



Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces minimamente processadas, comercializadas em supermercados da cidade de Fortaleza, Ceará

Microbiological and parasitological evaluation of minimally processed lettuce commercialized in the city of Fortaleza, Ceará

1. Lorena Oliveira **Peixoto**
2. Clarisse Vasconcelos de **Azevedo**
3. Sarah Maria de Araújo **Almeida**
4. Brenda Karoline Sousa de **Freitas**
5. Maria Verônyca Coelho **Melo**
6. Isaac Neto Goes da **Silva**

1. Graduada em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará.
2. Graduada em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará.
3. Graduada em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará.
4. Graduada em Nutrição pela Universidade Estadual do Ceará.
5. Doutora em Biotecnologia (RENORBIO) pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Especialista em Enfermagem Médico-Cirúrgica pela UECE. Graduada em Enfermagem pela UECE.
6. Doutor em Biotecnologia (RENORBIO) pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Mestre em Ciências Veterinárias pela UECE. Graduado em Medicina Veterinária pela UECE.

Correspondência para:

 lorena_lop@hotmail.com
 R. Alemanha, 736. Fortaleza/CE.

RESUMO

Os alimentos minimamente processados são aqueles que passam por algum tipo de processamento que modifica sua forma natural, onde tornam-se próprios para o consumo. Entre os principais produtos a serem minimamente processados estão às hortaliças, pois o seu consumo constitui importante meio de transmissão de várias doenças infecciosas e parasitárias. O presente estudo teve como objetivo avaliar a contaminação microbiológica e parasitológica de alfaces minimamente processadas. Foram analisadas oito amostras de alfaces americanas minimamente processadas, comercializadas em quatro grandes supermercados de Fortaleza, no período de abril de 2012. Para análise microbiológica foram utilizados os parâmetros instituídos pela RDC 12/2001 da ANVISA e para a análise parasitológica realizou-se o método de Sedimentação Espontânea de Hoffman, Pons & Janer. Das oito amostras analisadas todas apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente, porém, 50% das amostras apresentaram parasitos intestinais como *Ascaris* sp, *Ancylostomo* sp, *Tricuris* sp, *Toxocara* sp e fungos sp. Essa contaminação pode ocorrer por cultivo em solo contendo dejetos infectados ou por uma manipulação inadequada do produto. Dessa forma, verificamos que as condições higiênico-sanitárias das alfaces comercializadas em supermercados em Fortaleza não são recomendadas para o consumo humano.

Palavras-chave: alface, análise microbiológica, Fortaleza.

ABSTRACT

Minimally processed foods are those that undergo some type of processing that modifies its natural forms, becoming fit for consumption. Vegetables are one of the products to be minimally processed because of its high potential to transmit various infectious and parasitic diseases. Contamination can occur from cultivation to pre-consumer handling. Due to the high rate of contamination of vegetables, this study aimed to evaluate the microbiological and parasitological contamination of minimally processed lettuce. Eight samples of minimally processed lettuces sold in four major supermarkets in Fortaleza in the period April 2012 were analyzed. For microbiological analysis were used the parameters established by RDC 12/2001 ANVISA and for parasitological examination the spontaneous sedimentation method of Hoffman, Pons & Janer. All eight samples were within the quality control standards established by current legislation, however 50 % of the samples had intestinal parasites like *Ascaris* sp, *Ancylostomo* sp, *Tricuris* sp, *Toxocara* sp and fungi sp. This contamination can occur for cultivation in soil containing infected droppings or mishandling of the product. Therefore, we observe that the sanitary conditions of the lettuce sold in supermarkets in Fortaleza are not recommended for human consumption.

Keywords: lettuce, microbiological analysis, Fortaleza.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil (FERNANDES *et al.*, 2002). De acordo com Maistro (2001), essa hortaliça ocupa a sexta colocação numa escala de importância econômica e a oitava colocação em termos de produção. É considerada fonte de vitaminas e sais minerais indispensáveis à alimentação, destacando-se as vitaminas A, B1, B2 e C.

Os hábitos alimentares da população têm sofrido modificações. Isso decorre do curto período para a realização das refeições em conjunto com a preocupação por uma alimentação saudável e segura. A procura por alimentos frescos, nutritivos, de qualidade, de baixo valor energético e que tornem a refeição mais prática está cada vez maior. Destes, fazem parte as frutas, hortaliças e verduras minimamente processadas (MAISTRO, 2001; PRADO, 2008).

Os produtos minimamente processados são aqueles que sofreram alterações físicas, como corte, descasque, entre outros, e mantêm sua qualidade e frescor (MORETTI, 2007). Esses alimentos sofrem processos como seleção rigorosa, pré-lavagem, corte ou fatiamento, desinfecção, enxágue, centrifugação, empacotamento e refrigeração (PRADO, 2008). Em algumas operações o processo é feito manualmente, o que aumenta o risco de contaminação por microorganismos (BARBERI *et al.*, 2001).

As hortaliças também possibilitam a ocorrência de enfermidades intestinais, uma vez que helmintos e protozoários podem estar presentes. Essa contaminação dá-se, principalmente, devido à utilização de água contaminada por dejetos fecais na irrigação das hortaliças ou contaminação do solo por material fecal (QUADROS *et al.*, 2008). As doenças transmitidas por alimentos são resultantes do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle deve receber atenção cada vez maior (SOARES e CANTOS, 2005).

Dessa forma, a qualidade desses alimentos deve ser avaliada, pois os produtos prontos para consumo podem transportar microrganismos patogênicos ou elementos parasitários ao homem, causando doenças bacterianas e parasitárias. O presente estudo teve como objetivo avaliar as condições microbiológica e parasitológica de alfaces minimamente processadas.

METODOLOGIA

Amostras

Foram utilizadas oito amostras de alfaces americanas minimamente processadas, cujos pacotes encontravam-se inviolados, dentro do prazo de validade, comercializadas em quatro grandes supermercados do município de Fortaleza. As alfaces foram mantidas na embalagem original, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo, e encaminhadas ao setor de Microbiologia do Laboratório de Bioquímica Humana e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Segurança Alimentar e Nutricionais (LABSAN) ambos na Universidade Estadual

do Ceará para a realização das análises microbiológicas e parasitológicas, respectivamente.

Análises microbiológicas

No laboratório, as amostras foram manipuladas em câmara séptica e após a higienização dos pacotes, 25g de alface foram colhidas e dispensadas em um Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada 0,1%, obtendo-se a diluição 10⁻¹, conforme instrução microbiológica da RDC 12/2001 da ANVISA, para HORTALIÇAS, legumes e similares. A metodologia pode ser sucintamente descrita a seguir.

Para análise de coliformes a 45°C, retirou-se 1mL da diluição 10⁻¹ que foi então diluída seriadamente em tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo lactosado e tubos de Durhan invertidos até a obtenção da diluição 10⁻⁴. Essas amostras foram submetidas a uma temperatura de 45°C por 24 horas, em banho-maria. Das diluições positivas foram realizadas as semeaduras em placas de Petri bipartidas contendo Ágar Verde Brillante e Ágar MacConkey, seguidas de incubação em estufa por 24 horas a 37°C para identificação dos agentes. A contagem de colônias foi realizada pelo método de Pour Plante, onde 100µm de cada diluição foram semeadas com auxílio da alça de Drigalsky em Ágar MacConkey, e incubadas por 24 horas a 37°C.

Na análise de *Salmonella sp.*, a partir da diluição 10⁻¹ retirou-se 1 mL onde foram adicionadas em tubos de ensaio contendo 9 mL de Tetrationato. Os tubos foram incubados em banho-maria por 24 horas a 45°C. Após esse período, foram realizadas as semeaduras das amostras em placas de Petri bipartidas contendo Ágar Verde Brillante e Salmonella/Shigella, as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas para a verificação da presença destes agentes.

As cepas bacterianas isoladas foram identificadas fenotipicamente pela morfologia colonial e pelo aspecto morfo-tintorial pela coloração de Gram. Além disso, foi utilizado ainda o sistema de identificação semia-automatizado Bactray antecedido do teste de oxidase.

Análises parasitológicas

Para a análise parasitológica empregou-se a técnica de sedimentação espontânea, com modificação (Lutz, 1919; Hoffmann, Pons e Janer, 1934). Assim, pesou-se cerca de 100g de alface de cada pacote sendo adicionados 300 mL de água destilada. Em seguida realizou-se a mistura manual por 20 segundos. O líquido obtido foi filtrado e transferido para cálices de sedimentação com capacidade para 250 mL onde permaneceu em repouso por aproximadamente 2 horas para obtenção do sedimento. Após esse período o sedimento encontrava-se no fundo do cálice, sendo o líquido mais superficial desprezado. De cada sedimento foram produzidas três lâminas para análise no microscópio óptico, para a pesquisa de ovos de helmintos e protozoário.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise microbiológica

Procedida a análise das oito amostras de alfaces americanas minimamente processadas realizou-se a contagem de coliformes a 45°C onde foi visualizada a variação de 13 a 17 UFC/g nas hortaliças. Foi constatada a presença de *Escherichia coli* e *Klebsiella oxytoca*, na proporção de 4 *E. coli* para 9 *K. oxytoca*. Nenhuma ocorrência de *Salmonella* foi verificada no presente estudo.

Por não existir uma legislação própria para alimentos minimamente processados, foram seguidos os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC Nº12/01 da ANVISA para hortaliças “frescas, in natura, preparadas (descascadas, selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto”, a qual tolera a presença de 10² UFC/g de coliformes a 45°C e estabelece ausência de *Salmonella sp* em 25g do produto.

Assim sendo, as alfaces minimamente processadas analisadas apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, estando própria para o consumo, o que difere dos resultados obtidos por Bruno *et al.*, que verificou contaminação de 13,3% das suas amostras por coliformes fecais acima do padrão recomendado pela legislação vigente. Já, Silva (2006), relatou que quatro de suas amostras tiveram níveis de coliformes fecais acima do aceitável.

A elevada multiplicação de microorganismos em vegetais pode ocorrer devido à manipulação em condições inadequadas de higiene durante o processamento, como também pela higienização inadequada dos equipamentos, o que aumenta o risco da presença de patógenos e microorganismos deteriorantes (BRUNO *et al.*, 2005). Tal fato se agrava ainda pelo fato da alface servir como substrato para o crescimento da população bacteriana colocando em risco inclusive o prazo de validade do produto.

A presença de coliformes fecais indica que houve contato direto e/ou indireto com fezes, uma vez que a *E. coli* não faz parte da microflora normal de produtos frescos, indicando, portanto, condições higiênicas insatisfatórias (GUIMARÃES, 2003).

Os resultados encontrados foram negativos para a presença de *Salmonella sp* estando de acordo com Prado *et al.* (2008) e Santos *et al.* (2010), porém em discordância com o estudo realizado por Bruno *et al.* (2005), onde das trinta amostras de hortaliças e frutas minimamente processadas, 66,6% foram positivas para a presença de *Salmonella sp*.

Análise parasitológica

Na análise das oito amostras de alfaces americanas minimamente processadas verificou-se a presença de algum parasito intestinal em 50% da amostra (4 amostras) e a presença de fungos leveduriformes e protozoários de vida livre (*Paramecium*) no restante das amostras (4 amostras).

Nas quatro amostras contaminadas por parasitos intestinais foram encontrados ovos de *Ascaris sp*, sendo que, duas destas continham ovos de *Ancilostoma sp*, *Tricuris sp* e *Toxocara sp*, conforme demonstra a Tabela 1.

No Brasil, as enteroparasitoses constituem um grave problema de saúde pública. Esse fato tem relação direta com o difícil acesso ao saneamento básico, o nível sócio-econômico e o grau de escolaridade da população, visto que a transmissão desses parasitos está associada às condições de vida e de higiene da população (BAPTISTA *et al.*, 2006).

Supermercado	Número de amostras	Resultados
A	2	Fungos leveduriformes e ovos de <i>Ascaris sp</i>
B	2	<i>Ancilostoma sp</i> , <i>Tricuris sp</i> , <i>Toxocara sp</i> , ovos de <i>Ascaris sp</i> e pêlos
C	2	<i>Paramecium</i>
D	2	Fungos leveduriformes e <i>Paramecium</i>

Tabela 1: Análises parasitológicas de amostras de alfaces minimamente processadas, comercializadas em supermercados da cidade de Fortaleza, 2012.

Nas duas amostras analisadas do supermercado A foram encontradas a presença de fungos sp e ovos de *Ascaris sp*. Já, as amostras do supermercado B, apresentaram ovos de *Ancilostomama sp*, *Tricuris sp*, *Toxocara sp*, *Ascaris sp*. Nas amostras analisadas do supermercado C, verificou-se a presença de um parasito de vida livre (*Paramecium*), esse parasito também foi encontrado nas amostras no supermercado D, juntamente com os fungos sp.

Conforme visto acima, a metade das amostras analisadas (50%) apresentou-se positiva para estruturas parasitárias. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Prado *et al.* (2008) que relatou positividade de 18,6% das suas amostras de alface minimamente processada. Quadros *et al.* (2008) e Esteves e Figueirôa (2005), 88,5% e 23,8%, respectivamente, também encontraram resultados semelhantes, porém, nas alfaces in natura.

Os resultados positivos para a presença de ovos de *Ascaris sp* e *Trichuris sp* estão de acordo com os achados de Quadros *et al.* (2008) que verificou a presença dos ovos desses parasitos nas alfaces in natura e Esteves e Figueirôa (2005), que visualizaram a presença de ovos de *Ascaris sp* nas amostras de alfaces também in natura. Já o estudo realizado por Prado *et al.* (2008) deu negativo para esses parasitos quanto à análise das alfaces minimamente processadas.

A presença de *Toxocara sp* em 25% das amostras (2 amostras) está de acordo com o estudo realizado por Guimarães *et al.* (2003) que encontrou em 1,7% das suas amostras de alface in natura, a presença desse parasito.

Os parasitos de vida livre (*Paramecium*) encontrados em 50% das amostras analisadas sugerem uma falha na higienização das alfaces (SILVA *et al.*, 2006).

Santana *et al.* (2006) afirma que todos os enteroparasitos identificados possuem importância para a saúde pública. A maioria destes indica contaminação por fezes de humanos ou de animais por manifestar espécies que ocorrem nos humanos, nos animais ou nos dois. Neste estudo houve uma presença significativa de diferentes parasitos, o que sugere falhas no processamento mínimo da alface entre o momento da colheita até a chegada à prateleira do supermercado (MAISTRO, 2001).

De acordo com a resolução RDC nº 175, de 2003, da ANVISA, a presença de matéria prejudicial à saúde humana onde estão incluídos os parasitos, detectada microscopicamente, torna o produto/lote avaliado, como impróprio para o consumo humano. Nesse contexto, 50% (4 amostras) das alfaces pesquisadas encontraram-se em discordância com essa norma, apresentando qualidade insatisfatória para o consumo.

Assim, a quantidade de microorganismos indicadores de condições higiênicas das alfaces minimamente processadas está abaixo ao estabelecido na RDC nº 12/2001 da ANVISA, no entanto a carga parasitária encontrada evidencia risco de contaminação humana o que pode trazer riscos à saúde dos consumidores.

CONCLUSÃO

Dessa forma, conclui-se que a condição microbiológica da alface minimamente processada embora esteja dentro do preconizado pela ANVISA no que se refere ao aspecto microbiológico, apresenta risco a saúde humana uma vez que foram encontrados elementos parasitários potencialmente patogênicos a saúde humana.

Conclui-se ainda que existe a necessidade de uma vigilância sanitária mais atuante na fiscalização de todas as etapas do processo produtivo de alfaces minimamente processadas, com a necessidade da implantação de programas de qualidade para melhorar a condição higiênico-sanitária, e também uma maior orientação aos produtores e manipuladores quanto à importância da correta higienização e manipulação dos alimentos.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 16 dez. 2013.

ANVISA. **Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados**. Resolução - RDC nº 175, de 08 de julho de 2003. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/efabae00474580fc8d11dd3fbc4c6735/RDC_175_2003.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 16 dez. 2013.

BAPTISTA, S. C.; BREGUEZ, J. M. M.; BAPTISTA, M. C. P.; SILVA, G. M. S. da; PINHEIRO, R. O. Análise da incidência de parasitoses intestinais no município de Paraíba do Sul, RJ. **Revista Brasileira de**

Análises Clínicas, v. 38, n.4, pp. 271-273, Vassouras, 2006.

BARBERI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, mai. – ago., Campinas, 2001.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para alimentos – CNNPA/ANVISA – Agência nacional da Vigilância Sanitária. **Normas técnicas especiais**, nº 12, de 1978. São Paulo: CNNPA/ANVISA; 1978.

BRUNO, L.M.; QUEIROZ, A.A.M.; ANDRADE, A.P.C.; VASCONCELOS, N.M.; BORGES, M.F. Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza (CE). **Boletim CEPPA**, v.23, n.1, p.75-84, jan. – jun., Curitiba, 2005.

ESTEVES, F.A.M.; FIGUEIRÔA, E.O. Detecção de enteroparasitas em hortaliças comercializadas em feiras livres do município de Caruaru (PE). **Revista Baiana**, v.33, n.2, p.184 – 193, abr. – jun., 2009.

FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; FONSECA, M. C. M. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidropônia, em função de fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.2, p.195-200, junho, Brasília, 2002.

GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; FIGUEIREDO, H.C.P.; COSTA, G.M.; RODRIGUES, L.S. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.5, p. 621-623, set. – out., Lavras, 2003.

MAISTRO, L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v.14, n.3, p.219-224, Campinas, 2001.

MORETTI, C. L. **Manual de Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 2007.

PRADO, S. de P. T.; RIBEIRO, E. G. A.; CAPUANO, D. M.; AQUINO, A. L. de; ROCHA, G. de M.; BERGAMINI, A. M. M. Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p. 221-227, São Paulo, 2008.

QUADROS, R.M.; MARQUES, S.M.T.; FAVARO, D.A.; PESSOA, V.B.; ARRUDA, A.A.R.; SANTINI, J. Parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) de mercados e feiras livres de Lages - Santa Catarina. **Revista Ciência & Saúde**, v.1, n.2, p. 78-84, Porto alegre, 2008.

SANTANA, L.R.R.; CARVALHO, R.D.S.; LEITE, C.C.L.; ALCÂNTARA, L.M.; OLIVEIRA, T.W.S.; RODRIGUES, B.M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.264-269, Campinas, 2006.

SANTOS, T.B.A.; JUNQUEIRA, V.C.A.; PEREIRA, J.L. Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.13, n.2, p.141-146, abr. - jun., Campinas, 2010.

SILVA, S. R. P. **Avaliação bacteriológica e parasitológica em hortaliças minimamente processadas**

comercializadas em Porto Alegre- RS. 75p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SOARES, B; CANTOS, G. A. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, vol.8, n.4, p.377-384, São Paulo, 2005.

Recebido em 31-DEZ-2013

Aceito em 25-FEV-2014