

Área: Ciência de Alimentos

***Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA EM ALFACES (*Lactuca sativa*) PROVENIENTES DE DOIS TIPOS DE CULTIVO COMERCIALIZADAS EM FEIRAS DA CIDADE DE PELOTAS - RS**

**Pâmela Inchauspe Corrêa Alves*¹, Letícia Zarnott Lages², Tatiane Kuka Valente³
Gandra, Eliezer Avila Gandra⁴**

¹Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS - *pam.inchauspe@hotmail.com

²PPGNA, LACABIM, UFPel, Pelotas, RS - leticiazarnott@hotmail.com

³CCQFA, UFPel, Pelotas, RS – tkvgandra@yahoo.com.br

⁴LACABIM, CCQFA, UFPel, Pelotas, RS - gandraea@hotmail.com

RESUMO – Entre as hortaliças folhosas popularmente consumidas no Brasil destaca-se a alface (*Lactuca sativa*), a qual apresenta atributos nutricionais benéficos para os consumidores, além de baixo custo e facilidade de aquisição. Apesar das inúmeras vantagens, a alface é um dos alimentos de consumo cru com o maior índice de contaminação, a qual pode estar relacionada a falha em alguma das etapas da cadeia de produção e das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores. O objetivo do estudo foi avaliar e comparar a enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em alfaces, provenientes dos sistemas de cultivo tradicional e orgânico, comercializadas em feiras da cidade de Pelotas-RS, no período de janeiro a dezembro de 2016. Foram coletadas 80 amostras de cultivo tradicional e 80 amostras de cultivo orgânico. Para realizar as análises de *Staphylococcus* coagulase positiva foi utilizada a técnica de plaqueamento em superfície, conforme a *American Public Health Association*. O estudo demonstrou que 28 amostras provenientes do cultivo tradicional e 26 amostras provenientes do cultivo orgânico excederam o parâmetro preconizado pela legislação vigente quanto à contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, indicando condições higiênicas inadequadas. Observa-se neste estudo a necessidade de introduzir as boas práticas de produção e procedimentos padrão de higiene operacional, visando a melhoria higiênica das cadeias destas hortaliças desde o cultivo até a comercialização.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, hortaliça, cultivo orgânico, cultivo tradicional.

1 INTRODUÇÃO

Os vegetais são largamente recomendados na alimentação diária, devido ao teor de nutrientes necessários para o funcionamento adequado do organismo humano, como vitaminas, sais minerais e fibras alimentares (FERNANDES et al., 2002; ARBOS et al., 2010; BARBOSA et al., 2016). Entre as hortaliças folhosas

popularmente consumidas no Brasil destaca-se a alface (*Lactuca sativa*), a qual apresenta atributos nutricionais benéficos para os consumidores, além de baixo custo e facilidade de aquisição (MONTANHER et al., 2007; SILVA et al., 2011)

Apesar das inúmeras vantagens, a alface é um dos alimentos de consumo cru com o maior índice de contaminação, a qual pode estar relacionada a falha em alguma das etapas da cadeia de produção e das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores, que ocupam um lugar predominante (TRAVIEZO-VALLES et al., 2004; MOGHARBEL; MASSON, 2005). Dentre esses processos, são diversos os fatores que podem contribuir para que o alimento esteja suscetível a contaminação e o torne um fator de risco para a saúde humana, como o contato com o solo e resíduos orgânicos existentes em adubos, os quais podem ser inseridos de diferentes formas nas lavouras, de acordo com o sistema de cultivo adotado (BEUCHAT, 2002; SANTANA et al., 2006; ARBOS et al., 2010).

O cultivo da alface pode ser praticado na forma tradicional, hidropônica e orgânica. No sistema tradicional, os vegetais desenvolvem-se no solo com o subsídio apropriado de água, nutrientes e a adoção de fertilizantes (STERTZET et al., 2004). No entanto, o cultivo orgânico pode ser definido como 'sistema de produção que evita ou exclui o uso de pesticidas ou agrotóxicos, fertilizantes de composição sintética, reguladores de crescimento ou outros agentes contaminantes (HAMERSCHMIDT, 1998).

Todos os alimentos devem ser produzidos seguindo práticas que resultem em produtos seguros para o consumo humano, independente do sistema de cultivo adotado (ARBOS et al., 2010). Entretanto, a indevida manipulação durante o processamento e distribuição é uma das principais causas de doenças de origem alimentar (RODRIGUES, 2007; NERES et al., 2011). Dentre os micro-organismos indicadores de condições de higiene inadequadas encontra-se o *Staphylococcus aureus*, que, naturalmente, está presente na pele e no trato respiratório superior dos seres humanos e apresenta facilidade no desenvolvimento em alimentos, além da capacidade de produzir toxinas termorresistentes (enterotoxinas), levando à intoxicação alimentar, que causa náuseas, diarreia e vômitos em poucas horas após a ingestão do alimento (MADIGAN et al., 2010).

Diante do exposto, o objetivo do estudo foi avaliar e comparar a enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva* em alfaces, provenientes dos sistemas de cultivo tradicional e orgânico, comercializadas em feiras da cidade de Pelotas-RS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 80 amostras de alface de cultivo tradicional e 80 amostras de cultivo orgânico, no período de janeiro a dezembro de 2016, adquiridas em feiras da cidade de Pelotas-RS. A cada coleta eram analisadas 4 amostras de alface de cultivo tradicional e 4 amostras de cultivo orgânico, totalizando 20 coletas. As análises foram realizadas de acordo com as recomendações propostas pela *American Public Health Association* (APHA) com modificações (DOWNES; ITO, 2001). As amostras foram pesadas com e sem a presença da embalagem, e identificadas. Submeteu-se as amostras a diluições seriadas até a diluição 10^{-6} .

Para a realização da análise de *Staphylococcus coagulase positiva* foram inoculados 0,1 mL de cada diluição seriada, pela técnica de semeadura em superfície, em ágar Baird-Parker e em duplicata. Em seguida, as placas eram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Posteriormente, as colônias eram enumeradas e, no mínimo,

cinco colônias que apresentaram morfologia típica e cinco atípica eram selecionadas para realização do teste de produção de coagulase livre.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, está em vigor a Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece padrões microbiológicos para hortaliças ‘frescas, *in natura*, preparadas (descascadas, selecionadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto’, as quais podem apresentar tolerância de 10^3 UFC.g⁻¹ de alimento para *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2001). Na tabela 1 é possível verificar os resultados encontrados nas análises.

Tabela 1- Quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva em 80 amostras de alfaces com cultivo tradicional e 80 amostras de cultivo orgânico vendidas em feiras da cidade de Pelotas-RS no período de janeiro a dezembro de 2016.

Micro-organismo	Alface tradicional	Alface orgânica
	n (%)	n (%)
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva*	28 (35)	26 (32,5)

n é o número de amostras com a presença do microrganismo analisado; *Amostras com contagens acima de 10^3 UFC.g⁻¹

Praticamente, não houve diferenças entre os dois tipos de cultivo, em relação ao número de amostras com contagens acima de 10^3 UFC.g⁻¹. Baseado no exposto e como pode ser observado na Tabela 1, os resultados obtidos neste estudo revelaram que, dentre as 80 amostras analisadas de alface tradicional, 28 (35%) não atendiam aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Assim como, as amostras de alface orgânica, em que 26 (32,5%) de 80 analisadas também apresentaram contagem superior à permitida pela Resolução citada, mostrando-se assim, impróprias para o consumo humano.

Em um estudo realizado por Cunha et al. (2005), analisaram-se amostras de alfaces de 14 restaurantes e 6 (42,9%) apresentaram *Staphylococcus* sp, sendo que 2 (14,3%) foram confirmadas como *Staphylococcus* coagulase positiva. Corroborando com estes resultados, Junqueira et al. (2009) ao analisarem 31 amostras de saladas em restaurantes do Rio de Janeiro, verificaram a presença desse patógeno acima de 10^3 UFC/g em 32,2% das amostras. Soriano et al. (2000) realizaram um estudo em alfaces servidas numa cantina universitária na Espanha, e na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva observaram resultados positivos em 25% das amostras analisadas (144), mesmo após a lavagem da alface com uma solução aquosa de hipoclorito e de permanganato de potássio. Palú et al. (2002) realizaram um estudo de avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas de restaurantes, e no universo de 30 amostras analisadas, 16 (53%) estavam contaminadas com *Staphylococcus* coagulase positiva. Das 30 amostras apenas 15 eram de salada de alface, e destas 2 (13,3%) estavam não satisfatórias.

Numa investigação feita por Trindade (2014), na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva observou-se resultados positivos em saladas de alface analisadas. Detectou-se a presença de patógeno em 30% das

amostras. No entanto, só 21% das amostras analisadas são não satisfatórias ou inaceitáveis. Monteiro (2016), na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva analisaram-se 34 amostras salada de alface, somente 12 obtiveram resultados satisfatórios e 22 resultados não satisfatórios. A partir dos resultados de todos os estudos citados fica claro que a quantificação expressiva de *Staphylococcus* coagulase positiva verificada em nosso estudo não é um fato restrito as alfaces cultivadas e comercializadas na região de Pelotas - RS.

Segundo Franco e Landgraf (2008), é necessário que a população de *Staphylococcus aureus* seja de pelo menos 10^5 UFC.g⁻¹ no alimento para que haja a formação da enterotoxinas em quantidades capazes de causar intoxicação alimentar, níveis que podem ser alcançados quando a contagem inicial já ultrapassa o limite de 10^3 UFC.g⁻¹. A investigação de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos é necessária por se tratar de uma bactéria que causa intoxicação alimentar, visto que, em poucas horas, as cepas produzem enterotoxinas termoestáveis responsáveis por casos de intoxicações e por ter no manipulador seu principal reservatório (COSTA et al., 2008).

A alface é uma hortaliça consumida normalmente crua, ou seja, para o seu consumo não é realizado tratamento térmico e a lavagem geralmente é incorreta. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva pode estar associada a excessiva e inadequada manipulação dos alimentos, a falta de higienização, a manutenção dos produtos a temperatura inconveniente por longos períodos de tempo e, além disso, pode, eventualmente, estar associado com manipuladores infectados (SABBITHI et al., 2014; TRINDADE, 2014).

4 CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que as amostras analisadas, que excederam o parâmetro preconizado pela legislação vigente quanto à contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, indicam condições higiênicas inadequadas. Observa-se neste estudo a necessidade de introduzir, desde a produção até a comercialização, as boas práticas de fabricação e procedimento padrão de higiene operacional, visando à educação do manipulador e adequação higiênica dos equipamentos, evitando assim a contaminação do produto.

6 REFERÊNCIAS

- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. Segurança alimentar em hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 215-220, maio, 2010.
- BARBOSA, V. A. A.; FILHO, F. C. C.; DA SILVA, A. X. L.; OLIVEIRA, D. G. S.; DE ALBUQUERQUE, W. F.; BARROS, V. C. Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 2, p. 231-242, abr-jun, 2016.
- BEUCHAT, L. R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on row fruits and vegetables. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 413-423, apr. 2002.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Estabelece o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2 de julho de 1998. Legislação Federal.

- COSTA, A. A. et al. Avaliação microbiológica de saladas de vegetais servidas em restaurantes *self service* na cidade de Palmas, TO. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, 15, 27-32. 2008.
- CUNHA, D. F. et al. *Condições higiênico-sanitárias e incidência de Staphylococcus Coagulase positiva em alface (Lactuca sativa) servida em restaurantes self-services*. *Revista biociência*. Taubaté. v. 11, n. 3-4, p. 155-159, jul/set. 2005.
- DOWNES, F. P.; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 676 p. 2001.
- FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; FONSECA, M. C. M. Produtividade, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidropônia, em função de fontes de nutrientes. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 2, p. 195-200, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. **Editora Atheneu**, São Paulo, 2008.
- HAMERSCHMIDT, I. Agricultura orgânica: conceituações e princípios. In: **Anais do 38º Congresso Brasileiro de Olericultura**. Petrolina (PE): ART & MÍDIA, 1998. *cd-rom*.
- JUNQUEIRA, A. R. et al. Estafilococos coagulase positiva em saladas de restaurantes *self-service* da cidade do Rio de Janeiro. *Revista Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, Nilópolis, 1, 1-10. 2009.
- MADIGAN, M. T., MARTINCO, J.M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A. **Microbiologia de Brock**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1126 p.
- MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Perigos associados ao consumo da alface, (*Lactuca sativa*), in natura. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 83-88, jan-mar, 2005.
- MONTANHER, C. C.; CORADIN, D. DE CAMARGO.; FONTOURA-DA-SILVA, S. E. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes self-service por quilo, da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. *Estudos de Biologia: Ambiente e Diversidade*, v. 29, n. 66, p. 63-71, jan-mar, 2007.
- MONTEIRO, S.E.A. Avaliação da qualidade microbiológica de saladas prontas para consumo comercializadas na região de Lisboa. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, 2016.
- NERES, A. C.; NASCIMENTO, A. H.; LEMOS, K. R. M.; RIBEIRO, E. L.; LEITÃO, V. O.; PACHECO, J. B. P.; DINIZ, D. O.; AVERSI-FERREIRA RAGMF, R.; AVERSI-FERREIRA, T. L. Enteroparasitos em amostras de Alface (*Lactuca sativa var.crispa*), no município de Anápolis, Goiás, Brasil. *Bioscience. Journal*, v. 27, p. 336-341, 2011.
- PALÚ, Â. P. et al., 2002. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas em restaurantes self-service privados, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Hig. aliment*, pp.67-74.
- RODRIGUES, C.S. **Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF**. [Trabalho de conclusão de curso]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2007.
- SABBITHI, A. et al., 2014. Microbiological Quality of Salads Served along with Street Foods of Hyderabad, India. *International Journal of Microbiology*, p.6. 2014.
- SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; ALCÂNTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.; RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 2, p. 264-269, abr-jun. 2006.

SILVA, E. M. N. C. P.; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E.; TAVELLA, L. B.; SOLINO, A. J. S. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, abr-jun, 2011.

SORIANO, J. M. et al. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. *International journal of food microbiology*, 58(1), pp.123–128. 2000.

STERTZ, S. C.; PENTEADO, P. T. P. S.; FREITAS, R. J. S. Nitritos e nitratos em hortícolas produzidas pelos sistemas de cultivo convencional orgânico e hidropônico na Região Metropolitana de Curitiba. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 200-207, 2004.

TRAVIEZO-VALLES, L.; D'ÁVILA, J.; RODRÍGUEZ, R.; PERDOMO, O.; PÉREZ, J. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expandidas en mercados del estado Lara. **Parasitologia Latinoamericana**, Santiago, v. 59, p. 167-170, 2004.

TRINDADE, C. H. S. R. Avaliação da qualidade microbiológica de saladas preparadas em restauração pública. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar e Saúde Pública) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 2014.