

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACES (*LACTUCA SATIVA*) COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES E SUPERMERCADOS DO RECIFE, BRASIL

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa¹

LIMA, Tatiana Bernardo Novais²

SIQUEIRA, Leonardo Pereira de³

PEREIRA, José Armando Pires⁴

PADILHA, Maria do Rosário de Fátima⁵

RESUMO

O alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça muito consumida no Brasil. O objetivo desse artigo foi o de avaliar os níveis de contaminação microbiológica em alfaces comercializadas na cidade do Recife/PE. Foram coletadas 60 amostras de alface, 30 de feiras livres e 30 de supermercados. A detecção de coliformes totais e termotolerantes e *Salmonella spp.* obedeceram o método padronizado pela American Public Health Association (APHA, 1995) e para análise parasitológica empregou o método baseado por Lutz (NEVES, 2005). Constatou-se que 100% das amostras apresentavam coliformes totais; 96,6% coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella spp.* em todas as amostras analisadas. Na análise parasitológica em supermercados foram observados cistos de *Entamoeba coli* (40%); *Entamoeba histolytica* (40%); ovos de *Ascaris lumbricoides* (13,4%) e larvas de *Strongyloides stercoralis* (6,6%). Nas amostras de feiras livres encontrou-se cisto de *Entamoeba coli* (31,8%); cisto de *Entamoeba histolytica* (27,3%); cisto de *Giardia lamblia* (13,7%); Ancilostomídeos (9,1%); *Strongyloides stercoralis* (9,1%); *Hymenolepis spp.* (4,5%) e *Ascaris lumbricoides* (4,5%). Os fatores relacionados a essa contaminação microbiológica podem ser decorrentes de práticas agrícolas incorretas, falhas nos procedimentos de distribuição, transporte e comercialização desse vegetal, que merecem atenção especial, pois podem afetar diretamente à saúde da população, uma vez que são usualmente consumidas *in natura*.

Palavras-chave: Coliformes. Enteroparasitas. Contaminação Microbiológica. Alfaces Comercializadas.

¹ Doutorado em Ciências Biológicas e Docente do Curso de Gastronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: shinoharanks@yahoo.com.br.

² Bióloga da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: tatianabnl@hotmail.com.

³ Doutor em Nutrição e Docente do Curso de Gastronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: lp_siqueira@yahoo.com.br.

⁴ Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

⁵ Doutor em Nutrição e Docente do Curso de Gastronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: fatpadilha@ig.com.br.

ABSTRACT

The lettuce (*Lactuca sativa*) is a vegetable largely consumed in Brazil. The objective of this paper was to assess the levels of microbiological contamination in lettuce sold in the city of Recife/PE. It was collected 60 samples of lettuce, 30 from free fairs and 30 from supermarkets. The detection of total and thermotolerant coliforms and *Salmonella* spp. obeyed the method standardized by the American Public Health Association (APHA, 1995) and, to the parasitological analysis it was used the method based by Lutz (NEVES, 2005). It was found that 100% of the samples presented total coliforms; 96.6% thermotolerant coliform and absence of *Salmonella* spp. in all samples analysed. In the parasitological analysis in supermarkets it was observed *Entamoeba coli* cysts (40%); *Entamoeba histolytica* (40%); eggs of *Ascaris lumbrical* (13.4%) and larvae of *Strongyloides stercoralis* (6.6%). In the samples of free fairs we observed *Entamoeba coli* Cyst (31.8%); *Entamoeba histolytica* cyst (27.3%); *Giardia lamblia* Cyst (13.7%); Hookworms (9.1%); *Strongyloides stercoralis* (9.1%); *Hymenolepis* spp. (4.5%) and *Ascaris lumbrical* (4.5%). The factors related to the microbiological contamination can be caused by improper agricultural practices, flaws in the procedures of distribution, transport and marketing of this vegetable, which deserve special attention because they can directly affect the health of the population, since they are usually consumed *in natura*.

Key words: Coliforms, Enteroparasites, Microbiological Contamination, Lettuce marketed.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, têm-se observado mudanças no hábito alimentar da população mundial, basicamente no que se refere a uma tendência do consumo de hortaliças preferencialmente *in natura*. Tal fato é consequência, principalmente da busca de uma alimentação mais saudável e devido a estas possuírem sabor agradável e serem de boa aceitação. As hortaliças de uma maneira geral são de grande importância na dieta alimentar uma vez que fornecem uma considerável quantidade de nutrientes para o desenvolvimento e regulação orgânica do corpo humano. São fontes de vitaminas A, C e B₃, minerais (cálcio e fósforo) e fibras^{1,2}.

Dentre as hortaliças de grande consumo no Brasil, destaca-se a alface (*Lactuca sativa*), sendo a sexta hortaliça em importância econômica e oitava em termos de volume produzido, além de ser muito utilizada na composição de diversas preparações. É uma planta típica de países que apresentam temperaturas amenas e devido a melhoramento genético e cultivo em ambiente protegido seu cultivo se dá em todas as épocas do ano^{3,4}. Sua utilização requer atenção quanto aos aspectos higiênico-sanitários, visto que podem trazer graves consequências à saúde dos consumidores⁵.

As hortaliças, em especial quando consumidas cruas, necessitam ser adequadamente higienizadas, sendo estas, exigências cada vez mais crescentes da sociedade atual. As condições técnicas de cultivo, armazenamento, transporte e distribuição até o consumidor final, associadas às práticas do uso de adubo orgânico (esterco animal e vegetal) e a utilização de águas contaminadas para irrigação e condições de higiene, são condições que favorecem a transmissão de agentes patogênicos ao homem, principalmente quando o produto é consumido cru^{6,7}. A contaminação de alimentos constitui um sério problema de saúde pública.

A alface (*Lactuca sativa*) está entre os alimentos mais implicados em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil e em diversos países, envolvendo principalmente, a bactéria *Escherichia coli* e seus diferentes sorogrupos⁸. A identificação de *E. coli* é relevante, pois além de indicar contaminação fecal recente, alguns sorogrupos causam enfermidades importantes no trato gastrointestinal⁹, como a *E. coli* O157: H7, presente em adubos e/ou água, a qual pode ser introduzida na alface através da raiz e migrar para a porção comestível do vegetal¹⁰.

Outros microrganismos patogênicos que podem aproveitar a alface como veículo são: *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* e *Yersinia enterocolitica*. Deve-se ainda citar os enteroparasitas, que podem ser encontrados em alimentos: cistos de *Entamoeba coli*, ovos de *Taenia sp*, *Ascaris sp*, ovos e cercárias de *Schistosoma mansoni*, além de larvas de nematódeos de vida livre¹¹.

A capacidade desses microrganismos em causar doenças de origem alimentar, caracterizadas em geral por vômito e diarreia, está relacionada à sua virulência, carga parasitária ingerida, inalada ou absorvida e fatores associados como idade, estado nutricional, imunossupressão e outras patologias que podem favorecer o aparecimento de quadros patogênicos letais⁶.

Visando a proteção à saúde da população, a Resolução – RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA¹², estabelece padrões microbiológicos quanto à presença de *Salmonella spp* e coliformes termotolerantes. Segundo tais padrões, hortaliças cruas devem apresentar-se livres da presença de *Salmonella spp.* em 25g de produto, sendo tolerada a presença de até 10²NMP/g da amostra para coliformes termotolerantes. Em relação aos enteroparasitas, a referida Legislação estabelece como padrão a "ausência" de parasitas e larvas.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a contaminação microbiológica em alfaces comercializadas em supermercados e feiras livres na cidade do Recife, Pernambuco, promovendo um estudo das condições higiênico-sanitárias das amostras analisadas.

METODOLOGIA

As amostras foram coletadas, nas condições de venda, em diferentes supermercados (30 amostras) e em feiras livres (30 amostras) da cidade do Recife/PE. Posteriormente, as mesmas foram acondicionadas em sacos de polietileno estéril, sem contato manual e transportadas ao Laboratório de Biotecnologia do LIKA da Universidade Federal de Pernambuco, para a pesquisa de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Salmonella spp.* e enteroparasitas.

Determinação de coliformes totais e termotolerantes

De cada amostra, foram pesadas 25g de amostra e homogeneizadas em 225 mL de solução diluente (solução salina estéril), durante 2 minutos. A partir do homogeneizado, foram inoculadas em série de 3 tubos de caldo lauril sulfato triptose. Incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24-48 horas, para identificação presuntiva dos coliformes¹³.

Para cada amostra com resultado positivo, transferiu-se uma alçada para um tubo de ensaio contendo caldo verde brilhante lactose bile a 2%, incubação em estufa bacteriológica a 35°C por 24-48 horas para confirmação da presença de coliformes totais. Após incubação, dos tubos positivos, caracterizados por turvação do meio e retenção de gás no interior do tubo de Durham, transferiu-se uma alçada para um tubo de ensaio contendo caldo *Escherichia coli* (EC), os quais foram incubados, em banho-maria, a 44,5°C $\pm$ 0,5 por 24-48 horas, constituindo assim, a prova confirmativa para coliformes termotolerantes¹³.

Pesquisa de *Salmonella spp.*:

De cada amostra foi retirada assepticamente 25g, homogeneizadas em 225mL de caldo lactosado e incubadas a 35-37°C/24h. Após esse período, foram transferidas alíquotas de 10 mL de amostra para 90 mL de caldo selenito-cistina e tetrationato. Posteriormente incubados em banho-maria a 42,5°C $\pm$ 0,2°C por 24h. Do enriquecimento seletivo, foram estriadas amostras em placas contendo meio Ágar de Hektoen e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C $\pm$ 0,5°C por 24-48

horas. A partir das colônias suspeitas de *Salmonella spp.*, caracterizadas por coloração verde-azulada com ou sem centro negro. Foram realizadas identificações bioquímicas (TSI, VM, VP, indol, gelatinase) e provas sorológicas (antígenos somático e flagelar)¹³.

Pesquisa de enteroparasitas:

De cada amostra analisada foi pesada 50g de alface e lavada com 500mL de água destilada estéril. Posteriormente, essa água foi filtrada e colocada em repouso por 12 horas em cálices de Hoffman. Transcorrido esse período de repouso, uma parte do sedimento foi colocado em lâmina de vidro e posteriormente, observada em microscopia ótica comum, utilizando solução de lugol como corante, segundo a metodologia baseada em Lutz^{14,15}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises bacteriológicas em alfaces estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, quanto às avaliações de supermercados e feiras livres, respectivamente.

Tabela 1 - Avaliação bacteriológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados na cidade de Recife – PE

Número de amostras	Coliformes totais		Coliformes termotolerantes		<i>Salmonella spp.</i>	
	n*	%	n*	%	n*	%
30	30	100	30	100	0	0

*n= número total de amostras positivas.

Fonte: Elaborado pelo Autor

Segundo a Tabela 1, foram encontrados 100% de positividade na detecção de coliformes totais e termotolerantes. Embora não existam padrões para contagem de coliformes totais para hortaliças *in natura*, segundo RDC 12/2001¹², os resultados evidenciam a higiene precária e insatisfatória no processamento e distribuição do produto, representando um grande risco biológico ao consumidor¹⁶. Resultados semelhantes também foram obtidos nas amostras de feiras livres como podemos observar na Tabela 2.

Tabela 2 - Avaliação bacteriológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Recife – PE.

Número de amostras	Coliformes totais		Coliformes termotolerantes		<i>Salmonella spp.</i>	
	n*	%	n*	%	n*	%
30	30	100	28	93,3	0	0

*n= número total de amostras positivas.

Fonte: Elaborado pelo Autor

Ainda na Tabela 2, pode-se observar que a frequência para coliformes totais também foi de 100% e para coliformes termotolerantes 93,3%. Os resultados das Tabelas 1 e 2, demonstram o alto grau de contaminação nos alfaces de supermercados e feiras livres avaliadas. Pacheco et al.¹⁷, quando estudaram diversos vegetais comercializados na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Pau – CEAGESP, de Sorocaba-SP, encontraram 87,5% das amostras de alface contaminadas por coliformes termotolerantes. Souza et al.¹⁸ realizaram um estudo comparativo com alfaces comercializadas em Rio Branco-AC, cultivados pelos processos convencional e hidropônicos. Observou-se que a alface convencional apresentou o maior índice de contaminação por coliformes termotolerantes, com 87,5% de positividade, enquanto que as alfaces hidropônicas apresentaram 50% das amostras com tal contaminação, mostrando desta forma que as alfaces cultivadas pelo método convencional apresentaram um maior grau de contaminação que em relação às hidropônicas.

A alta frequência de coliformes termotolerantes em alimentos fornece informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto, uma vez que a presença deste grupo de bactérias é indicativa de contaminação de origem fecal^{11,18}.

Reportando-se aos resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2, verifica-se a ausência de *Salmonella spp.* de supermercados e de feiras livres, estando assim, em conformidade com o que está preconizado na Resolução nº12 de 2001/ANVISA¹². Resultados semelhantes foram obtidos em estudo realizado por Souza e colaboradores (2006), que analisando alface em diferentes sistemas de cultivo na cidade de Rio Branco – AC, verificaram também ausência de *Salmonella spp.* em todas as amostras avaliadas¹⁸. Outros estudos como os realizados no norte da Espanha com 63 amostras de alface convencional e 56 amostras de alface

orgânico, e na Noruega em 179 amostras de alfaces cultivados organicamente não detectaram a *Salmonella spp.*^{5,19}. Esse fato provavelmente é decorrente da presença de uma variada flora acompanhante, como foi constatado nesse estudo. Informação semelhante foi descrita por Souza²⁰ que mencionou a possibilidade da inibição no crescimento de outras bactérias, quando a população de coliformes está presente em grande concentração.

Avaliando a presença de enteroparasitas, conforme a Figura 1, houve a identificação de 4 diferentes espécies em 30 amostras analisadas. Do total, 15 amostras apresentaram enteroparasitas, onde a maior frequência foram para *Entamoeba coli* (40%) e *Entamoeba histolytica* (40%), seguido de *Ascaris lumbricoides* (13,4%) e larvas de *Strongyloides stercoralis* (6,6%).

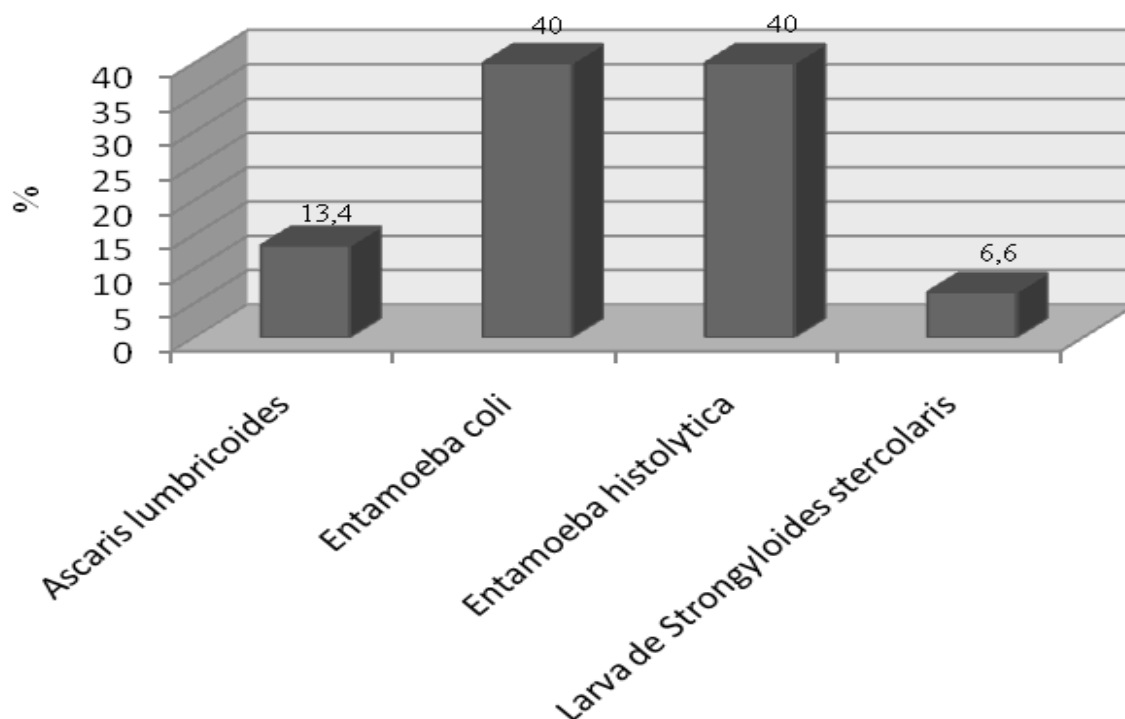


Figura 1 - Pesquisa de enteroparasitas em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados na cidade de Recife – PE.

Fonte: Elaborado pelo Autor

Em relação as 30 amostras obtidas em feira livre, conforme a Figura 2, em 22 amostras, constatou-se a presença dos seguintes enteroparasitas: *Entamoeba coli* (31,8%), *Entamoeba histolytica* (27,3%), *Giardia sp.* (13,7%), Ancilostomídeos (9,1%), *Strongyloides stercoralis* (9,1%), *Ascaris lumbricoides* (4,5%) e *Hymenolepis sp.* (4,5%).

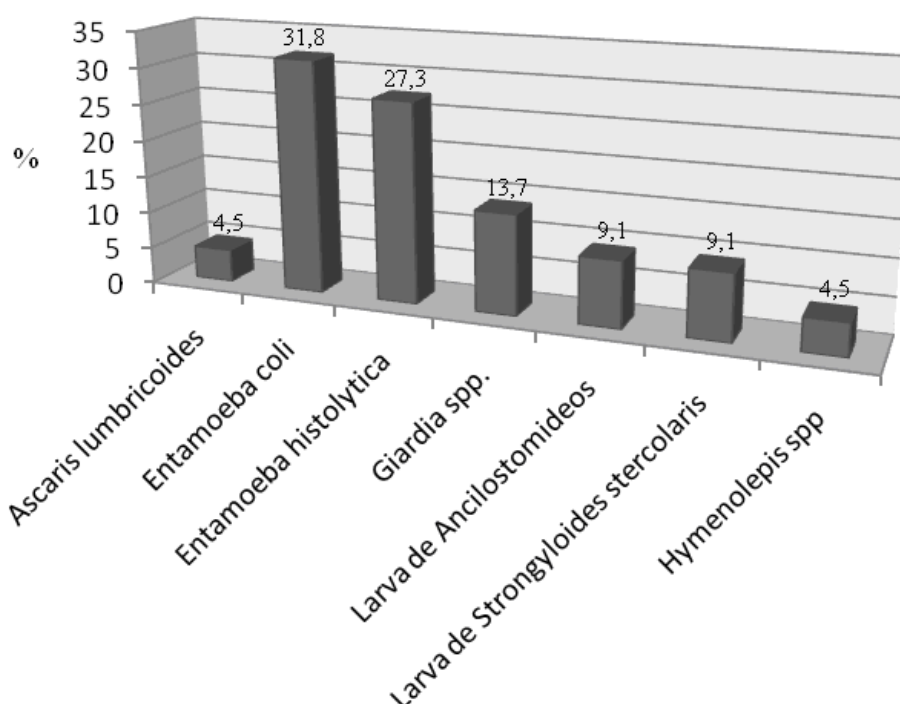


Figura 2 - Pesquisa de enteroparasitas em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Recife – PE

Fonte: Elaborado pelo Autor

Os agentes parasitários causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), como por exemplo, a *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Ancilostomídeo*, dentre outros, podem causar desde diarreias, gastroenterite, cólicas abdominais e perda de peso, podendo evoluir para ulcerações graves²¹.

Os resultados obtidos também podem estar associados com a morfologia das alfaces, onde suas folhas apresentam nervuras que facilitam a fixação e manutenção dos agentes biológicos e que se não forem adequadamente higienizados, poderão permanecer no vegetal. Além disso, a localização da planta em contato direto com o solo e a utilização inadequada de águas de irrigação, adubo orgânico, transporte e manuseio também contribuem para elevar a frequência de parasitas intestinais em alimentos¹⁷.

Ainda de acordo com as Figuras 1 e 2, foi constatada uma alta incidência de cistos de *Entamoeba coli* nos dois locais estudados. Apesar de se tratar de um protozoário cujo habitat natural é o intestino de homens e animais, sua presença indica que a amostra possivelmente sofreu contaminação por material fecal, demonstrando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, podendo ser oriunda de falhas no cultivo ou através da manipulação inadequada das hortaliças¹⁶.

Os vegetais apresentam grande potencial de risco na transmissão de agentes patogênicos. As condições das técnicas de cultivo, armazenamento, transporte e distribuição para o consumidor, a prática do uso de adubo orgânico (esterco animal e vegetal), a utilização de águas contaminadas para irrigação, o transporte feito em engradados abertos e as condições de higiene no manuseio e preparo das refeições, são condições que favorecem a transmissão, principalmente quando o alimento é consumido cru²².

Apesar de ser conhecido o problema de contaminação das hortaliças, por bactérias, helmintos e protozoários intestinais, são poucas as referências no Brasil que descrevem os níveis de contaminação nesse grupo de alimento, que normalmente são ingeridos em refeições na sua forma *in natura*¹⁸.

Dessa forma, ressalta-se a importância da manutenção de um sistema rigoroso de vigilância epidemiológica nas áreas produtoras de hortaliças no município, visando uma melhor condição higiênico-sanitária das hortaliças oferecidas à população.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Independente dos locais de coleta, supermercados ou feiras livres, os resultados de coliformes totais e termotolerantes foram semelhantes. *Entamoeba coli* e *Entamoeba histolytica* foram os enteroparasitas que apresentaram maior frequência nos locais pesquisados, em especial nas feiras livres. O elevado índice de contaminação encontrada nas alfaces, aliado ao hábito de consumo de forma *in natura*, representa grave risco para a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUGRAIN, A.K. et al. **Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya**. Food Control, v.21 , n. 5, p.760-762, 2010.

ALMEIDA, M. T. T. **Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) em restaurantes self-service no município de Limeira-SP** [Dissertação]. Piracicaba (SP), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th ed. Washington; 1995.

BRASIL. **Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001**. Aprova Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001.

CARVALHO, P. G. B. et al. **Hortalças como alimentos funcionais**. Horti Bras, v. 24, n. 4, p. 397- 404, 2006.

DARYANI, A.; et al. **Prevalence of intestinal parasites in vegetables consumed in Ardabil, Iran**. Food Control, v.19, n.8, p. 790-794, 2008.

DE CARLI, G. A. **Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. São Paulo: Atheneu; 2001.

FELTRIM, A. L. Et al. **Produção de alface americana em solo e em hidroponia, no inverno e verão, em Jaboticabal - SP**. Bras Eng Agríc Ambient, v.9, n.4, p.505-509, 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GOMES, M. S. O. **Conservação pós-colheita: frutas e hortalças**. Coleção Saber. Brasília: EMBRAPA; 1996.

LONCAREVIC, S.; JOHANNESSEN, G.S.; RORVIK, L.M. **Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway**, *LettApplMicrobiol*, v.41, p.186–189, 2005.

NASCIMENTO, A.; MARTINS, A. **Incidência de *Escherichia coli* e *Salmonella* em Alfaves (*Lactuca sativa*)**. Higiene Alimentar, n.19, p.121-124, 2005.
Neves, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

OLIVEIRA, M. et al. **Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production**. Food Microbiol v. 27, n. 5, p. 679-684, 2010.

OTTO, R. F.; REGHIN, M. Y.; SÁ, G. D. **Utilização do 'não tecido' de polipropileno como proteção da cultura de alface durante o inverno de Ponta Grossa - PR**. Horti Bras, v.19, n. 1, p.49-52, 2001.

PACHECO, M. A. S. R. et al. **Condições higiênico-sanitárias de verduras e legumes comercializados no Ceagesp de Sorocaba-SP**. Higiene Alimentar, v.16, p.50-55, 2002.

PENNINGTON, H. ***Escherichia coli* O157**. The Lancet, v. 376, n. 9750, p.1428-1435, 2010.

SILVA Jr., E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em serviços de alimentação**. 6ª ed. São Paulo Varela, 2007.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. **Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortalças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil**. Rev Bras Epidemiol, v. 8, n.4, p. 377-384, 2005.

SOLOMON, E. B.; YARON, S.; MATHEWS, K.R. **Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization.** Appl Environ Microbiol, v.68, n.1, p. 397-400, 2002.

SOUZA, C. P. **Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos.** Revista APS, v.9, n.1, p. 83-88, 2006.

SOUZA, M. L.; BEZERRA, D. C. F.; FURTADO, C. M. **Avaliação higiênico-sanitária de Alfaces (*Lactuca sativa*) cultivadas pelos processos convencional e hidropônico e comercializadas em Rio Branco, AC.** Higiene Alimentar, v. 20, p. 92-99, 2006.