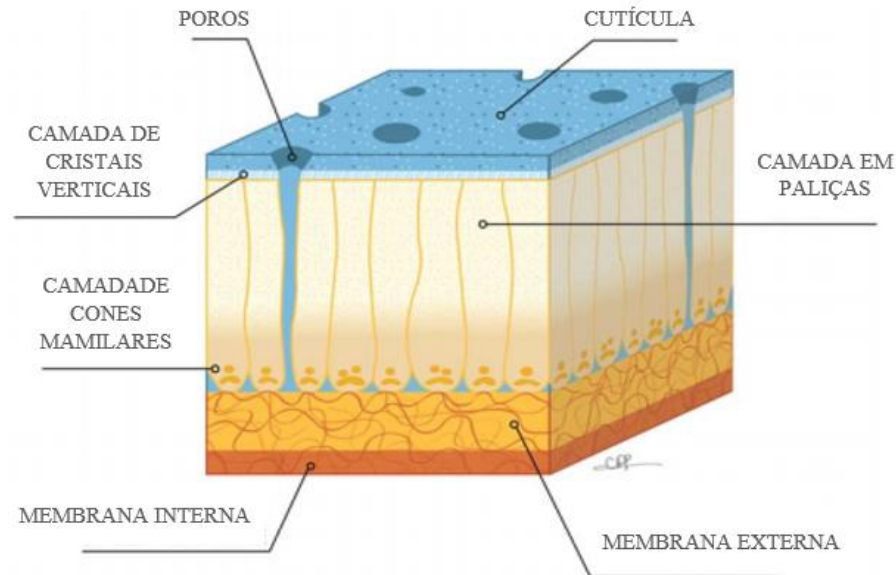


Figura 1.1 - Esquema representativo do corte da seção transversal da casca do ovo de galinhas. Adaptado de: Hincke et al., (2012).

A cutícula assume particular relevância nos protocolos atuais de controle de qualidade dos ovos férteis. Isso porque procedimentos de limpeza e desinfecção acabam por afetar essa proteção natural da casca dos ovos. Simons & Wiertz (1969), em experimento realizado com a intenção de estudar a estrutura da cutícula, concluíram que ovos lavados com água em temperaturas inferiores a 40°C não alteraram sua composição, ao passo que ovos lavados à temperatura superior a 40°C demonstraram mudança em sua superfície. Os autores também avaliaram ovos lavados com detergentes, e apesar de não dissolver totalmente a cutícula, notaram redução significativa na sua estrutura física sob essas condições.

Em outro experimento, a remoção da cutícula teve seu impacto na manutenção da umidade ao longo da incubação e posterior eclosão. Peebles et al. (1986) observaram que apesar de haver impacto na eclosão, a remoção da cutícula foi um fator negativo menos importante do que a idade mais avançada da matriz e a redução da umidade das máquinas no processo de incubação. Ambos foram decisivos na perda hídrica e na redução na percentagem de eclosão.

Peebles et al. (1998) avaliaram o impacto da remoção da cutícula no desenvolvimento embrionário e na perda de umidade ao longo da incubação. Os autores

notaram que a reposta da remoção da cutícula na perda de umidade foi significativamente maior em reprodutoras testadas com 52 semanas de vida.

Santos et al. (2007) avaliaram a influência da qualidade da casca de ovos férteis na produtividade de um incubatório comercial. O objetivo foi estudar as perdas zootécnicas e econômicas que poderiam acontecer como resposta ao ovo incubável levado à planta de incubação. Os autores encontraram redução na eclodibilidade de ovos deformados e lavados. Eles observaram maiores índices de contaminação em ovos lavados quando comparados à ovos que foram submetidos à processos de desinfecção seca.

1.2.2. Protocolos de desinfecção de ovos férteis

São diversos os procedimentos adotados na indústria avícola para desinfecção de ovos incubáveis. Alguns métodos empregam desinfetantes diluídos em água e são conhecidos como protocolos de desinfecção úmida, enquanto outros são aplicados em forma de gás.

Pesquisadores norte-americanos, nas décadas de 1940 e 1950, iniciaram uma retrospectiva histórica de estudos acadêmicos com o objetivo de melhor entender a prática da desinfecção da casca de ovos. Lorentz et al. (1950) utilizaram a fumigação de óxido de etileno para desinfetar a casca de ovos comerciais contaminados durante período de estocagem. Naquele momento, foi concluído que a fumigação era funcional na desinfecção da casca ovos e que o óxido de etileno conseguiu proteger efetivamente os ovos estocados.

Lorentz et al. (1952) testaram a eclosão de ovos desinfetados por imersão em duas propriedades de uma mesma área, e observaram que o mesmo protocolo adotado nas propriedades apresentou diferença significativa no resultado. Segundo os autores, o manejo interfere diretamente na resposta da eclosão quando os ovos são lavados, sendo de extrema relevância o controle rígido desse procedimento.

Miller & Morrison (1958) estudaram a microbiologia de ovos em diferentes condições, tais como época da postura, e ovos limpos e sujos. Os autores trabalharam com detergentes a base de cloro e amônia em diferentes concentrações, e com uso de antibiótico

aureomicina na água. Nesse estudo foi observado diferença do nível de contaminação dos ovos de acordo com a estação do ano, e nenhuma vantagem no uso de antibióticos na carga bacteriana da casca dos ovos. Os tratamentos desinfetados demonstraram diferença quando comparados aos tratamentos controle, porém sem tendência clara quanto a concentração.

Harrison (1969) comparou os resultados de eclosão de ovos submetidos à protocolos de desinfecção usando ácido peracético, hipoclorito de sódio e mercúrio clorado. O autor concluiu ser importante a utilização de métodos químicos para sanitização da casca do ovo, mas salientou que dependendo do procedimento de execução adotado, o impacto na eclosão poderia ser negativo.

Ernst et al. (1974) utilizaram, em duas fazendas distintas, um protocolo de imersão dos ovos de ovos férteis de peru em água pré-aquecida com diferentes desinfetantes comerciais. Foram utilizados, amônia quaternária a 200ppm de dois laboratórios diferentes, iodoforo, dióxido de cloro, composto contendo fenol, amônia quaternária, formaldeído e clorexidina, composto fenólico e formaldeído gás. Foram realizados quatro testes entre os desinfetantes para avaliação da eclosão dos ovos férteis, e em nenhum deles houve diferença estatística dos desinfetantes entre si, ou entre eles e o grupo controle.

Sacco et al. (1989), conduziram experimento com ovos de perus, para determinar a extensão da interferência da sanitização de ovos embrionados na carga bacteriana da casca, na sobrevivência do embrião e sua eclosão. Foi avaliado o efeito da fumigação e da imersão em amônia quaternária na viabilidade embrionária aos sete dias, e posterior eclosão dos ovos férteis restantes. Os pesquisadores não encontraram diferença estatística em nenhum método de desinfecção sobre o outro, nem na mortalidade embrionária até sete dias, nem na eclosão. Assim como Ernst et al. (1974), também não foi observada diferença estatística na redução da carga bacteriana da casca dos ovos desinfetados, qualquer que fosse o princípio ou método de aplicação.

A eficiência dos métodos de desinfecção começou a se mostrar de maneira mais clara na última década do século XX. Brake & Sheldon (1990) realizaram uma série de experimentos onde foi encontrada diferença significativa entre a contaminação da casca dos ovos quando compararam aqueles que haviam sido desinfetados com glutaraldeído e o grupo

controle. Os autores notaram uma redução linear na carga bacteriana da casca dos ovos conforme a concentração do desinfetante aumentou.

Scott et al. (1993) estudaram 23 princípios ativos utilizados comercialmente na desinfecção de ovos férteis. Com o objetivo de buscar uma alternativa econômica e eficiente ao formaldeído. Os autores concluíram que apesar da dificuldade em avaliar diferentes princípios com diferentes concentrações, outros sanificantes apresentaram desempenho igual ou melhor àquele encontrado com o formaldeído, o que permitiria a substituição do mesmo sem perdas no processo.

Segundo Elguera (1999), de todos os fatores possíveis que afetam a qualidade do ovo e, por extensão a do pinto recém-nascido, destaca-se a contaminação bacteriana. O autor chama a atenção para o manejo de ninhos, e dos diferentes métodos e princípios químicos utilizados na desinfecção dos ovos como importantes ferramentas no controle desses microrganismos.

Bourassa et al. (2002) aplicaram diferentes concentrações de um composto fenólico comercial para avaliar sua influência dentro das incubadoras, e observaram que o mesmo apresentou excelente capacidade de controlar uma gama abrangente de bactérias. Os pesquisadores aplicaram doses crescentes e acima do recomendado, e concluíram que ao exceder o limite estabelecido pelo fabricante do produto, passou a existir uma correlação negativa e linear entre a dose aplicada e a eclosão de ovos férteis. Nessas condições, foi encontrado um valor crescente de mortalidade embrionária inicial conforme a concentração do produto aumentou.

Hannan et al. (2011), ao compararem ovos desinfetados em solução de enxague e ovos não lavados de aves de postura comercial criadas em gaiolas, encontraram redução significativa no nível de contaminação das cascas daqueles que haviam sido submetidos ao processo de desinfecção. Contudo, em protocolos que envolvem imersão ou pulverização do desinfetante diluído em água, a manutenção da solução acima de 38°C é mandatória para otimizar o resultado do procedimento (HUBBARD, 2012).

Em investigação recente, pesquisadores franceses colocaram em questão as alternativas viáveis para substituição do formaldeído nos incubatórios comerciais. Keita et al.

(2016) testaram a termo nebulização de dicloroisocianurato de sódio, a nebulização de peróxido de hidrogênio 6%, a aspersão de água oxidada eletrolisada e o peróxido de hidrogênio 30%. O peróxido de hidrogênio, seja a 6% ou a 30%, se mostrou consistentemente acima dos limites estabelecidos como seguros, enquanto os demais desinfetantes conseguiram respeitar os valores pré-determinados. Por outro lado, foram justamente esses tratamentos os mais eficientes na eclosão de ovos férteis e de pintos vendáveis, sendo os únicos a se mostrarem estatisticamente superiores.

1.2.2.1. Formaldeído

O formaldeído é o elemento mais simples entre os aldeídos e na ausência de água se mostra estável. Na presença de fonte inflamável e pequenas quantidades de água tende a polimerizar-se espontaneamente, e assim formar um composto sólido denominado paraformaldeído (Carvalho, 2013).

A utilização do formaldeído, em qualquer que seja o estado físico, é o principal método de ação para controle de microrganismos da casca de ovos na indústria avícola mundial. Mesmo que outros princípios ativos sejam de interesse de parte dos técnicos, seguramente o formaldeído é o protocolo que melhor conseguiu, até o momento, aliar eficiência, custo e praticidade. Na indústria brasileira, as principais formas desse aldeído na desinfecção de ovos são o formaldeído aquoso 37% e sua forma polimerizada, o paraformaldeído (Rui et al., 2011).

Provavelmente o maior desafio sanitário da avicultura ao redor do mundo é controle das salmonelas. Gradel et al. (2004) analisaram o impacto de um protocolo de fumigação de formaldeído na eliminação de *Salmonella spp.* de seis aviários de galinhas de ovos não incubáveis. Os pesquisadores concluíram que a fumigação desse princípio em concentração 30ppm, a 60°C e 100% de umidade relativa, foi extremamente eficiente. Segundo os autores, a técnica de desinfecção sugerida pode ser aplicada como protocolo seguro para eliminação de salmonela de ambientes contaminados.

Whistler & Sheldon (1989) estudaram a atuação bactericida do ozônio, sua influência na condutância da casca do ovo e o impacto na eclosão. Nesse estudo, o ozônio

apresentou bons resultados de desinfecção, próximos aqueles encontrados com formaldeído. Porém, a eclosão dos ovos tratados com formaldeído foi estatisticamente superior.

Em uma avaliação onde os ovos foram pulverizados ou imersos em diferentes princípios ativos, Cony et al. (2008) não encontraram diferença estatística na descontaminação da casca ou na mortalidade embrionária. O formaldeído não se apresentou descontaminação ou eclosão superior aos demais.

Freitas (2007) estudou o efeito da fumigação de nascedouros com formaldeído no trato respiratório e desempenho de frangos de corte. A pesquisadora definiu como leve as alterações observadas em fotos e eletro micrografias de cortes histológicos de pulmões e traqueias. Apesar de leves, encontraram-se alterações ultra e micro estruturais na traqueia e pulmões, sendo as mais frequentes, rupturas de membranas ciliares, aglutinação ciliar, área de descamação no epitélio e infiltração de heterofilos.

Em uma revisão sobre o tema, Nielsen & Wolkoff (2010) pontuaram a influência do formaldeído como agente cancerígeno. Nesse levantamento os autores citam o impacto genotóxico cromossomal nas células nasais e da boca. Os autores relatam a indução de carcinomas em ratos expostos ao formaldeído, e em uma análise epidemiológica de incidência, relacionam a exposição ao princípio ativo com cânceres nasal e de faringe, cérebro, pâncreas e sangue.

1.2.2.2. Luz ultravioleta

Segundo a Environmental Protection Agency – EPA (1999), a radiação ultravioleta é composta por diferentes comprimentos de onda eletromagnéticas. Entre 100 e 400nm, elas variam entre o raio X e espectros visíveis de luz: UV entre 100 e 200nm, UV-C entre 201 e 280nm, UV-B entre 281 e 315nm e UV-A entre 316 e 400nm. A atuação germicida conhecida se dá em maior intensidade entre 245 e 285nm, sendo as lâmpadas de maior eficiência para o propósito aquelas de baixa pressão, que se propagam em até 253,7nm.

Maclean et al. (2014) estudaram a possibilidade de operar lâmpadas UV de comprimento de onda 405nm na desinfecção de quartos de hospitais. Segundo os autores,

nesse espectro de onda a lesão dos germes se dá pela ação sobre moléculas orgânicas chamadas porfirinas, e não pela ruptura e lesão do DNA, como acontece em comprimentos de onda entre 260 e 280nm (Figura 1.2). Os pesquisadores concluíram que, considerando os resultados de redução bacteriana demonstrado no estudo, a lâmpada UV 405nm pode servir como estratégia de desinfecção para ambientes hospitalares ocupados. Isso porque ao contrário da luz UV-C, nesse espectro a luz ultravioleta pertence a faixa de luz visível para humanos, e de forma não deletéria ao homem, semelhante efeito germicida à comprimentos de onda menores.

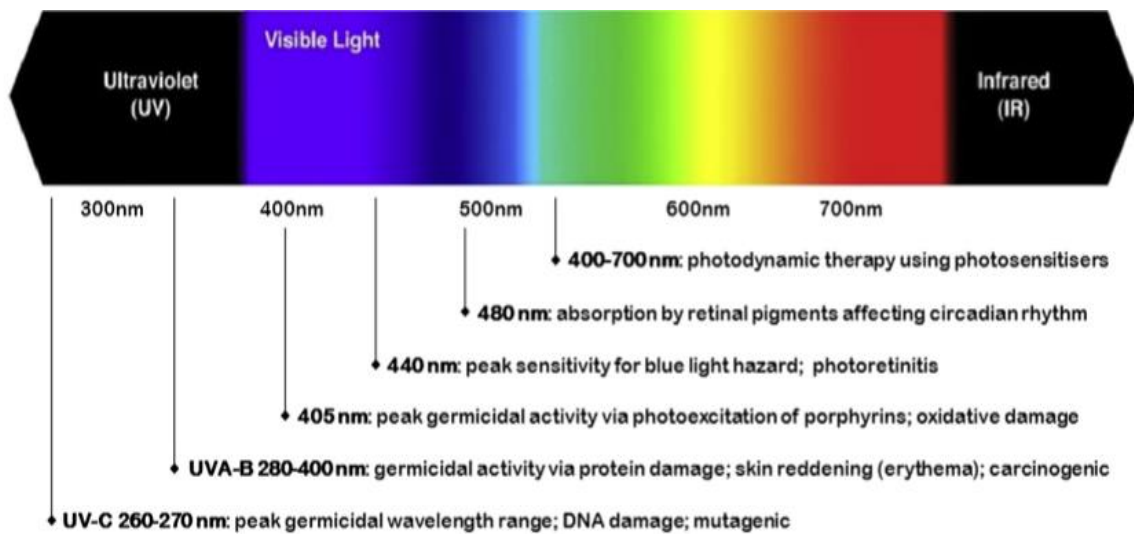


Figura 1.2. Esquema representativo dos comprimentos de onda da luz ultravioleta e sua função germicida. Adaptado de: Maclean et al. (2014).

Beck et al. (2016) trabalharam com luz ultravioleta UV-C LED, com o objetivo de avaliar o uso dessa nova tecnologia nos procedimentos de desinfecção. Foi avaliada a eficácia no controle de bactérias e vírus na água, concluindo-se que, independentemente do modelo de lâmpada empregada, a luz UV-C foi capaz de eliminar todos os patógenos presentes, lesando seu DNA e RNA. No entanto, o custo da operação foi 25-39% mais alta quando da utilização da lâmpada LED em substituição à lâmpada de vapor de mercúrio.

Mesmo com o número crescente de pesquisas com comprimentos de onda maiores e protocolos de aplicação distintos da luz UV, a lâmpada de mercúrio de baixa pressão ainda é objeto de grande parte dos estudos, uma vez que a capacidade de adsorção e lesão do DNA do microrganismo cresce com a redução da intensidade da luz ultravioleta visível: UV-C>UV-B>UV-A (Kielbassa et al., 1997).

O potencial germicida da luz UV-C se estende por uma gama de microrganismos. Che lah et al. (2012) estudaram a atuação de luz ultravioleta 254nm no controle de ovos e ácaros adultos de casa. A luz ultravioleta se mostrou letal para ambos, e mais eficiente conforme o tempo de exposição aumentou. Segundo os autores, em concordância com Mclean et al. (2014), nesse comprimento de onda a luz UV se mostra capaz de lesar o ácido nucleico (DNA e RNA) de uma gama diversa de microrganismos.

Tinôco (2011) estudou o potencial germicida e econômico da luz ultravioleta UV-C 254nm no controle de efluentes. O foco do estudo foi avaliar a capacidade da luz UV-C de atender uma demanda de redução microbiana em larga escala, e a autora concluiu que apesar de eficiente, para tal propósito, outros métodos como a luz solar UV deveriam ser avaliadas com a intenção de mitigar os custos.

Lyon et al. (2007) analisaram a habilidade da luz UV-C 254nm, em intensidade 1000mW/cm² durante 5 minutos, na redução do número de *Listeria Monocytogenes* em filés de peito de frango. O patógeno inoculado na superfície do peito do frango foi reduzido, em especial nos primeiros dias após o tratamento, indicando possibilidade de utilização em plantas de abate com o propósito de controlar essa bactéria.

Lázaro et al. (2014) avaliaram o efeito da luz ultravioleta UV-C, 1,95mW/cm² nas aminas biogênicas e indicadores de qualidade de carne de frango durante período de estocagem refrigerada. A luz ultravioleta se mostrou eficiente na redução de bactérias patogênicas de embalagens, e foi inferido que a mesma poderia ser utilizada como uma alternativa não térmica para controle de produtos embalados.

A reposta do efeito da luz UV-C na redução da contagem de bactérias totais presentes na casca de ovos também já foi pauta de estudos recentes. Chavez et al. (2002) posicionaram ovos em um protótipo para expor toda sua superfície, em tratamentos de luz ultravioleta com intensidade de 7,35mW/cm² em diferentes tempos. Foi encontrado uma redução de 2 a 3 log₁₀ UFC após 60 segundos de exposição. Em um segundo momento, ovos foram posicionados em uma esteira comercial, sem controle de rotação, e nesse caso a redução foi de 1 a 2 log₁₀ UFC depois de 48 segundos. O procedimento para extração dos contaminantes envolveu fricção individual dos ovos durante 5 segundos em saco plástico estéril e as amostras provenientes dos ovos foram plaqueadas em caldo PCA.

Coufal et al. (2003) estudaram a luz ultravioleta na redução bacteriana da casca dos ovos, no controle de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*, no impacto sobre a integridade da casca e na eclosão. Os ovos foram expostos durante 4 minutos à luz UV-C, em intensidade 14mW/cm², seguido por 5 segundos de fricção individual em saco plástico estéril para posterior plaqueamento. Os autores identificaram potencial de controle das bactérias *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*. Observaram que houve uma redução de 1,8 log₁₀ após 4 minutos de exposição à luz UV-C, e que a cutícula da casca dos ovos se manteve íntegra.

Wells et al. (2010) estudaram dois princípios ativos emergentes, a luz ultravioleta e o peróxido de hidrogênio, sozinhos e combinados, na desinfecção de ovos férteis. O melhor resultado dos tratamentos com luz UV-C deu-se com 8 minutos de exposição, com redução de 2,07 log₁₀ UFC. O melhor resultado, no entanto, se apresentou após 8 minutos somados a 2% de H₂O₂. Nesse caso a redução encontrada foi de 3,5 log₁₀ UFC.

Gottselig et al. (2016) utilizaram um protótipo intercalando luz ultravioleta e peróxido de hidrogênio na desinfecção de ovos (Figura 1.3). O tempo de exposição à luz nesse experimento variou entre 5 e 60 segundos, e a dosagem de peróxido de hidrogênio foi de 3%. Para extração da carga bacteriana dos ovos, os mesmos foram friccionados durante 1 minuto e posteriormente diluídos e plaqueados. Foram testados um e dois ciclos de exposição à luz UV-C nos tempos definidos, somados a pulverização intercalada de peróxido de hidrogênio. Concluiu-se que a aplicação de um ou dois ciclos de luz UV-C não apresentou diferença estatística. A aplicação do peróxido de hidrogênio em combinação com a luz UV-C, por outro lado, se mostrou estatisticamente superior.

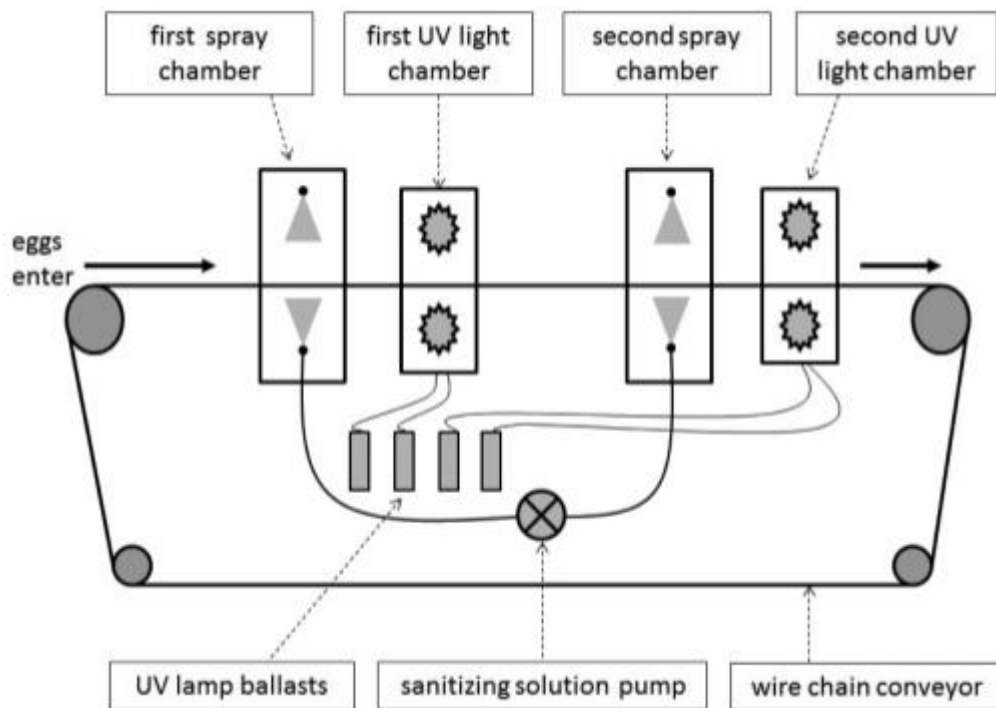


Figura 1.3. Esquema do protótipo utilizado para combinar desinfecções com luz ultravioleta e peróxido de hidrogênio. Adaptado de: AL-JEELI et al. (2016).

1.2.3. Fatores que influenciam e eclosão

A temperatura ótima para o desenvolvimento embrionário, melhor nascimento e qualidade de pintos está na faixa entre 37,5 e 38°C (Ancel & Visschedijk, 1993), enquanto a umidade relativa ideal fica entre 50 e 60%. Burnham et al. (2001) observaram diferença na composição dos ovos quando a umidade relativa variou à níveis inferiores a 43% e superiores a 63%. A perda de peso do ovo nessas condições deve ficar entre 11,5 e 15% (Bruzual et al., 2000).

A estocagem antes da incubação é um dos fatores que pode impactar no resultado da eclosão. Reijrink (2009) concluiu que o período de estocagem dos ovos antes da incubação influencia diretamente a resposta ao nascimento, sendo importante considerar a idade da reprodutora e a fase do desenvolvimento embrionário no momento da postura para definição do tempo de estocagem a ser utilizado. Araújo et al. (2015) notaram aumento linear na perda de peso dos ovos de acordo com o tempo de estocagem em codornas, sendo essa menos relevante em ovos refrigerados, e mais importante em ovos estocados a temperaturas superiores a 28°C.

Em poedeiras comerciais, Tanure et al. (2009) notaram diminuição na eclosão em ovos estocados durante 7 dias quando comparados a ovos estocados durante 3 dias, tanto em matrizes de 32, como em matrizes de 57 semanas de vida. Tona et al. (2003) observaram que o tempo de estocagem interferiu diretamente no volume de gases e na concentração de hormônios tireoidianos dentro do ovo, afetando o tempo necessário de incubação e resultado final de eclosão.

Algumas características dos ovos férteis definem o potencial de eclosão dos mesmos. A medida que a matriz envelhece, notam-se diferenças significativas no peso e conteúdo do ovo, espessura da casca, contagem de poros, comprimento e peso do pinto, e percentual de proteína bruta (Santos, 2014). Nazareno et al. (2014) avaliaram o impacto do transporte na qualidade de ovos férteis, e concluíram que ovos de matrizes mais velhas apresentaram mais trincas do que ovos de matrizes mais novas.

2. CAPÍTULO II

2.1. RESUMO

EFICIÊNCIA DA LUZ ULTRAVIOLETA NA DESINFECÇÃO DE OVOS FÉRTEIS DE REPRODUTORAS PESADAS

José Renato de Oliveira Branco¹
Concepta Margaret McManus Pimentel²

1 – Mestrando em Ciências Animais, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

2 – Professora Titular, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

Essa investigação se dividiu em duas etapas. Em um primeiro momento buscou-se avaliar a desinfecção de ovos férteis com luz ultravioleta 254nm (UV-C), comparando-a com um protocolo utilizando paraformaldeído. Ovos de galinhas reprodutoras com 36 semanas de idade foram submetidos aos tratamentos: ovos não desinfetados (CN), ovos expostos durante 1, 3, 5, 7, 9 minutos de luz UV-C (UV 1, UV 3, UV 5, UV 7, UV 9) e ao paraformaldeído 5,3g/m³ (CP). De cada tratamento, 35 ovos foram individual e asépticamente colocados em uma solução de enxague, friccionados durante 1 minutos para extração do conteúdo bacteriano, plaqueados em ágar padrão para contagem e incubados durante 48 horas à 37°C. Foi detectada uma correlação negativa entre o crescimento bacteriano e a duração dos tratamentos UV-C, com redução significativa de 0,68 log₁₀ após 5 minutos de exposição. Não houve diferença estatística entre os tratamentos CN, UV 1 e UV 3. O CP foi significativamente mais eficiente do que todos os tratamentos, exceto pelo UV 9. Os dados foram analisados utilizando o teste ANOVA (P<0.001), e as médias submetidas ao teste Tukey (P<0.05). Em um segundo momento, foram investigados os possíveis impactos do melhor tratamento com luz UV-C encontrado na primeira etapa sobre a eclosão de ovos férteis, mortalidade embrionária e distribuição do nascimento. Foram incubados 35 ovos do tratamento CP, 35 ovos do tratamento UV 9 e 35 ovos do tratamento CN quando as reprodutoras viviam 38, 42 e 48 semanas. Não houve diferença estatística na eclosão de ovos férteis entre os tratamentos (P>0.05), e somente às 42 semanas os tratamentos submetidos a algum protocolo de desinfecção se mostraram mais eficientes do que o o tratamento CN. Foi possível observar vantagem na eclosão dos ovos de reprodutoras mais jovens, quando comparada à eclosão dos ovos de reprodutoras vivendo 48 semanas (P<0.05), independentemente do tratamento. A mortalidade embrionária se apresentou de forma semelhante em todas as baterias de incubação qualquer que fosse a idade ou tratamento, sendo mais alta na etapa final entre 19 e 21 dias (P<0.05). Os tratamentos CN e UV 9 minutos

apresentaram distribuição de nascimento semelhante, enquanto o tratamento CP se diferenciou pela ausência de pico de eclosão em dado momento do nascimento.

Palavras-chave: ultravioleta, paraformaldeído, reprodutoras pesadas, ovos férteis, incubação

2.2. ABSTRACT

EFFICIENCY OF ULTRAVIOLET LIGHT ON FERTILE EGGS DISINFECTION OF BROILER BREEDERS

José Renato de Oliveira Branco¹
Concepta Margaret McManus Pimentel²

1 – Master's candidate in Animal Sciences, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

2 – Professor, FAV-UnB. Brasília/DF, Brasil.

This investigation was divided into two. The first part aimed to evaluate the disinfection of fertile eggs with 254nm ultraviolet light (UV-C), comparing it with a protocol using paraformaldehyde. Eggs of broiler breeders at 36 weeks of age were submitted to treatments: eggs not disinfected (CN), eggs exposed for 1, 3, 5, 7, 9 minutes of UV-C light (UV 1, UV 3, UV 5, UV 7, UV 9) and paraformaldehyde 5.3g/m³ (CP). From each treatment, 35 eggs were individually and aseptically placed in a rinse solution, rubbed for 1 minute to extract the bacterial contents, plated on standard agar for counting and incubated for 48 hours at 37°C. A negative correlation between bacterial growth and duration of UV-C treatments was detected, with a significant reduction of 0.68 log₁₀ after 5 minutes of exposure. There was no statistically significant difference between the CN, UV 1 and UV 3 treatments. CP was significantly more efficient than all treatments except UV 9. Data was analyzed using the ANOVA test ($P < 0.001$), and the means submitted to the Tukey test ($P < 0.05$). In a second moment, the possible impacts of the best treatment with UV-C light found in the first stage on the hatching of fertile eggs, embryonic mortality and hatch distribution were investigated. 35 CP treatment eggs, 35 UV 9 treatment eggs and 35 CN treatment eggs were incubated when the breeders had 38, 42 and 48 weeks. There was no statistical difference on the hatch of fertile eggs between treatments ($P > 0.05$) and only when birds were with 42 weeks of age disinfection protocols were more efficient than CN treatment. It was possible to observe advantage in the hatching of the eggs from younger breeders when compared to the hatching of the eggs from breeding herds living 48 weeks ($P < 0.05$) independently of the treatment. Embryonic mortality was similar in all incubation batteries regardless of age or treatment, being higher in the final stage between 19 and 21 days ($P < 0.05$). The treatments CN and UV

9 minutes presented a similar hatch distribution, while CP treatment was differentiated by the absence of a peak at a given moment of hatch.

Keywords: ultraviolet, paraformaldehyde, broiler breeders, fertile eggs, incubation

2.3. INTRODUÇÃO

O frango consumido diariamente por milhões de pessoas ao redor do mundo oculta uma cadeia dinâmica e complexa. O posicionamento do Brasil como maior exportador de carne de frango do mundo (FAO 2015) é respaldado por um conjunto de setores de produção, que segundo Mendes & Braga Saldanha (2004), começa com a importação de material genético, recebe efeito multiplicador em granjas de avós e matrizes, e culmina na produção e industrialização de frangos de corte. A etapa de incubação dos ovos é fase importante ao longo do processo, e é nesse contexto que a qualidade físico-química do ovo produzido e seu futuro potencial de eclosão demandam atenção especial. Simões (2015) salienta a importância de a granja garantir a qualidade dos ovos entregues, através de medidas higiênico-sanitárias que assegurem a expressão máxima do potencial de nascimento da linhagem sendo trabalhada.

O método mais adotado para desinfecção de ovos férteis no Brasil é a fumigação do formaldeído, conhecido como paraformaldeído. Apesar de comprovadamente eficiente, esse método se faz controverso frente algumas discussões. Em frangos de corte, Hayretdag & Kolankaya (2008) encontraram encurtamento e perda de cílios do epitélio traqueal aos 18 dias de incubação e ao nascimento, quando os ovos foram expostos à fumigação com formaldeído líquido e permanganato. Calheiro et al. (2014) estudaram alternativas para a utilização do formaldeído como princípio ativo na conservação de cadáveres em universidades, uma vez que segundo o autor, o composto utilizado atualmente é cancerígeno e expõe a saúde de seus manuseadores.

Os protocolos de desinfecção de ovos férteis precisam atender critérios básicos, que incluem eficiência, custo acessível, praticidade e segurança na aplicação. Sob essa

abordagem é que novas tecnologias, ou tecnologias já estabelecidas aplicadas a novos propósitos, devem ocupar um espaço ainda não ocupado por protocolos atuais.

Hierro et al. (2009) testaram a luz ultravioleta pulsada, de intensidade $1\text{J}/\text{cm}^2$ na eliminação de *Salmonella Enteritidis* da casca de ovos não incubáveis. Foi observado que em ovos onde a cutícula se encontrava íntegra antes da desinfecção, a eficiência da luz UV foi maior. Nesse caso, em 80% dos ovos, encontrou-se a maior redução bacteriana ($3,6 \log_{10}$ UFC), enquanto em ovos que foram lavados e a cutícula lesada, o máximo atingido foi de $1,8 \log_{10}$ UFC, em menos de 50% dos ovos.

Em projeto realizado na Universidade do Texas, Al-Ajeeli et al. (2016) trabalharam com luz UV-C e peróxido de hidrogênio 3,5%, na desinfecção da casca de ovos não incubáveis, estocados para consumo. Os pesquisadores compararam a eficiência desse protocolo com desinfecções com cloro e ácido peracético spray, assim como a aceitação do consumidor aos procedimentos adotados. A redução de carga bacteriana, obtida pela desinfecção com luz UV-C combinada ao peróxido de hidrogênio, se diferenciou estatisticamente dos demais princípios ativos testados após diferentes tempos de estocagem: 0, 7 e 14 dias.

O efeito germicida da luz ultravioleta já comprovada em diversos experimentos vem permitindo estudos mais direcionados com ovos. O objetivo do presente experimento é avaliar o potencial da luz UV-C quando comparada ao método com paraformaldeído, de ampla difusão no Brasil.

2.4. MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1. Delineamento experimental

O experimento foi realizado na fazenda São José em Luziânia/GO e no laboratório de Bem-Estar Animal da Universidade de Brasília – UnB, sob o certificado de aprovação expedido pelo CEUA-UnB nº66684/2016.

Foram testados dois protocolos de desinfecção de ovos férteis. Parte dos ovos foram submetidos ao procedimento de fumigação do paraformaldeído dentro da propriedade que forneceu os ovos (CP). A outra parte foi submetida a diferentes tempos de exposição à luz ultravioleta UV-C de comprimento de onda 254nm: 1 minuto, 3 minutos, 5 minutos, 7 minutos e 9 minutos (UV 1, UV 3, UV 5, UV 7, UV 9). Um grupo controle sem desinfecção (CN) foi adotado para análise da contaminação primária dos ovos coletados.

Em um segundo momento, foram realizadas incubações quando as reprodutoras estavam com 38, 42 e 48 semanas, com 3 tratamentos cada: ovos submetidos ao melhor resultado de descontaminação encontrado com luz ultravioleta (UV), ovos fumigados com paraformaldeído 5,3g/m³ (CP), e ovos que não passaram por nenhum protocolo de desinfecção (CN).

Em todas as incubações, 35 ovos por tratamento foram alocados aleatoriamente nas incubadoras, sendo cada ovo tomado como uma repetição, com posterior avaliação da eclosão, mortalidade embrionária e distribuição dos nascimentos.

2.4.2. Coleta de ovos

Os ovos utilizados ao longo do projeto foram coletados na Fazenda São José, localizada na cidade de Luziânia/GO, pertencente à empresa Hubbard do Brasil Avicultura LTDA. Os ovos foram coletados de um galpão com 5154 reprodutoras pesadas avós em um núcleo específico da propriedade. As aves estavam com 36 semanas de idade na primeira etapa do projeto onde comparou-se a descontaminação dos ovos, e 38, 42 e 48 semanas na segunda fase, quando se avaliou eclosão, mortalidade embrionária e distribuição do nascimento. Os ovos foram coletados de ninhos manuais de alumínio, cuja maravalha interna utilizada para forrá-lo havia sido repostada três dias antes de começar o experimento, respeitando o cronograma da empresa.

A rotina da fazenda determina a realização de cinco coletas ao longo do dia, sendo três pela manhã e duas no período da tarde. Os ovos utilizados durante o experimento, qualificados como ‘ovos limpos de ninho’, foram retirados aleatoriamente da primeira coleta, finalizada às nove horas da manhã.

2.4.3. Protocolos de desinfecção

Ao final da coleta foram colhidos aleatoriamente 245 ovos, dos quais, 175 foram direcionados para realização dos tratamentos com luz ultravioleta. Entre os 70 ovos restantes, 35 foram selecionados para realização de contagem bacteriana controle do dia, e os outros 35 submetidos ao protocolo de desinfecção com paraformaldeído.

2.4.3.1. Fumigação

O processo de fumigação à base de paraformaldeído foi realizado dentro do núcleo de produção seguindo instruções de manejo definidas pela empresa, uma hora e trinta minutos após o início da coleta.

A câmara de fumigação (Figura 2.1) utilizada é de alvenaria e possui as seguintes dimensões: 1,95 metros de largura, 1,87 metros de comprimento e 3 metros de altura, sendo o volume em metros cúbicos, 10,395. A empresa trabalha com 55g de

paraformaldeído a cada fumigação, o que representa uma dosagem de $5,29\text{g}/\text{m}^3$, sendo essa a dose adotada durante a pesquisa.

O processo de fumigação foi dividido em duas fases, uma onde ocorre a desinfecção de fato, e essa leva 20 minutos, e outra de 10 minutos, necessária para exaustão do paraformaldeído, a fim de minimizar possível impacto à saúde dos funcionários que acessam os ovos desinfetados. O procedimento foi realizado em temperatura de 27°C e 75% de umidade relativa do ar dentro do fumigador.

Os ovos CN e UV 1, 3, 5 7 e 9 foram transportados em uma caixa estéril hermeticamente vedada ao laboratório de Bem Estar Animal – LABEA da Faculdade de Agronomia e Veterinária – FAV da Universidade de Brasília – UnB antes dos ovos CP, permitindo que os tratamentos tivessem início ao mesmo tempo.



Figura 2.1. Câmara de fumigação de paraformaldeído.

2.4.3.2. Luz ultravioleta

O primeiro tratamento realizado no laboratório foi o UV 9, seguido imediatamente pelo UV7, UV 5, UV 3 e UV 1. Foi utilizada uma cabine de fluxo laminar da marca ESCO Opti-mair com lâmpada ultravioleta UV-C de comprimento de onda 254nm (Figura 2.2) posicionada na parte superior, a uma distância de 50 cm dos ovos. A intensidade na área de atuação da cabine de fluxo laminar foi de 8mW/cm². A cada tratamento, os ovos foram retirados da caixa estéril e posicionados dentro da cabine já desinfetada e com o fluxo laminar funcionando para evitar contaminação do ambiente. Os mesmos foram alocados em uma máquina adaptada para permitir a rolagem em torno do seu eixo vertical para exposição de toda superfície ao foco de luz ultravioleta.

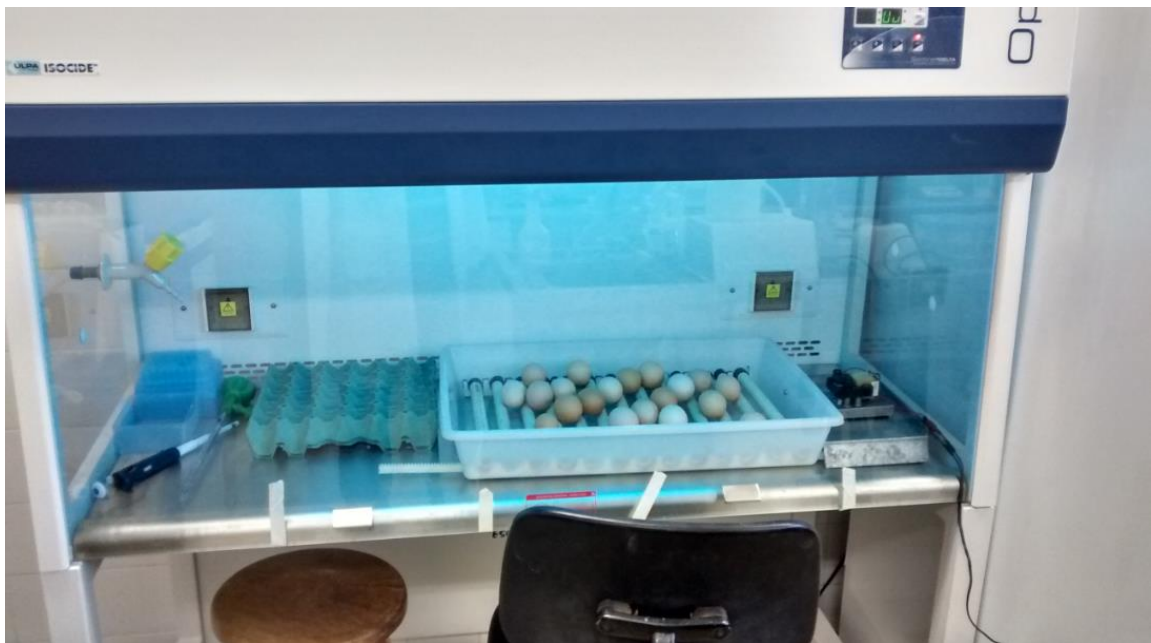


Figura 2.2. Cabine de fluxo laminar com lâmpada ultravioleta germicida 254nm.

2.4.4. Plaqueamento

Os ovos foram colocados individualmente em um saco plástico estéril WHIRL-PAK contendo 20 mL de solução salina peptonada 0,1%, e massageados manualmente durante 1 minuto para extração da carga microbiana.

Do lavado, uma alíquota de 1 mL foi retirada e diluída em outros 10 mL de mesma solução salina peptonada 0,1%. A nova diluição foi mantida em temperatura ambiente, enquanto os mesmos procedimentos para extração dos microrganismos e diluição foram realizados nos demais tratamentos. Ao término, as soluções permaneceram em repouso por uma hora enquanto o meio para o plaqueamento foi preparado.

O plaqueamento foi realizado segundo a Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Uma alíquota de 1 mL de cada diluição foi semeada em uma placa de Petri estéril, onde em seguida, foram adicionados 20 ml de caldo ágar padrão – PCA para contagem de bactérias. Após 30 minutos de repouso para resfriamento do caldo, as placas foram colocadas em uma estufa a 37°C durante 48 horas para posterior contagem de unidades formadoras de colônias – UFC (MAPA, 2003). Foram realizadas contagens com 24 e 48 horas, mas somente a segunda foi utilizada como parâmetro para avaliar a eficiência da desinfecção, uma vez que a taxa de crescimento ainda não se mostrou estabilizada após 24 horas de manutenção das placas de Petri na estufa (Figura 2.3). Para realização da leitura a placa foi dividida em 4 quadrantes, afim de facilitar a contagem de colônias.

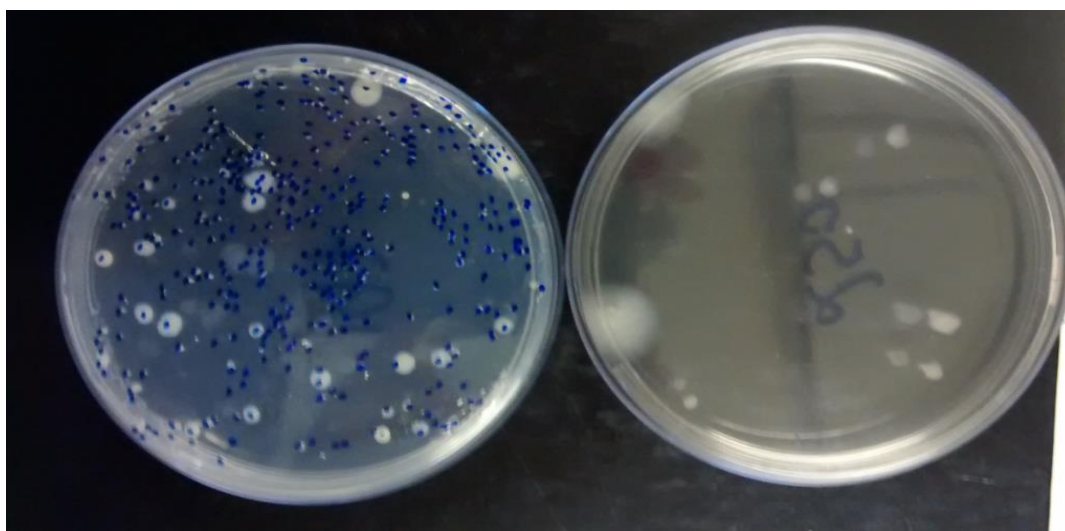


Figura 2.3. UFC nas placas após 48 de incubação.

2.4.5. Procedimentos de estocagem e incubação

Para a segunda etapa, os ovos coletados desinfetados seguindo protocolos CP, melhor tratamento com luz UV-C e CN foram identificados com caneta hidrográfica e distribuídos aleatoriamente desde a coleta até o momento do nascimento (Figura 2.4). Um

sensor de temperatura e outro de umidade acompanharam os ovos durante as incubações para entender possíveis impactos do microclima dos equipamentos nos resultados.

Antes da incubação, os ovos foram mantidos em uma caixa previamente esterilizada à uma temperatura de 20°C durante 2 dias. Seguindo recomendação do fabricante, as incubadoras foram ajustadas para manter a temperatura em 37,7°C e a umidade relativa entre 50 e 62%. Um termo higrômetro externo foi mantido como referência à temperatura e umidade da máquina, auxiliando no controle diário, e permitindo ações rápidas quando necessário. A incubadora utilizada possui um sistema automático de viragem de ovos, ferramenta utilizada entre os dias 1 e 18 da incubação, e desligada para o nascimento.



Figura 2.4. Ovos identificados distribuídos aleatoriamente antes da incubação.

2.4.6. Ovoscopia, mortalidade embrionária e distribuição dos nascimentos

Entre o 10º e o 13º dia de incubação realizou-se a ovoscopia, com uma lanterna de foco regulável, para identificação e descarte de ovos inférteis (Figura 2.5). Ao final da incubação, foi realizado o procedimento de embriodiagnóstico para avaliação do momento da morte dos embriões não nascidos.

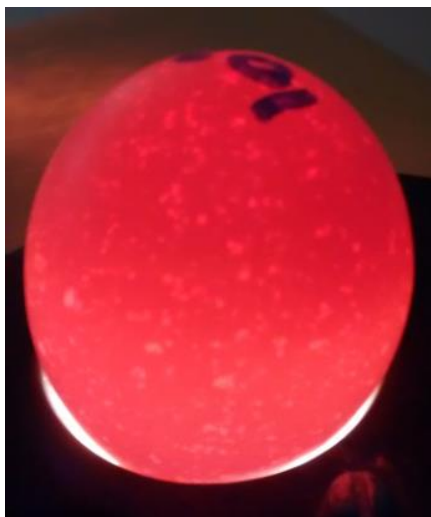


Figura 2.5. Ovo infértil retirado durante a ovoscopia.

Durante o embriodiagnóstico, a mortalidade embrionária foi classificada como: inicial entre o primeiro e o sétimo dia, intermediária entre o 8º dia e o 18º dia, e tardia entre 19 e 21 dias de desenvolvimento (Figura 2.6).



Figura 2.6. Mortalidade embrionária tardia entre 19 e 21 dias.

Com os ovos enumerados, foi realizada uma avaliação individualizada do nascimento a cada oito horas. O número da casca dos pintos nascidos em cada intervalo foi anotado com objetivo foi identificar o período total de incubação e a distribuição dos nascidos, avaliando possível interferência causada pelos processos de desinfecção experimentados.

2.4.7. Análises estatísticas

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o software SAS[®]. Todos os dados de descontaminação ($P < 0.001$), eclosão ($P > 0.05$) e distribuição do nascimento ($P < 0.05$) foram submetidos à análise de variância, e médias comparadas usando o teste de Tukey ($P < 0.05$). As mortalidades embrionárias foram submetidas ao teste de sobrevivência proc lifetest ($P < 0.05$).

2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1. Avaliação comparativa de UFC entre métodos de desinfecção utilizando luz ultravioleta UV-C 254 nm, paraformaldeído e controle

Os resultados estabelecidos após a contagem de UFC indicaram eficiência da luz ultravioleta na redução de bactérias presentes na casca dos ovos. O tratamento UV 9 apresentou nível de descontaminação estatisticamente igual àquele encontrado no CP ($P < 0.05$) (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Média e desvio padrão das unidades formadoras de colônias

Placa	CN	UV-C					CP
		1min	3min	5min	7min	9min	
Média	3,26 ^a	3,19 ^a	3,00 ^{ab}	2,58 ^{bc}	2,25 ^{cd}	2,00 ^{de}	1,52 ^e
Desvio Padrão	0,51	0,47	0,70	0,80	0,63	0,67	1,05

* Médias e desvio seguidos da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$)

Os resultados dessa etapa do experimento demonstraram uma redução menor do que aquela descrita por Wells et al. (2010), que encontraram uma redução de $2,07 \log_{10}$ UFC/ovo após 8 minutos de exposição à luz UV-C de comprimento de onda 254nm e intensidade 11 mW/cm^2 . Nesse experimento, encontrou-se redução superior a $1 \log_{10}$ UFC/ovo somente após 7 minutos de exposição, e em nenhum tratamento foi observada redução superior a $2 \log_{10}$ UFC/ovo.

Coufal et al. (2003), trabalhando com intensidade de $7,5 \text{ mW/cm}^2$ e mesmo comprimento de onda, conseguiram atingir redução de $3 \log_{10}$ UFC/ovo em apenas 48 segundos quando os ovos estavam rodando, enquanto Chavez et al. (2002), também utilizando um sistema de rolagem, observaram redução entre 1 e $2 \log_{10}$ UFC/ovo após 30 segundos de

exposição, e entre 2 e $3\log_{10}$ após 60 segundos de exposição. Estes estudos indicam que a intensidade a qual os ovos foram expostos parece ter influenciado pouco, uma vez que níveis de descontaminação mais altos foram encontrados em protocolos mais curtos e de menor intensidade.

No presente estudo, também utilizando um sistema de rotação dos ovos, os resultados encontrados não apresentaram diferença significativa quando comparados os tratamentos CN, UV 1 e UV 3. Somente a partir do tratamento com 5 minutos de luz UV-C, a redução na contaminação passou a ser diferente estatisticamente ($P < 0.05$) do grupo controle.

O nível de contaminação primário do ovo antes de qualquer processo de desinfecção é importante, já que em experimentos anteriores utilizando luz UV-C (Chavez et al., 2002, Coufal et al., 2003, Wells et al., 2010), a contagem bacteriana dos ovos controle foi superior a $4.3\log_{10}$, superando a contagem dos ovos controle desse experimento em mais de $1\log_{10}$ (Tabela 2.1).

O protocolo para remover o conteúdo bacteriano através de fricção do ovo em caldo peptonado dos experimentos citados acima foi igual, sendo a única diferença o tempo de execução. Tanto Chavez et al. (2002) como Coufal et al. (2003) massagearam os ovos durante 5 segundos para obtenção do caldo utilizado durante o plaqueamento. O protocolo assumido para extração do conteúdo microbiano da casca desse trabalho foi o mesmo adotado por Wells et al. (2010), quando os ovos foram massageados durante 1 minuto. Não de maneira randômica, as respostas menos expressivas de contaminação foram encontradas em experimentos onde levou-se mais tempo à extração de bactérias da casca dos ovos.

A dispersão da UFC entre as placas do CP foi maior do que nos demais tratamentos ($P < 0.001$) (Figura 2.7). Esse resultado indica que ao mesmo tempo que esse tratamento foi eficiente na redução bacteriana de algumas placas, em outras quase não houve ação sobre o nível primário de contaminação, igualando resultados do CN. É possível inferir que apesar do paraformaldeído possuir excelente capacidade de atuar na descontaminação da casca de ovos, uma vez que diversas placas apresentaram crescimento bacteriano inexpressivo, o método de fumigação pode não ser homogêneo.

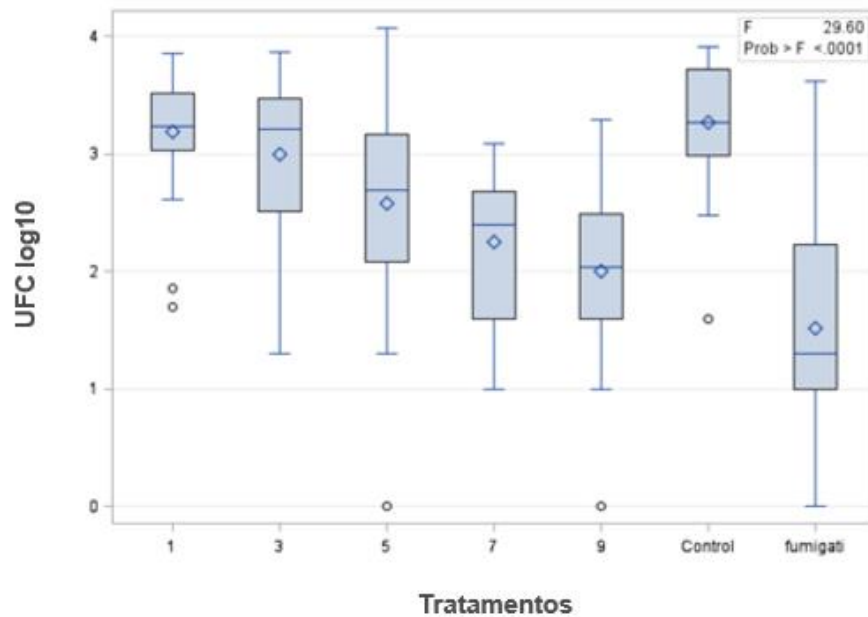


Figura 2.7. Distribuição de UFC após realização de todos os tratamentos.

O presente projeto foi desenhado para simular condições reais, e melhor entender a funcionalidade de um protocolo com luz ultravioleta em situações de campo. Segundo Fritzsons (2012), o ovo leva em torno de 6 horas para atingir a temperatura do ambiente e finalizar o fechamento dos poros. Nesse experimento, todos os tratamentos foram realizados menos de três horas após a postura.

2.5.2. Análise da descontaminação das cascas dos ovos após diferentes tempos de tratamento com luz ultravioleta

Os tratamentos com luz ultravioleta apresentaram uma resposta proporcional ao tempo de exposição, ou seja, quanto maior foi o tempo de exposição à luz UV-C, maior foi a redução bacteriana encontrada (Figura 2.8). A dispersão entra as placas, no entanto, foi estaticamente igual entre todos os tratamentos ($P < 0.005$).

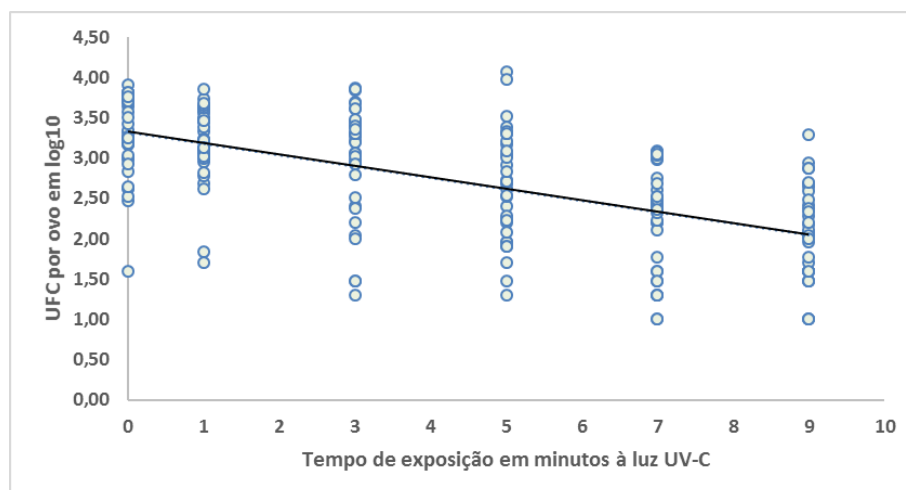


Figura 2.8. Regressão linear dos tratamentos com luz ultravioleta.

2.5.3. Avaliação das eclosões encontradas após tratamentos UV 9, CP e CN

Em todos os protocolos de incubação, a eclosão dos ovos férteis foi aquela utilizada nas análises. Isso porque foram manejadas 3 idades distintas, e a fertilidade variou substancialmente entre os procedimentos. As eclosões encontradas ao longo do experimento foram comparadas ao padrão da linhagem, e se mostraram inferiores aos resultados comerciais (HUBBARD, 2014). Isso possivelmente porque as alternativas para controlar o processo de incubação em nível experimental, em especial a umidade, foram menos eficientes do que àquelas encontradas na esfera industrial. Nenhum nascimento, de qualquer tratamento, conseguiu atingir, e poucos se aproximaram do padrão estabelecido pela linhagem para as idades testadas (Tabela 2.2).

Tabela 2.2. Comparativo entre eclosão de férteis dos tratamentos e padrão da linhagem.

		Idade da matriz	Eclosão total (%)	Eclosão esperada total da linhagem (%)	Eclosão de férteis (%)	Eclosão esperada de férteis da linhagem
fumigação	1ª incubação	38	62,86	70,00	75,00	77,78
	2ª incubação	42	68,57	69,00	77,04	78,40
	3ª incubação	48	54,29	65,00	67,61	76,40
UV-C	1ª incubação	38	65,71	70,00	74,60	77,78
	2ª incubação	42	65,71	69,00	75,83	78,40
	3ª incubação	48	57,14	65,00	69,49	76,40
controle	1ª incubação	38	65,71	70,00	77,04	77,78
	2ª incubação	42	62,86	70,97	71,69	78,40
	3ª incubação	48	54,29	65,00	66,15	76,40

* Dados analisados pelo teste ANOVA ($P < 0.05$)

A temperatura não sofreu grandes variações ao longo do processo, e permaneceu próxima dos limites aceitáveis definidos pelo fabricante (PREMIUM ECOLÓGICA, 2011). A regulagem automática dos equipamentos seguramente favoreceu esse controle, e a temperatura se manteve a maior parte do tempo entre 37,2 e 38,2°C. A variação de umidade, por outro lado, apresentou de maneira mais constante, picos de umidades fora dos limites estabelecidos pelo fabricante de 55% e 62%.

Não foi possível encontrar relação clara entre o método de desinfecção empregado e a eclosão de ovos férteis. Ao contrário do esperado, as taxas de eclosão dos tratamentos CP e UV 9 não apresentaram diferença em relação ao grupo controle ($P>0.05$). Somente às 42 semanas o desempenho foi menor no grupo não desinfetado, fato esse que não se repetiu nas demais baterias de incubação (Figura 2.9).

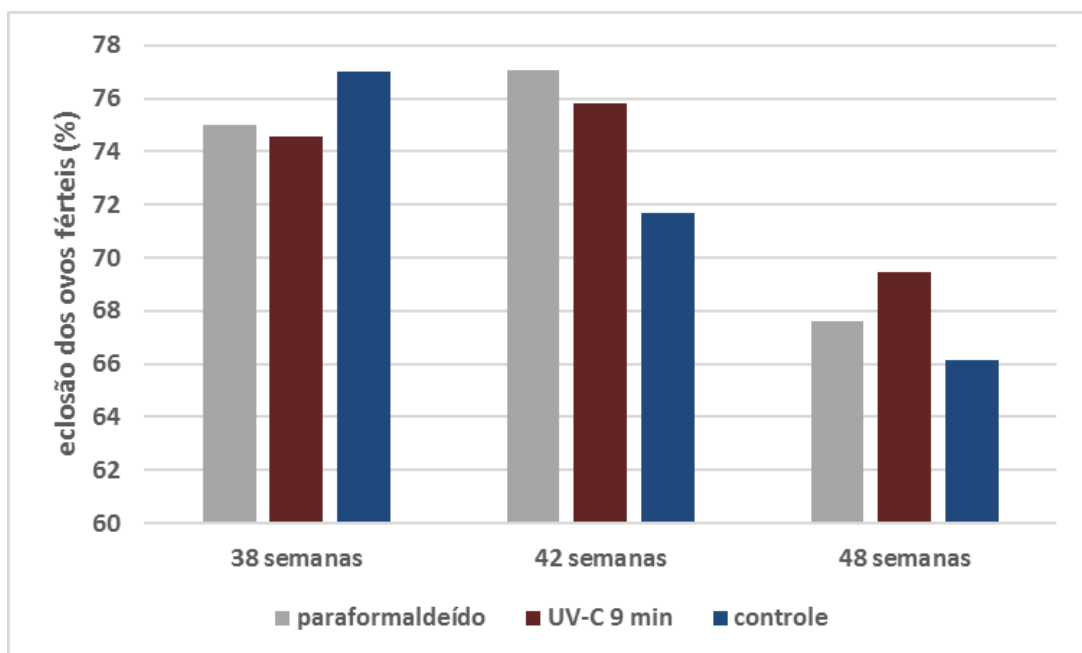


Figura 2.9. Eclosão dos ovos férteis ($P>0.05$).

Observou-se que a idade da reprodutora impactou diretamente no potencial de nascimento, fato esse evidenciado com a queda no desempenho geral na incubação dos ovos de todos os tratamentos a partir de 48 semanas de vida da matriz. Em experimento conduzido por Lapão et al. (1999), os autores encontraram valores mais altos de pH e albúmen menos denso em ovos de reprodutoras mais velhas nos primeiros dias após a postura, quando comparados à ovos de fêmeas mais novas.

Reis et al. (1997) encontraram uma diferença de 2% no nascimento entre ovos de reprodutoras de idades diferentes. Em investigação realizada pelos autores após 2 dias de estocagem, período de estocagem igual ao utilizado no presente experimento, os ovos férteis de reprodutoras entre 32 e 34 semanas de idade eclodiram 92,1% contra 89,3% de fêmeas entre 48 e 50 semanas de idade.

2.5.4. Avaliação da mortalidade embrionária

O comportamento da mortalidade embrionária foi semelhante independentemente do protocolo de desinfecção testado. A mortalidade embrionária final, entre 19 e 21 dias, foi a mais alta em todas as baterias de incubação e em todos os tratamentos (Figura 2.10). A mortalidade embrionária inicial, em todos as incubações foi maior do que a mortalidade intermediária, e menor do que a mortalidade final.

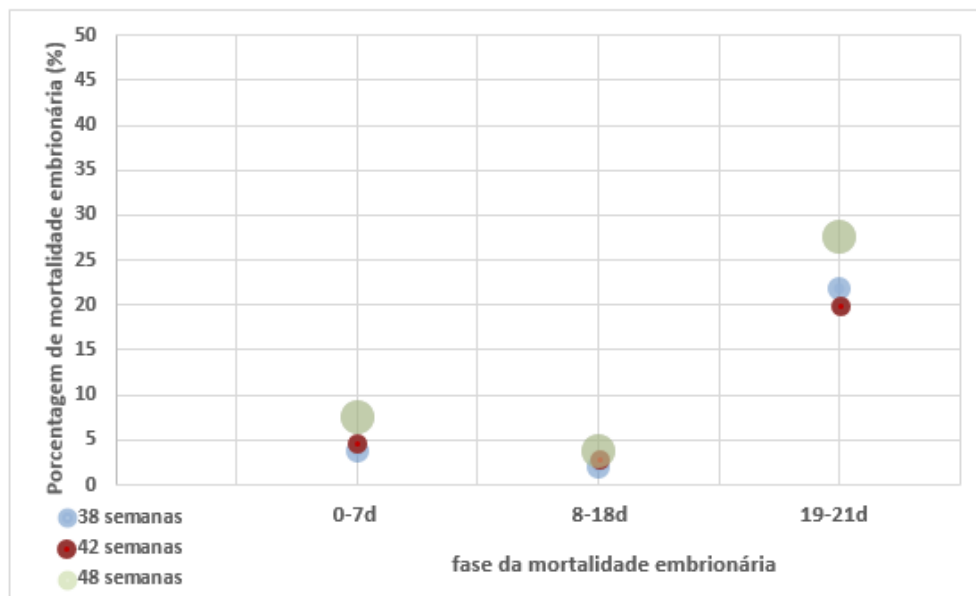


Figura 2.10. Mortalidade embrionária inicial, intermediária e tardia ($P < 0.05$).

A principal diferença notada foi no aumento percentual de embriões mortos na etapa final de incubação às 48 semanas. Entre 40 e 42 semanas os ovos apresentam as melhores condições para controlar a perda de umidade e lograr melhores resultados de eclosão (Tona et al. 2001). Ao passo que a mortalidade entre 19 e 21 dias se manteve entre 20 e 25% dos ovos avaliados quando o lote estavam com 38 e 42 semanas, a mesma superou os 25% quando a idade do lote avançou e atingiu 48 semanas em todos os tratamentos (Figura 2.11).

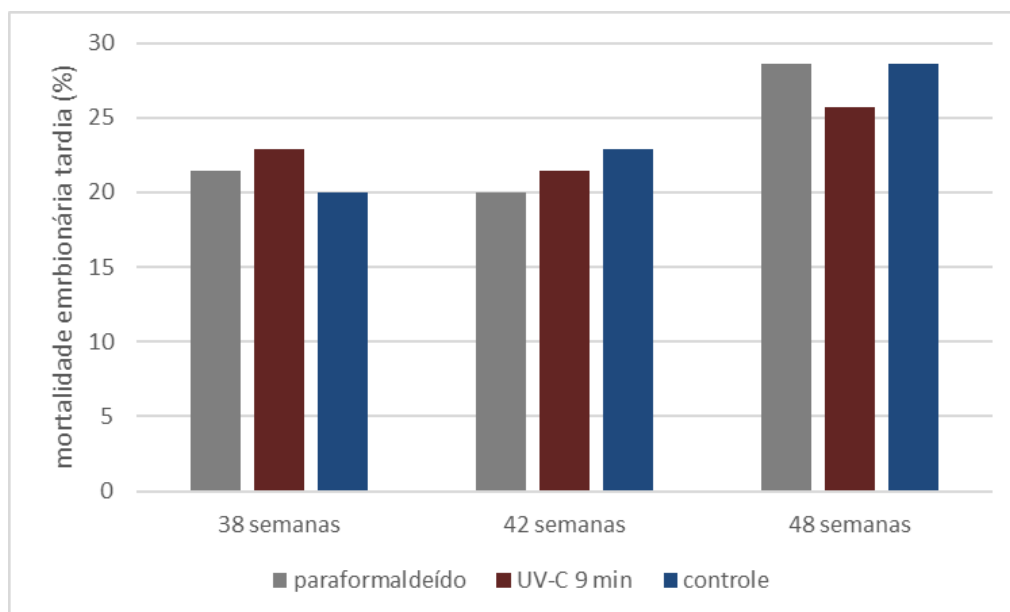


Figura 2.11. Mortalidade embrionária tardia em todas as idades testadas ($P < 0.05$).

2.5.5. Avaliação da distribuição e tempo total de nascimento

As eclosões foram avaliadas a cada 8 horas. A proposta foi procurar entender se o uso do paraformaldeído ou da luz UV-C como desinfetante poderia impactar a distribuição dos nascidos.

O tratamento UV 9 apresentou uma distribuição de nascidos muito semelhante àquela encontrada nos ovos que não foram submetidos a nenhum protocolo de desinfecção. Ambos atingiram picos de 35 a 40% de nascidos dentro dos intervalos estudados, enquanto o tratamento CP se caracterizou por picos de no máximo 30%. Esse tratamento configurou uma janela de nascimento com pico mais baixo, e uma distribuição mais regular e percentual de nascidos maior nas últimas horas (Figura 2.12).

Em condições de campo o tempo total de incubação é pré-definido. Nesse contexto, a ausência de um momento de pico de eclosão, como encontrado no tratamento CP, pode ser prejudicial, em especial à qualidade do pinto de um dia. Os nascidos nas primeiras horas esperam muito tempo na máquina e podem desidratar, enquanto os que nascem perto do limite da retirada não passam tempo suficiente para secar. Apesar de inevitável, a variação da condição dos pintos é menor quando existe um volume maior de nascidos dentro de um intervalo curto de tempo.

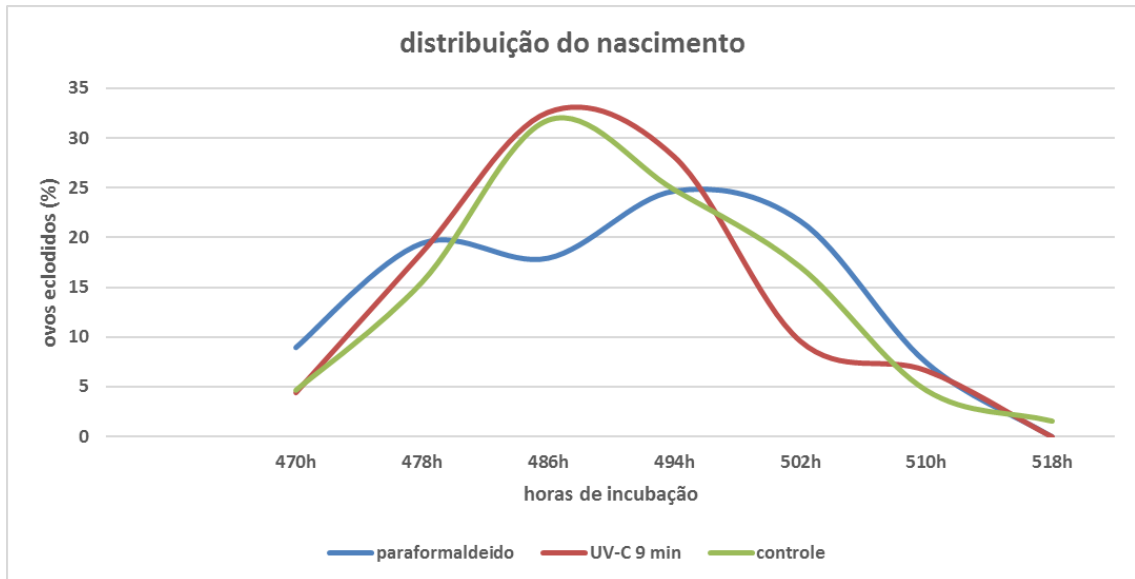


Figura 2.12. Distribuição dos nascimentos dos tratamentos CP, CN e UV 9 ($P>0.05$).

Abousaad et al. (2017), ao avaliar a eclosão em intervalos de 4 horas, encontraram picos de até 23% de nascidos. O intervalo avaliado nesse estudo foi de 8 horas, e apresentou picos mais altos, excedendo 30% em algumas situações. Outra forma de estudar a o nascimento é através do tempo de incubação total (Figura 2.13).

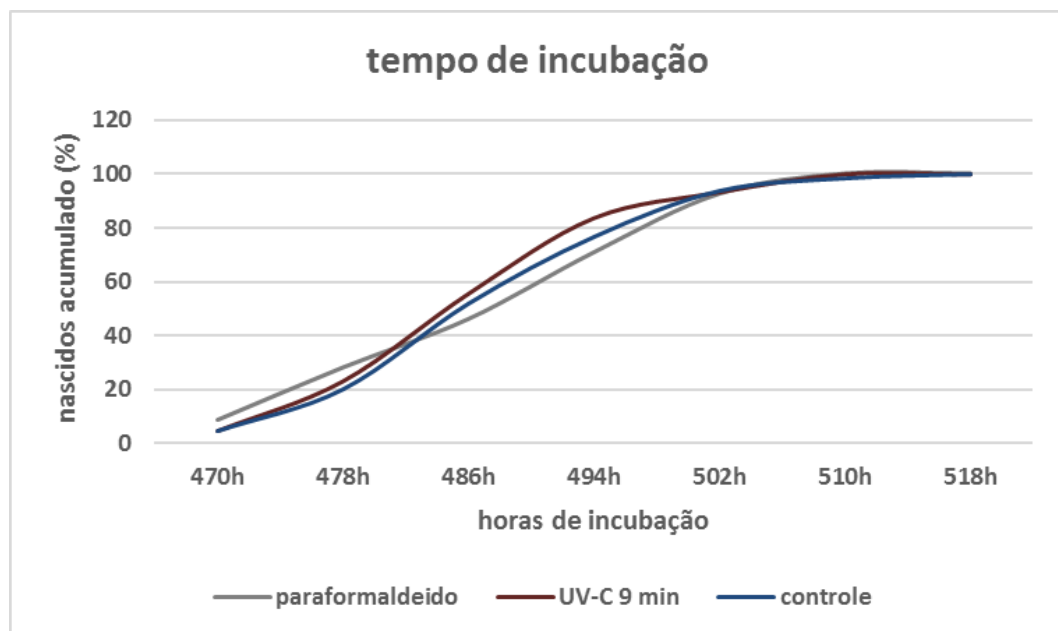


Figura 2.13. Distribuição acumulada de nascidos dos tratamentos CP, CN e UV 9 ($P>0.05$).

Ao contrário do comportamento na distribuição do nascimento, o tempo total de incubação entre os tratamentos não variou substancialmente. O último pinto nascido em todas as baterias de incubação se deu após 510 horas. O tempo de incubação encontrado se

assemelha àquele observado por Tona et al. (2003), quando os autores avaliaram o tempo de incubação em detrimento ao período de estocagem. Nesse caso, os ovos estocados por um período mais longo começaram a eclodir depois e atingiram o pico de nascimento mais rápido, assim como os tratamentos controle e UV-C 9 minutos do presente experimento.

Analisando a curva do período total de incubação, nota-se que depois de 478 horas de incubação o tratamento CP ultrapassa os tratamentos CN e UV 9. Esse dado vai de encontro com os picos de nascimento maiores encontrados nos tratamentos CN e UV 9 na avaliação da distribuição das eclosões.

2.6. CONCLUSÕES

A luz ultravioleta UV-C 254nm possui capacidade de reduzir bactérias da casca de ovos férteis de maneira linear e progressiva, dentro do tempo de exposição testado de 9 minutos. Nesse tempo de exposição, a luz UV-C apresentou capacidade estatisticamente igual ao paraformaldeído 5.3g/m³ na descontaminação da casca dos ovos.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUSAAD, S.; LASSITER, K.; PEIKARSKI, A.; CHARY, P.; STRIPLIN, K.; CHISTENSEN, K.; BIELKE, L. R.; HARGIS, B. M.; DRIDI, S.; BOTTJE, W. G. **Effect of in ovo feeding of dextrin-iodinated casein in broilers : II . Hatch window and growth performance.** Poultry Science, v. 96, p. 1–7, 2017.

AGRI STATS. **Apresenta dados comparativos de agropecuária dos principais players do mercado,** 2015. Disponível em; <http://www.agristats.com.br/Servi%C3%A7os/Avicultura>.

AL-AJEELI, M. N.; TAYLOR, T. M.; ALVARADO, C. Z.; COUFAL, C. D. **Comparison of eggshell surface sanitization technologies and impacts on consumer acceptability.** Poultry science, v. 95, n. 5, p. 1191–7, 2016.

ANCEL, A.; VISSCHEDIJK, A. H. J. **Respiratory exchanges in the incubated egg of the domestic guinea fowl.** Respiration Physiology, v. 91, n. 1, p. 31–42, 1993.

AR, A.; PAGANELLI, C. V.; REEVES, R. B.; GREENE, D. G.; RAHN, H. **The avian egg: water vapor conductance, shell thickness, and functional pore area.** The Condor, v. 76, p. 153–158, 1974.

ARAÚJO, I. C. S.; MESQUITA, M. A.; ANDRADE, M. A.; CASTEJON, F. V.; CAFÉ, M. B.; ARNHOLD, E.; LEANDRO, N. S. M. **Efeito do período e temperatura de armazenamento de ovos férteis sobre o rendimento de incubação e características de qualidade de codornas neonatas.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 67, n. 6, p. 1693–1702, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual 2016,** 2016.

BECK, S. E.; RYU, H.; BOCZEK, L. A.; CASHDOLLAR, J. L.; JEANIS, K. M.; ROSENBLUM, J. S.; LAWAL, O. R.; LINDEN, K. G. **Evaluating UV-C LED disinfection performance and investigating potential dual-wavelength synergy.** Water Research, v. 109, n. 109, p. 207–216, 2016.

BERRANG, M. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. **EFFICACY OF ULTRA VIOLET LIGHT FOR ELIMINATION OF SALMONELLA ON BROILER HATCHING EGGS.** Journal of Applied Poultry Research, v. 4, p. 422–429, 1995.

BOURASSA, D. V.; BUHR, R. J.; WILSON, J. L. **Hatchability of Eggs Sanitized with Increasing Concentrations of BioSentry 904 or Bio-Phene.** The Journal of Applied Poultry Research, v. 11, n. 4, p. 397–401, 2002.

BRAKE, J.; SHELDON, B. W. **Effect of a Quaternary Ammonium Sanitizer for Hatching Eggs on Their Contamination, Permeability, Water Loss, and Hatchability.** Poultry Science, v. 69, n. 4, p. 517–525, 1990.

BRUZUAL, J. J.; PEAK, S. D.; BRAKE, J.; PEEBLEST, E. D. **Effects of Relative Humidity During Incubation on Hatchability and Body Weight of Broiler Chicks from Young Breeder Flocks.** Poultry Science, v. 79, n. 6, p. 827–830, 2000.

BURNHAM, M. R.; PEEBLES, E. D.; GARDNER, C. W.; BRAKE, J.; BRUZUAL, J. J.; GERARD, P. D. **Effects of Incubator Humidity and Hen Age on Yolk Composition in Broiler Hatching Eggs from Young Breeders.** Poultry Science, v. 80, n. 10, p. 1444–1450, 2001.

CADIRCI, S. **Disinfection of hatching eggs by formaldehyde fumigation - A review.** Archiv fur Geflugelkunde, v. 73, n. 2, p. 116–123, 2009.

CALHEIRO, D.; ALMEIDA, A. C. DE. **Estudo De Alternativas Para O Tratamento Do Resíduo De Glicerina E Formol Proveniente De Processos De Conservação Morfológica.** 2014, Belo Horizonte/MG, 2014. p. 1–6.

CARVALHO, S. C. P. **Avaliação Do Dano Genético Em Trabalhadores De Anatomia Patológica Expostos a Formaldeído.** Porto: Instituto de Ciências Médicas Abel Salazar., Universidade do Porto, 2013, 95 p. Dissertação de Mestrado.

CHAVEZ, C. KNAPE, K. D.; COUFAL, C. D.; CAREY, J. B. **Reduction of eggshell aerobic plate counts by ultraviolet irradiation.** Poultry science, v. 81, n. 8, p. 1132–5, 2002.

CONY, H. C. VIEIRA, S. L.; BERRES, J.; GOMES, H. A.; CONEGLIAN, J. L.; FREITAS, D. M. **Técnicas de pulverização e imersão com distintos desinfetantes sobre ovos incubáveis.** Ciência Rural, v. 38, n. 5, p. 1407–1412, 2008.

COUFAL, C. D.; CHAVEZ, C.; KNAPE, K. D.; CAREY, J. B. **Evaluation of a method of ultraviolet light sanitation of broiler hatching eggs.** Poultry science, v. 82, p. 754–759, 2003.

DE REU, K.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L.; HEYNDRICKX, M.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J.; PUTIRULAN, F. F.; BOLDER, N. M. **The effect of a commercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs.** Letters in applied microbiology, v. 42, n. 2, p. 144–8, 2006.

ELGUERA, M. A. **RELAÇÃO ENTRE O MANEJO DE REPRODUTORAS DE CARNE E A QUALIDADE DOS OVOS INCUBÁVEIS.** Chapecó/SC, 1999. p. 17–27.

EPA ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY. **Alternative Disinfectants and Oxidants.** EPA Guidance Manual - Alternative Disinfectants and Oxidants, 1999. p. 8–25.

ERNST, R. A.; SCHROEDER, J. P.; PFOST, R. E. **Field Studies to Evaluate Commercial Disinfectants for Turkey Hatching Egg Sanitation.** Poultry science, v. 53, p. 149–156, 1974.

FREITAS, A. G. **EFEITO DA FUMIGAÇÃO DE NASCEDOUROS COM FORMALDEÍDO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE.** Uberlândia: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, 2007, 44p. Dissertação de Mestrado.

FRITZSONS, E.; MANTOVANI, L. E.; BOGNOLA, I. A. **Incubação: Estocagem dos ovos férteis.** Comunicado Técnico Embrapa, 2012.

GRADEL, K. O.; JORGENSEN, J. CHR.; ANDERSEN, J. S.; CORRY, J. E. L. **Monitoring the efficacy of steam and formaldehyde treatment of naturally Salmonella-infected layer houses.** Journal of Applied Microbiology, v. 96, n. 3, p. 613–622, 2004.

GOTTSELIG, S. M.; DUNN-HORROCKS, L.; WOODRING, K. S.; COUFAL, C. D.; DUONG, T. **Advanced oxidation process sanitization of eggshell surfaces.** Poultry science, v. 95, p. 1356–1362, 2016.

HANNAH, J. F.; WILSON, J. L.; COX, N. A.; CASON, J. A.; BOURASSA, D. V.; MUSGROVE, M. T.; RICHARDSON, L. J.; RIGSBY, L. L.; BUHR, R. J. **Comparison of shell bacteria from unwashed and washed table eggs harvested from caged laying hens and cage-free floor-housed laying hens.** Poultry science, v. 90, n. 7, p. 1586–93, 2011.

HARRISON, G. F. **Production of germ-free chicks: a comparison of the hatchability of eggs sterilized externally by different methods.** Laboratory Animals, v. 3, n. 1, p. 51–59, 1969.

HAYRETDAG, S.; KOLANKAYA, D. **Investigation of the effects of pre-incubation formaldehyde fumigation on the tracheal epithelium of chicken embryos and chicks.** Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, v. 32, n. 4, p. 263–267, 2008.

HEIER, B. T.; JARP, J. **An Epidemiological Study of The Hatchability in Broiler Breeder Flocks.** Poultry Science, v. 80, n. 8, p. 1132–1138, 2001.

HIERRO, E.; MANZANO, S.; ORDÓÑEZ, J. A.; HOZ, L.; FERNÁNDEZ, M. **Inactivation of Salmonella enterica serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology.** Internationall Journal of Food Microbiology, v. 135, n. 2, p. 125–30, 2009.

HINCKE, M. T.; NYS, Y.; GAUTRON, J.; MANN, K.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. B.; MCKEE, M. D. **The eggshell: structure, composition and mineralization.** Frontiers in Bioscience, v. 17, n. 1, p. 1266–1280, 2012.

HUBBARD SAS. **Incubation Guide,** 2012.

HUBBARD DO BRASIL AVICULTURA LTDA. **Protocolo Interno de índices produtivos de avós e bisavós**, 2014.

HUSTON, T. M.; PALMER, J. R.; CARMON, J. L. **The Effects of Washing on the Hatchability of Hen Eggs**. *Poultry Science*, v. 36, n. 3, p. 557–562, 1957.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE. **Boletim Epidemiológico [ISSN: 2183-8873]**, 2014.

KEÏTA, A.; HUNEAU-SALAÜN, A.; GUILLOT, A. **A multi-pronged approach to the search for an alternative to formaldehyde as an egg disinfectant without affecting worker health, hatching, or broiler production parameters**. *Poultry Science*, v. 95, n. 7, p. 1609–1616, 2016.

KIELBASSA, C.; ROZA, L.; EPE, B. **Wavelength dependence of oxidative DNA damage induced by UV and visible light**. *Carcinogenesis*, v. 18, n. 4, p. 811–816, 1997.

LAPÃO, C.; GAMA, L. T.; SOARES, M. C. **Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability**. *Poultry science*, v. 78, n. 5, p. 640–645, 1999.

LÁZARO, C. A.; CONTE-JUNIOR, C. A.; MONTEIRO, M. L. G.; CANTO, A. C. V. S.; COSTA-LIMA, B. R. C.; MANO, S. B.; FRANCO, R. M. **Effects of ultraviolet light on biogenic amines and other quality indicators of chicken meat during refrigerated storage**. *Poultry Science*, v. 93, n. 9, p. 2304–2313, 2014.

LAH, E. F. C.; MUSA, R. N. A. R.; MING, H. T. **Effect of germicidal UV-C light (254 nm) on eggs and adult of house dustmites, *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae* (Astigmata: Pyroglyphidae)**. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, v. 2, n. 9, p. 679–83, 2012.

LORENTZ, F. W.; OGASAWARA, F. X.; STARR, P. B. **Spoilage of Washed Eggs**. *Poultry science*, v. 31, n. 2, p. 221–226, 1952.

LORENTZ, F. W.; STARR, P. B.; BOUTHILET, R. **Fumigation of Shell Eggs with Ethylene Oxide**. *Poultry science*, v. 29, n. 4, p. 545–547, 1950.

LYON, S. A.; FLETCHER, D. L.; BERRANG, M. E. **Germicidal ultraviolet light to lower numbers of *Listeria monocytogenes* on broiler breast fillets**. *Poultry science*, v. 86, n. 5, p. 964–967, 2007.

MACLEAN, M.; MCKENZIE, K.; ANDERSON, J. G.; GETTINBY, G.; MACGREGOR, S. J. **405 nm Light Technology for the Inactivation of Pathogens and Its Potential Role for Environmental Disinfection and Infection Control**. *The Journal of hospital infection*, v. 88, n. 1, p. 1–11, 2014.

MAPA. **Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003**, 2003.

MENDES, A. A. **Produção e características das linhagens de corte**. *Manejo de Matrizes de Corte*, 2005. p. 1–12.

MILLER, W. A.; MORRISON, W. **The Microbiology of Formerly Clean and Dirty, Non-Segregated, Washed, Early Spring and Early Summer Eggs.** Poultry Science, v. 37, n. 5, p. 1022–1028, 1958.

NARUSHIN, V. G.; ROMANOV, M. N. **Egg physical characteristics and hatchability.** World's Poultry Science. v. 58, n. 3, p. 297–303, 2002.

NAZARENO, A. C.; SILVA, I. J. O.; VIEIRA, M. C.; VIEIRA, F. M. C.; MIRANDA, K. O. S. **Transporte de ovos férteis: Influência das idades das matrizes, tempos de estocagem e das estradas.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 18, n. 1963, p. 338–343, 2014.

NIELSEN, G. D.; WOLKOFF, P. **Cancer effects of formaldehyde: A proposal for an indoor air guideline value.** Archives of Toxicology, v. 84, n. 6, p. 423–446, 2010.

OCDE/FAO. **Brazilian agriculture: prospects and challenges. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015.** 2015, p. 61–108.

PEEBLES, E. D.; BRAKE, J.; GILDERSLEEVE, R. P. **Effects of eggshell cuticle removal and incubation humidity on embryonic development and hatchability of broilers.** Poultry science, v. 66, p. 834–840, 1986.

PEEBLES, E. D.; PANSKY, T.; DOYLE, A. M.; BOYLE, C. R.; SMITH, T. W.; LATOUR, M. A.; GERARD, P. D. **Effects of Dietary Fat and Eggshell Cuticle Removal on Egg Water Loss and Embryo Growth in Broiler Hatching Eggs.** Poultry Science, v. 77, p. 1522–1530, 1998.

PREMIUM ECOLÓGICA. **Manual de uso e manutenção chocadeiras e acessórios,** 2011.
PROUDFOOT, F. G.; NASH, D. M.; HULAN, H. W. **Effects of Glutaraldehyde-Surfactant Solution on the Hatchability of the Hen's Eggs.** Poultry Science, v. 64, n. 12, p. 2400–2402, 1985.

REIS GAMA, L.T.; CHAVEIRO SOARES, M., L. H. **Effects of Short Storage Conditions and Broiler Breeder Age on Hatchability, Hatching Time and Chicken Weights.** Poultry Science, v. 76, p. 1459–1466, 1997.

REIJRINK, I. A M.; MEIJERHOF, R.; KEMP, B.; GRAAT, E. A. M.; VAN DEN BRANDT, H. **Influence of prestorage incubation on embryonic development, hatchability, and chick quality.** Poultry science, v. 88, n. 12, p. 2649–60, 2009.

RUI, B. R.; ANGRIMANI, D. S. R.; CRUZ, L. V.; MACHADO, T. L.; LOPES, H. C. **PRINCIPAIS MÉTODOS DE DESINFECÇÃO E DESINFECTANTES UTILIZADOS NA AVICULTURA: REVISÃO DE LITERATURA.** Revista científica eletrônica de medicina veterinária, v. 16, 2011.

SACCO, R. E.; RENNER, P. A.; NESTOR, K, E.; SAIF, Y. M.; DEARTH, R. N. **Effect of Hatching Egg Sanitizers on Embryonic Survival and Hatchability of Turkey Eggs from Different Lines and on Egg Shell Bacterial Populations.** Poultry science, n. 66, p. 1918–1923, 1989.

SANTOS, J. R. G.; FORNARI, C. M.; TÉO, M. A. **Influência da qualidade da casca do ovo sobre índices de produtividade de um incubatório industrial.** *Ciência Rural*, v. 37, n. 2, p. 524–527, 2007.

SCOTT, T. A; SWETNAM, C.; KINSMAN, R. **Screening Sanitizing Agents and Methods of Application for Hatching Eggs - III. Effect of Concentration and Exposure Time on Emriyo Vialibility.** *Journal of Applied Poultry Research*, v. 2, p. 12–18, 1993.

SIMÕES, C. T. **Incubação artificial: Aspectos qualitativos e quantitativos a serem considerados na produção comercial de pintos.** Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015, 27p. Trabalho de Conclusão de curso.

SIMONS, P. C. M.; WIERTZ, G. **The Ultra-structure of the Surface of the Cuticle of the Hen's Egg in Relation to Egg-cleaning.** *Poultry Science*, v. 45, n. 6, p. 1153–1162, 1969.

TANURE, C. B. G. S.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M.; BAIÃO, N. C.; STRINGHINI, J. H.; GOMES, N. A. **Efeitos da idade da matriz leve e do período de armazenamento de ovos incubáveis no rendimento de incubação.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 6, p. 1391–1396, 2009.

TINÔCO, J. D. **Desinfecção por radiação ultravioleta: estudo do desempenho do processo e avaliação econômica.** São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2011, 186 p. Tese de Doutorado.

TONA, K.; BAMELIS, F.; COUCKE, W.; BRUGGEMAN, V.; DECUYPERE, E. **Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions.** *Journal of Applied Poultry Research*, v. 10, p. 73–81, 2001.

TONA, K.; BAMELIS, F.; DE KETELAERE, B.; BRUGGEMAN, V.; MORAES, V. M. B.; BUYSE, J.; ONAGBESAN, O.; DECUYPERE, E. **Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth.** *Poultry Science*, v. 82, n. 5, p. 736–741, 2003.

TONA, K.; MALHEIROS, R. D.; BAMELIS, F.; CAREGHI, C.; MORAES, V. M. B.; ONAGBESAN, O.; DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. **Effects of storage time on incubating egg gas pressure, thyroid hormones, and corticosterone levels in embryos and on their hatching parameters.** *Poultry Science*, v. 82, n. 5, p. 840–845, 2003.

WELLS, J. B.; COUFAL, C. D.; PARKER, H. M; MCDANIEL, C. D. **Disinfection of eggshells using ultraviolet light and hydrogen peroxide independently and in combination.** *Poultry Science*, v. 89, n. 11, p. 2499–2505, 2010.

WHISTLER, P. E.; SHELDON, B. W. **Bactericidal activity, eggshell conductance, and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection.** *Poultry science*, v. 68, p. 1074–1077, 1989.