

**JAÍNE GONÇALVES GARCIA**

*Centro Universitário Fundação Santo André,  
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

**PRISCILA BATISTA FISCHER**

*Centro Universitário Fundação Santo André,  
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

**MARCIA ZORELLO LAPORTA**

*Centro Universitário Fundação Santo André,  
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

**PRISCILA REINA SILIANO**

*Centro Universitário Fundação Santo André,  
FSA, Santo André, SP, Brasil.*

*Recebido em novembro de 2020.  
Aprovado em dezembro de 2020.*

## ANÁLISE COMPARATIVA DE CONTAMINAÇÃO POR ESCHERICHIA COLI EM ALFACES ORGÂNICAS E NÃO-ORGÂNICAS

### RESUMO

O consumo de verduras tem um importante papel na alimentação da população, todavia também está veiculando com a transmissão de doenças infecciosas, pois a água utilizada na irrigação pode estar contaminada e o solo pode abrigar diversos microrganismos patogênicos. O presente estudo analisou amostras de alfaces orgânicas e não orgânicas para verificar a presença de Escherichia coli usando duas técnicas diferentes: método Colitag® se baseia na produção de fluorescência sob luz ultravioleta através de enzimas cromogênicas que são produzidas somente por estes coliformes e outra técnica utilizada foi o plaqueamento através da membrana filtrante no meio de cultura Ágar M-Endo, que consiste em filtrar a água de análise e reter as bactérias na membrana, para posterior introdução na placa de Petri em cultura Ágar M-Endo. Outro objetivo do trabalho, foi testar a eficiência da água sanitária na higienização das alfaces. Para a higienização, as amostras foram deixadas em solução de água sanitária por 20 minutos. Independentemente do método utilizado, em todas as amostras de alface sem higienização prévia foi constatada a presença do coliforme Escherichia coli, porém após a higienização todas as amostras se mostraram negativas para E. coli. Este estudo reafirma a importância da higienização de folhas usadas na alimentação, evitando assim infecções alimentares que podem ser potencialmente graves.

**Palavras-Chave:** *escherichia coli*; coliformes; higienização; alface.

TITLE  
TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE TITLE

### ABSTRACT

The consumption of vegetables plays an important role in the population's diet, however it is also linked to the transmission of infectious diseases, as the water used for irrigation can be contaminated and the soil can house several pathogenic microorganisms. In this study, organic and non-organic lettuces were analyzed to check for the presence of Escherichia coli using two different techniques: Colitag® method is based on the production of fluorescence under ultraviolet light through chromogenic enzymes that are produced only by these coliforms and another The technique used was plating through the filtering membrane in the M-Endo Agar culture medium, which consists of filtering the analysis water and retaining the bacteria in the membrane, for later introduction into the Petri dish in M-Endo Agar culture. Another objective of the work was to test the efficiency of bleach in the cleaning of lettuces. For cleaning, as they were left in a bleach solution for 20 minutes. Regardless of the method used, the presence of the coliform Escherichia coli in all of them, such as lettuce without prior hygiene, was found, however, after cleaning all characteristics as being negative for the presence of E. coli. The present work reaffirms the importance of cleaning the leaves used in food, thus avoiding dietary changes that can be potentially serious.

**Keywords:** *escherichia coli*; coliforms; sanitation; lettuce.

## INTRODUÇÃO

O consumo de verduras cruas desempenha importante papel na transmissão de várias doenças infecciosas pela frequente prática de irrigação de hortas com água contaminadas por material fecal ou mesmo adubadas com dejetos humanos. (TAKAYANAGUI et al. 2000). As verduras que são geralmente ingeridas cruas fazem parte de uma vasta gama de alimentos responsáveis pela transmissão de doenças entéricas. (BONILHA; FALCÃO, 1993). Avaliam-se então as condições higiênico-sanitárias precárias através da alta proporção de *E.coli*. (CARDOSO et al. 2001).

A agricultura orgânica é um meio alternativo definido como um sistema que exclui o uso de pesticidas e agrotóxicos e seu sistema busca benefícios sociais como autossustentação, redução da dependência de insumos e preservação do meio ambiente através da otimização do uso de recursos naturais. (SANTANA et al. 2006). Verifica-se uma tendência cada vez maior do consumo de verduras orgânicas, produtos frescos e sem veneno. (WUERGES et al. 2007). Porém a possibilidade de contaminação microbiológica em alimentos orgânicos é maior devido ao tipo de adubação (uso de esterco animal e sem uso de agrotóxicos). (ARBOS et al. 2010).

A contaminação da hortaliça é um fator limitante para sua comercialização. As Condições sanitárias precárias favorecem essa contaminação, os vegetais se tornam veículos de transmissão de patógenos. A contaminação pode ocorrer durante o plantio, na comercialização e consumo desses vegetais (ABREU et al., 2010).

Observar a incidência de contaminação bacteriana em alimentos manipulados, tanto por comerciantes quanto por clientes, é fundamental para evitar infecções alimentares. A importância dessa pesquisa é apontar, através dos resultados, a importância de seguir procedimentos de higiene para reduzir contaminações em alimentos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 10 maços de alfaces, separados em 5 orgânicos e 5 não-orgânicos em que foram retiradas amostras de folhas externas e internas de cada maço em triplicata. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Biologia da FAFIL no Centro Universitário Fundação Santo André.

O método Colitag® baseia-se na produção  $\beta$ -galactosidase pelos coliformes. Quando há reprodução de coliformes na solução contendo o reagente, a  $\beta$ -galactosidase metaboliza o indicador de nutriente cromogênico 0-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) e o altera de incolor para amarelo. O coliforme *Escherichia coli* utiliza a  $\beta$ -galactosidase para metabolizar o substrato fluorogênico 4-metil-umbeliferil- $\beta$ -D-glucoronídeo (MUG) e criar fluorescência. Estas enzimas são produzidas somente por estes coliformes, proporcionando segurança ao resultado.

As amostras de cada maço de alfaces (pequenos fragmentos), foram colocadas em triplicata (folhas externas do lado direito e esquerdo e folhas internas do meio do maço) em garrafas com 100ml de água destilada, ambas autoclavadas, e com o Colitag®. Todas as amostras foram incubadas a 36-37°C, por 24 horas.

Após a incubação, a amostra que apresentou coloração amarelo cítrico foi indicador da presença de coliforme e ao apresentar coloração azul fluorescente em exposição de luz ultravioleta foi indicativo de presença de *Escherichia coli*.

A técnica da membrana filtrante se baseia na filtração de volume adequado por membrana de porosidade adequada, esses filtros possuem poros de tamanho suficientemente pequeno para a retenção do microrganismo desejado. Dessa forma, as bactérias com dimensões maiores ficam retidas na superfície da membrana, que é transferida para uma placa de Petri com o meio seletivo.

A membrana (Unifil, Brasil) utilizada tem porosidade de 0,45  $\mu$ m (designada para bactérias) e foi utilizado o meio de cultura Ágar M-Endo (Merck, Alemanha). O procedimento seguiu-se por sucção à vácuo em kitasato contendo copo estéril e membrana

filtrante. A água destilada contida nas garrafas esterilizadas foi filtrada depois de ter sido agitada com as amostras de alface. Após a filtração, retirou-se a membrana com o auxílio de uma pinça de inox e esta membrana foi colocada na superfície M-Endo. As amostras foram incubadas a 36-37°C, por 24 horas. Após a incubação as amostras que apresentaram colônias com brilho metálico confirmaram a presença de coliformes.

Uma amostra de cada maço de alface passou pelo procedimento de higienização com água sanitária, onde foram imersas em solução (diluição segundo o fabricante) por 20 minutos. Após o procedimento de higienização, as amostras foram submetidas ao teste de membrana filtrante com meio de Cultura M Endo para observação de *E. coli* sobreviventes ao processo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das amostras testadas com o reagente Colitag® demonstraram a presença de *Escherichia coli* em 100% das amostras analisadas. Não havendo diferença entre as amostras de alface orgânicas e não-orgânicas, e as amostras (folhas das alfaces) internas e externas também obtiveram os mesmos resultados.

Os resultados das amostras cultivadas no meio de cultura Ágar M-Endo demonstraram a presença de coliformes, em 100% das amostras analisadas. Portanto, fica constatado que não há diferença entre alface comum e alface orgânica, e as amostras de folhas internas e externas também obtiveram os mesmos resultados, assim como nas diferentes técnicas de detecção de *E. coli*.

Após higienização com hipoclorito de sódio, todas as amostras apresentaram resultado negativo para *E. coli*, reafirmando o potencial bactericida do agente desinfetante.

Segundo Rodrigues et al. (2011), qualquer alimento que o homem consome pode estar contaminado por microrganismos, podendo ocasionar em seu consumidor, dependendo do nível de contaminação bacteriana, uma intoxicação ou infecção. Os produtos frescos eram considerados seguros, pois são de consumo rápido, porém com a alta taxa de consumo de hortaliças a preocupação referente a contaminação por microrganismos se tornou acentuada devido a irrigação, plantio e manuseio de forma inadequada. (FARBER, 2000; GOPAL et al., 2000).

Amostras de alface analisadas em Brasília - DF, sendo amostras de alface comum, amostras de alface hidropônico e amostras de alface orgânico, apresentaram a presença de *Salmonella sp.*, indicando a falta de cuidados no processo do plantio até o consumidor. (RODRIGUES, 2007). Também no Distrito Federal foram analisadas amostras de alfaces orgânicas a fim de analisar a qualidade microbiológica das alfaces e 97% das amostras apresentavam coliformes fecais. (SILVA, 2005)

A eficiência do hipoclorito de sódio a 1%, que diminuiu a carga microbiana nas amostras testadas, assim, as boas condições de higiene proporcionam alimentos de qualidade que podem evitar doenças alimentares (RODRIGUES et al 2011; MOREIRA et al, 2013). A Secretária de Vigilância do Ministério da Saúde busca constantemente o aperfeiçoamento do controle sanitário, os critérios e padrões microbiológicos para alimentos é essencial para a prestação de serviço de produtos alimentícios visando a saúde pública no Brasil. (BRASIL, 1998).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo desse trabalho foi comparar o nível de contaminação por coliformes, principalmente *Escherichia coli*, entre alfaces orgânicas e não orgânicas, além do teste de higienização de cada pé de alface. Dessa forma, foram realizadas duas técnicas diferentes para a comprovação da existência de bactérias nas alfaces.

Independentemente do método utilizado, em todas as amostras de alface sem higienização prévia foi constatada a presença do coliforme *Escherichia coli*, porém após

a higienização todas as amostras se mostraram negativas para *E. coli*. Este estudo reafirma a importância da higienização de folhas usadas na alimentação, evitando assim infecções alimentares que podem ser potencialmente graves.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, Ingergleice Machado de Oliveira et. al. Qualidade microbiológica e produtiva de alface sob adubação química e orgânica. *Ciência e tecnologia de alimentos*. Campinas, v.30, n.1, p.108-118, maio 2010.
- ARBOS, Kettelin Aparecida et. al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. *Ciência e tecnologia de alimentos*. Campinas, v.30, n.1, p.215-220, 2010.
- BONILHA, Paulo Roberto Martins e FALCÃO, Deise Pasetto. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. *Alimentação e Nutrição*. São Paulo, v.5, p.87-97, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997. Regulamento técnico - Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2/7/98, p.4-13, 1998.
- CARDOSO, A. L. S. P. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descaldado. *Arquivo do Instituto de Biologia*. São Paulo, v. 68, n. 1, p. 19-22, jan/jun, 2001.
- FARBER, J. Microbiological issues surrounding the safety of fresh cut produce. In: *WORLD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 10., 2000. Abstract Book... Sydney, Australia: Senado nacional, 2000. p. 11
- GOPAL, A. et al.. Application of non-conventional disinfection techniques to extend the shelf-life of minimally processed foods. In: *WORLD CONGRESS OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 10., 2000. Abstract Book... Sydney, Australia: Senado nacional, 2000.
- MOREIRA, Inácia dos Santos et. al. Eficiência de soluções antimicrobiana na desinfecção de alface tipo crespa comercializada em feira livre. *Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. V.8, n.2, p.171-177, abr-jun, 2013.
- RODRIGUES, C. S. Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF. Brasília. 2007. 29 f. Monografia (Graduação) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- RODRIGUES, Diandra Graciela ET. al. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. *Revista Saúde e Pesquisa*. V. 4, n. 3, p. 341-350, 2011.
- SANTANA, Ligia Regina R. de et. al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. *Ciência e tecnologia de alimentos*. Campinas, v.26, n.2, p.264-269, abr.-jun. 2006.
- SILVA, M.P., CAVALLI, D.R., OLIVEIRA, T.C.R.M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciência, Tecnologia e Alimentação*. Campinas, v.26, n. 2, p. 352-359, abr.-jun. 2006.
- SILVA, V. P. B. V. Análise da conformação de qualidade da alface orgânica certificada produzida no Distrito Federal. 2005. 164 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

TAKAYANAGUI, Osvaldo M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. São Paulo, v.34, n.1, p.37-41, jan.-fev.,2001.

WUERGES, E. w., e SIMOM, A. A. Freiras-Livres como uma forma de popularizar a produção e o consumo de hortifrutigranjeiros produzidos com base na Agroecologia. Revista Brasileira de Agronomia. V.2, n.2, p. 567-570, out. 2007.