



UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO – USC

PATRÍCIA AZUAGA DE BARROS

**EFEITO DO FORNO DE MICROONDAS SOB
OVOS DE GALINHA CONTAMINADOS
ARTIFICIALMENTE COM
*Salmonella enteritidis***

Bauru

2008

PATRÍCIA AZUAGA DE BARROS

**EFEITO DO FORNO DE MICROONDAS SOB OVOS DE
GALINHA CONTAMINADOS ARTIFICIALMENTE COM
*Salmonella enteritidis***

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, sob orientação da Profa. Dra. Eliane M. R. S. Simionato.
Colaboração Prof. Dr. Paulo Henrique Weckwerth.

Bauru

2008

B2776e

Barros, Patrícia Azuaga de

Efeito do forno de microondas sob ovos de galinha contaminados artificialmente com *Salmonella enteritidis* / Patrícia Azuaga de Barros – 2008.
30f.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane M. R. S. Simionato.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP.

1. Salmonella. 2. Ovos de galinha. 3. Microondas. I. Simionato, Eliane M. R. S. II. Título.

PATRÍCIA AZUAGA DE BARROS

**EFEITO DO FORNO DE MICROONDAS SOB OVOS DE GALINHA
CONTAMINADOS ARTIFICIALMENTE COM *Salmonella enteritidis***

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, sob orientação da Profa. Dra. Eliane M.R.S.Simionato

Banca examinadora:

Profa. Ms. Daniela Barbosa Nicolielo

Farmacêutica Ediana Maria Piffer

Profa. Dra. Eliane M.R.S.Simionato

Bauru, 03 de dezembro de 2008

**Dedico este trabalho a todos
que de alguma forma ajudaram
na minha formação acadêmica.**

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço a minha família, especialmente ao meu avô Dr. Aylton Figueiredo Azuaga, que não me deixaram desistir de lutar pelo meu melhor, e me tornar a profissional que sou hoje.

Agradeço a Profa. Dra. Eliane M.R.S. Simionato que me mostrou a paixão pelos alimentos, e a Srta. Ediana Maria Piffer, pelos ensinamentos transmitidos, que sem elas esse trabalho não poderia ser realizado.

Obrigada a Profa. Dra. Dirce Yorika Kabuki, UNICAMP, por ter-me cedido gentilmente a cepa de *Salmonella enteritidis*.

Obrigada ao meu amigo Alexandre Bechara, pela ajuda na execução, e apoio nesses últimos momentos na faculdade.

A minha querida amiga Carolina Garcia Rosa pela ajuda nos momentos difíceis e colaboração na elaboração do trabalho.

RESUMO

Atualmente utilizamos o forno de microondas para agilizar o cozimento e preparo dos alimentos, sem nos preocupar se o tempo e a potência são suficientes para a eliminação de microrganismos patogênicos, acreditando ser o efeito térmico igual ao dos fornos usuais. São notificados cerca de 40.000 casos de Salmonelose nos EUA por ano. No Brasil, a Doença Diarréica Aguda (DDA) causada pela ingestão de água ou alimentos contaminados notificados ao Ministério da Saúde, em 2004 foram cerca de dois milhões casos. Esse trabalho buscou elucidar dúvidas quanto ao emprego do forno de microondas e sua real eficácia na destruição de *Salmonella enteritidis* presente em ovos crus contaminados em laboratório. Os ovos de galinha, adquiridos no comércio de Bauru, foram inoculados com cepa purificada de *S. enteritidis*. Após dois dias da inoculação as análises realizadas já indicaram a presença da *Salmonella* no seu interior. Estes ovos foram preparados em recipiente próprios para microondas, em potência alta por 50 segundos, e foram analisados antes e após o preparo com o intuito de observar se as salmonelas resistem a este tratamento. O mesmo acompanhamento foi feito para 7 e 14 dias após a inoculação dos ovos. Em todas as análises efetuadas, os ovos crus apresentaram *S. enteritidis*, presença confirmada por pesquisa bioquímica. Os mesmos após o tratamento por microondas não apresentaram mais a cepa inoculada. O forno de microondas pode ser utilizado para esterilizar objetos de cozinha, não pela radiação e sim pelo calor produzido. Pudemos verificar que o forno de microondas é eficiente em eliminar *S. enteritidis*, nas condições do ensaio.

Palavras chaves: *Salmonella*. Ovos de galinha. Microondas.

ABSTRACT

Nowadays the microwave is used to make cooking faster, and people don't care if time and power are enough to eliminate pathogenic organisms, believing that the thermal effect is the same as in regular ovens. In the USA are notified about 40.000 cases of salmonellosis a year. In Brazil Acute Diarrheic Disease caused by the ingestion of contaminated water or food notified to the Health ministry were about two million cases. This research tries to solve some doubts about the use of microwave ovens and its real efficacy destroying the *Salmonella enteritidis* found in raw eggs contaminated in Labs. Chicken Eggs, acquired in Bauru's commerce, were inoculated with purified strain of *S. enteritidis*. After two days from the inoculation, analysis already indicated the presence of *Salmonella* in its interior. The eggs were cooked in microwave friendly bowls, in high power for fifty seconds, and then analyzed before and after the cooking to observe if the *Salmonellas* resisted this "treatment". The same follow up were done in seven and fourteen days after the inoculation of the eggs. In every analysis, the raw eggs presented the *S. enteritidis*, presence confirmed by biochemical analysis. The same eggs after the microwave cooking no longer had the inoculated *Salmonella*. Microwave ovens can be used to sterilize kitchen objects, not for its radiation, but because of the heat produced. We could verify that the microwave oven is effective in eliminating *S. enteritidis* in the conditions of the experiment.

Key words: *Salmonella*. Chicken eggs. Microwave.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma da metodologia aplicada na identificação da <i>Salmonella</i>	23
Figura 2 – Ninho artificial	24
Figura 3 – Inoculação da cepa de <i>Salmonella enteritidis</i> em capela de fluxo laminar.....	25
Figura 4 – Ovos após cozimento em microondas	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados analíticos prévios	27
Tabela 2 – Resultados do acompanhamento microbiológico	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Salmonella	12
2.3 Cozimento em forno de microondas.....	18
3 OBJETIVO	21
4 MATERIAS E MÉTODOS	22
4.1 Materiais	22
4.2 Métodos	22
4.2.1 Preparo do ninho e da cepa.....	22
4.2.2 Contaminação dos ovos no ninho.....	24
4.2.3 Avaliação do tempo e potência de cozimento dos ovos.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Hoje em dia uma das grandes preocupações mundiais é com a saúde da população, os gastos com vacinas, medicamentos, e cuidados hospitalares excedem bilhões, nos EUA as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) gastam diretamente cerca de seis bilhões de dólares, só com *Salmonella sp.* são gastos cerca de 1 bilhão de dólares direto e indiretamente (BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2005). Segundo Pelczar et al. (1996) não existe ainda uma vacina efetiva contra qualquer infecção causada por *Salmonella* devido ao grande número de sorotipos que precisariam ser incluídos na vacina.

A alimentação pode ser um potencial causador de doenças, as chamadas DTAs entre estas a que prevalece no Brasil é a salmonelose, infecção causada pela *Salmonella sp.*, a qual é a maior responsável por grande parte das internações hospitalares, surtos e casos de diarreia no mundo todo. Segundo Silva et al. (2007) são notificados cerca de 40.000 casos de salmonelose nos EUA por ano. No Brasil, considerando casos de Doença Diarréica Aguda (DDA) causado pela ingestão de água ou alimentos contaminados notificados no sistema de Monitorização das Doenças Diarréicas Agudas (MDDA) do Ministério da Saúde, só no ano de 2004 acumulou um total de 2.395.485 casos, sendo que o sistema de notificação está implantado em apenas 78,8% dos Municípios Brasileiros (BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2005).

As infecções causadas por *Salmonella* são autolimitadas e o tratamento com antibióticos nos casos de gastroenterites nem sempre é favorável à rápida recuperação clínica, sendo responsável pelo prolongamento do período de excreção da bactéria, mantendo-a por mais tempo dentro do organismo, além de promover cepas multirresistentes. Somente nos casos de *Salmonella* com complicações sistêmicas e febre tifóide, tanto na fase aguda como crônica (portador) que é recomendado o uso de antibióticos como: ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol + trimetoprima (TRABULSI et al., 2002).

Sintomas clínicos da salmonelose em animais e humanos são bem parecidos, podem causar diarreia, febre, vômitos e dores abdominais após 12 a 36 horas de contato com a bactéria, e dura em média 1 a 4 dias (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A contaminação dos ovos pode ocorrer basicamente por duas vias. Na primeira a *Salmonella* presente na casca do ovo, provinda das fezes da galinha, em contato com o ninho, no qual a bactéria sob efeito do tempo e temperatura adequado irá penetrar através das porosidades da superfície da casca e migrar até as estruturas internas. Neste caso a

contaminação pode ser controlada ou diminuída através da desinfecção da casca imediatamente após postura e sua refrigeração. E no segundo caso, descoberto mais recentemente, estão relacionados ao sorotipo *S. enteritidis*, as bactérias estariam presentes nos ovários das galinhas, contaminando os ovos antes da postura, durante a sua formação, denominada contaminação transovariana, havendo assim uma contaminação da gema e nestes casos os processos de descontaminação da casca tornam-se ineficientes (OLIVEIRA; SILVA, 2000).

Atualmente as donas de casa usam o forno de microondas para agilizar o cozimento e preparo dos alimentos, sem se preocuparem se o tempo e temperatura serão suficientes para eliminação de microrganismo responsável pela toxinfecção alimentar, acreditando ser o efeito térmico igual ao dos fornos usuais.

Portanto esse trabalho busca elucidar dúvidas quanto ao emprego do forno de microondas e sua real eficácia na destruição de patógenos alimentares, especificamente em relação à presença de *Salmonella*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Salmonella*

A *Salmonella* é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*, gênero *Salmonella*, que abriga espécies causadoras de febre tifóide (*S.typhi*), febres entéricas (*S. paratyphi A, B e C*) e causadoras de salmonelose ou enterocolites (todas as outras). Seu reservatório principal é o trato gastrointestinal do homem e animais (principalmente aves e suínos). É um bacilo gram-negativo, não produtor de esporos, anaeróbio facultativo, que consegue sobreviver utilizando citrato como sua única fonte de carbono, produz gás quando metaboliza glicose (exceto *S. typhi*). A maioria é móvel, possuindo flagelos peritríquios, (exceto *S. pullorum* e *S. gallinarum*). O pH ótimo para sua multiplicação é aproximadamente 7,0, sendo que pH superior a 9,0 e inferior a 4,0 agem como bactericidas, assim como nitritos e sal à 9%. Temperatura ótima é entre 35 - 37°C, tendo a mínima de 5°C e máxima de 47°C (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Ao longo dos anos a nomenclatura e a classificação da *Salmonella* vêm sofrendo modificações e ainda não estão totalmente definidas. Atualmente a classificação é baseada em características bioquímicas da parede celular da bactéria dividindo o gênero *Salmonella* em duas espécies: *Salmonella entérica*, subdividida em seis subespécies, e *Salmonella bongori*. Na prática costuma-se utilizar um esquema de Kauffmann e White para identificá-las, o esquema divide o gênero em sorotipos. Baseando-se na composição antigênica da *Salmonella*: antígenos O (somáticos), Vi (capsulares) e H (flagelar). Sendo assim temos: antígeno O designado por números arábicos e comum a vários sorotipos. Antígeno Vi imunológico, encontrado em apenas três sorotipos *S. Typhi*, *S. Parathyphi C*, e *S. Dublin*. Antígeno designado por letras do alfabeto e por números arábicos. Ocorre em duas fases, denominadas 1 e 2, aleatoriamente na mesma colônia. Existem atualmente 2.324 sorotipos de *Salmonella*, entre os quais 1.367 pertencem à subespécie entérica. Dentro desta espécie estão contidos cerca de 99,5% dos sorotipos mais comumente isolados (TRABULSI et al., 2002).

Infecções bacterianas são comumente transmitidas pelo consumo de água e alimentos contaminados com fezes humanas ou de animais (PELCZAR et al., 1996). Segundo Jay (2005) o motivo é explicado porque habitat primário de escolha da *Salmonella* é o trato intestinal de animais, pássaros, répteis, animais de granja, homem e ocasionalmente insetos sendo assim esses microrganismos são excretados continuamente nas fezes, disseminando esta

bactéria. Quando esta água ou alimento contaminado for ingerido por pessoas e animais, estes microrganismos irão novamente povoar o trato gastrointestinal e serão excretados no material fecal, continuando o ciclo (JAY, 2005). Pelczar et al. (1996) defende que a gastroenterite causada por *Salmonella* tem um interesse particular devido à variedade de fontes de contaminação e à complexidade antigênica desse microrganismo. A incidência dessa doença varia de acordo com a estação do ano tendo registrado maior número de casos no verão, isto se deve as temperaturas mais elevadas, favoráveis para sua multiplicação em alimentos.

De acordo com Trabulsi et al. (2002) a patogenicidade da *Salmonella* varia com o tipo sorológico envolvido na infecção, a idade do paciente e as condições de saúde do hospedeiro, contribuindo para o agravamento da infecção.

A febre tifóide, a mais grave das doenças causadas por *Salmonella*, é transmitida através do consumo de água e alimentos contaminados, como mariscos, leite cru, e vegetais crus. Sendo o homem o portador mesmo após terem cedido os sintomas. A duração varia de 1 a 8 semanas, e o tratamento é realizado com antibióticos. Os sintomas são muito graves e podem variar dentre septicemia, vômitos, febre alta e diarreia. As febres entéricas são semelhantes à tifóide, se diferenciam apenas por possuírem sintomas mais leves de diarreia, vômitos, febre e septicemia, e por durarem no máximo três semanas. Sua transmissão é feita pelo consumo de água e alimentos contaminados como leite cru, vegetais crus, mariscos e ovos. Tratamento realizado com antibióticos (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Geralmente os demais sorotipos de *Salmonella* irão causar no adulto normal, uma enterocolite autolimitada, que evolui sem complicações e que desaparece em uma semana ou menos. Em crianças podem invadir a circulação provocando uma infecção disseminada, elas apresentam facilidade de contrair a infecção por contato com portadores. Já nos adultos há doenças que podem modificar o comportamento autolimitante da *Salmonella* como a esquistossomose, anemia falciforme, malária e verruga peruana. Após a recuperação da salmonelose, alguns pacientes permanecem assintomáticos, eliminando a bactéria nas fezes por semanas, meses ou anos (portador crônico), contribuindo para a disseminação da *Salmonella* (TRABULSI et al, 2002).

As principais fontes de *Salmonella* são o animais, e não o homem (PELCZAR et al., 1996). Segundo Trabulsi et al (2002), os sorotipos de *Salmonella* podem estar adaptados a um hospedeiro particular ou podem ser encontrados em grande número de espécies animais sendo o homem o único hospedeiro de *S. typhi* e *S. paratyphi A, B e C*. Alguns sorotipos de *Samonella* infectam aves (galinhas, perus, patos), roedores, animais domésticos (gatos, cães, tartarugas) e outros animais. As aves e seus produtos especialmente ovos crus ou

inadequadamente cozidos, são responsáveis por aproximadamente metade de todos os surtos de gastroenterites por *Salmonella* (PELCZAR et al., 1996).

Em animais contaminados com esta bactéria os sintomas são bem parecidos com os apresentados pelo homem, o perigo maior é que estes animais excretam um valor muito alto de bactérias nas fezes, leite e sangue, havendo um maior risco de contaminação dos alimentos por eles produzidos. O gado infectado apresenta febre, diarreia, anorexia, depressão, e redução da produção de leite. Os suínos são animais susceptíveis à *S.choleraesuis* e *S. typhimurium*, apresentando sintomas como enterocolite, septicemia e alto índice de mortalidade. As aves representam um perigo maior, pois, estes animais em particular são susceptíveis a *Salmonella* e podem ser portadoras assintomáticos, excretando a bactéria constantemente nas fezes ocasionando contaminação cruzada nos abatedouros, e quando apresentam sintomas são responsáveis pelo alto índice de mortalidade nas granjas. Nos últimos anos os surtos de salmonelose causado por ovos estão sendo mais relacionados ao sorotipo *S.enteritidis*, este sorotipo tem como característica principal se fixar no canal ovopositor das aves infectando a gema na formação dos ovos (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A *Salmonella* é uma bactéria intracelular facultativa, quando ela se multiplica na mucosa intestinal causa uma enterocolite, pois ocorre sem invasão da corrente sanguínea, na mucosa a bactéria irá atravessar a camada epitelial, em um processo conhecido como transcitose, indo proliferar na lâmina própria da mucosa intestinal, causando a liberação de produtos irritantes por células do organismo que desencadeiam a diarreia. Já nas infecções sistêmicas o processo ocorre porque a bactéria atinge os linfonodos mesentéricos, e a multiplicação se dissemina continuando no fígado e no baço e a partir daí podendo atingir outros órgãos através da corrente sanguínea (TRABULSI et al., 2002).

Um aspecto importante da virulência dessa bactéria consiste na sua capacidade em resistir à ação do sistema complemento por duas vias principais: em primeiro lugar ocorre a produção de uma proteína de membrana que interfere na formação do Membrane Attack Complex (MAC), e em segundo lugar antígeno presente na camada LPS da bactéria apresenta comprimento de cadeias laterais que impedem que este complexo MAC, formado por proteínas do complemento, possa interagir com a membrana externa da *Salmonella* (TRABULSI et al., 2002).

Antigamente acreditava-se que a ingestão de ($>10^8$) células viáveis de *Salmonella* poderiam desencadear uma enterocolite alimentar. Porém, sabe-se hoje que os sintomas e a gravidade da salmonelose variam de acordo com o sorotipo envolvido, sistema de defesa do

organismo, e características do alimento envolvido. Alimentos gordurosos contaminados podem desencadear a doença com até 50 cels/g de *Salmonella* viáveis (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A fim de melhorar a conduta no preparo dos alimentos a Organização Mundial de Saúde (MANUAL DAS DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA, 1999) lançou as 10 regras de ouro, um informativo que ensina o preparo adequado com regras de higiene pessoal e correta higienização dos alimentos diminuindo possíveis riscos de toxinfecção alimentar. As regras são básicas como lavar bem as verduras, consumir alimentos de fontes confiáveis que tenham passado por algum processo de descontaminação industrial, cozinhar os alimentos à 70°C no mínimo e por igual, consumir o alimento imediatamente após o preparo, armazenar as sobras sob refrigeração à 10°C, e se for reaquecer deve-se novamente efetuar o aquecimento como durante o preparo, ter o máximo de cuidado ao tentar evitar contaminação cruzada de alimentos crus com já cozidos através de utensílios de cozinha, ter uma boa higiene pessoal, manter o local de preparo dos alimentos bem higienizado, assim como os panos de mãos e chão, e utilizar uma água pura no preparo.

A *Salmonella* é a maior causa de surtos por doenças alimentares em diversos países (FRANCO; LANDGRAF, 2003). Segundo Jay (2005) este aumento se deve em parte pelo aumento das navegações internacionais de animais e alimentos, sendo responsável pela distribuição mundial da bactéria. Na Inglaterra como em países vizinhos é responsável por 90% dos casos. Um estudo realizado nos EUA, Japão e Canadá demonstram dados preocupantes, um aumento anual destes surtos (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A cepa *Salmonella enteritidis* foi isolada pela primeira vez no Brasil em 1989, de galinhas (matrizes jovens) que apresentavam sintomas típicos de salmonelose com grande índice de mortalidade nas granjas (OLIVEIRA; SILVA, 2000). É hoje considerada uma bactéria emergente por ser o sorotipo mais comum associado a surtos ou casos de diarreia alimentar (BEPA, 2004).

Um estudo realizado no Instituto Adolfo Lutz (IAL) em SP detectou a resistência dessa bactéria a antimicrobianos, 65% das cepas eram resistentes a um ou duas drogas e algumas eram multiresistentes até a sete antibióticos. Foram coletadas 5.490 cepas de *Salmonella* envolvidas em surtos e casos de diarreia alimentar, destes, 2.254 provenientes de humanos e 3.236 de origem animal nos períodos de 1991 a 1995, o IAL pôde constatar um aumento alarmante nos casos por *S. enteritidis*, em 1991 foram detectados 1,2% e no ano de 1995 este numero saltou para 64,9% (BEPA, 2004).

2.2 Os ovos de galinha

O ovo é considerado um produto de excelência nutricional por ser um alimento rico em proteínas de alta qualidade e baixo valor calórico, recomendado para uma dieta variada e equilibrada. Ele é considerado pela Organização Mundial de Saúde um alimento de proteína padrão. Além disso, é fonte de vitaminas do Complexo B, inclusive a B12 e possui vitaminas lipossolúveis e minerais (PLANETA AGRO, 2008). Estima-se que o consumo de ovos no Brasil seja cerca de 140 unidades per capita por ano (AVISITE, 2007).

Os ovos na natureza são alimentos dos embriões de animais ovíparos até que estes tenham condições de adaptabilidade externa. Por muitos anos têm sido consumidos pelo homem ovos de aves e tartarugas pelo alto valor nutritivo e também pela vantagem de se conservarem frescos durante um tempo. O ovo é constituído de casca, clara, gema e membranas, que protegem o embrião do meio externo e conservam a sua integridade (MORETTO; FETT; GONZAGA, 2002).

Segundo Salinas (2002) a casca é porosa com predomínio de poros no pólo achatado, e estes permitem o escape de CO₂ e a penetração de microrganismos em cascas contaminadas. No momento da postura, o ovo recebe uma cobertura de substância protéica mucilagínosa, muito fina e transparente que desseca em contato com o meio externo formando uma película protetora que cobre os poros da camada mineral, conservando o conteúdo interno ao evitar que pelo escape de CO₂, haja uma modificação do pH da proteína que forma a clara, acarretando em alterações na conformação e reduzindo seu poder antibacteriano. É errôneo efetuar a lavagem das cascas dos ovos sujos, pois deste modo estará removendo esta película protéica protetora, e o ovo ficará sem proteção para seus poros aumentando assim as probabilidades de contaminação.

A clara circunda a gema, formando uma barreira protetora para o embrião contra microorganismos, absorvendo os choques com o meio externo e servindo como fonte de água e proteína (MORETTO; FETT; GONZAGA, 2002). A clara apresenta grandes concentrações de aminoácidos sulfatados, contém maior concentração de ovoalbumina (mais de 50% das proteínas), conalbumina (13% do total de proteínas, ferro, e antibacteriana), dentro das ovoglobulinas tem-se a lisozima (antibactericida provoca lise celular, sensível às mudanças do pH à medida que o ovo envelhece), ovomucina (antiviral), flavoproteínas, e avidina (MORETTO; FETT; GONZAGA, 2002; SALINAS, 2002).

A gema contém o disco germinal, apresenta-se em menor proporção no ovo e é a parte de mais fácil contaminação microbiológica, é suspensa pela calaza, e encontra-se no centro da

clara, serve como fonte de alimento sendo constituída de lipoproteínas e lipídeos, menor teor de água que a clara, porém maior teor de proteína (livetinas e as fosfoproteínas) e gordura (glicerídeos neutros, lecitina, e esteróis) com alto grau de saturação. Há duas lipoproteínas a vitelina e a vitelinina, apresenta também caroteno e vitamina A, compostos que interferem na coloração da gema. A membrana vitelina recobre a gema separando-a da clara. A calaza é responsável por manter a gema no centro do ovo, é constituída por uma estrutura fibrosa, opaca, e atravessa a clara até as extremidades do ovo (MORETTO; FETT; GONZAGA, 2002; SALINAS, 2002).

Podem ocorrer modificações nos ovos logo após postura por problemas na conservação ou por envelhecimento natural dos ovos com o passar dos dias. De acordo com o Art. 491 do CAA, só poderão ser vendidos ovos frescos, ou seja, aqueles que não passaram por nenhum processo de conservação, somente refrigeração por no máximo 30 dias em temperatura de 0° a 20°C e umidade relativa do ar entre 80 e 90%.

Para se verificar este envelhecimento observa-se no ovoscópio um aumento da câmara de ar, a modificação da clara que fica mais fluida, pela modificação de suas proteínas em função da perda de CO₂ e alteração de pH, permitindo oscilação da gema. Ocorre um aumento do ácido fosfórico, ação de enzimas sobre as fosfoproteínas, a formação de amoníaco alterando o pH do ovo para fracamente alcalino, pH > 9, que leva ao rompimento da membrana vitelina, e conseqüentemente mistura da gema e a clara. Já sem defesas ocorre a migração facilitada dos microorganismos da superfície para o interior do ovo acarretando na sua decomposição putrefativa com produção de gás sulfídrico, indol e escatol (SALINAS, 2002).

O ovo tem uma classificação padronizada em todo o território nacional onde se classificam como ovo extra, especial, 1, 2, 3, e fabrico (industrial), (AA, A, B, C), a variação do peso de 35 a 61g, o tamanho da câmara de ar 3 a 9mm (quanto maior a câmara mais velho o ovo, perde água por evaporação e ingresso de ar, densidade menor, teste com NaCl 10%), o aspecto da casca, gema e clara, e a presença ou ausência de parasitas, sangue, microorganismos (MORETTO; FETT; GONZAGA, 2002).

Segundo Jay (2005) a contaminação do ovo por *Salmonella* está associada a diversos fatores como o processo de contaminação que ocorre dentro dos ovos e em ovários de galinhas matrizes (poedeiras), ao consumo de ovos crus ou mal cozidos por bactérias resistentes ao calor ou como outras possíveis vias de contaminação como: transovariana, translocação a partir do peritônio para a gema ou oviduto, migração do microorganismo

proveniente da casca para a clara do ovo, lavagem de ovos (destruindo a barreira natural de proteção), manipuladores de alimentos (falta de higiene pessoal e do local de preparo).

Oliveira; Silva (2000) exemplifica a contaminação dos ovos por *Salmonella enteritidis* como sendo principalmente por duas vias. Na primeira a *Salmonella* presente na casca do ovo, em contato com o ninho, no qual a bactéria sob efeito do tempo e temperatura adequado, vão penetrar através das porosidades da superfície da casca e migrar até as estruturas internas. Neste caso a contaminação pode ser resolvida ou diminuída através da desinfecção da casca imediatamente após postura e sua refrigeração. E no segundo caso, descoberto mais recentemente, as bactérias estariam presentes nos ovários das galinhas, contaminando os ovos antes da postura, contaminação transovariana, havendo assim uma contaminação da gema e nestes casos os processos de descontaminação tornam-se ineficientes. A clara é uma estrutura que não se contamina ela contém elementos naturais que dificultam o desenvolvimento bacteriano, como lisozima (enzima) e falta de ferro (metabolismo da bactéria).

2.3 Cozimento em forno de microondas

O forno de microondas é um aparelho utilizado hoje em dia em escala industrial e para uso doméstico no preparo, esterilização e aquecimento de alimentos. Foi inventado em 1947 pela empresa Raytheon, chamava "Radarange", pesava cerca de 340 Kg e media 1,5 m de altura. Fornos de microondas domésticos começaram a ser comercializados no final da década de 60, tornando-se popular mundialmente nas décadas de 70 e 80 (SANSEVERINO, 2001).

O forno de microondas funciona através do princípio da energia dielétrica, uma forma de energia eletromagnética, transmitida como ondas que são absorvidas pelo alimento e convertidas em calor. Neste caso é uma forma de aquecimento direto no qual o calor é gerado no interior do produto. Isto ocorre pela agitação das partículas, que cria uma fricção intermolecular que gera o calor. A profundidade de penetração das ondas em um alimento está diretamente relacionada à frequência produzida pelo eletrodoméstico, neste caso, a energia dielétrica de frequência mais baixa penetra mais profundamente e é mais deletéria aos microrganismos. A maioria das pesquisas realizadas com alimentos se deu nas frequências de 915 a 2450 megaciclos (movimento das partículas por segundo) (JAY, 2005; FELLOWS, 2006).

A fricção intermolecular ocorre porque a estrutura molecular da água, no interior dos alimentos, forma um dipolo elétrico que consiste de um átomo de oxigênio carregado

negativamente, separado de dois átomos de hidrogênio carregados positivamente. Quando as microondas são aplicadas diretamente nos alimentos os dipolos da água, tendem a se orientar para o campo elétrico formado. Como este campo elétrico oscilante muda rapidamente de positivo para o negativo e vice-versa várias milhões de vezes por segundo, os dipolos seguem essas trocas e criam calor por fricção, este aumento de temperatura gerado pelo calor da fricção das moléculas de água aquece os componentes do alimento por condução e ou por convecção (FELLOWS, 2006).

A irradiação nem sempre é desejável, principalmente quando ocasiona alterações indesejáveis no alimento, percebidas na pós-irradiação quando ocorre à formação de radicais livres, tornando o sabor e odor desagradável, isto ocorre devido ao processo de radiólise sofrido pela água irradiada. Pode ocorrer também alteração de proteínas, estruturas nitrogenadas, aminoácidos, peptídeos, lipídeos e gorduras, e vitaminas do complexo B. Estes efeitos podem ser controlados através da redução da temperatura, redução de oxigênio, e redução da dose de radiação (JAY, 2005).

Suas aplicações principais são industriais no descongelamento, têmpera, secagem e assamento de produtos alimentícios, em grandes volumes abstém-se de sucesso, relativo a baixa profundidade de penetração e rápido resfriamento por evaporação das partículas na superfície do produto, que resultam na sobrevivência de uma grande variedade de microrganismos. Porém sabe-se que a energia de microondas não são responsáveis pelo efeito bactericida e sim o calor gerado no interior das partículas. Nas aplicações de branqueamento e pasteurização as altas taxas de calor necessárias para um nível específico de destruição microbiológica ou enzimática acarretam em perdas de nutrientes sensíveis ao calor (FELLOWS, 2006).

Uma pesquisa realizada por Gabriel Bitton, um perito em engenharia ambiental da Universidade da Flórida, e outros cientistas americanos foi publicada no Journal of Environmental Health relata que o forno de microondas pode ser utilizado para esterilizar objetos de cozinha, não pela radiação e sim pelo calor produzido, 99% dos microrganismos morreram após 2 min em potência alta, e 100% dos esporos em 4 min (BBC NEWS, 2007).

O forno de microondas é utilizado no processo de radurização para estender a vida de prateleira através da diminuição de contaminantes responsáveis pela deteriorização dos alimentos. Entre as bactérias mais sensíveis estão os principais responsáveis por essa deteriorização que são os bastonetes gram-negativos não esporulados. As bactérias gram-positivas e fungos apresentam maior resistência a radiação. Uma prova disso foi a análise realizada com carne moída, irradiada com uma dose de 2,5 kGy, sendo suficiente para destruir

$10^{8,1}$ *E.coli O157:H7*, $10^{3,1}$ *Salmonella* e $10^{10,6}$ *Campylobacter jejuni* . A radapertização é equivalente à esterilização por radiação (níveis usuais de irradiação são de 30 a 40 kGy). A radicidação é equivalente à pasteurização do leite (níveis de irradiação 2,5 a 10 kGy) e a radurização é equivalente a pasteurização para carnes vermelhas frescas, frutos do mar, vegetais e cereais em grãos com doses usuais (0,75 e 2,5 kGy) (JAY, 2005).

A fim de melhorar a conservação, controlar pestes e insetos, e inibir o brotamento de vegetais facilitando assim o comércio e exportação Food and Drug Administration (FDA) aprovou o uso da radiação para alguns alimentos desde 1983. Em 1995 os EUA aprovou o uso de 2 a 25 kGy para combate de *Salmonella* em rações animais. Um comitê formado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), Organização para Alimentos e Agricultura (FAO), Agencia Internacional de Energia Atômica (AIEA) declarou em 1981 que alimentos irradiados com até 10kGy são seguros (JAY, 2005).

3 OBJETIVO

Avaliar a eficácia do forno de microondas doméstico na destruição de *Salmonellas* que se encontram em ovos crus.

4 MATERIAS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Análises de Alimentos da Fundação Vértas, localizado na Rua Irmã Arminda, Universidade do Sagrado Coração, Bauru-SP.

4.1 Materiais

Foram analisados 20 ovos, adquiridos de uma distribuidora do município de Bauru. Todos os ovos pertencem ao mesmo lote e possuem o mesmo tempo de postura.

O forno de microondas convencional empregado no tratamento dos ovos foi da marca comercial BRASTEMP, modelo JetDefrost, com capacidade de 27 litros.

O ninho artificial foi montado com cerquilha, dentro de uma caixa plástica hermeticamente fechada, onde os ovos foram colocados e inoculados com a solução contendo *Salmonella*.

O recipiente para o cozimento dos ovos foi uma omeleteira para microondas 2 em 1 (para preparo de omelete e ovo poché) da marca Plasútil.

A cepa de *Salmonella enteritidis* foi obtida por doação da Profa. Dra. Dirce Yorika Kabuki, da UNICAMP e provinha de isolamento de carne de frango.

4.2 Métodos

Em todas as etapas deste trabalho empregamos as metodologias analíticas para *Salmonella* previstas por Silva; Junqueira; Silveira (2001) e Silva et al. (2007), com pequenas modificações, Figura 1.

4.2.1 Preparo do ninho e da cepa

Foram efetuados testes de esterilidade do cerquilha, necessário para constatação de que o ninho não seria transmissor de outra cepa de *Salmonella sp.*

Foi avaliada a viabilidade microbiológica e a pureza da cepa de *Salmonella enteritidis* através da inoculação por esgotamento em placa de meio Salmonela Shiguella (SS), e seqüência com a série bioquímica de EPM, MiLi, Citrato e Uréia, sua classificação dada pelo sistema numérico para identificação das enterobactérias, o enterokit B fabricado pela Probac do Brasil.

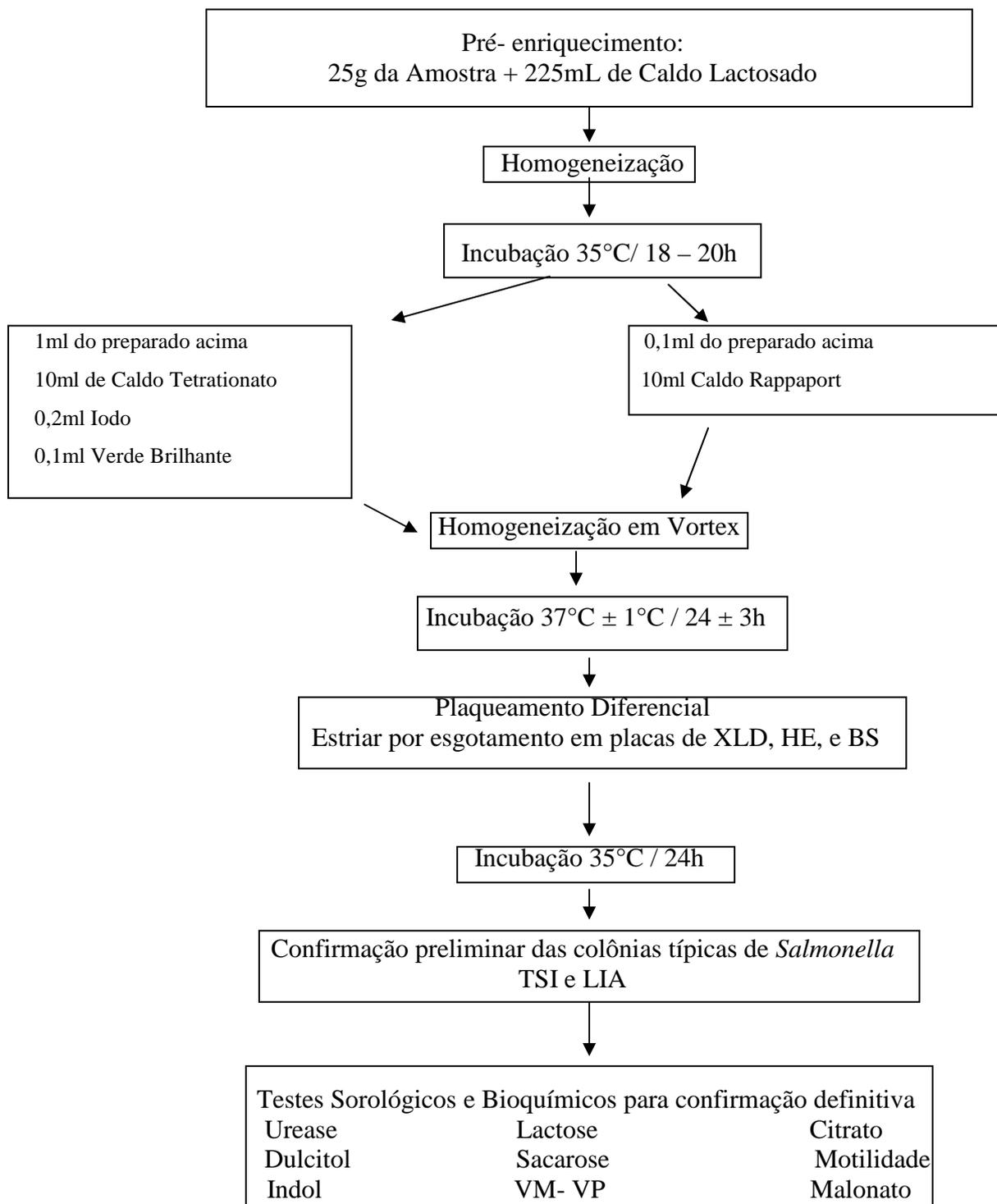


Figura 1 Fluxograma da Metodologia aplicada na identificação da *Salmonella*
Fonte: Elaboração própria da autora

Após a cepa foi inoculada em dois tubos contendo 3ml de caldo BHI cada, para posterior inoculação em solução salina, estes tubos ficaram em estufa a 37°C/ 24hs, para fortalecimento e multiplicação da cepa, e mantido conservado em geladeira até o momento da contaminação.

No dia do início do experimento, doravante de nominado “D”, foram realizadas as análises de dois ovos para certificação de que os ovos adquiridos comercialmente não estavam previamente contaminados, podendo assim alterar o resultado do trabalho.

4.2.2 Contaminação dos ovos no ninho

O cerquilho contido dentro do recipiente plástico foi umedecido com água destilada segundo Oliveira (2000), foram colocados 20 ovos sobre este e a caixa foi levada para câmara de fluxo laminar para contaminação, através de uma solução salina, com volume de 250ml previamente contaminada com um dos tubos de caldo BHI previamente preparados, utilizou-se a escala de *Mac Farland* $1,5 \times 10^8$ b/mL para comparação, pois o objetivo era inocular uma contagem próxima a 10^8 colônias viáveis da *Salmonella enteritidis* para a contaminação interna dos ovos, Figura 2.



Figura 2 Ninho artificial.
Fonte: Elaboração própria da autora

Para a inoculação foi empregada uma seringa estéril para a distribuição da solução salina contaminada sob a casca dos ovos e esta foi espalhada com uma zaragatoa também

estéril, molhando todos os lados principalmente a base dos ovos que ficaram no ninho artificial até o dia respectivo de cada análise, Figura 3.



Figura 3 Inoculação da cepa de *Salmonella enteritidis* em capela de fluxo laminar.

Fonte: Elaboração própria da autora

4.2.3 Avaliação do tempo e potência de cozimento dos ovos

Foi realizado o teste de cozimento dos ovos com o auxílio do recipiente plástico próprio para cozimento de ovos em forno de microondas, segundo tempo de 50 segundos em potência alta sugerido pelo fabricante, onde pudemos constatar visivelmente o bom cozimento dos ovos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No dia (D+2), foram retirados 4 ovos *in natura* da caixa plástica, foram higienizados por imersão em álcool a 70°GL por cerca de 15 minutos, para evitar contaminação cruzada da casca no momento da quebra para se retirar o material interno.

Dois destes ovos foram quebrados e colocados em um frasco estéril para homogeneização, 25g desta amostra foram analisadas conforme a metodologia apresentada esquematicamente na Figura 3.

Os outros dois ovos foram colocados no recipiente próprio para cozimento, um ovo em cada cavidade, levados para cozimento em forno de microondas, segundo informações do fabricante, Figura 4, depois de cozidos foram colocados em placa de petri estéril para homogeneização e análise conforme a metodologia apresentada na Figura 3.



Figura 4 Ovos após cozimento em microondas.
Fonte: elaboração própria da autora

Este mesmo procedimento foi empregado sete dias após o início do experimento, em D+7 e após quatorze dias, D+14.

A Tabela 1 apresenta todos os resultados das análises que antecederam o experimento propriamente dito. O cerquilha empregado como base para os ovos não apresentou *Salmonella*, não interferindo assim nos resultados posteriores.

Os ovos adquiridos também estavam isentos de *Salmonella enteritidis*.

Tabela 1 – Resultados analíticos prévios.

Amostra	<i>Salmonella enteritidis</i>
Cerquilha	Ausência em 25g
Ovos in natura	Ausência em 25g

Fonte: elaboração própria da autora

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos em todas as datas analisadas. Desde o segundo dia após a inoculação, (D+2) pudemos observar a presença de *Salmonella* no interior das amostras analisadas.

Tabela 2 – Resultados do acompanhamento microbiológico.

Data da análise	Ovos cru (em 25g)	Ovos cozidos no Microondas (em 25g)
D + 2	Presente	Ausente
D + 7	Presente	Ausente
D +14	Presente	Ausente

D = Dia da inoculação

Fonte: elaboração própria da autora

As pesquisas quanto ao emprego do forno de microondas e destruição de microrganismos são escassas. Uma pesquisa realizada com carne moída, irradiada com uma dose de 2,5 kGy, foi suficiente para destruir $10^{8,1}$ *E.coli* O157:H7, $10^{3,1}$ *Salmonella* e $10^{10,6}$ *Campylobacter jejuni* (JAY, 2005).

Este trabalho encontra-se em concordância com Gabriel Bitton (BBC NEWS, 2007), que relata que o forno de microondas pode ser utilizado para esterilizar objetos de cozinha, não pela radiação e sim pelo calor produzido, 99% dos microrganismos morreram após 2 min em potência alta, e 100% dos esporos em 4 min.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com este trabalho pudemos concluir que o forno de microondas doméstico foi eficaz na destruição de células de *Salmonella enteritidis* inoculadas artificialmente em ovos crus, na potência alta por 50 segundos, em recipiente apropriado.

REFERÊNCIAS

- AVISITE. **Congresso da APA promove discussões sobre consumo e comercialização do ovo.** Campinas: Mundo Agro, 2007. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/reportagem/reportagem.asp?codigo=89>. Acesso em: 22 abr. 2008.
- BBC NEWS, **Microondas esteriliza esponjas, diz pesquisa.** 24 jan. 2007, Disponível em: http://www.bbc.co.uk/portuguese/ciencia/story/2007/01/070124_microondasg.shtml. Acesso em: 08 mar. 2008.
- BEPA, **Salmonella Enteritidis - Uma Importante Causa de Surtos Bacterianos Veiculados por Alimentos e a Necessidade de uma Nova Regulamentação Sanitária para os Alimentos Implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003.** ago. 2004, ano 1, n. 6. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa8_salmo9903.htm. Acesso em: 8 mar. 2008.
- BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO. **Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil de 1999 – 2004**, ano 5, n. 6. 18 dez. 2005. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf. Acesso em: 19 mar. 2008.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu, 2003.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática.** 2. ed. Porto Alegre: Artemed, 2006.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**, 6. ed. Porto Alegre: Editora Artemed, 2005.
- MANUAL DAS DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA. **Regras de ouro da OMS para a preparação higiênica dos alimentos.** São Paulo. jun. 1999. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/IF_OURO.HTM. Acesso em: 03 mar. 2008.
- MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. **Introdução a ciência de alimentos.** Florianópolis: Editora UFSC, 2002.
- OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de medicina veterinária e zootecnia.** Belo Horizonte, v. 52, n. 6, p. 1-7, dez. 2000.
- PLANETA AGRO. **Um dia para o ovo.** Ed. Globo S.A, out. 2008. Disponível em: <http://blogplanetaagro.com.br/?p=109>. Acesso em: 14 nov. 2008.
- PELCZAR, J. R. et al. **Microbiologia: conceitos e aplicações**, 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996.
- SALINAS, R. D. **Alimentos e nutrição: introdução a bromatologia**, 3.ed. Porto Alegre: Ed Artmed, 2002.

SANSEVERINO, A. M. Microondas em síntese orgânica, **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, 17 out. 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000400022. Acesso em: 26 maio 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Ed Atheneu, 2002.