**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**
**CENTRO DE TECNOLOGIA**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**JULIO ABRANTES PEREIRA**

# AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DA ALFACE (*Lactuca sativa*) VARIEDADE CRESPA POR BACTÉRIAS E ENTEROPARASITAS

JOÃO PESSOA
2010

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

**JULIO ABRANTES PEREIRA**

# AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DA ALFACE (*Lactuca sativa*) VARIEDADE CRESPA POR BACTÉRIAS E ENTEROPARASITAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza

JOÃO PESSOA
2010

*P436a Pereira, Julio Abrantes.*

*Avaliação da contaminação da alface (Lactuva sativa) variedade crespa por bactérias e enteroparasitas / Julio Abrantes Pereira.- João Pessoa, 2010.*

*77f. : il.*

*Orientador: Antonio Gouveia de Souza*

*Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT*

*1. Alface. 2. Alface – contaminação. 3. Alface – bactérias. 4. Alface – parasitas.*

*UFPB/BC* *CDU: 635.52(043)*

**JULIO ABRANTES PEREIRA**

# AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DA ALFACE (*Lactuca sativa*) VARIEDADE CRESPA POR BACTÉRIAS E ENTEROPARASITAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Dissertação aprovada em 22/09/2010

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza – Orientador - UFPB

_____

Prof. Dr. Ricardo Targino Moreira – Membro - UFPB

_____

Profª Dra. Francisca Inês de Sousa Freitas – Membro - UFPB

**Ao meu Deus, fonte de toda a minha inspiração. Dedico-te mais esta vitória.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por ser um bom pai para mim, sempre cuidando, inspirando e oferecendo todo o suporte necessário para a conquista deste sonho.

Aos meus pais por todo carinho, incentivo e compreensão que tiveram comigo, sempre respeitando as minhas decisões em busca do sucesso profissional.

Ao meu orientador o professor Antonio Gouveia de Souza por todo apoio e principalmente por ter me dado carta branca na seleção do tema a ser explorado nesta dissertação.

A professora Janeeyre Maciel por todo apoio, orientação e paciência. Quem diria que toda esta pesquisa e horas de trabalho surgiram de um questionamento feito pela senhora.

A professora Inês Freitas que sempre muito gentil e elegante colaborou demais abrindo as portas do seu laboratório além de auxiliar nas dúvidas durante as análises e nas correções. Como sempre INESquecível.

A Jailma Abrantes minha irmã e a Gabrielle Abrantes minha sobrinha que sempre colaboraram, riram se condoeram nas minhas tristezas e assim viveram comigo um pouco deste sonho antes mesmo de se concretizar. Aos demais irmãos que também estiveram na torcida e ajudaram no que foi possível.

O Sandro Soares por toda ajuda colaboração, apoio e paciência, que mesmo sem obrigação ajudou na correção e no laboratório, muito obrigado! As grandes amizades são para sempre.

O Nelson Justino e Renata Mil que foram o braço direito e o esquerdo nas análises do laboratório, obrigado por tudo. Sem dúvida Deus coloca os seus anjos na terra em momentos importantes para nos ajudar.

A professora Antonia Lucia de Souza que muito solicita me ajudou bastante solucionando problemas no desenvolvimento das etapas da pesquisa. Muito Obrigado.

A todos do LACOM em especial Raul, professora Neide, Evaneide e dona Lourdinha.

A Uytacira Branco e a Graça, por todo apoio nas análises parasitológicas.

A Gilvandro, Claudionor, Milton e por toda amizade e paciência, foi muito bom trabalhar com vocês.

O professor Ânnoar Abbas, o técnico Chico e a Renan Gusmão que colaboraram na secagem das amostras.

A Larissa Raphaela pela ajuda na parte estatística.

A professora Marta Suely Madruga por ter cedido o laboratório.

Aos professores Adalberto da Costa, Lauro Santos Filho e Bernadete Helena Cavalcante dos Santos pelas orientações e pelo espaço cedido no Laboratório de Microbiologia Clínica.

A Elyeide Gomes por todo apoio e atenção na digestão das amostras.

A minha mestra em computação Katarina Kardinele, que sempre me ajudou e socorreu na formatação de trabalhos e na criação de gráficos, além ser uma grande amiga. Muitíssimo obrigado Katarina.

A minha amiga e irmã Anna Débora, afinal sempre juntos, espero que nada nos separe, afinal quase 10 anos. Obrigado por dividir as alegrias, tristezas, angustias, duvidas e felicidades do mestrado.

A Christine Maranhão e a Tatyana Patrício pelos inúmeros "Peeeeec e Poooli" gritados no corredor, os quais me ajudaram bastante a distrair e tirar o foco dos problemas que não conseguia resolver.

A Cristiane Santos, Aline Sousa, Naara Medeiros e Ingrid Dantas pelos inúmeros momentos felizes e pela bela amizade conquistada.

Anderson Nunes, José Neto, Felipe Siqueira e Tiago Mendes por toda amizade e paciência, com alguém quem esteve desesperado e estressado durante este período.

A todos os demais colegas mestrandos e doutorandos pelos os momentos felizes que passamos juntos.

Muito obrigado a todos e que ajudaram direto ou indiretamente na concretização este sonho.

“A sabedoria é como ouro. É moeda que vale em qualquer lugar.”

“O homem busca incessantemente o saber, ano após ano ao longo de sua existência, porém o homem sábio não só é aquele que tem muito conhecimento acumulado, mas aquele que sabe usar a sua sabedoria para o bem da humanidade.”

(Julio Abrantes Pereira)

# RESUMO

**PEREIRA, J. A.** Avaliação da contaminação da alface (*Lactuca sativa*) variedade crespa por bactérias e enteroparasitas. João Pessoa-PB, 2010. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

A busca por uma alimentação saudável composta por verduras consumidas "in natura" acaba expondo a população ao risco de contrair infecções por bactérias e enteroparasitas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade bacteriológica e parasitológica de alface crespa tradicional (*Lactuca sativa*), comercializada em supermercados e mercados públicos de João Pessoa-PB, comparando a qualidade das que são comercializadas em supermercados com as de mercados públicos. Nesta pesquisa 40 pés de alface, dos quais 20 provenientes de 4 supermercados e 20 de 4 mercados públicos foram submetidos a duas lavagens com água estéril, e submetidos a análise bacteriológica e parasitológica. As análises mostraram que em todas as amostras havia coliformes totais sem, no entanto haver *Salmonella*, que 30% apresentaram coliformes termotolerantes acima de $2x10^2$ NMP/g, e que os enteroparasitas estiveram presentes em 85% das hortaliças estudadas, entre os quais *Strongyloides* spp., *Giardia spp., E. histolytica / E. díspar*. Nos mercados públicos foram verificados níveis mais elevados de contaminação bacteriana do que nos supermercados ($p > 0,05$), porém estes dois estabelecimentos não demonstraram diferença significativa quanto à contaminação por enteroparasitas. Devido à elevada contaminação observada, torna-se necessário o estabelecimento de leis que limitem a presença de contaminantes para que desta forma a alface crespa não sirva como veículo disseminador de doença por bactérias e enteroparasitas.



**Palavras-chave:** Alface, Contaminação, Bactérias, Parasitas.

## ABSTRACT

**PEREIRA, J. A.** Assessment of contamination of lettuce (*Lactuca sativa*) curly variety of bacteria and intestinal parasites. João Pessoa-PB, 2010. 77f. Dissertation (Master of Science and Food Technology), Federal University of Paraiba.

The search for a healthy diet consisting of vegetables consumed "in natura" just exposing the population to the risk of infections by bacteria and intestinal parasites. This study aimed to assess the bacteriological and parasitological of lettuce (*Lactuca sativa)* commercialized in supermarkets and public markets in João Pessoa-PB, comparing the quality of which are sold in supermarkets with the public markets. In this study 40 heads of lettuce, including 20 from four supermarkets and 20 from four public markets were submitted to two washes with sterile water, and subjected to bacteriological and parasitological analysis. Analyses showed that all samples had total coliforms but did not have *Salmonella* that 30% had fecal coliform above $1x10^2$ MPN/g, and that intestinal parasites were present in 85% of vegetables, including *Strongyloides* spp., *Giardia* spp., *E. histolytica / E. dispar*. In public markets were found higher levels of bacterial contamination than the supermarkets ($p > 0,05$), but these two establishments showed no significant difference in the contamination with intestinal parasites. Due high contamination observed becomes necessary to establish laws limiting the presence of these contaminants so that the lettuce does not serve as a vehicle disseminator of disease by bacteria and intestinal parasites.



**Key-words:** Lettuce, Contamination, Bacterias, Parasites.

## LISTA DE FIGURAS

**FIGURA 1 –** Distribuição do consumo da alface nas diferentes regiões brasileiras.....25

**FIGURA 2 –** Fluxograma do preparo das amostras.....42

**FIGURA 3 –** Técnica para determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes .....44

**FIGURA 4 –** Técnica para pesquisa de *Salmonella*.....46

**FIGURA 5 –** Provas Bioquímicas (**A**) - Colônias com perfil típico de *Salmonella* em ágar TSI. (**B**) - Tubo com colônia produtora de urease (róseo) ao lado de tubo não inoculado (amarelo).....54

**FIGURA 6 –** Percentual de amostras contaminadas que são comercializadas em supermercados (**A**) e mercados públicos (**B**).....56

**FIGURA 7** – Frequência dos enteroparasitas em amostras de alfaces contaminadas (n= 34) comercializadas em supermercados e mercados públicos do município de João Pessoa, PB no período de setembro a dezembro de 2009.....58

## LISTA DE QUADROS

**QUADRO 1 –** Consumo diário de hortaliças em gramas por pessoa nos respectivos países.....21

**QUADRO 2 –** Níveis aceitáveis de microrganismos em amostras indicativas de hortaliças, legumes e similares "*in natura*" e inteiros, RDC n° 12/01 ANVISA.....28

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1 -** Comparação do NMP médio de coliformes das alfaces crespa comercializadas nos diferentes supermercados.....51

**TABELA 2 -** Comparação do NMP médio de coliformes das alfaces crespa comercializadas nos diferentes mercados públicos.....52

**TABELA 3 -** Disposição da contaminação nas alfaces comercializadas.....57

**TABELA 4 -** Resultado das análises microbiológicas e parasitológicas de cada amostra dos supermercados.....74

**TABELA 5 -** Resultado das análises microbiológicas e parasitológicas de cada amostra dos mercados públicos.....76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| AOAC | *Association of Official Analytical Chemists* |
| APHA | *American Public Health Association* |
| CDC | *Centers of Disease Control and Prevention* |
| CLST | Caldo Lauril Sulfato Triptose |
| CEAGESP | Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo |
| CNPH | Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos |
| CONAMA | Conselho Nacional do Meio Ambiente |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária |
| EC | *Escherichia coli* |
| FAO | *Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação* |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| KCN | Cianeto de Potássio |
| LIA | Lisina Ágar |
| LST | Lauril Sulfato Triptose |
| NMP | Número Mais Provável |
| NMP/g | Número Mais Provável por grama |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PIB | Produto Interno Bruto |
| POF | Pesquisa de Orçamento Familiar |
| RV | Rappaport - Vassiliadis |
| SEMA | Secretária do Meio Ambiente |
| SSSP | Secretaria de Saúde de São Paulo |

| | |
|---|---|
| SC | Selenito Cistina |
| SS | *Salmonella - Shigella* |
| TCMMF | Technical Committee on Microbiological Methods for Foods |
| TGB | Tetretionato Verde Brilhante |
| TSI | Tripli Iron Sugar |
| UFPB | Universidade Federal da Paraiba |
| VB | Verde Brilhante |

**SUMÁRIO**

**1. INTRODUÇÃO** ..... 18

**2. OBJETIVOS** ..... 20

**2.1 Objetivo geral** ..... 20

**2.2 Objetivos específicos** ..... 20

**3. REFERENCIAL TEÓRICO** ..... 21

**3.1 Hortaliças** ..... 21

**3.2 Alface** ..... 22

3.2.1 Considerações e cultivo ..... 22

3.2.2 Produção e comercialização ..... 23

3.2.3 Consumo ..... 24

3.2.4 Importância na alimentação e valor nutricional ..... 25

**3.3 Contaminação por bactérias** ..... 26

**3.4 Contaminação por helmintos e protozoários** ..... 32

3.4.1 Sub- reino Helminto ..... 34

3.4.2 Sub-reino Protozoa ..... 37

**4. MATERIAL E MÉTODOS** ..... 40

**4.1 Local de trabalho** ..... 40

**4.2 Coleta das amostras** ..... 40

**4.3 Preparo das amostras** ..... 41

**4.4 Análises bacteriológicas** ..... 43

4.4.1 Determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes ..... 43

4.4.2.2 Pesquisa de *Salmonella* ..... 45

**4.5 Análises parasitológicas** ..... 47

**4.6 Análise estatística** ..... 47

**5. RESULTADOS E DISCUSSÕES** ..... 48

**5.1 Análises bacteriológicas** ..... 48

**5.2 Análises parasitológicas** ..... 55

**6. CONCLUSÕES** ..... 63

**REFERÊNCIAS** ..... 64

**APÊNDICE A** ..... 73

# 1. INTRODUÇÃO

Entre as diversas medidas sugeridas como necessárias à busca de uma alimentação saudável, se destaca o incentivo ao consumo de frutas e hortaliças (Organização Mundial de Saúde, 2008).

Dentre as hortaliças folhosas, a mais consumida no Brasil é a alface, respondendo por cerca de 50% do volume comercializado em algumas centrais de distribuição, sendo a variedade crespa responsável por 40% deste total (EMBRAPA, 2006). Essa hortaliça era comercializada principalmente em feiras livres, no entanto, devido às mudanças de hábitos da população em relação ao local de compra, os supermercados e sacolões vêm ganhando preferência (MACHADO, 2002).

A alface pode ser cultivada pelos métodos convencional, hidropônico ou orgânico (MIYAZAWA; KHATOUNIAN; ODENATH-PENHA, 2001), sendo o cultivo direto no solo (método convencional) o mais utilizado. Nesse sistema de cultivo, o vegetal fica mais exposto a problemas de contaminação por microrganismos, o que acaba tornando-se um fator limitante para a sua comercialização.

Condições sanitárias precárias nas áreas rurais e urbanas favorecem a transmissão de patógenos, que se dá especialmente por meio da água de irrigação e do adubo utilizado na fertilização. Ambos podendo estar contaminados por dejetos fecais de animais e dos homens.

Importante fonte de sais minerais (especialmente cálcio) e vitaminas (principalmente vitamina A) (EMBRAPA, 2009), a alface pode ser consumida em sopas, sucos e principalmente *in natura*, na forma de saladas. Essa última forma de consumo é citada como uma das principais causas do aumento das doenças transmitidas por alimentos (*Centers for Disease Control and Prevention* – CDC, 2004). Desta forma, a alface acaba servindo de via de transmissão de infecção por helmintos, protozoários e bactérias (SLIFKO; SMITH; ROSE, 2000), o que pode ser demonstrado pela realização de diagnóstico laboratorial dos microrganismos.

Esse diagnóstico laboratorial é de grande importância para a saúde pública, uma vez que fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas no transporte, produção, manipulação e armazenamento do vegetal (SILVA; OLIVEIRA; STAMFORD, 2002).

Estudos realizados em diversas regiões do país indicaram problemas de qualidade microbiológica da alface comercializada, estando a maior parte contaminada por coliformes e enteroparasitas (GUIMARÃES et. al., 2003; TAKAYANAGUI et al., 2001). Mesmo assim,

muito precisa ser feito, pois em algumas localidades a qualidade das hortaliças consumidas ainda é desconhecida.

Devido ao alto consumo de alface crespa e ao risco microbiológico associado a esta, além da inexistência de dados locais que mensurem sua qualidade, o presente estudo se propõe a avaliar sua contaminação por coliformes, *Salmonella* e enteroparasitas, de modo a disponibilizar um perfil para a cidade de João Pessoa dos contaminantes presentes na referida hortaliça.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade bacteriológica e parasitológica da alface crespa (*Lactuca sativa*), comercializada em supermercados e mercados públicos de João Pessoa-PB.

## 2.2 Objetivos específicos

- Determinar contaminação por bactérias, helmintos e protozoários nas alfaces, coletadas em mercados públicos e supermercados locais;
- Verificar se as amostras atendem aos padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução RDC nº 12 de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA);
- Comparar entre si as amostras dos diversos supermercados, assim como as obtidas nos diversos mercados públicos, quanto à contaminação microbiológica;
- Comparar os resultados obtidos nas análises microbiológicas das amostras obtidas nos supermercados com as dos mercados públicos.

# 3. REFERENCIAL TEÓRICO

## 3.1 Hortaliças

As hortaliças são vegetais utilizados na alimentação humana desde antes de Cristo devido ao sabor que conferem, quando consumidas cruas ou incorporadas a outros alimentos. Como são uma fonte de minerais, vitaminas e fibras, devem ser consumidas diariamente (OLIVEIRA; MARCHINI, 1998).

Segundo Rosa, Martins e Folly (2005) a preocupação da população com a saúde e o interesse em se ter uma vida saudável tem levado ao aumento do consumo de hortaliças, principalmente com o atual aumento da obesidade no mundo inteiro.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, legumes e verduras. Embora o cultivo de hortaliças seja pouco desenvolvido, este mercado possui uma perspectiva de crescimento muito mais favorável que os de grãos (MACHADO, 2002).

Em 1993, o consumo médio diário de hortaliças no país foi de 52 gramas por pessoa, valor consideravelmente baixo quando comparado a outros países (QUADRO 1).

| **País** | **Consumo de hortaliça** |
|---|---|
| Itália | 432 |
| Estados Unidos | 270 |
| Israel | 200 |
| Argentina | 100 |
| Brasil | 52 |

**Quadro 1:** Consumo diário de hortaliças em gramas por pessoa nos respectivos países.

**Fonte:** Groppo e T. Neto (1993)

As regiões do Brasil que apresentam maior consumo de hortaliças são a Sul e Sudeste, tendo consumo médio de 60%. Esse valor não se deve apenas a maior densidade demográfica, mas também a uma melhor renda *per capita* (IBGE, 2003).

## 3.2 Alface

### 3.2.1 Considerações e cultivo

A alface é uma hortaliça folhosa pertencente à família *Asteraceae* conhecida desde 500 anos antes de Cristo. Originária da Europa e Ásia foi trazida para o Brasil pelos portugueses. Botanicamente esta hortaliça caracteriza-se por ser uma planta herbácea, apresentando caule curto, não ramificado, ao qual se prendem as folhas. Tem formato variado, sendo as do tipo "repolhudo" as mais consumidas no Brasil. A coloração das folhas varia de verde escuro a verde amarelado, existindo atualmente também com folhas roxas. As raízes são do tipo pivoltante, com ramificações finas e curtas, não ultrapassando os 25 cm de solo (EMBRAPA, 2009).

Um pé de alface totalmente desenvolvido em dias quentes e longos emite uma haste floral, tendo inflorescência ramificada com grande número de flores perfeitas, sendo autofecundadas. Sementes nuas são pequenas, 3 mm de comprimento e 0,9 mm de largura. Um grama contém 800 a l000 sementes. As sementes passam por um estado de dormência após a colheita e se quebra com frio úmido (4° C em 4 a 6 dias), podendo ser semeada após secagem.

Por ser originária de clima temperado, a alface tem um bom desenvolvimento na fase vegetativa em condições de clima mais ameno resistindo até as geadas leves, entretanto a fase reprodutiva inicia-se em temperaturas mais elevadas e em dias longos com o pendoamento (EMBRAPA, 2007). Vale ressaltar que o cultivo em temperaturas inferiores a 10° C e precipitações pluviométricas prolongadas retardam o crescimento e danificam as plantas (ESTEFANEL; BURIOL; SACCOL, 1978). Por sua vez o cultivo em temperaturas superior a 25° C reduz a fase vegetativa promovendo o pendoamento precoce (EMBRAPA, 2007). As temperaturas de ar mais favoráveis ao crescimento e produção de alface situam-se entre 15 e 24° C, sendo a mínima de 7°C (KNOTT, 1962).

De acordo com o Programa Horti & Fruiti Padrão da Secretária de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a alface é classificada nas seguintes variedades: americana, lisa mimosa, crespa e romana. Segundo a Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo - CEAGESP dentre estas a mais consumida é a crespa, em média 64% (CARVALHO, 2008).

O cultivo desta hortaliça vem sendo praticado de forma convencional, hidropônica ou orgânica, diferentes métodos, que por sua vez podem influenciar nas propriedades da alface (MIYAZAWA; KHATOUNIAN; ODENATH - PENHA, 2001). O método convencional (conhecido como tradicional) se caracteriza pelo cultivo da alface no solo, com uso de agrotóxicos e com uma fertilização que pode ser química. A irrigação deste cultivo costuma ser por dispersão ou por gotejamento.

No Brasil o cultivo da alface é normalmente realizado em pequenas áreas e por produtores familiares (COSTA; SALA, 2005). No estado de São Paulo cultivares de inverno e de verão são explorados durante o ano todo com inúmeros sistemas de produção, sendo alguns mecanizados, mas a maioria medianamente ou pouco mecanizada, fazendo com que a produtividade decresça no período de verão, devido ao excesso de chuvas e de calor, faltando produto e elevando os preços no mercado interno (MAGGI et al., 2006).

O aprimoramento de técnicas de cultivo de hortaliças, em ambiente protegido, com a finalidade de anular ou minimizar os efeitos adversos do clima (geadas, vento e granizo) tornou possível a exploração da cultura de alface em épocas pouco comuns de cultivo, possibilitando a obtenção na entre safra e a oferta de um produto de melhor qualidade, consequentemente de preço mais elevado (SGANZELAR, 1990).

A colheita da alface ocorre entre 50 e 90 dias após a semeadura, quando as folhas ainda são tenras, sem início de florescimento (após este período o produto fica imprestável ao consumo devido ao sabor amargo conferido pelo alto teor de látex). Na colheita, realizada no final da tarde, o corte da planta deve ser feito rente ao solo, em seguida as raízes e folhas velhas e danificadas são eliminadas, procedendo então a lavagem, descartando as plantas com peso menor que 100 g (SGANZELAR, 1990).

### 3.2.2 Produção e comercialização

De acordo com dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO (2006), a produção mundial de alface em 2004 foi em torno de 22 milhões de toneladas, distribuídas por uma superfície de 1 milhão de hectares. A China foi o maior produtor com cerca de 10,5 milhões de toneladas anuais, o que representou aproximadamente 48% de toda a produção do globo terrestre, seguido dos Estados Unidos com 23%, Europa com 15%

(destacando-se a Espanha e Itália como principais produtores) e América do Sul com apenas 1%.

O Brasil possui aproximadamente 35000 hectares plantados com alface, caracterizados pela produção intensiva, pelo cultivo em pequenas áreas e por produtores familiares, gerando cerca de cinco empregos diretos por hectare (COSTA; SALA, 2005). Todos os estados do país produzem alface, porém os maiores produtores são os estados de São Paulo e Minas Gerais, só o estado de São Paulo em 2006 plantou 6570 ha, produzindo 1.290.077 toneladas de alface (IEA, 2007 apud CARVALHO, 2008). Por sua vez metade da produção de hortaliças em São Paulo destina-se exclusivamente ao seu mercado interno.

De acordo com o Instituto de Economia Agrícola (2007) apud Carvalho (2008), o valor da produção agrícola da alface em 2005 foi de R$ 33.388.035,15 milhões, o que representa uma média de 1,7% sobre o PIB do Brasil em 2005 e 8,3% sobre o PIB da agricultura. Apesar de estes valores significarem pequena participação quando comparados com o valor da produção de outras culturas, a atividade apresenta-se como uma opção interessante de mercado para pequenos produtores (CARVALHO, 2008). No entanto, devido à alta perecibilidade 19% da alface são perdidas no embalamento inadequado, 17% no transporte, 10% no manuseio (CEAGESP, 2009).

Toda produção é comercializada a população por meio de feiras livres, mercado públicos, sacolões, mercadinhos e supermercados. De início a comercialização de hortaliças era preponderante em feiras-livres, porém com a participação do comércio varejista moderno nas vendas de produtos frescos, as venda em feiras livres tiveram um certo declínio. O que a princípio a comercialização de hortaliças pelos supermercados era apenas uma forma de atrair o consumidor acabou resultando numa mudança do hábito das pessoas onde comprar suas verduras, frutas e legumes (MACHADO, 2002).

### 3.2.3 Consumo

Dentre as hortaliças folhosas a alface é a mais consumida no Brasil. Na Figura 1 esta representado o consumo da alface em diversas regiões do país (IBGE, 2003).

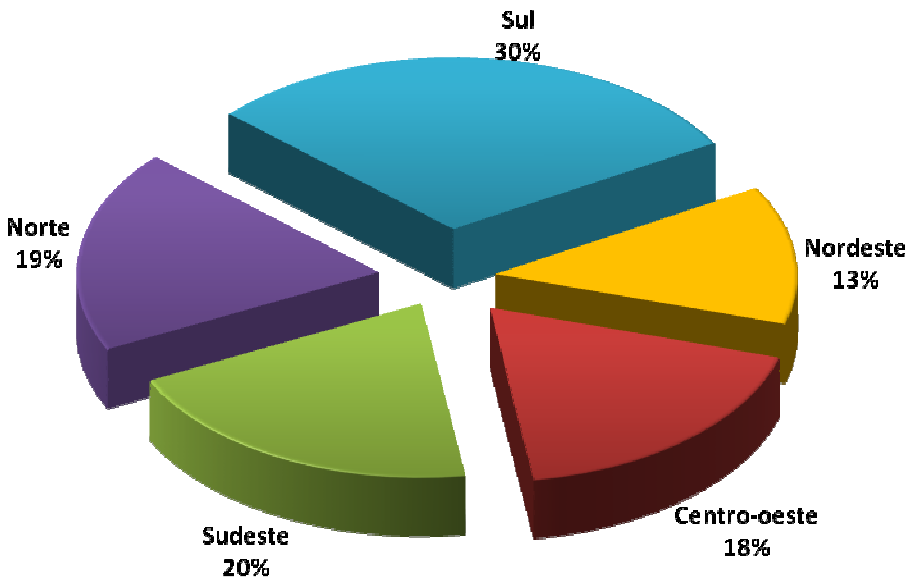


**Figura 1:** Distribuição do consumo da alface nas diferentes regiões brasileiras

**Fonte:** Pesquisa de Orçamento Familiar (POF)-IBGE/2002-2003.

Segundo Carlos et al. (2008) a quantidade de alface consumida diariamente é de apenas 3 a 4 folhas (30 g), quantidade inferior ao preconizado pelo Guia alimentar para população brasileira, elaborado pelo Ministério da Saúde, que é de 15 folhas (120 g) diárias.

### 3.2.4 Importância na alimentação e valor nutricional

A alface é rica em diferentes nutrientes, os quais proporcionam inúmeros benefícios à saúde humana. De acordo com Franco (2007) a alface (*Lactuca sativa*) da variedade crespa apresenta a seguinte composição centesimal para 100g: proteínas (1,20 g), lipídeos (0,25 g), glicídios (2,30 g), cálcio (38 mg), fósforo (42 mg), ferro (1,10 mg), retinol (21 mcg), tiamina (87 mcg), riboflavina (187 mcg), niacina (0,324 mg) e ácido ascórbico (10 mg), tudo isto com apenas 16 calorias. Ressaltando que as folhas externas da alface (de cor verde mais escura) são mais ricas em vitamina A (EMBRAPA, 2009).

Devido a este baixo valor calórico, a alface qualifica-se para diversas dietas, o que favorece grandemente o seu consumo de uma maneira geral, constituindo-se um componente imprescindível das saladas dos brasileiros (FERNANDES et al., 2002). Tradicionalmente é

consumida "*in natura*" em saladas cruas, guarnições e entradas, e cozida em sopas, guisados e molhos cujo valor nutricional é expresso na riqueza de açucares solúvel, sais minerais, vitaminas A e C (MENEZES; FERNANDES; SABAA-SRUR, 2005).

Na forma de suco, a alface é normalmente utilizada para combater a insônia, possuindo propriedades diurética, depurativa, calmante, eupéptica, mineralizante, vitaminizante, desintoxicante, além de contribuir no combate às palpitações do coração, a prisão de ventre (GOTO et al., 1997) e outras desordens intestinais, devido a seu alto teor de fibras (celulose) (OLIVEIRA; MARCHINI, 1998). Conforme Aguilar (2002) uma dieta voltada para o consumo de legumes e verduras, entre elas a alface, possui efeito protetor no que diz respeito ao risco de se desenvolver um câncer bucal.

### 3.3 Contaminação por bactérias

Todas as plantas verdes possuem uma microbiota residente, a qual subsiste com traços de carboidratos, proteínas e sais inorgânicos que estão dissolvidos na água de exudação, ou condensados na epiderme do vegetal (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001b).

Esta microbiota residente é formada por fungos e bactérias, porém devido o pH neutro dos vegetais ocorre nestes uma seleção por bactérias, as quais crescem mais rapidamente que bolores e leveduras (desta forma nos vegetais normalmente existem vários microrganismos exceto os fungos). Entre as bactérias que normalmente compõe esta microflora estão as Gram-negativas, em geral *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans* e várias espécies de Pseudomonas. Em produtos que crescem próximo ao solo como a alface (*Lactuca sativa*) crespa pode existir também bactérias Gram-positivas como *Bacillus* e bactérias corineiformes (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001b).

A população de microrganismos em produtos frescos como a alface (*Lactuca sativa*) pode variar drasticamente, fatores como o vento, chuva, animais e insetos são responsáveis por esta variabilidade, mas em geral esta população é de $10^4$ (BRACKETT, 1988). Um fato a ser considerado também é a distribuição não uniforme desta população sobre o vegetal. Maxcy (1978) isolou uma quantidade superior a $10^4$ bactérias aeróbicas mesofílicas nas folhas externas da alface, mas encontrou aproximadamente 32 UFC/g nas folhas mais internas.

As hortaliças recém colhidas iniciam o processo de senescência, criando uma maior susceptibilidade para a deterioração microbiana (HAO; BRACKETT, 1994), além do que a população microbiana aumenta drasticamente durante a estocagem. A bactéria de maior interesse na deterioração de verduras é a *Erwinia caratovora*, a qual é responsável pelo amolecimento e podridão, por sua vez *Pseudomonas, Bacillus* e *Clostridium* e em geral, as Gram-negativas estão envolvidas na deterioração das hortaliças. Entretanto, há muitos casos em que existe grande população microbiana no vegetal e não há deterioração (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001b).

A contaminação das hortaliças por microrganismos patogênicos ao homem pode ocorrer por meio da irrigação com água contaminada ou exposição a inundações, uso de esterco como fertilizantes, contato com o homem, os animais, colheitadeiras e recipientes, equipamento de transporte, insetos e por causa das precárias condições sanitárias na etapa de lavagem destes vegetais (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001b).

A resolução n° 20/86 do Conselho nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 1998) estabelece que para a irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de plantas frutíferas que se desenvolvem rente ao solo, as águas não devem ser poluídas com excrementos humanos.

Uma das formas de avaliar a contaminação do alimento é verificando a presença de coliformes totais e termotolerantes (GELDREICH; BORDNER, 1971). A Resolução RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), atual legislação nacional que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano, determina que para amostras indicativas de alface fresca "*in natura*", inteira, preparada, sanificada, refrigerada ou congelada para o consumo direto (exceto cogumelo) deve ser realizada apenas a pesquisa de *Salmonella* (que deve estar ausente em 25 g da amostra). Não mais estabelecendo para amostras inteiras uma tolerância máxima para coliformes a termotolerantes (QUADRO 2).

Segundo Amoah et al. (2006) a Comissão Internacional em Especificações Microbiológicas para Alimentos recomenda um nível máximo de $1x10^3$ coliformes termotolerantes/g de vegetal fresco. As legislações nacionais anteriores a RDC n° 12/2001, a exemplo da Resolução CNNPA n° 12/ 1978 e a RDC 451/1997, eram mais rigorosas e estabeleciam um limite máximo de coliformes termotolerantes de $2x10^2$ NMP/g, além da ausência de *Salmonella* em 25g da hortaliça.

| GRUPO DE ALIMENTOS | MICRORGANISMO | TOLERÂNCIA PARA AMOSTRA INDICATIVA |
|---|---|---|
| Hortaliças, legumes e similares: frescas, "in natura", inteiras, selecionadas ou não, com exceção cogumelo | Coliformes a 45° C/g | --------- |
| | Salmonella sp/25 g | Ausente |

**Quadro 2:** Níveis aceitáveis de microrganismos em amostras indicativas de hortaliças, legumes e similares "*in natura*" e inteiros, RDC n° 12/01 ANVISA.

**Fonte:** Brasil (2001).

O estabelecimento de um limite máximo de coliformes termotolerantes por grama de hortaliça diminui a probabilidade de uma alface que contenha patógenos entéricos em um número equivalente a dose infectante chegue ao consumidor, porém é necessário que se faça a busca de outras espécies ou grupos bacterianos em hortaliças. Segundo Maxcy (1978) além da *Salmonella typhimurium* e de bactérias indicadoras como a *Escherichia coli* (coliforme termotolerante), o *Staphylococcus aureus* também tem potencial para crescer em alface conservada em temperatura ambiente, chegando a sobreviver às condições de estocagem e preparo das verduras, podendo então causar doenças.

Outros patógenos como o *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* (IBENYASSINE et al., 2007) e a *Listeria Monocytogenes* (LONCAREVIC; JOHANNESSEN; RORVIK, 2005), os quais causam vários problemas a saúde do homem, também já foram isolados em alfaces.

Segundo Markova, Romanenko e Dukhanina (2005) o problema causado por bactérias presentes em vegetais não se restringe apenas as espécies conhecidas como patogênicas ao homem. Em seus estudos vários membros da família *Enterobacteriaceae* foram isolados tanto em plantas selvagens (dente-de-leão) quanto das cultivadas (tomate e batata) e embora nenhuma das espécies bacterianas isoladas fossem patógenos conhecidos, muitos foram resistentes a múltiplos antibióticos e capazes de aderir aos eritrócitos (células vermelhas do sangue) humano. Desta forma, estas bactérias representam um sério risco aos pacientes com defesa imunológica baixa e/ou que fazem uso de antiinflamatórios esteroidais (corticóides).

O risco de contrair uma infecção bacteriana quando se consome hortaliças é expressivo, pois ao contrário dos produtos de origem animal, os vegetais, especialmente os folhosos, são muitas vezes consumidos crus, sem um processamento que reduza ou elimine

microrganismos patogênicos. Além do mais, existe uma tendência de ocorrer um aumento da contaminação entre a horta e o consumidor, devido o manuseio e as condições de transporte, armazenamento e distribuição (BONILHA, 1992).

Pesquisas mostram que uma simples desinfecção com acido acético nem sempre elimina todos os coliformes presentes na superfície das folhas de alface, especialmente se a carga microbiana for elevada. Entretanto o perigo causado pelas bactérias não se limita apenas as espécies presentes na superfície das hortaliças, estudos mostram que patógenos entéricos são capazes de colonizar endofiticamente (interior dos tecidos) as plantas, o que acaba protegendo os durante a desinfecção (BERNSTEIN et al., 2007).

Vários patógenos humanos tem se demonstrado capazes de colonizar o interior das plantas, desde as raízes e folhas até os frutos. Esta colonização faz parte do ciclo ambiental das bactérias, ciclo no qual as plantas servem de hospedeiros alternativos para a sua sobrevivência e como veículo para recolonizar hospede animais após serem ingeridos.

No ciclo ambiental, as bactérias eliminadas no solo juntamente com as fezes de animais e do homem terão que chegar as plantas para sobreviverem, para isto contam com a ajuda dos nematóides do solo, *Caenorhabditis elegans*, ou da água de irrigação ou do escoamento da pastagem de gado (KENNEY et al., 2006). Após o contato com a superfície do vegetal ocorre a internalização, processo ainda não totalmente esclarecido que ocorre mais rápido nas raízes danificadas. Uma vez penetrado nas raízes estes microrganismos poderão ser encontrados na partes aéreas da planta após cerca de 48 horas, estando assim mais fáceis de serem ingeridos e infectarem o homem e os animais (BERNSTEIN et al., 2007).

Entre os patógenos capazes de realizar este ciclo estão a *Escherichia coli*, *Listeria Monocytogenes, Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e a *Salmonella* sp., entretanto nem todos os sorotipos de *Salmonella* são capazes de colonizar endofiticamente as plantas (KLERKS et al., 2007). Com base nesta informação torna-se ainda maior o risco de se contrair uma toxinfecção por estas e outras bactérias ao se ingerir vegetais.

No Brasil a falta de dados sobre toxinfecções relacionadas a produtos frescos ainda é grande e pode ser justificada pela vida curta de prateleira, pela dificuldade de contra-prova, pelo grande número de fornecedores diferentes e pela grande distribuição de produtos frescos em curto espaço de tempo, dificultando a rastreabilidade de agentes patogênicos. Apesar de não serem registradas, essas doenças não devem ser negligenciadas (BRUGALLI; PINTO; TONDO, 2000).

### 3.3.1 Coliformes

Os coliformes totais é um grupo formado por bactérias originárias do trato gastrointestinal humano e de outros animais de sangue quente e por bactérias não entéricas que se caracterizam por compartilharem algumas características como as de serem bastonetes Gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos e fermentadoros de lactose com produção de gás em 24 a 48 horas a 35° C (SILVA et al., 1997).

Os coliformes termotolerantes, também chamados de coliformes a 45°C ou coliformes fecais, é um subgrupo dos coliformes totais, logo são bastonetes Gram negativos, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, porém têm a capacidade de produzir ácido e gás em caldo de *Escherichia coli* (Caldo EC) em temperaturas usualmente de 44,5 a 45,5°C. Este grupo inclui pelo menos três gêneros *Escherichia, Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo este dois últimos de origem não fecal.

A *Escherichia coli* tem como habitat o trato gastrintestinal, a partir do qual é eliminado nas fezes, por isso é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento, em especial para hortaliças cruas. A presença desta bactéria em alimentos também é um indicativo de que outros microrganismos de origem entérica podem estar presentes. Fermentadora de lactose e produtora de indol a *Escherichia coli* é a bactéria mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos demais microrganismos não fecais (SILVA et al., 1997). A presença dos demais membros da família *Enterobacteriaceae* não deve estar associada à contaminação fecal (SORIANO, 2001).

Mesmo possuindo sorotipos que habitam de forma comensal o intestino a *Escherichia coli* não deve ser esquecida como uma espécie bacteriana que apresenta vários sorogrupos patogênicos ao homem, entre estes a Enterohemorrágica, Enteroinvasora, Enteropatogênica, Enterotoxigênica e Enteroinvasora. Surtos de infecções ocasionados por *Escherichia coli* O157:H7 tem sido associado ao consumo de vegetais crus como alface (ABDUL-RAOUF; BEUCHAT; AMMAR, 1993).

3.3.2 *Salmonella* sp.

A *Salmonella* é um dos principais patógenos entéricos que causam sérios danos à saúde do homem, sendo esta amplamente encontrada na natureza, entretanto normalmente vive no trato gastrointestinal de animais domésticos e selvagens, exceto o sorotipo *S.* typhi que é um patógeno que acomete exclusivamente os humanos (SÃO PAULO, 2003).

O gênero *Salmonella* (pertencente à família *Enterobacteriaceae)* é constituído por 2463 sorogrupos (MURRAY et al., 2004) e mais de 2501 sorotipos O (SILVA et al., 2007) (os quais são comumente referidos como espécies individuais da *Salmonella*), porém este gênero possui apenas duas espécies: *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*. A *Salmonella enterica* por sua vez está dividida em seis subespécies (MURRAY et al., 2004; JAY, 2005).

Morfologicamente as bactérias deste gênero se caracterizam como bacilos gram-negativos, fermentadores de glicose, anaeróbios facultativos, oxidase negativo, produtores de gás a partir da glicose (exceto *S.* typhi), produtores de gás sulfídrico ($H_2S$) e geralmente não fermentadores de lactose (JAY, 2005; MURRAY et al., 2004). A maioria é móvel, pela presença de flagelos, exceção feita à *S. pullorum* e a *S. gallinarum* que são imóveis (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

A classificação sorológica do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), flagelares (H) e os capsulares (Vi). Os antígenos H são de natureza protéica. O antígeno O é termorresistente, não é destruído pelo aquecimento a 100° C por 2 horas e os antígenos H e Vi são termolábeis. (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

As salmonelas se multiplicam em temperatura entre 7 e 49,5° C, sendo 37° C a temperatura ótima de desenvolvimento, na qual em 4 horas, o alimento contaminado pode transforma-se em alimento infectante. Abaixo de 7° C para a maioria dos sorotipos não há multiplicação (GERMANO; GERMANO, 2003).

Dados internacionais apontam a *Salmonella* como principal agente de surtos nos EUA. Naquele país, entre os anos de 1993-1997, foram contabilizados 32610 casos, com 13 mortes (ALVES FILHO, 2003).

Os seres humanos, geralmente, contraem a infecção por *Salmonella* paratyphi entérica ao ingerirem produtos de origem animal contaminados. Os alimentos mais associados a surtos de *Salmonella* entérica são aves e ovos, os quais podem ser contaminados na coacla da galinha ou por infecção trasovariana. O risco não está associado a ovos sujos, pois eles

aparentemente limpos podem transmitir a infecção pela *Salmonella* se ingeridos crus ou mal cozidos (CAETANO; SALTINI; PASTERNAK, 2004).

Embora, estes sejam alimentos normalmente implicados em casos de salmonelose as hortaliças têm potencial para transmitir esta infecção, pois uma vez eliminados nas fezes dos homens e dos animais esta bactéria pode contaminar água usada na irrigação e o solo onde são cultivados estes vegetais.

A *S.* typhi e *S.* paratyphi são patógenos humanos estritos (sem reservatório alternativo), logo as infecções causadas por estes sorotipos são transmitidas de pessoa a pessoa, por sua vez comumente ocorre colonização assintomática de longa duração por estes microrganismos (MURRAY et al., 2004).

Os organismos patogênicos apresentam os seguintes tempos de sobrevivência em produtos agrícolas: *Salmonella* spp. 10-53 dias nas raízes, 1-40 dias em folhas vegetais e até dois dias em frutos, A *Shigella* spp. 2-7 dias em folhas e até seis dias em frutos (MELO, 1978).

### 3.4 Contaminação por helmintos e protozoários

Segundo Blaser (1996), Käferstein e Abdussalam, (1999) as doenças veiculadas por alimentos são resultantes predominantemente do ciclo de contaminação fecal/oral, o qual tem o seu controle recebido atenção cada vez maior em todo o mundo. Entre estas doenças destacam-se as parasitoses intestinais, patologias cujas elevadas prevalências e diversidades de manifestações clínicas têm representado um problema de grande importância em Saúde Pública (ROITT; BROSTOFF; MALE 1997).

O Brasil, como um país tropical e com grande desigualdade social, possui clima e situação socioeconômica favorável à ocorrência de doenças parasitárias. As baixas condições sanitárias das áreas rurais e urbanas fazem as parasitoses intestinais sejam amplamente disseminadas, e neste contexto as hortaliças servem como um dos principais veículos de transmissão de enfermidades intestinais (MESQUITA et al., 1999). Dentre as hortaliças destaca-se a alface pelo fato de ser normalmente consumida crua, pela facilidade e quantidade de produção, bem como a possibilidade de contaminação por água e solos poluídos (GARCIA et al., 2004).

A contaminação da alface que chega a mesa dos consumidores por enteroparasitas ocorre devido ao cultivo em solo contaminado por dejetos fecais de humanos e animais, contato da hortaliça com moscas, aves, ratos, forma inadequada de manuseio (ROBERTSON; GJERDE, 2001), armazenamento impróprio, recipientes e equipamentos contaminados (CHITARRA, 2000) e principalmente por meio da irrigação com água contaminada por dejetos fecais (ROBERTSON; GJERDE, 2001).

A Organização Mundial da Saúde – OMS (1989) estabeleceu um limite para ovos de nematóides em águas para irrigação, sem restrições quanto ao vegetal, menor ou igual a 1 ovo/litro (BLUMENTHAL et al., 2004 apud FREITAS et al., 2004). No Brasil a única legislação que estabelecia um limite de parasitas em hortaliças foi revogada, a resolução n° 12 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos-CNNPA, e nenhuma nova lei que institua limites para a presença destes microrganismos em alfaces não embaladas foi criada pela ANVISA ou pelo Ministério da Agricultura.

Estudos feitos em algumas cidades do Brasil mostraram uma elevada contaminação das alfaces comercializadas por enteroparasitas a exemplo de Recife - PE onde 96,9% das alfaces estavam contaminadas por alguma espécie de enteroparasita (ROCHA; MENDES; BARBOSA, 2008), Florianópolis – SC 60% (SOARES; CANTOS, 2006), Campo Mourão – PR 57% (FREITAS et al., 2004), Guarapuava – PR 50% (ONO et al., 2005).

Segundo Ono et al. (2005) esta contaminação da alface (*Lactuca sativa*) por enteroparasitas é mais preponderante em algumas variedades, em sua pesquisa verificou-se que a alface crespa, mesmo com a sua capacidade de reter sujeira, apresentou-se menos contaminada que a variedade lisa.

São várias as estruturas parasitarias que podem estar presentes contaminando a alface entre elas larvas de helmintos como *Strongyloides* spp., ovos de helmintos como *Ancylostomatidae*, *Ascaris* spp., *Taenia* spp., *Trichures trichiura*, *Enterobius vermiculares* e cisto de protozoários como *Giárdia* spp., *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *Endolimax nana*.

Fatores intrínsecos do parasita contribuem para a sua permanência e viabilidade nas hortaliças, consequentemente contribuindo para o desenvolvimento de parasitoses em indivíduos que ingere verduras cruas como a alface, entre estes fatores destacam-se a forte aderência dos ovos de helmintos às hortaliças, como ocorre com os ovos de *Ascaris* spp (COELHO, 2001 apud FREITAS et al., 2004) e a elevada resistência as condições ambientais de algumas estruturas parasitarias. Segundo Melo (1978) os ovos de *Ascaris* spp. resistem até 35 dias em folhas e a *Entamoeba histolytica* - até três dias em folhas.

A seguir serão realizados breves comentários, com base na literatura pertinente, a respeito dos principais parasitas que acometem o homem e que já foram detectadas em alfaces.

### 3.4.1 Sub- reino Helminto

Os helmintos constituem um grupo de animais, incluindo espécies de vida livre e de vida parasitária. Apresentam os parasitos distribuídos nos filos *Platyhelminthes, Nematoda* e *Acanthocephala* (NEVES et al., 2005). Destes apenas dois tem interesse para a medicina humana: os Platelmintos, ou vermes achatados, e Nematelmintos, vermes cilíndricos (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005), os quais possuem espécies capazes de infectar o homem por meio da ingestão de alimentos contaminados.

De acordo com a OMS, de cada quatro habitantes do planeta, um está parasitado por algum tipo de helminto. Dentre estes parasitos, chama a atenção o *Ascaris lumbricóides*, por apresentar elevada freqüência na população pediátrica (MACHADO et al., 1999).

O controle das helmintíases, infecção causado por helmintos, é realizado através da interferência na cadeia epidemiológica em diferentes pontos, empregando-se medidas que visam a promoção de saúde, em particular educação para a saúde, de modo a evitar contaminação do solo; melhoria dos hábitos higiênicos voltados para o manuseio de alimentos, especialmente vegetais, além de implementação de medidas de saneamento básico (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005).

#### 3.4.1.1 *Ascaris lumbricóides*

Helminto citado com freqüência devido à ampla distribuição geográfica e pelos danos que causam ao hospedeiro, o *Ascaris lumbricóides* é encontrado em quase todos os países do mundo e ocorre com freqüência variada em virtude das condições climáticas, ambientais e, principalmente, do grau de desenvolvimento socioeconômico da população (NEVES et al., 2005).

O Brasil está no grupo de países mais infectados por este verme, sendo a infecção detectada em cerca de 39% da população. A prevalência elevada de ascaridíase está associada principalmente a precárias condições sanitárias, constituindo importante indicador do estado de saúde da população (SILVA et al., 1997).

A transmissão do *A. lumbricóides* ocorre por meio da ingestão de ovos, contendo a larva infectante $L_3$, presentes em água ou alimentos contaminados e pelo hábito de levar as mãos e objetos sujos à boca (CRUA, 2003; MOTA et al., 2004; NEVES et al., 2005).

O indivíduo infectado normalmente é assintomático, porém nos casos sintomáticos o hospedeiro pode vir apresentar subnutrição (devido à espoliação de proteínas, vitaminas, carboidratos e lipídios da dieta humana), convulsões epileptiformes, urticárias e irritação intestinal. Em infecções maciças, nas quais este verme pode chegar a ser expelido pela boca, podem ocorrem lesões hepáticas, pulmonares e obstrução de alças intestinais.

#### 3.4.1.2 *Strongyloides stercoralis*

O *S. stercoralis* é outro verme capaz de parasitar o homem, entretanto é o único com duplo ciclo evolutivo, um ciclo de vida livre e outro de vida parasitária. Sua transmissão é por meio da penetração das larvas filarióides ($L_3$) através de pele íntegra ou das mucosas do homem, principalmente na boca e no esôfago, quando deglutidos com alimentos contaminados (COSTA - CRUZ, 2005).

O quadro clínico desenvolvido por este parasita se caracteriza por inflamação no local onde a larva penetra. Durante a sua passagem pelos pulmões ele provoca febre, dispnéia, crises asmatiformes e hemorragia dos alvéolos pulmonares; no intestino: diarréia, vômitos, má absorção alimentar e ulceração. Este parasita ainda pode perfurar e ser alojar no mais diversos órgãos como rins, fígado, cérebro, coração, pâncreas e tireóide, o que pode levar o indivíduo acometido a morte (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

#### 3.4.1.3 *Ancylostomatidae*

Diferentemente dos demais helmintos que foram descritos conforme a espécie patogênica ao homem, esta família possui diferentes gêneros que se assemelha no ciclo

biológico, na morfologia dos ovos, capacidade de infectar o homem e no quadro clínico desta infecção. Os dois principais representantes desta família são: *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*.

A sua transmissão se dá por meio da penetração das larvas filarióides ($L_3$) através de pele íntegra ou das mucosas do homem, principalmente na boca e no esôfago, quando deglutidos com alimentos contaminados (COSTA - CRUZ, 2005).

Os ancilostomídeos possuem uma peculiaridade em relação aos demais helmintos, a de se alimentar de sangue, desta forma na ancilostomose (também conhecida como amarelão) o individuo acometido pode apresentar anemia por deficiência de ferro, outros sintomas desta patologia são: dor no início do estômago, dor abdominal, vômitos, indisposição, indigestão, falta de apetite e diarréia que pode ser sanguinolenta (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

3.4.1.4 *Taenia* spp.

A *Taenia* é um gênero que possui duas importantes espécies que parasitam o homem, *Taenia solium* e a *Taenia saginata*, as quais se diferenciam pelas características morfológicas do verme na fase larval e adulta e quanto ao hospedeiro intermediário utilizado no seu ciclo biológico, sendo o porco usando como hospedeiro intermediário da *Taenia solium* e os bovinos pela *Taenia saginata.*

Este pararasito é capaz de causar duas entidades mórbidas distintas a depender do seu estágio de desenvolvimento, a cisticercose que é provocada pelo estagio larval e a teníase decorrente do verme adulto.

A ingestão de água e alimentos contaminados, a exemplo das hortaliças, com ovos de *Taenia* leva o indivíduo a desenvolver a cisticercose, mais grave patologia ocasionada pelos helmintos até então discutidos. Quando o cisticerco aloja-se no olho o paciente pode ter perda parcial ou total da visão, se no sistema nervoso central poderá ocorrer crises epilépticas, hipertensão intracraniana, dor de cabeça, meningite cisticercótica, distúrbios psíquicos e perda de massa encefálica (morte de neurônios do cérebro) e se no coração, sentem-se palpitações, ruídos anormais ou dispnéia (NEVES et al., 2005).

### 3.4.2 Sub-reino Protozoa

Os protozoários constituem um grande conjunto de organismos unicelulares, que geralmente são microscópicos e possuem forma variada (ovóide, esférico, estrelado). Estes seres embora exibam diferenças marcantes na forma e no tamanho, possuem estruturas fundamentais que são comuns a todo grupo como membrana, citoplasma e núcleo (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005).

Alguns espécimes deste sub-reino apresentam o seu ciclo biológico composto de duas importantes fazes: trofozoítica e cística. Na primeira o protozoário encontra-se na forma vegetativa, o trofozoíto, enquanto na segunda está sob a forma vegetativa, o cisto.

Durante o ciclo biológico os trofozóitos que estão parasitando o homem e os animais se multiplicam e alimentam-se a custa do hospedeiro, porém a partir do momento em que algum fator altera as condições favoráveis no habitat, o trofozoíto secreta uma membrana cística e transforma-se em cisto para resistir as condições adversas do meio ambiente, sendo este eliminado junto com as fezes. Por sua vez quando este cisto for ingerido por algum hospedeiro ele se transformará em alguns trofozoítos (NEVES et al., 2005).

#### 3.4.2.1 *Entamoeba histolytica*

Dentre todas as amebas a única comprovadamente patogênica é a *E. histolytica*. Sua transmissão decorre da ingestão dos cistos presentes em água, alimentos contaminados e nas mãos das pessoas infectadas.

A amebíase, patologia provocada pela *E. histolytica*, é a segunda causa de morte entre as doenças parasitárias no mundo. O seu agente etiológico na forma trofozoítica através da secreção de proteinases é capaz de destruir o tecido hospedeiro, matando as células-alvo por contato e fagocitando eritrócitos. O quadro clínico desta doença caracteriza-se por diarréia, dor abdominal, náuseas e ulcerações na parede intestinal, a partir da qual os trofozoítos invadem outros órgãos como fígado, pulmão, cérebro, rim e pele causando amebíase extra-intestinal, que se caracteriza por formação de abscessos nos órgãos infectados (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

Por ser microscopicamente idêntica a *E. díspar* (espécie não patogênica) esta espécie deve ser denominada de *E. histolytica / E. díspar*. As metodologias empregadas na diferenciação das duas se baseiam na eletroforese das enzimas da via glicolítica, em técnicas imunológicas como ELISA e em técnicas de biologia molecular como a PCR (NEVES et al., 2005).

3.4.2.2 *Entamoeba coli*

A *Entamoeba coli* é um parasito comensal que vive no intestino grosso sem invadir tecidos ou se quer ser patogênica. Esta espécie é frequentemente encontrada no homem nas mais diferentes partes do mundo, sendo mais comum nas regiões com precárias condições sanitárias (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005).

A infecção do homem por este protozoário decorre da ingestão de cistos contidos na água e alimentos contaminados por material fecal (MORAES; LEITE; GOULART, 2008), ou seja, sua presença em alimentos indica contaminação fecal (OLIVEIRA; GERMANO, 1992).

3.4.2.3 *Endolimax nana*

Espécie parasita do homem e de outros animais domésticos, a *Endolimax nana* é muito freqüente em nosso meio (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005). Sendo encontrada em todos os continentes, principalmente em regiões quentes (MORAES; LEITE; GOULART, 2008).

A *E. nana* é uma ameba muito pequena e assim como a *E. coli* não invade tecidos, não é patogênica, vive comensalmente no intestino e é transmitida pela ingestão de água ou alimentos contaminados (NEVES et al., 2005; REY, 2008). A sua importância em alimentos reside no fato de que sua presença indica a ocorrência de contaminação fecal (OLIVEIRA; GERMANO, 1992).

3.4.2.4 *Giardia lamblia*

A *Giardia lamblia* é um parasito cosmopolita que atinge ambos os sexos, sendo mais comum em grupos etários inferiores a 10 anos (CIMERMAN; CIMERMAN, 2005). Entre as características que o diferencia das amebas destaca-se a presença de estruturas de locomoção, flagelos, na forma trofozoíta.

A infecção por este protozoário em humanos normalmente ocorre devido a ingestão de cisto de *G. lamblia* presentes em água ou alimentos contaminados.

Embora seja patogênico, o parasitismo pela *G. lamblia* é em geral assintomático. Entretanto, o quadro clínico da giardíase caracteriza-se por dores abdominais, náuseas e má absorção de lipídeos, nutrientes e vitaminas, o que pode levar o indivíduo acometido a uma subnutrição e perda de peso (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo, alfaces (*Lactuca sativa*) da variedade crespa de cultivo tradicional, comercializadas no município de João Pessoa – Paraíba, foram analisadas quanto a sua contaminação por bactérias (*Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes) e parasitas (helmintos e protozoários).

## 4.1 Local de trabalho

O presente trabalho foi desenvolvido no campus I da UFPB nos laboratórios de Microbiologia de Alimentos do Centro de Tecnologia e de Microbiologia e Parasitologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde.

## 4.2 Coleta das amostras

Amostras de alface tradicional da variedade crespa (*Lactuca sativa*) foram adquiridas mediante compra, entre os meses de setembro e dezembro de 2009, em 4 supermercados de diferentes grupos empresariais (S1, S2, S3, S4) e 4 mercados públicos (M1, M2, M3, M4) de João Pessoa – Paraíba. Quinzenalmente, 1 pé de alface era coletado, aleatoriamente, por ponto comercial, sendo esse procedimento repetido cinco vezes, perfazendo um total de 40 amostras. Nos supermercados, as amostras foram coletadas de modo que não ocorresse o contato direto entre estas e as mãos do operador, enquanto que nos mercados públicos o próprio vendedor embalava manualmente o produto. Todas as amostras foram acondicionadas, individualmente, em sacos estéreis, identificadas e transportadas até o laboratório em sacola térmica com gelo.

No supermercado S1, as alfaces encontravam-se empilhadas, sem embalagem própria, ao lado de outras espécies de hortaliças, sem uma divisória que as separassem, estando todas sob refrigeração em gôndolas. Esse supermercado não era climatizado e dispunha de um funcionário para borrifar água sobre as alfaces, algumas vezes ao dia.

Nos supermercados S2 e S3, os pés de alface estavam acondicionados, de forma individualizada, em embalagens plásticas, ficando expostos ao ar que climatizava todo o supermercado. O supermercado S4 compartilhava as mesmas características dos supermercados S2 e S3, exceto que o mesmo não possuía climatização do ar, ficando as alfaces expostas à temperatura ambiente.

Os diferentes mercados públicos possuíam as mesmas condições de armazenamento e comercialização das alfaces, diferindo somente quanto a algumas características das instalações físicas. Nesses estabelecimentos, as alfaces ficavam empilhadas umas sobre as outras, próximas de outras espécies de hortaliças e expostas a temperatura ambiente, sendo manuseadas e embaladas pelo vendedor, que manuseava o produto e o dinheiro sem a devida higienização das mãos, além de apresentarem condições precárias de higiene pessoal.

Todos os mercados públicos possuíam somente um banheiro para uso de vendedores e consumidores, sendo os mercados M1 e M3 os que apresentavam melhores condições de piso e bancadas, quando comparados aos mercados M2 e M4, que estavam bastante deteriorados.

## 4.3 Preparo das amostras

Primeiramente cada pé de alface foi pesado (APENDICE A) e em seguida submetido a duas lavagens, conforme metodologia descrita por Guimarães et al. (2003), sendo esta modificada somente quanto à substituição de uma solução de detergente neutro por água destilada estéril nas etapas de lavagem (Figura 2).

Na primeira lavagem, 250 mL de água destilada esterilizada foi adicionada a embalagem que continha 1 pé de alface, sendo esta agitado manualmente durante 30 segundos. Posteriormente, fez-se a filtração da água de lavagem em gaze estéril de 8 dobras, que foi recolhida num recipiente estéril.

Para a segunda lavagem, a alface usada anteriormente foi submetida ao desfolhamento, desprezando-se as partes deterioradas, sendo cada folha esfregada com um pincel n° 16 em um refratário estéril de vidro, contendo outros 250 mL de água destilada estéril. Ao final dessa etapa, a água foi filtrada em gaze de 8 dobras e recolhida num segundo recipiente estéril

A etapa seguinte consistiu na transferência de 50 mL das águas da primeira e segunda lavagem para um terceiro recipiente, formando uma alíquota composta de 100 mL a ser usada

na análise bacteriológica. Foram determinados o Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes, além da pesquisa de *Salmonella*.

O restante da água da primeira lavagem foi recolhido num cálice de fundo cônico, sendo o mesmo feito em um segundo cálice com a água da segunda lavagem. Cada cálice foi levado para ser examinado de forma independente nas análises parasitológicas, que consistiram na técnica de sedimentação espontânea e de centrífugo-flutuação.

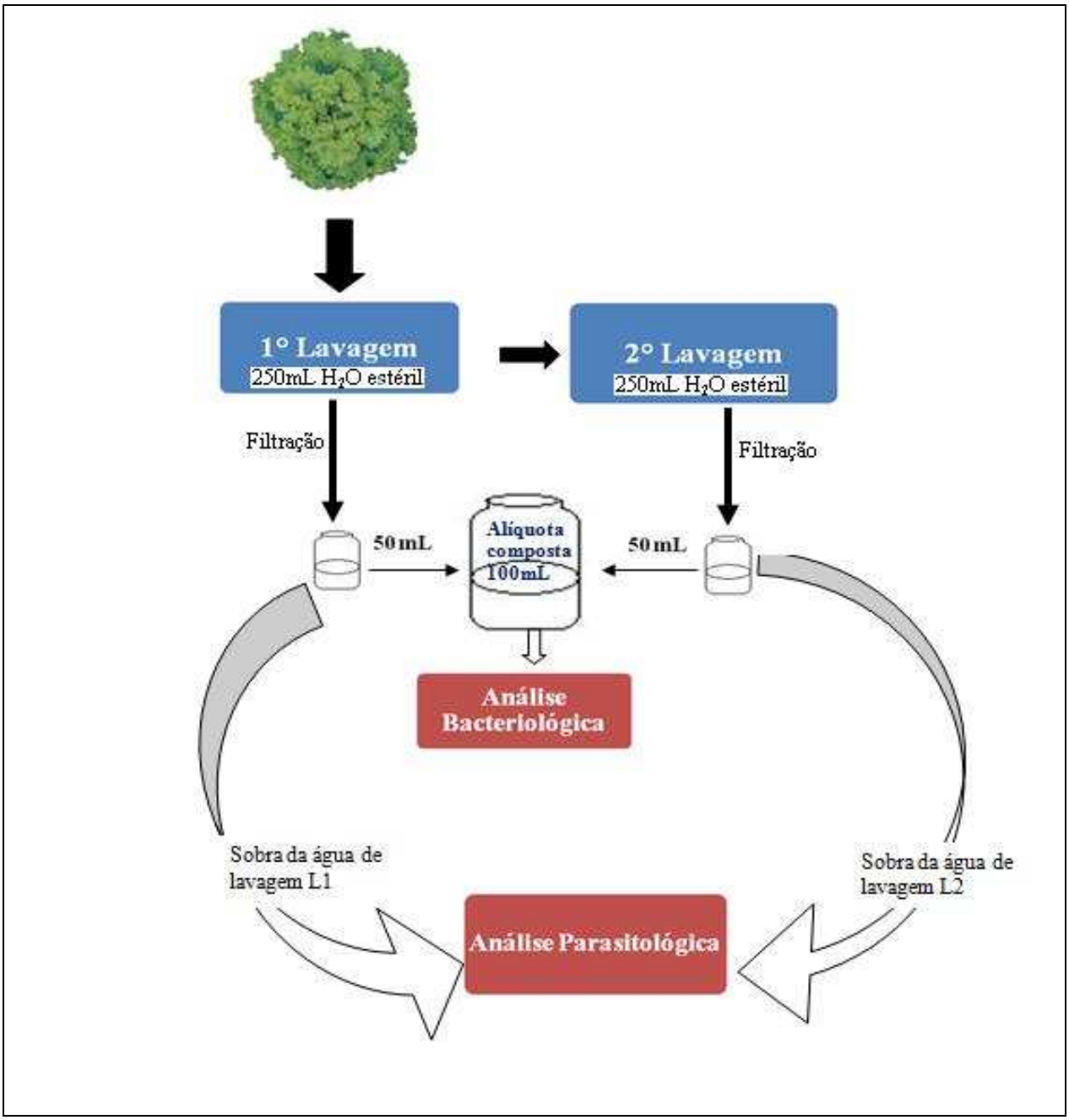


**Figura 2:** Fluxograma do preparo das amostras.

## 4.4 Análises bacteriológicas

### 4.4.1 Determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes

Dos 100 mL coletados a partir das águas da primeira e segunda lavagem da alface, 25 mL foram transferidos para frascos com tampas rosqueáveis, esterilizados, contendo 225 mL de água peptonada 0,1%, sendo posteriormente homogeneizados e diluídos até $10^{-5}$, de acordo com a metodologia recomendada por Vanderzant e Splittstoesser (2001a) (Figura 3).

As três diluições selecionadas ($10^{-3}$, $10^{-4}$ e $10^{-5}$) foram submetidas aos testes presuntivos e confirmativos, utilizando-se uma série de três tubos, por diluição. No teste presuntivo, 10 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) foi utilizado, sendo os tubos incubados a 35 ± 0,5° C, por 24 - 48±2 horas, em estufa bacteriológica. Posteriormente, fez-se o teste confirmativo por transferência de uma alçada dos tubos com produção de gás no caldo LST, para tubos com caldo verde brilhante bile 2% lactose (VB) e caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos com caldo VB foram incubados a 35±0,5° C por 48±2 horas, em estufa bacteriológica, enquanto que os tubos com caldo EC a 45,5±0,2° C por 24±2 horas, em banho termostatizado com circulação contínua da água. Os tubos que apresentaram crescimento com produção de gás no caldo VB foram considerados positivos para coliformes totais, e os do caldo EC, positivos para coliformes termotolerantes. A sequência de tubos positivos de cada diluição foi anotada e o cálculo do NMP de coliformes totais e termotolerantes foram determinados com auxílio da tabela de Hoskins. Posteriormente, o valor de NMP/mL das águas de duas lavagens da alface foi convertido, para NMP/g de alface, tomando como base o peso desse vegetal submetido à primeira lavagem (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001a) (APENDICE A).

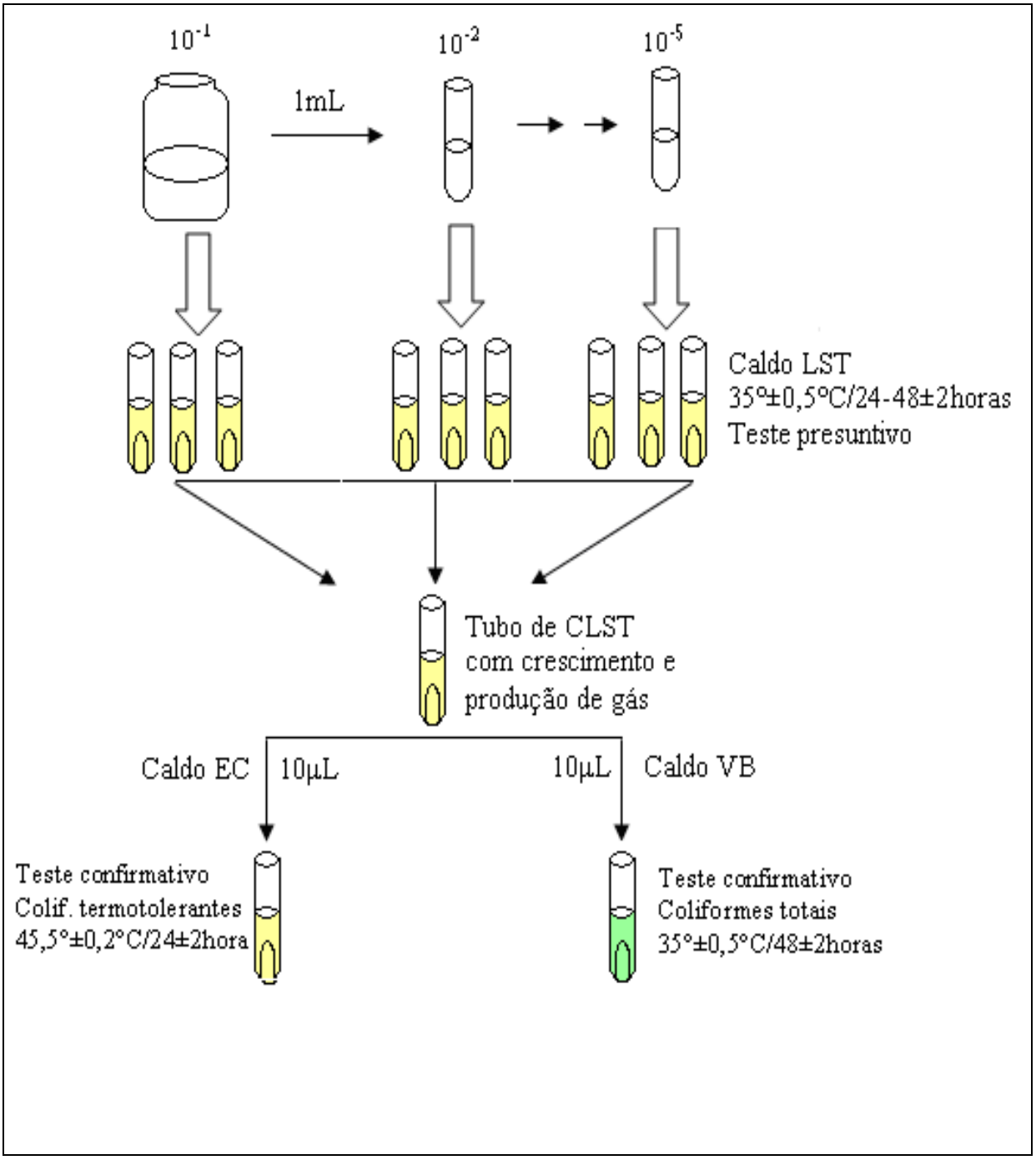


**Figura 3:** Técnica para determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes.

4.4.2.2 Pesquisa de *Salmonella*

Dos 100 mL coletados a partir das águas de primeira e segunda lavagem da alface, 25 mL foram transferidos para um frasco contendo 225 mL de caldo lactosado (pré-enriquecimento), que foi incubado a 35° C durante 24±2 horas. Posteriormente, a partir da amostra pré-enriquecida, foram transferidas alíquotas de 0,1 mL para tubos com 10 mL de caldo Rappaport - Vassiliadis (RV) e 1 mL para tubos contendo 10 mL de caldo Tetratinato Verde Brilhante (TGB), os quais foram incubados a 42 e 43±0,2° C, respectivamente, durante 24±2 horas em banho termostatizado (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001c) (Figura 4).

Para o isolamento de colônias de *Salmonella,* a partir de cada tubo dos meios de enriquecimento seletivo inoculou-se placas de ágar Hectoen Enteric e ágar *Salmonella – Shigella* (SS) pela técnica de esgotamento por estrias sucessivas e as incubaram a 35° C durante 24 horas. Decorrido este período 2 colônias suspeitas foram selecionadas de cada placa e inoculadas em ágar inclinado Tripli Iron Sugar (TSI) e ágar Lisina (LIA), e incubados a 35° C por 24±2 horas. As colônias que não apresentaram perfil atípico em ambas as provas bioquímicas, TSI e LIA, foram submetidas à prova da urease, crescimento em KCN e produção de indol, todas inoculadas a partir do crescimento bacteriano obtido no TSI e incubadas a 35° C por 24 horas. As colônias positivas na produção da urease foram descartadas, as não produtoras de urease foram submetidas ao teste sorológico somático polivalente para a confirmação do gênero bacteriano (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001c).

Para a realização do teste sorológico uma lamina de vidro foi dividida em duas partes, em uma delas colocou-se uma alçada de solução salina 0,9% e na outra 1 gota do anti-soro *Salmonella* somático polivalente, retirou-se uma alçada do crescimento bacteriano do TSI urease negativo e se fez uma emulsão na salina presente na lamina (controle), repetiu-se o mesmo procedimento no quadrante vizinho (teste), após movimentos de rotação da emulsão observou-se se ocorreu aglutinação no quadrante teste e no controle. Os resultados foram expressos como presença ou não de *Salmonella*/25g de alface crespa (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 2001c).

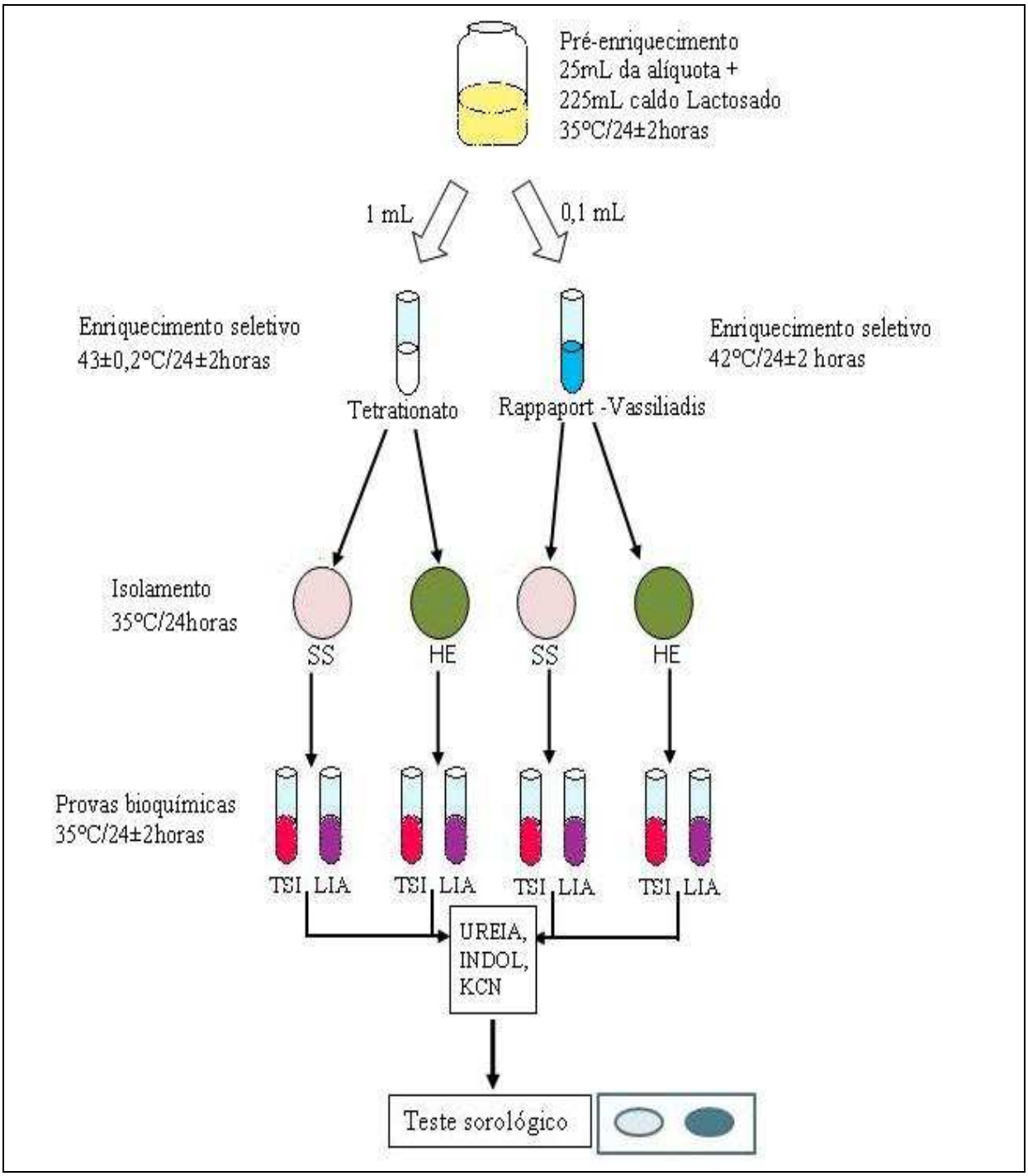


**Figura 4:** Técnica para pesquisa de *Salmonella*.

## 4.5 Análises parasitológicas

A análise parasitológica das hortaliças foi realizada de acordo com Guimarães et al. (2003). O cálice da primeira e da segunda lavagem foram deixados em repouso por 24 horas para a sedimentação espontânea das estruturas parasitárias, estando estes cobertos por placa de petri.

Decorrido o tempo, cada cálice foi examinado de forma independente, recolhendo-se, em duplicata, 0,1 mL do sedimento obtido e o analisando em microscópio óptico (10x e 40x) após ser misturado com 1 gota de lugol sobre uma lâmina.

Posteriormente parte do sobrenadante de cada cálice foi desprezado de modo que restasse cerca de 50 mL do sedimento em cada, este sedimento foi distribuído em 3 tubos de 15 mL que foram centrifugados a 2500 rpm durante 1 minuto. O sobrenadante de cada tubo foi desprezado e o sedimento obtido foi ressuspendido com cerca de 10 mL de solução de sulfato de zinco a 33%, gotejado lentamente pelas paredes do tubo, formando-se uma película.

Com uma alça de plástico, recolheu-se duas alçadas do sedimento ressuspendido, depositando-as sobre uma lâmina para microscopia, juntamente com 1 gota lugol. Examinou-se a mistura num microscópio óptico com aumento de 40X.

## 4.6 Análise estatística

Primeiramente, foram determinadas as médias para cada análise (coliformes totais e termotolerantes, e análises parasitológicas) das amostras de alface. Para os resultados de coliformes totais e termotolerantes foi realizado a comparação de médias das amostras de alface entre os supermercados e entre os mercados públicos e, em seguida, comparou-se os supermercados com os mercados, pelo teste não paramétrico Kruskal Wallis ($p < 0,05$) e teste de Wilcoxon, devido a não homocedasticidade dos dados. Os resultados das análises parasitológicas dos supermercados e mercados por serem qualitativos foram avaliados utilizando o teste do qui-quadrado ($X^2$) com 95% de significância (Programa de Estatística R 2.10.1).

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 5.1 Análises bacteriológicas

No presente estudo verificou-se que das 40 alfaces crespas tradicionais analisadas, todas apresentaram coliformes totais e 95% (38) coliformes termotolerantes, ainda deste total, 30% (12) demonstraram um nível de coliformes termotolerantes acima de $2x10^2$ NMP/g (limite máximo preconizado pela portaria n° 451/97), sendo todas estas provenientes de mercados públicos (APENDICE).

Resultados semelhantes foram descritos por Santana et al. (2006) em Salvador-BA, os quais verificaram que todas as amostras apresentavam-se contaminadas por coliformes totais e termotolerantes, no entanto o seu percentual de amostras com coliformes termotolerantes acima de $2x10^2$ NMP/ml foi maior (84%).

O Número Mais Provável - NMP (valor da possível carga microbiana), destes dois grupos bacterianos foi bastante expressivo na alface crespa comercializada. Nos supermercados o NMP de coliformes totais nas amostras variou de $1,7x\ 10^0$ a $1,0x10^5$ NMP/g, com média de $2,5x10^4$ NMP/g; ao passo que nos mercados públicos esta hortaliça apresentou NMP de $3,1x\ 10^2$ a $2,7x10^5$ NMP/g, com média de $4,8x10^4$ NMP/g.

Esta elevada carga de coliformes totais nas amostras comercializadas em ambos os comércios indica que houve negligência no cultivo e na produção da alface que estava à venda. Valores bem acima dos descritos neste trabalho foram relatados por Santana et al. (2006), segundo estes pesquisadores o NMP de coliformes totais em alfaces crespa tradicional a venda em supermercados de Salvador – BA foi de $1,0x10^4$ – $1,0x10^8$ NMP/mL, ao passo que em Accra, Kumasi e Tamale (cidades de Gana) este valor, na referida hortaliça comercializada nos mercados, foi de $3,0x10^5$ a $1,5x\ 10^{11}$ NMP/g (AMOAH et al., 2006).

Estes fatos demonstram uma realidade pior que a recente na cidade de João Pessoa e que existe um descuido quanto à segurança alimentar da população, independente da localidade.

Quanto à contaminação por coliformes termotolerantes observou-se que as alfaces dos supermercados locais apresentaram índices que variaram de 0 a $1,7x10^2$ NMP/g, com uma média de $3,7x10^1$ NMP/g de amostra. Nos mercados públicos este grupo bacteriano esteve presente na hortaliça analisada com uma carga mínima de 0 NMP/g e uma máxima de $1,7x10^4$

NMP/g, tendo cada grama de alface deste estabelecimento uma média de $3,7x10^3$ NMP de coliformes termotolerantes.

Ao contrário dos coliformes totais os termotolerantes indicam de forma mais precisa que a negligência ocorreu devido às precárias condições sanitárias em que a alface foi cultivada, transportada, armazenada e comercializada, e que estas amostras poderiam estar contaminadas por fezes e consequentemente apresentarem patógenos entéricos diferentes da *Salmonella* (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Na literatura há registro de alfaces com NMP de coliformes termotolerantes maiores que os encontrados nesta pesquisa, a exemplo do ocorrido nas cidades de Accra, Kumasi e Tamale no país de Gana, onde estas bactérias estiveram presentes em uma carga de $4,0x10^3$ - $9,3x10^8$ NMP/g (AMOAH et al., 2006) e em Lavras - MG em que a média global deste grupo bacteriano foi de $3,2x10^5$ NMP/100mL (GUIMARÃES et al., 2003). O que se deve ao uso de água de irrigação com elevada carga microbiana, ou até mesmo com esgoto (AMOAH et al., 2006).

Vários pesquisadores apontam a água usada na irrigação como o principal responsável pela presença de coliformes e outras bactérias nesta hortaliça. Outro importante fator é a técnica de cultivo (MARZOCHI, 1977; TAKAYANAGUI, et al., 2001; GUIMARÃES et al., 2003).

Comparando-se o nível de contaminação (NMP/g) entre os estabelecimentos locais de João Pessoa - PB, observou-se que as amostras comercializadas em mercados públicos apresentaram-se mais contaminadas por coliformes totais e termotolerantes que as dos supermercados ($p > 0,05$). Uma das possíveis causas que contribuíram para esta diferença foi que na horta distribuidora de hortaliças para os mercados públicos fazia uso de uma água mais contaminada que a utilizada na horta distribuidora para supermercados.

Entretanto com base nas observações da manipulação da alface e nas diferenças das estruturas físicas nos dois pontos de venda constatou-se que os prováveis fatores responsáveis pela elevada contaminação das alfaces comercializadas em mercados públicos em relação as dos supermercados foram o hábito dos funcionários dos mercados públicos estarem constantemente mergulhando os pés de alface em uma água parada, contida num grande balde, durante todo expediente (desta forma as bactérias que estavam na superfície da referida hortaliça ao entrar em contato com a água encontrava ambiente favorável a sua multiplicação, assim após um novo mergulho desta verdura no balde mais uma nova carga microbiana era adicionada ao vegetal) e a falta de higiene e noções de segurança alimentar por parte dos vendedores, os quais não lavavam as mãos entre atividades realizadas (o que propiciava uma

contaminação cruzada entre as hortaliças e até mesmo uma contaminação por bactérias que acometiam este indivíduo) e manipulação da alface seguido do manuseio do dinheiro.

Lamentavelmente estes maus hábitos que comprometem a segurança alimentar não são exclusivos dos vendedores em João Pessoa, nos municípios de Accra, Kumasi e Tamale em Gana a prática de lavar as alfaces em um balde com uma água parada que é usada durante todo expediente também foi apontado como uma das principais causas da contaminação desta hortaliça por microrganismos (AMOAH et al., 2006).

De acordo com a legislação vigente, RDC n° 12/01 estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), as alfaces analisadas encontram-se dentro dos padrões microbiológicos sanitários para hortaliças quanto à presença de coliformes termotolerantes, uma vez que esta lei não estabelece um limite para estas bactérias.

O regulamento anterior a esta que também definia os padrões microbiológicos para alimentos, Portaria n° 451/97, estabelecia um limite máximo de coliformes termotolerantes de $2x10^2$ NMP/g. Desta forma a legislação atual, mesmo diante do crescente risco da população de contrair uma infecção ao se alimentar de hortaliças "*in natura*", ao invés de evoluir acabou retrocedendo quanto a este critério, o que acabou considerando satisfatória para o consumo humano um alto número de alfaces (30% do total) com NMP de coliformes termotolerantes acima de $2x10^2$ NMP/g. Takayanagui et al. (2006) em seus estudos com hortaliças também havia questionado a validade dos critérios de adequação qualitativa das hortaliças pela legislação vigente por desconsiderar coliformes termotolerantes.

Este fato é de relevada importância, pois estudos verificaram que a sanitização com acido acético, técnica popularmente usada e recomenda pela EMBRAPA, não foi suficiente para eliminar todos os coliformes termotolerantes em alfaces com um carga inicial de $10^1$-$10^2$ NMP/100mL, havendo apenas redução destas bactérias (SANTANA et al., 2006), por tanto é necessário que novamente se estabeleça um limite máximo para a presença de coliformes em hortaliças "*in natura*" e inteiras, para que desta forma sejam comercializados vegetais com baixa carga microbiana e consequentemente se ter a garantia de que a população não esteja ingerindo alimentos contaminados por coliformes fecais, entre estes a *Escherichia coli*, que possui sorotipos patogênicos.

A *Escherichia coli* é uma enterobactéria que possui como habitat o trato gastrintestinal dos animais de sangue quente, embora algumas cepas sobrevivam sem causar dano ao hospedeiro existem cepas capazes de causar graves toxinfecções que podem levar o indivíduo a morte, entre os sorotipos patogênicos estão a *Escherichia coli* enteropatogênica,

enterotoxigênica, enteroagregativa, enteroinvasora e a enterohemorrágica, sendo esta última capaz de causar diarréias sanguinolentas (SILVA et al., 2007).

Mesmo que uma hortaliça apresente *Escherichia coli* não patogênica os coliformes termotolerantes presentes têm grande importância, pois indicam o risco do consumidor contrair uma infecção por um patógeno entérico ou até mesmo por outras bactérias que possam habitar o intestino, a exemplo dos estudos realizados por Green e colaboradores (1974) os quais verificaram que vegetais crus podiam ser veículos primários para a introdução de *Pseudomonas aeruginosa* no organismo dos pacientes hospitalizados. Sendo esta bactéria considerada um dos principais patógenos em infecções hospitalares, especialmente as infecções multirresistentes aos antimicrobianos. A *Klebsiella*, coliforme termotolerante, também é outra bactéria muito implicada em infecções hospitalares.

Por causa desta problemática contaminação das alfaces por coliformes os supermercados foram comparados entre si a fim de verificar se algum fornecia este vegetal com uma melhor qualidade microbiológica.

**Tabela 1:** Comparação do NMP médio de coliformes das alfaces crespas comercializadas nos diferentes supermercados.

| **Supermercados** | **Coliformes totais** | | **Coliformes termotolerantes** | |
|---|---|---|---|---|
| | **Média** | **Desvio padrão** | **Média** | **Desvio padrão** |
| S 1 | $3,7 \times 10^{2}$b | 409,94 | $3,8 \times 10^{1}$a | 71,33 |
| S 2 | $7,9 \times 10^{2}$b | 53,95 | $9,9 \times 10^{0}$b | 12,24 |
| S 3 | $3,9 \times 10^{4}$a | 48276,99 | $4,1 \times 10^{1}$a | 45,68 |
| S 4 | $6,1 \times 10^{4}$a | 52957,83 | $5,8 \times 10^{1}$a | 46,13 |

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que o nível médio de coliformes totais nos supermercados S1 e o S2 não diferiram, porém foram significativamente ($p>0,05$) inferiores aos do S3 e S4 (que não foram diferentes). Quanto à contaminação média por coliformes termotolerantes apenas o S2 apresentou-se inferior aos demais que não diferiram ($p>0,05$), deste modo dentre os quatro supermercados apenas um vende alface crespa com uma menor carga microbiana.

Ainda é possível constatar de acordo com a Tabela 1 que as diferenças na forma de armazenagem e na estrutura física dos supermercados não foram fatores significantes para tornar uma alface vendida em um supermercado mais contaminada que comercializada em

outro, uma vez que o S2 e S3 mesmo sendo semelhante na estrutura física, na forma de armazenagem e comercialização das alfaces, suas cargas microbianas foram diferentes.

O elevado desvio padrão, principalmente no que diz respeito ao grau de contaminação por coliformes totais, evidencia a existência de uma enorme variação no grau de contaminação de uma amostra para outra de um mesmo supermercado, demonstrando que os agentes causadores da contaminação estão sempre variando na sua intensidade.

A Tabela 2 informa o grau de contaminação da hortaliça por coliformes nos diferentes mercado públicos.

**Tabela 2:** Comparação do NMP médio de coliformes das alfaces crespa comercializadas nos diferentes mercados públicos.

| **Mercados públicos** | **Coliformes totais** | | **Coliformes termotolerantes** | |
|---|---|---|---|---|
| | **Média** | **Desvio padrão** | **Média** | **Desvio padrão** |
| M 1 | $1,4x\ 10^4$a | 7735,67 | $7,4x10^3$a | 9612,62 |
| M 2 | $1,4x10^5$a | 92778,86 | $7,2x10^3$a | 11413,24 |
| M 3 | $1,6x10^4$a | 18166,28 | $2,9x10^2$b | 583,83 |
| M 4 | $2,0x10^4$a | 16283,60 | $3,6x10^1$b | 13,03 |

Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem significativamente entre si, pelos testes de Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

Observa-se que a alface crespa disponível aos consumidores nos 4 mercados públicos de João Pessoa não possuem diferença significativa ($p > 0,05$) quanto o nível de contaminação por coliformes totais. Na contaminação por coliformes termotolerantes os mercados M1 e M2 não diferiram ($p > 0,05$), no entanto estes apresentaram um NMP para este tipo de coliforme maior do que o M3 e M4, que não diferiram significativamente ($p>0,05$).

Devido não existir diferença significativa ($p > 0,05$) entre os 4 mercados públicos na contaminação por coliformes totais ($p > 0,05$), pode se crer que as diferenças na estrutura física de um mercado em relação ao outro não foi um fator impactante na contaminação das alfaces vendidas por este tipo de comércio (uma vez que este grupo é composto por um grande número de bactérias isoladas do meio ambiente) e que as diferenças no NMP de coliformes termotolerantes, quando se compara os mercados 3 e 4 com o 1 e 2 se deve a uma condição pré-existente nas amostras, antes mesmo de serem comercializadas nos mercados públicos.

O elevado valor do desvio padrão, principalmente com relação aos coliformes totais, tanto em mercados públicos quanto em supermercados demonstra uma elevada variabilidade no nível de contaminação das amostras, o que permite se concluir que os fatores contaminantes estavam em constante variação na sua intensidade como agente causal da contaminação.

Com base nos dados da Tabela 1 e 2 conclui se que a contaminação da alface ocorre principalmente no seu cultivo e que a falta de boas práticas de higiene dos vendedores dos mercados públicos foi apenas um fator que aumentou a carga microbiana desta hortaliça em relação à distribuída nos supermercados.

Alimentar-se de forma correta e com uma dieta rica em nutrientes provenientes dos vegetais é imprescindível, no entanto, isto pode ser tornar um problema devido à contaminação da alface à venda no comércio local, por sua vez esta preocupação não se restringe apenas a estes comércios, mas também aos estabelecimentos que vendem alimentos prontos para o consumo humano, nos quais se pressupõem que foi feito uma desinfecção adequada das hortaliças. Paula et al. (2003) ao analisarem a contaminação microbiológica em alface de restaurantes *self-service* em Niterói-RJ, detectaram níveis de coliformes fecais acima do limite tolerável pela legislação vigente em todas as amostras.

A pesquisa de *Salmonella* nas alfaces analisadas comprovou que todas as colônias isoladas, embora fossem visualmente indicativas de *Salmonella* (lactose negativa com ou sem centro negro), foram produtoras de urease (quase 100% das cepas desta enterobactéria não são produtoras da enzima urease) (Figura 5 - B), demonstrando - se a ausência de *Salmonella*/25g de alface (massa inferida por cálculo da relação do volume de água de lavagem pelo peso do pé de alface), logo as alfaces crespa comercializadas estavam de acordo com a legislação vigente, RDC n° 12/01.

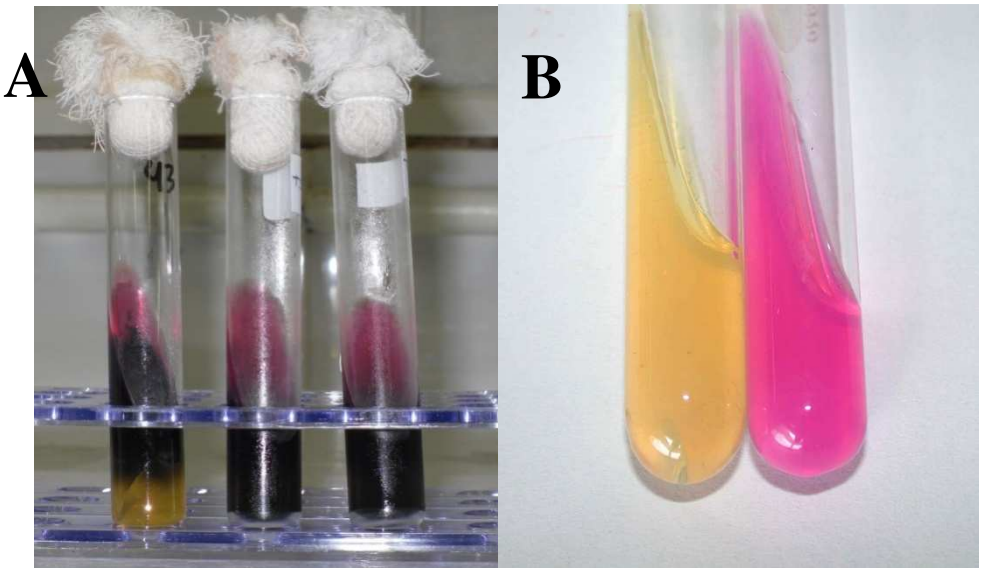


**Figura 5:** Provas Bioquímicas (**A**) - Colônias com perfil típico de *Salmonella* em ágar TSI. (**B**) - Tubo com colônia produtora de urease (róseo) ao lado de tubo não inoculado (amarelo).

**Fonte:** Próprio autor.

Resultados semelhantes para pesquisa de *Salmonella* foram relatados por Santana et al. (2006) ao estudarem a contaminação das alfaces crespa de três variedades comercializadas em Salvador-BA, ao passo que Takayanagui et al. (2007) ao avaliarem a contaminação de hortas produtoras de alface crespa em Ribeirão Preto- SP detectaram a presença de *Salmonella* panamá em apenas uma das 67 amostras analisadas.

Embora as alfaces estudadas estejam dentro dos padrões exigidos pela RDC n° 12/01 quanto à presença de bactérias é necessário que as autoridades sanitárias estejam mais presentes e atuantes, pois o número de alfaces com NMP acima de $2x10^2$ foi elevado (12/40), além do mais existe o risco da contaminação por enteroparasitas. Também é possível que o período de coleta (verão) tenha contribuído para a ausência de *Salmonella*, uma vez que as chuvas no período do inverno arrastam dejetos, entre estes o esterco de animais, que estão no solo até as hortas e as plantações.

## 5.2 Análises parasitológicas

O diagnóstico laboratorial de parasitas presentes em hortaliças é de grande importância para a saúde pública, uma vez que fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas no transporte, produção, manipulação e armazenamento (SILVA; OLIVEIRA; STAMFORD, 2002).

Dentre as 40 amostras analisadas neste estudo, 85% (34) estavam contaminadas por alguma espécie de enteroparasito, percentagem significativamente alta e extremamente relevante, uma vez que os parasitos intestinais são bons indicadores de contaminação fecal. Tal dado é absolutamente concordante com os relatados por Guimarães et al. (2003), os quais constataram que todas as suas amostras estavam contaminadas por enteroparasitas, bem como os de Falavigna et al. (2005), que no decorrer de suas investigações em Maringá (PR) observaram que em média 73% das alfaces crespas apresentavam helmintos e ou protozoários. Todavia, Ono et al. (2005), ao analisarem alfaces crespas comercializadas em Guarapuava (PR), registraram um índice de contaminação de 50%, ao passo que Takayanagui et al. (2001) em Ribeirão Preto (SP) relataram apenas 33% de contaminação das alfaces investigadas.

Em cidades de outros países a exemplo de Trípoli na Líbia foi detectada a presença de enteroparasitas em 96% das alfaces (ABOUGRAIN et al., 2010), por sua vez nas vilas Ancara, Antalya e Adana na Turquia esta frequência foi de 11% (KOZAN et al., 2005).

Muitas são as formas de contaminação da alface por enteroparasitas, porém a principal se dá por meio da água contaminada com material fecal de origem humana, ou ainda por contaminação do solo por uso de adubos orgânicos com dejetos fecais (SLIFKO; SMITH; ROSE, 2000). Outras formas de contaminação ocorrem no armazenamento impróprio, recipientes contaminados (CHITARRA, 2000) e falta de higiene pessoal dos manipuladores (SILVA JUNIOR, 1995). Segundo Falavigna – Guilherme et al. (1999) a própria morfologia da alface, folhas múltiplas e uma estrutura compacta, favorece uma maior fixação de estruturas parasitárias na mesma.

Do plantio a mesa do consumidor são vários os fatores e as etapas que podem contaminar as hortaliças, desta forma é esperado que as amostras no ponto de coleta estejam mais contaminadas, entretanto pesquisadores verificaram em seus estudos que não havia diferença estatística no índice total de parasitismo das hortaliças das chácaras em relação às comercializadas em feiras – livres (FALAVIGNA et al., 2005). Takayanagui et al. (2006) ao estudarem o nível de contaminação nas diversas etapas da cadeia de produção da alface (água

de irrigação, verdura no canteiro, água do tanque de lavagem, verduras após a lavagem e verduras no comercio), constataram que não existia um risco cumulativo de contaminação por enteroparasitas nas sucessivas etapas da cadeia produtiva de hortaliças, desta forma as condições de cultivo ainda tem grande impacto sobre a contaminação das amostras por parasitas.

Ao contrario do que ocorre na contaminação por coliformes, a técnica de cultivo da alface não é um fator de impacto na contaminação dessa hortaliça por enteroparasitas, o que foi comprovado em estudos feitos por Santana et al. (2006), os quais observaram protozoários e/ou helmintos em todas as alfaces de cultivo hidropônico, convencional e orgânico.

Na Figura 6 observa-se o percentual das alfaces (*Lactuca sativa*) variedade crespa contaminadas por enteroparasitas comercializadas, respectivamente em 4 supermercados e 4 mercados públicos de João Pessoa.

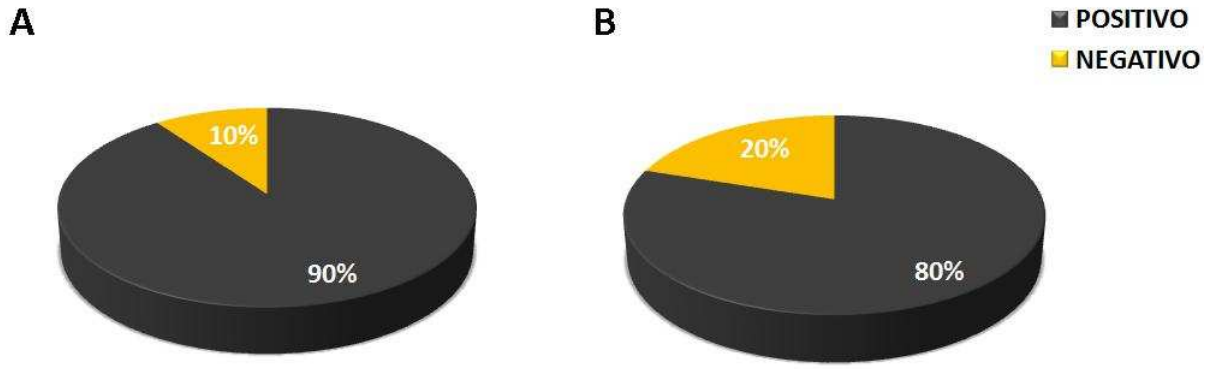


**Figura 6:** Percentual de amostras contaminadas que são comercializadas em supermercados (**A**) e mercados públicos (**B**).

De acordo com a Figura 6 observa-se que grande parte das alfaces crespas em ambos os pontos comerciais estavam contaminadas por enteroparasitas. O teste do qui-quadrado (($x^2$) com 95% de significância) constatou que a hortaliça em questão a venda nos dois tipos de comércios não diferem quanto à presença destes contaminantes, ou seja, o consumidor tem igual chance de se infectar por algum enteroparasita quando consome a alface crespa tradicional proveniente de supermercados ou de mercados públicos. Diferentemente do que ocorreu com os coliformes que estiveram mais presentes nas amostras dos mercados públicos.

Com base nestes resultados pode-se afirmar que as condições de cultivo das hortaliças ainda são os fatores de maior relevância e impacto na contaminação destas por

enteroparasitas, uma vez que as baixas condições sanitárias e as péssimas práticas de higiene na manipulação desses vegetais em mercados públicos não foram fatores significantes a ponto de tornar as alfaces vendidas neste comércio mais contaminadas do que as comercializadas em supermercados, diferentemente do que ocorreu na contaminação bacteriana.

Características intrínsecas dos parasitas contribuíram para este fato a exemplo do que ocorreu na contínua lavagem das alfaces num balde com uma mesma água usada durante todo o expediente de venda, neste caso, ao contrário das bactérias, as estruturas parasitárias por não serem capazes de se multiplicar dentro do balde ou na superfície do vegetal não aumentavam em número, além do mais, por serem mais densos os protozoários e helmintos tendiam a se sedimentar facilmente no fundo do balde.

Em conformidade com os resultados desse estudo Rocha, Mendes e Barbosa (2008) em Recife (PE) observaram que 88,8% das alfaces crespas comercializadas em supermercados estavam contaminadas por parasitas intestinais, ao passo que Guimarães et al. (2003) encontraram este problema em todas as amostras distribuídas por este comércio na cidade de Lavras (MG). Contrapondo-se aos valores anteriormente mencionados, Freitas et al. (2004) relatam um menor percentual, 56%, de alfaces crespas contaminadas a venda nos supermercados de Campo Mourão (PR). A falta de estudos que analisassem a frequência de enteroparasitas em alfaces provenientes de mercados públicos não permitiu comparar a realidade destes estabelecimentos nesta pesquisa com os de outras localidades.

As amostras contaminadas no comércio local podiam se apresentar com uma única espécie de enteroparasita (mono contaminação) ou com mais de uma (múltipla contaminação) (Tabela 3).

**Tabela 3:** Disposição da contaminação nas alfaces comercializadas.

| **Parasitismo** | **Supermercados** | | **Mercados públicos** | |
|---|---|---|---|---|
| | **n°** | **%** | **n°** | **%** |
| Múltipla contaminação | 11 | 61 | 9 | 56 |
| Mono contaminação | 7 | 39 | 7 | 44 |
| Total | 18 | 100 | 16 | 100 |

Na Tabela 3 observa-se que normalmente existe mais de um enteroparasita nas alfaces, consequentemente a população esta mais sujeita a contrair uma infecção por dois parasitas quando se alimenta da hortaliça investigada. O perfil de múltipla contaminação mais freqüente em ambos os comércios foi *Strongyloides spp.* + *Entamoeba coli*. Quanto às

amostras mono contaminadas, o parasito mais freqüente nestas foi a *Entamoeba coli* (APENDICE A).

Em estudos realizados noutras localidades a freqüência de alfaces com uma ou mais de uma espécie de parasita teve um comportamento diferente, segundo Rocha, Mendes e Barbosa (2008) e Freitas et al. (2004) (em Recife e em Campo Mourão, respectivamente) as amostras mono contaminadas foram mais freqüentes que as com múltipla contaminação tanto em supermercados quanto em feiras-livres.

A Figura 7 apresenta a frequência de cada enteroparasita em alfaces disponíveis ao consumidor pessoense pelos supermercados e mercados públicos.

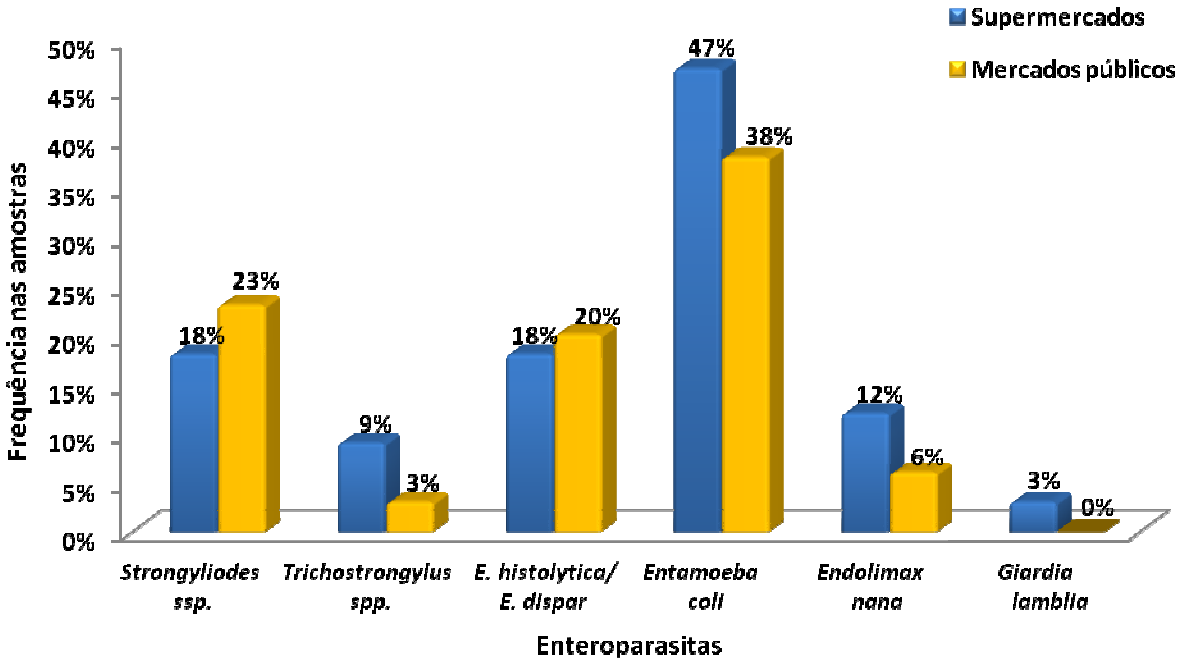


**Figura 7:** Frequência dos enteroparasitas em amostras de alfaces contaminadas (n= 34) comercializadas em supermercados e mercados públicos do município de João Pessoa - PB no período de setembro a dezembro de 2009.

Observou-se que a *Entamoeba coli*, protozoário não patogênico presente na forma cística, foi o enteroparasita mais freqüente nas alfaces crespas comercializadas (85%), outro protozoário também não patogênico encontrado foi a *Endolimax nana*, presente em 18% das amostras. Esta elevada freqüência de amebas na referida hortaliça, também ocorreu em Florianópolis (PR), onde Soares e Cantos (2006) detectaram a presença de *Entamoeba* spp. em 76% das amostras e *E. nana* em 14%. Entretanto em Recife a *E. coli* foi encontrada em apenas 10% das alfaces crespas (SILVA; ANDRADE; STAMFORD, 2005), ao passo que em Salvador nenhuma espécie deste protozoário foi registrada (SANTANA et al., 2006).

Marzochi (1977) relata que a contaminação de produtos vegetais por enteroparasitas depende da concentração de matéria orgânica de origem fecal nas águas de irrigação provenientes da drenagem de esgotos domésticos.

A presença de amebas como *E. coli* e ou *E. nana*, apesar de não serem patogênicas, servem de indicador de contaminação de hortaliça por fezes humanas (OLIVEIRA; GERMANO, 1992). A associação da freqüência destes protozoários com a presença de coliformes termotolerantes permite se afirmar que 75% (30/40) das alfaces crespas comercializadas estavam contaminadas por fezes.

Entre os parasitas que oferecem risco de causar doença (patogênicos) ao homem foram encontrados *Strongyloides* spp. (41%), *Entamoeba histolytica / Entamoeba díspar* (38%), *Giardia lamblia* (3%) e *Trichostrongylus* spp. (12%) nas alfaces crespas comercializadas em João Pessoa (PB) pelos supermercados e mercados públicos. Ono et al. (2005) em Guarapuava (PR) constataram a presença de *Strongyloides* spp. em 28,5% e *Giardia* spp. em 4,7% das alfaces crespas, por sua vez Soares e Cantos (2006) em Florianópolis evidenciaram a presença de *Entamoeba* spp. em 76% e *Trichostrongylus* spp. em 4,4% das amostras. Em Salvador (BA) Santana et al. (2006) relataram a ocorrência de *Strongyloides* spp. em 10% e *Trichostrongylus* spp. em 6,7% das alfaces de cultivo tradicional.

Com efeito, tem-se demonstrado na literatura que a *Entamoeba histolytica* é a única espécie de ameba patogênica, sendo esta capaz de causar lesões teciduais que levam desde uma disenteria até formação de úlcera, abscessos e necrose hepática, desta forma é muito importante a realização da higienização das hortaliças consumidas pelo homem (EURICO; LITTON, 1999; REY, 2008). Devido às semelhanças morfológicas que tornam a *E. histolytica* indistinguível, ao microscópio óptico, da *Entamoeba díspar* (espécie não patogênica), a detecção de amebas com características morfológicas de *E. histolytica* são denominadas de *E. histolytica / E. díspar*.

As larvas de *Strongyloides* spp. encontradas foram tanto do estágio larval filarióide (forma infectante) quanto do tipo rabditóide. Devido à semelhança estrutural entre as espécies de *Strongyloides* que infectam o homem com as que acometem os animais não foi possível afirmar qual a espécie estava presente, uma vez que nesta hortaliça é comum contaminante das fezes de animais. Barufaldi (1984), Marzochi (1977) também relataram dificuldades na diferenciação de alguns helmintos de hortaliças com os de vida livre, como também de outros animais, cujos cistos, ovos e larvas são semelhantes aos da espécie humana. Grillo, Carvalho e Silva (2000) afirmam que a presença de helmintos como *Strongyloides stercoralis* (espécie infectante em homem) é de grande importância em Saúde Pública, não só pela elevada

prevalência, mas pela diversidade de manifestações clínicas que geram em seus hospedeiros, particularmente nos imunodeprimidos e usuários de corticóides. Entre esta manifestações destacam-se a hemorragia, edema e inflamação pulmonar, febre, dispnéia, diarréia, vômitos, inflamação e até ulceração intestinal (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

A contaminação do vegetal em estudo por *Trichostrongylus* spp. somente foi observado em amostras comercializadas em supermercados, fato também ocorrido nos supermercados de Florianópolis - SC (SOARES; CANTOS, 2006). Por ser um parasita de ruminantes a sua presença indica contaminação por fezes destes animais, o que provavelmente ocorreu devido à adubação da horta produtora desta alface com esterco bovino ou plantio da horta perto ou em solo onde foi curral de bois. Embora esse parasita seja pouco comum em humanos a sua presença pode causar perturbações intestinais de intensidade variável (CANTOS; MATTOS, 1997).

A *Giardia lamblia*, encontrada apenas em amostras obtidas de supermercados, estava na forma trofozoíta o que sugere que a contaminação tenha sido evento recente, provavelmente devido à manipulação no ponto de venda (PETRSEN; CARTTER; HADLER, 1988), uma vez que esta forma por ser muito frágil pode morrer facilmente em condições desfavoráveis (CIMERMAN; CIMERMAN, 1996). Este protozoário possui duas formas evolutivas, cisto e trofozoíto, embora a infecção no homem normalmente se inicie pela forma cística, ainda existem controvérsias que afirma que o estágio trofozoíto é capaz de iniciar uma infecção em humanos (NEVES et al., 2005).

A giardíase, quadro clínico desenvolvido pela *Giardia lamblia*, se caracteriza por má-absorção de nutrientes da alimentação, perda de peso, dores abdominais e diarréia aguda, na qual pode ocorrer muco e sangue (NEVES et al., 2005; REY, 2008).

Ao contrário do descrito por outros autores, nesta pesquisa não foi detectada a presença de enteroparasitas como ancilostomídeos, *Trichures spp., Taenia* spp., *Hymenolepis nana, Enterobius vermiculari* e *Ascaris lumbricóides.*

A ausência de *Taenia* spp. foi um dado extremamente relevante, pois ovos de *Taenia solium* quando ingeridos com alimentos contaminados ocasiona uma seríssima patologia, a cisticercose. Quando o cisticerco se desenvolve no sistema nervoso central ocorre a forma mais grave desta doença, denominada de neurocisticercose cujo quadro clínico se caracteriza por crises epilépticas, hipertensão intracraniana, dor de cabeça, meningite cisticercótica, distúrbios psíquicos e perda de massa encefálica (morte de neurônios do cérebro), caso o olho seja acometido, o paciente poderá ter perda total ou parcial da visão (NEVES et al., 2005;

REY, 2008). Entretanto a ausência deste e dos demais vermes nas alfaces analisadas deve ser acompanhada por análises periódicas.

A análise estatística pelo teste do qui-quadrado ($x^2$) mostrou que os supermercados não diferiram significativamente ($p > 0,05$) dos mercados públicos quanto à freqüência de cada enteroparasita nas alfaces. Os supermercados quando comparados entre si também não apresentaram diferença ($p > 0,05$), ocorrendo o mesmo entre os mercados públicos.

Comparando-se os resultados deste estudo com os relatados em diversas cidades do Brasil e do mundo foi possível concluir que cada cidade, estado e região possuem um perfil de contaminação parasitária diferente, em Recife (PE) nas alfaces crespas contaminadas estavam presentes *Strongyloides* spp. em 95%, *Ancylostoma* spp. 8% e *Entamoeba* spp. 2% (ROCHA; MENDES; BARBOSA, 2008). Em Salvador (BA) *Ancylostoma* spp. 30%, *Strongyloides* spp. 10%, *Trichostrongylus* spp. 6,7% (SANTANA et al. 2006). Florianópolis (SC) *Entamoeba* spp. 76%, Endolimax nana 14%, *Giardia* spp. 12%, *Strongyloides* spp. 4,8%, *Ancylostoma* spp. 8,8%, *Trichostrongylus* spp. 4,4%, *Ascaris lumbricóides* 1,6%, *Hymenolepis nana* 0,8% *Enterobius vermiculares* 0,4% (SOARES; CANTOS, 2006). Maringá (PR) *Ancylostoma* spp. 72%, *Entamoeba* spp. 2% (FALAVIGNA, 2005). Campo Mourão (PR) *Ascaris lumbricóides* 34%, *Strongyloides* spp. 8%, *Entamoeba* spp. 42%, *Taenia* spp. 2% (FREITAS et al., 2004). Guarapuava (PR) *Ancylostoma* spp. 36%, *Strongyloides* spp. 7% (ONO et al., 2005). Lavras (MG) *Strongyloides* spp. 21%, *Entamoeba* spp. 5%, nematódeos 42% (GUIMARAES et al., 2003) e em Ribeirão Preto (SP) foram detectados *Entamoeba* spp., *Giardia* spp., *Ancylostoma* spp., *Ascaris* spp., *Trischures spp.*(TAKAYANAGUI et al., 2001). Nas vilas Ancara, Antalya e Adana na Turquia foram detectados apenas *Ascaris lumbricóides* em 6% (KOZAN et al., 2005), em Trípoli na Líbia *Ascaris lumbricóides* em 96%, *Taenia* spp. 33%, *Giardia* spp 4% (ABOUGRAIN et al., 2010).

A variação da frequência de parasitas nas alfaces crespas comercializadas em diferentes cidades se deve a diversos fatores, entre estes os culturais e educacionais que incidem sobre o produtor, transportador, vendedor e o consumidor a respeito de segurança alimentar e higiene pessoal, ambiental e alimentar. Outro fator é o diferente perfil epidemiológico dos enteroparasitas que acometem a população de uma localidade, os quais contaminarão o solo e a água usada na irrigação.

Infelizmente, devido à ausência de uma legislação que estabeleça um limite para a presença de enteroparasitas em hortaliças não embaladas, uma vez que a resolução - CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos) n° 12 de 1978 foi revogada, as alfaces crespas comercializadas em supermercados e mercados públicos de João Pessoa

encontram-se em condições satisfatória ao consumo, mesmo com esta elevada freqüência de enteroparasitas.

Avaliando-se o risco de se contrair uma infecção por um enteroparasita patogênico, observou-se que tanto os supermercados quanto mercados públicos oferecem igual risco, visto que em ambos 55% (11) de suas amostras encontraram-se contaminadas por *Strongyloides* spp., *E. histolytica* e/ou *Giardia lamblia*.

Considerando a elevada contaminação das alfaces crespas comercializada em João Pessoa, torna-se imprescindível uma boa higienização desta hortaliça para minimizar o risco de se contrair uma infecção por protozoários e helmintos. Primeiramente é necessário que se faça uma boa lavagem, pois quanto maior o seu número maior a diminuição de enteroparasitas presentes (CANTOS et al., 2004), em seguida uma boa desinfecção, um método simples e eficaz consiste na imersão das folhas em água aquecida a 60° C por 10 minutos (OLIVEIRA; GERMANO, 1992).

Sanitizantes como o ácido acético a 4% tem demonstrado efeito giardicida, no entanto é necessário que a hortaliças fique submersa nesta solução durante 1 hora, quanto menor este tempo ou maior a diluição desta solução menor o número de cistos inviabilizados, o que não diminuirá o risco do consumidor contrair uma giardíase, uma vez que menos de 10 cistos são suficientes para causar uma infecção por este protozoário (COSTA et al., 2009). Zanini e Teixeira (2001) verificaram que o hipoclorito de sódio a 1,5% foi mais eficiente que o ácido acético e a solução saturada de sal de cozinha na inviabilização de larvas de *Angiostrongylus costaricensis*, o tempo mínimo necessário para este efeito larvicida foi de 15 minutos. Segundo Grubb e Oliver-Gonza'lez (1969) o hipoclorito de sódio é capaz de inativar ovos de *Ascaris* e cistos de *Entamoeba histolytica*.

# 6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa pode – se concluir que a alface crespa tradicional comercializada tanto por supermercados quanto por mercados públicos apresentou uma péssima qualidade microbiológica, visto que boa parte das amostras analisadas estava contaminada por coliformes totais, termotolerantes e enteroparasitas, estando 75% destas contaminadas por fezes.

As alfaces comercializadas em ambos os comércios não apresentaram *Salmonella,* porém mais da metade normalmente continha mais de um enteroparasita. Entre os patogênicos destacaram-se, pela alta frequência nos dois comércios, o *Strongyloides* spp. e a *Entamoeba histolytica / Entamoeba díspar*.

Ainda constatou-se que as alfaces a venda em mercados públicos eram mais contaminadas por coliformes totais e termotolerantes que as dos supermercados sem, no entanto não diferir na contaminação por parasitas intestinais.

Dos 4 supermercados apenas 1 vendia alfaces com uma menor carga microbiana quando comparado com os demais supermercados, ao passo que nenhum dos 4 mercados públicos comercializava alfaces com um menor NMP de coliformes totais e termotolerantes, quando comparados entre si.

Por fim conclui-se que de acordo com as atuais legislações nacionais (RDC n° 12/2001) as alfaces analisadas encontram-se satisfatórias ao consumo humano, mesmo boa parte estando contaminada por coliformes fecais e por enteroparasitas. Desta forma é necessário que as autoridades sanitárias revejam seus parâmetros microbiológicos para hortaliças, a fim de evitar que uma fonte de nutrientes como a alface crespa não se torne um veículo disseminador de doença.

# REFERÊNCIAS


ABDUL-RAOUF, U. M.; BEUCHAT, L. R.; AMMAR, M. S. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 on salad vegetables. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, n. 7, p. 1999-2006, 1993.

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

AGUILAR, L. T. **Dieta no risco de desenvolvimento de câncer bucal**: estudo caso controle. 2002. 69f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

AMOAH, P. et al. Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's urban markets. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**., v. 50, p. 1-6, 2006.

ALVES FILHO, M. Pesquisas investigam riscos e benefícios de alimentos e nutrientes. **Jornal da Unicamp**. n. 211-215, 11 mai 2003. 6-7.

BARUFALDI, R. Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, v. 18, p. 225-234, 1984.

BERNSTEIN, N. et al. Evidence for internalization of *Escherichia coli* into the aerial parts of maize via the root system. **J. Food Prot.** v. 70, p. 471–475, 2007.

BLASER, M. J. How safe is our food? **The New England Journal of Medicine,** n. 334, p. 1324-1326, 1996.

BONILHA, P. R. M. Comparação das condições sanitárias entre as alfaces cultivadas e comercializadas na cidade de Araraquara**. Alim. Nutr.**, v. 4, p.125-130, 1992.

BRACKETT, R. E. Changes in the microflora of packaged tomatoes. **J. Food Qual.**, v. 11, p. 80-105, 1988.

BRASIL, CONAMA. SEMA. **Resoluções do conselho nacional do meio ambiente, leis, etc**: 1984/86. 2. ed. Brasília, DF, 1998. 98 p.

BRASIL, ANVISA. **Resolução RDC n°. 12,** 02 de Janeiro de 2001. Estabelece Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 2001. Seção 1, p. 45-53.

BRUGALLI, A.; PINTO, J. M.; TONDO, E. C. Análises de perigos e pontos críticos de controle para garantir a segurança alimentar em restaurante da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 72, p. 53-59, 2000.

CAETANO, V. C. SALTINI, D. A.; PASTERNAK, J. Surto de salmonelose por *Salmonella enterica* em profissionais de saúde, causado por alimentos consumidos em uma festa de ano novo realizada dentro da Unidade de terapia Intensiva. **Einstein**, v. 2, n. 1, p. 33-35, 2004.

CANTOS, G. A.; MATTOS, L. M. Estudo comparativo entre *Trichostrongylus* spp e ancilostomídeos. **NewsLab,** v. 24, p. 130-140, 1997.

CANTOS, G. A. et al. Estruturas parasitárias encontradas em hortaliças comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina. **NewsLab,** n. 66, 2004.

CARLOS, J. V. et al. Porcionamento dos principais alimentos e preparações consumidas por adultos e idosos residentes no município de São Paulo. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 4, p. 383-391, 2008.

CARVALHO, K. L. **Gestão da cadeia produtiva da alface**: uma análise sobre a inserção do produtor rural. 2008. 169f. Dissertação (Mestrado em Economia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Diagnosis andmanagement of foodborne illnesses: a primer for physicians. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, n. 53, v. 4, p. 1-33, 2004.

CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. Giardíase. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. (Ed.) **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Atheneu, 1996. p. 1214 – 1216.

CIMERMAN, B. CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

CHITARRA, M. I. F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Lavras: UFLA, 2000.

COMPANHIA DE ENTREPOSTOS E ARMAZENS GERAIS DE SÃO PAULO - CEAGESP. Transporte e logística de alimentos e flores. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/produtos/produtos/alface/view?searchterm=alface>. Acesso em: 01 mar. 2009.

COSTA, A. O. et al. Effect of vinegar on the viability of *Giardia duodenalis* cysts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, p. 510-512, 2009.

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, 2005.

COSTA - CRUZ, J. M. *Strongyloides strecoralis* In. NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

CRUA, A. S. Parasitoses intestinais. In: FERREIRA, C. T. et al. (Ed.) **Gastroenterologia e hepatologia em pediatria:** diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.

EMBRAPA. **Circular técnica n° 56 novembro de 2007**, Cultivo de Alface em Sistema Orgânico de Produção. Brasília, DF. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2008/ct_56.pdf> Acesso em: 01 mar. 2009.

**Comunicado técnico n° 36 dezembro 2006**. Processamento mínimo da alface crespa. Brasília, DF Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/bbeletronica/2006/cot/cot_36.pdf> Acesso em: 27 jun. 2010.

**Hortaliças:** alface. Brasília, DF. Disponível em: < http://www.cnph.embrapa.br/paginas/dicas_ao_consumidor/alface.htm> Acesso em: 01 mar. 2009.

ESTEFANEL, V.; BURIOL, G. A.; SACCOL, A. V. Variabilidade e probabilidade de ocorrência de temperaturas mínimas absolutas do ar no Estado do Rio Grande do Sul. **Rev. Centro de Ciências Rurais,** v. 8, n. 4, p. 363-384, 1978.

EURICO, C. LITTON, E. **Exames Parasitológicos**. 3. ed. Fortaleza: Brasil Tropical, 1999.

FALAVIGNA, L. M. et al. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. **Parasitol Latinoam**, v. 60, p. 144-149, 2005.

FALAVIGNA – GUILHERME, A. L. et al. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da Feira do produtor de Maringá. Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 405-411, 1999.

FERNANDES, A. A. et al. 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, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS-FAO. Statistics Division, 2006. Disponível em: <http://www.faostat.fao.org>. Acesso em: 21 jan. 2009.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu 2003.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos.** 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2007.

FREITAS, A. A. et al. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do município de Campo Mourão, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 26, n.4, p. 381-384, 2004.

GARCIA, J. L. et al. Evaluation of helminthes and protozoa in raw vegetables produced in Umuarama, Paraná State. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 7, p. 7-10, 2004.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo: Varela, 2003.

GOTO, R. et al. Novas técnicas, melhor qualidade. **Agrianual**, 1997.

GREEN, S. K. et al. Agricultural plants and soil as a reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied Microbiology**, v. 28, n. 6, p. 987-991, 1974.

GRILLO, L. P.; CARVALHO, L. R.; SILVA, A. C. Influência das condições socioeconômicas nas alterações nutricionais e nas alterações nutricionais e na taxa de metabolismo de repouso em crianças escolares moradoras em favelas no município de São Paulo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 46, n. 1, p. 7-14, 2000.

GROPPO, G. A.; T. NETO, J. **Hortas:** instruções práticas. Campinas: Governo do estado de São Paulo Secretaria de Agricultura e Abastecimento Coordenadoria Técnica e Integral, 1993. 230p. (Relatório de pesquisa).

GRUBB, T.C., OLIVER-GONZA´LEZ, J., The effect of sodium hypochlorite on *Ascaris* eggs and cysts of *Entamoeba histolytica*. **Rev. Lat.-Am. Microbiol. Parasitol.** v. 2, p. 199–208, 1969.

GUIMARÃES, A. M. et al. 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, 2003.

HAO, D. Y. Y.; BRACKETT, R. E. Pectinase activity of vegetable spollage bacteria in modified atmosphere. **J. Food Sci.**, v. 59, p. 175-178, 1994.

IBENYASSINE, K. et al. Bacterial pathogens recovered from vegetables irrigated by wastewater in Morocco. **J. Environ. Health,** v. 69, p. 47–51, 2007.

IBGE. **Pesquisa de Orçamento Familiar**. 2002-2003. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002/pof2002.pdf>. Acesso em: 01 mar. 2009.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KÄFERSTEIN, F.; ABDUSSALAM, M. Food safety in the 21st century. **Bulletin of the World Health Organization**, n. 77, p. 347-351, 1999.

KENNEY S. J. et al. Migration of *Caenorhabditis elegans* to manure and manure compost and potential for transport of *Salmonella* newport to fruits and vegetables. **Int. J. Food Microbiol.,** v. 106, p.61–68, 2006.

KLERKS, M. M. et al. Differential interaction of *Salmonella enterica* serovars with lettuce cultivars and plant-microbe factors influencing the colonization efficiency. **ISME J.**, v. 1, p. 620–631, 2007.

KNOTT, J.E. **Handbook for vegetable grovers.** 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1962. 245 p.

KOZAN, E. et al. Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. **Food Control**, v. 16, n. 239-242, 2005.

LONCAREVIC, S.; JOHANNESSEN, G. S.; RORVIK, L. M. Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway**. Lett. Appl. Microbiol.,** v. 41, p. 186–89, 2005.

MACHADO, E. L. **O papel da reputação na coordenação vertical da cadeia produtiva de frutas, legumes e verduras.** 2002. 182f. Tese (Doutorado em Economia) – Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MACHADO, R. C. et al. Giardíase e helmintíases em crianças de creches e escolas de 1° e 2° graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol (SP, Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 697-704, 1999.

MAGGI, M. F. et al. Produção de variedades de alface sob diferentes potenciais de água no solo em ambiente protegido. **Irriga**, v. 11, n. 3, p. 415-427, 2006.

MARKOVA, Y. A.; ROMANENKO, A. S.; DUKHANINA, A. V. Isolation of bacteria of the family *Enterobacteriaceae* from plant tissues. **Microbiology**, v. 74, p. 575–78, 2005.

MARZOCHI, M. C. A. Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. II- Estudo da contaminação de verduras e do solo de hortas na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 19, p. 148-155, 1977.

MAXCY, R. B. Lettuce salad as a carrier of microorganisms of public health significance. **J. Food Prot.**, v. 41, p. 1978.

MELO, J. A. S. Aplicação de águas residuárias no solo como um método de tratamento, disposição final e reciclagem das águas usadas. **Revista de Engenharia Sanitária**, v. 17, p. 82-91, 1978.

MENEZES, E. M. S.; FERNANDES, E. C.; SABAA-SRUR, A. U. O. Folhas de alface lisa (*Lactuca sativa*) minimamente processadas armazenadas em atmosfera modificada: analises físicas, químicas, físico-químicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 60-62, 2005.

MESQUITA, V. C. C. et al. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 4, p. 189-194, 1999.

MIYAZAWA, M.; KHATOUNIAN, C. A.; ODENATH-PENHA, L. A.; Teor de nitrato nas folhas de alface produzida em cultivo convencional, orgânico e hidropônico. **Agroecologia Hoje**, n. 2, p. 23, 2001.

MORAES, R. G.; LEITE, I. C.; GOULART, E. G. **Parasitologia e Micologia Humana**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MOTA, J. A. C. et al. Parasitoses intestinais. In: Leão E. et al. (Ed.). **Pediatria ambulatorial.** Belo Horizonte: Coopemed, 2004.

MURRAY, P. R. et al. **Microbiologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo-SP, Brasil. I-Pesquisa de helmintos. **Revista Saúde Pública,** v. 26, n. 4, p. 283-289, 1992.

OLIVEIRA, J. E. D.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais.** São Paulo: Sarvier, 1998.

ONO, L. M. et al. Ocorrência de helmintos e protozoários em hortaliças cruas comercializadas no município de Guarapuava, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 543-546, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS, **Elementos traço na nutrição e saúde humana**. Genebra, 1998.

PETRSEN, I.; CARTTER, R. M. L.; HADLER, L. J. A food-borne outbreak of *Giardia lamblia*. **Journal of Infectious Diseases,** v. 157, p. 846-848, 1988.

PAULA, P. et al. Contaminação microbiológica e parasitológica em alface (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói-RJ (COMUNICAÇÃO). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicinal Tropical**, v. 36, n. 4, p. 535-537, 2003.

REY, L. **Parasitologia:** parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

ROBERTSON, L. J.; GJERDE, B. Ocurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. **J. Food Protection,** v. 64, p.1 793-1798, 2001.

ROCHA, A.; MENDES, R. A.; BARBOSA, C. S. *Strongyloides spp* e outros parasitos encontrados em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializados na cidade do Recife, PE. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n. 2, p. 151-160, 2008.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997.

ROSA, C. C. B.; MARTINS, M. L. L.; FOLLY, M. M. Avaliação microbiológica de hortaliças provenientes de hortas comunitárias de Campos dos Goytacazes, RJ. **Higiene Alimentar,** Rio de Janeiro, n. 134, p.75-80, ago. 2005.

SANTANA, L. R. R. et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 2, p. 264-269, 2006.

SÃO PAULO. Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo: Centro de Vigilância epidemiológica. **Instituto Adolfo Lutz e Manual das doenças transmitidas por alimentos e águas**. São Paulo. 2003.

SGANZELAR, E. **Nova agricultura:** a fascinante arte de cultivar com plásticos. 2. ed. Porto Alegre: Petroquimica Triunfo, 1990, 303p.

SILVA, C. G. M.; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. L. M. Ocorrência de *Cryptosporidium spp*. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 63-69, 2005.

SILVA, C. G. M.; OLIVEIRA, A. M.; STAMFORD, T. L. M. Enteroparasitas em vegetais: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 109, p. 13-18, 2002.

SILVA JUNIOR, E. A. Fundamentos em microbiologia importantes. In: **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos.** 2.ed. São Paulo: Varela, 1995.

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

SILVA, N. R. et al. Morbidity and mortality due to ascariasis: re-estimation and sensitivity analysis of global numbers at risk. **Trop. Med. Inter. Health, London,** v. 2, n. 6, p. 519-528, 1997.

SLIFKO, T. R; SMITH, H. V; ROSE, J. B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. **Inter. J. Parasitol.**, v. 30, n. 12-13, p. 1379-1393, 2000.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,** v. 42, n. 3, p. 455-460, 2006.

SORIANO, J. M. Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurents. **Food Microbiology**, v. 18, p. 159-163, 2001.

TAKAYANAGUI, O. M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop**., v. 34, n. 1, p. 37-41, 2001.

TAKAYANAGUI, O. M. et al. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.**, v. 39, n. 2, p. 224-226, 2006.

TAKAYANAGUI, O. M. et al. Avaliação da contaminação de hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão Preto, SP. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.**, v. 40, n. 2, p. 239-241, 2007.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.) *Enterobacteriaceae*, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. in: APHA/TCMMF. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington 2001a.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.) Fruits and vegetables. in: APHA/TCMMF. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington 2001b.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.) *Salmonella.* in: APHA/TCMMF. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington 2001c.

ZANINI, G. M.; TEIXEIRA, C. G. Inactivation of infective larvae of *Angiostrongylus costaricencis* with short time incubations in 1,5% bleach solution, vinegar or saturated cooking salt solution. **Acta Tropica,** v. 78, p. 17-21, 2001.

# APÊNDICE A

**TABELA 4:** Resultado das análises microbiológicas e parasitológicas de cada amostra dos supermercados.

| ESTABELECIMENTO COMERCIAL | COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) | COLIFORMES A 45°C (NMP/g) | PESO DA AMOSTRA (g) | ENTEROPARASITAS PRESENTES |
|---|---|---|---|---|
| **S1 (amostra 1)** | 1,7 | 1,7 | 211 | Ovos de *Trichostrongylus* spp, larvas de *Strongyloides* spp., cisto de *Entamoeba coli* |
| **S1 (amostra 2)** | $1,1x\ 10^2$ | 1,4 | 230 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar*, *Entamoeba. coli* e *Endolimax nana* |
| **S1 (amostra 3)** | $4,2x10^2$ | $1,1x10^1$ | 190 | Ovos de *Trichostrongylus* spp, cistos de *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* |
| **S1 (amostra 4)** | $4,0x10^2$ | $1,7x10^2$ | 180 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba coli* |
| **S1 (amostra 5)** | $1,1x10^3$ | $1,2x10^1$ | 220 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **S2 (amostra 1)** | $7,9x10^3$ | 8,7 | 364 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *E. coli* |
| **S2 (amostra 2)** | $1,5x10^4$ | 7,6 | 382 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *E. coli* |
| **S2 (amostra 3)** | $8,1x10^2$ | 7,8 | 330 | Cistos de *Endolimax nana* |
| **S2 (amostra 4)** | $8,6x10^4$ | $8,6x10^1$ | 332 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **S2 (amostra 5)** | $9,6x10^4$ | $9,6x10^1$ | 379 | Cistos de *Entamoeba coli* |

Legenda: S1 = supermercado 1; S2 = supermercado 2; S3 = supermercado 3; S4 = supermercado 4.

| ESTABELECIMENTO COMERCIAL | COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) | COLIFORMES A 45°C (NMP/g) | PESO DA AMOSTRA (g) | ENTEROPARASITAS PRESENTES |
|---|---|---|---|---|
| **S3 (amostra 1)** | $7,3x10^2$ | 00 | 153 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **S3 (amostra 2)** | $8,6x10^2$ | $1,5x10^1$ | 180 | Trofozoíto de *Giárdia* ssp., cistos de *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* |
| **S3 (amostra 3)** | $7,9x10^2$ | 1,3 | 164 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba coli* |
| **S3 (amostra 4)** | $8,2x10^2$ | 3,7 | 171 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba coli* |
| **S3 (amostra 5)** | $7,4x10^2$ | $2,8x10^1$ | 155 | Cistos de *E. histolytica / E. díspar* |
| **S4 (amostra 1)** | $5,3x10^3$ | $1,1x10^2$ | 277 | Ausente |
| **S4 (amostra 2)** | $1,0x10^3$ | $1,9x10^1$ | 242 | Ovos de *Trichostrongylus* spp, larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *Entamoeba coli* |
| **S4 (amostra 3)** | $9,8x10^4$ | $9,8x10^1$ | 216 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* |
| **S4 (amostra 4)** | $1,0x10^5$ | $3,9x10^1$ | 243 | Cistos de *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* |
| **S4 (amostra 5)** | $9,9x10^4$ | $1,7x10^1$ | 249 | Cistos de *Entamoeba coli* |

Legenda: S1 = supermercado 1; S2 = supermercado 2; S3 = supermercado 3; S4 = supermercado 4.

**TABELA 5:** Resultado das análises microbiológicas e parasitológicas de cada amostra dos mercados públicos.

| ESTABELECIMENTO COMERCIAL | COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) | COLIFORMES A 45°C (NMP/g) | PESO DA AMOSTRA (g) | ENTEROPARASITAS PRESENTES |
|---|---|---|---|---|
| **M1 (amostra 1)** | $1,7x10^5$ | $7,9x10^1$ | 243 | Larvas de *Strongyloides* spp.,cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar*, *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* |
| **M1 (amostra 2)** | $9,7x10^3$ | $6,1x10^2$ | 227 | Larvas de *Strongyloides* spp.,cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar*, *Entamoeba coli* e *Endolimax nana* |
| **M1 (amostra 3)** | $2,8x10^5$ | $2,7x10^4$ | 205 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **M1 (amostra 4)** | $1,4x10^5$ | $1,4x10^2$ | 211 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **M1 (amostra 5)** | $1,3x10^5$ | $5,9x10^2$ | 208 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *Entamoeba coli* |
| **M2 (amostra 1)** | $1,3x10^4$ | $1,3x10^3$ | 189 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* |
| **M2 (amostra 2)** | $2,2x10^3$ | $7,2x10^1$ | 165 | Cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *Entamoeba coli* |
| **M2 (amostra 3)** | $4,7x10^4$ | $1,8x10^1$ | 170 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **M2 (amostra 4)** | $1,1x10^4$ | 1,1x10 | 180 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **M2 (amostra 5)** | $5,5x10^3$ | 00 | 200 | Ausente |

Legenda: M1 = mercado publico 1; M2 mercado publico 2; M3 = mercado publico 3; M4 = mercado publico 4.

| ESTABELECIMENTO COMERCIAL | COLIFORMES TOTAIS (NMP/g) | COLIFORMES A 45°C (NMP/g) | PESO DA AMOSTRA (g) | ENTEROPARASITAS PRESENTES |
|---|---|---|---|---|
| **M3 (amostra 1)** | $1,7x10^4$ | $1,7x10^4$ | 359 | Ausente |
| **M3 (amostra 2)** | $1,8x10^4$ | $1,8x10^4$ | 203 | Ausente |
| **M3 (amostra 3)** | $1,6x10^4$ | $3,0x10^2$ | 558 | Larvas de *Strongyloides* spp. |
| **M3 (amostra 4)** | $3,0x10^2$ | $7,3x10^2$ | 282 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* |
| **M3 (amostra 5)** | $1,8x10^4$ | $7,0x10^1$ | 271 | Larvas de *Strongyloides* spp., cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* |
| **M4 (amostra 1)** | $2,1x10^4$ | $1,2x10^1$ | 224 | Ausente |
| **M4 (amostra 2)** | $1,0x10^4$ | $4,0x10^1$ | 220 | Cistos de *Entamoeba coli* |
| **M4 (amostra 3)** | $4,8x10^4$ | $4,0x10^1$ | 220 | Ovos de *Trichostrongylus* spp, larvas de *Strongyloides* spp. e cistos de *Entamoeba coli* |
| **M4 (amostra 4)** | $1,1x10^4$ | $4,2x10^1$ | 231 | Larvas de *Strongyloides* spp.,cistos de *Entamoeba histolytica / E. díspar* e *Entamoeba coli* |
| **M4 (amostra 5)** | $1,1x10^4$ | $4,1x10^1$ | 224 | Larvas de *Strongyloides* spp. e cistos de *Entamoeba coli* |

Legenda: M1 = mercado publico 1; M2 mercado publico 2; M3 = mercado publico 3; M4 = mercado publico 4.

# Livros Grátis

( http://www.livrosgratis.com.br )

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo