

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Avaliação microbiológica e parasitológica de alface
(*Lactuca sativa* L.) em hortas de Uberlândia – MG.**

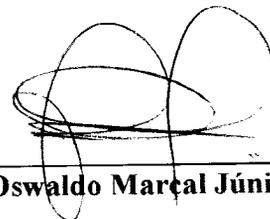
DENISE DE FREITAS DIAS

**Uberlândia - MG
Setembro - 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Avaliação microbiológica e parasitológica de alface
(*Lactuca sativa* L.) em hortas de Uberlândia – MG.**

DENISE DE FREITAS DIAS



Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior

Homologado. Pela coordenação do curso de
Ciências Biológicas em 30/09/06



Cecília Lomônaco de Paula

**Uberlândia - MG
Setembro - 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Avaliação microbiológica e parasitológica de alface
(*Lactuca sativa* L.) em hortas de Uberlândia – MG.**

DENISE DE FREITAS DIAS

**Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas do Instituto de
Biologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.**

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior

**Uberlândia - MG
Setembro – 2006**

“Quem é firme em seu propósito, molda o mundo a seu gosto.”

(Goethe)

Dedico este trabalho e todas as minhas conquistas aos meus pais, e meus irmãos que não mediram esforços para me ajudar, mesmo com as dificuldades e limitações, em nenhum momento deixaram de me apoiar, sendo fundamentais na concretização de mais uma etapa de minha vida.

Agradecimentos:

Agradeço à DEUS por minha vida e por ter colocado as pessoas certas no meu caminho durante a graduação.

À minha mãe, Maria e ao meu pai, Eronides que, esforçando-se ao máximo para que eu tivesse a oportunidade que eles não tiveram, sacrificaram seus sonhos em favor dos meus.

Aos meus irmãos, Daniel e Rafael pela compreensão e auxílio sempre que precisei.

Ao meu orientador Prof. Dr. Oswaldo Marçal Júnior por me indicar os caminhos de uma pesquisa científica, mas acima disso, por ser um exemplo vida, a quem respeito e admiro muito.

Aos professores, Dr^a. Daise Aparecida Rossi, Dr. Júlio Mendes e Maria Amélia dos Santos, por disponibilizarem os laboratórios e o material necessário para a realização desse trabalho.

À minha tia Carmelita, pelo seu apoio durante toda a minha vida, principalmente ao longo da graduação.

Aos meus primos e primas, por serem minha referência, em especial à Mara, Marlene, Marina e a Eliana.

A todos os colegas da 57^a turma de Ciências Biológicas, especialmente às minhas amigas Ana Laura, Mônica, Danielle e Priscila que sempre estiveram ao meu lado, dividindo as alegrias, dificuldades, vitórias...

Aos companheiros Márcia e Rodrigo, que me “abandonaram” ao longo da pesquisa, mas que foram fundamentais no início desse trabalho.

Aos colegas, e técnicos dos laboratórios que direta ou indiretamente contribuíram para que esse estudo se concretizasse, em especial, à Graça e ao Aires Ney.

À todos os profissionais das hortas por colaborarem disponibilizando o material para a confecção deste trabalho.

Enfim agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

Obrigada!

Resumo

O consumo de verduras cruas constitui importante meio de transmissão de várias doenças infecciosas. Este estudo teve como objetivo a avaliação microbiológica e parasitológica de alface (*Lactuca sativa*) cultivada em hortas da cidade de Uberlândia, (MG), bem como análise microbiológica da água de irrigação e análise nematológica do solo. O estudo foi desenvolvido de março 2005 a agosto 2006, com análise de quatro hortas. As amostras de alface foram investigadas microbiologicamente por métodos padronizados e a avaliação parasitológica foi realizada pelo método de sedimentação. A análise de água também envolveu técnicas de microbiologia. O solo foi investigado por meio dos métodos de Baermann e Jenkins. As amostras de alface apresentaram elevada contaminação fecal variando de $< 3,0 \times 10^2$ a $9,3 \times 10^3$ NMP/g e presença de enteroparasitos em 31/ 56 (55,36%). Os ovos e/ou larvas de ancilostomatídeos 9/56 (16,07%) e ovos de *Ascaris sp* 5/56 (8,93%), foram os mais frequentes. As hortas A e B utilizavam água de irrigação dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, enquanto as hortas C e D, apresentaram água com contagens de coliformes fecais acima do padrão. A análise nematológica do solo evidenciou uma grande diversidade de gêneros (15 gêneros distintos), com destaque para presença de *Strongyloides stercoralis*, parasito do homem. Considerando a elevada frequência de contaminação e o potencial risco de doenças veiculadas pela hortaliça em questão, sugerimos uma vigilância sanitária mais atuante na fiscalização das hortas e a população que utilizem métodos confiáveis de desinfecção da alface antes do consumo.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., contaminação fecal, enteroparasitos

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Amostra	9
3.2 Local e Período de coleta das amostras	9
3.3 Análise microbiológica de alface	9
3.3.1 Preparo das amostras de alface	9
3.3.2 Contagem de coliformes totais e fecais	9
3.4 Análise parasitológica de alface	10
3.5 Análise microbiológica de água	11
3.5.1 Coleta da amostras	11
3.5.2 Análise	11
3.6 Análise nematológica do solo	11
3.6.1 Coleta e preparo das amostras	11
3.6.2. Análise	12
3.7 Aplicação de questionário	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1 Microbiologia	14
4.2 Parasitologia	18
4.3 Análise microbiológica da água	27
4.4 Análise nematológica do solo	29
5. CONCLUSÃO	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
APÊNDICE	37

Lista de Abreviaturas

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

NMP – Número mais provável

LST – Caldo Lauril Sulfato Triptose

VB – Caldo Verde Brilhante

EC – Caldo *Escherichia coli*

PCA – Ágar Plate Cont

UFC – Unidade formadora de colônias

OMS – Organização Mundial de Saúde

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

TAF – Solução de trietanolamina (2 mL), formalina (7 mL) e água destilada (91 mL)

Lista de Tabelas

Tabela 1-Contagem de bactérias mesófilas de alface coletadas de quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005. **p.15**

Tabela 2-Contagem de coliformes totais (NMP/g) em amostras de alface coletadas em quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005. **p.16**

Tabela 3-Contagem de coliformes fecais (NMP/g) em amostras de alface coletadas em quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005. **p.17**

Tabela 4-Contagem de bactérias mesófilas, coliformes totais e coliformes fecais em amostras de água utilizada para a irrigação das hortaliças. **p. 28**

Tabela 5-Identificação e frequência de nematóides encontrados por lâmina de solo dos canteiros utilizados para o cultivo de alface em Uberlândia (MG). **p. 30**

Lista de Figuras

Figura 1 - Frequência de contaminação por enteroparasitos em alfaces coletadas em Uberlândia e frequência de distribuição nas hortas coletadas, Horta A, Horta B, Horta C e Horta D, no período de março a outubro de 2005. **p. 19**

Figura 2 - Identificação e frequência de enteroparasitos nas hortaliças coletadas em hortas de Uberlândia-MG, no período de março a outubro de 2005. **p. 20**

Figura 3 - Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alface provenientes da horta A, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG. **p. 22**

Figura 4 - Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alface provenientes da horta B, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG. **p.23**

Figura 5 - Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alface provenientes da horta C, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG. **p.24**

Figura 6 - Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alface provenientes da horta C, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG. **p.25**

1. INTRODUÇÃO

Alimentos, de modo geral, quando não submetidos à processos eficientes de higienização, podem se tornar importantes veículos de inúmeros organismos, inclusive patogênicos, podendo trazer complicações ao homem, que vão de simples diarreias até processos mais graves, algumas vezes fatais (RIBEIRO, 1995).

Hortalças cruas são amplamente consumidas, principalmente em saladas, sendo a alface (*Lactuca sativa* L., 1753) uma das principais folhas ingeridas na alimentação (BARUFFALDI et al., 1984). Os nutricionistas afirmam que a maior contribuição das hortalças na dieta humana é o adequado fornecimento de vitaminas, de sais minerais e de fibras vegetais (FILGUEIRA, 2002). Porém as hortalças podem se tornar um importante meio de transmissão de enteroparasitos, já que estes alimentos estão expostos à contaminação desde seu plantio (FELIX, 2000).

A alface pertence à família Cichoriaceae, a mesma das chicórias e almeirões. Esta família era anteriormente incluída nas Compositae ou Asteraceae. É uma hortalça mundialmente conhecida apresentando proteínas, sais minerais, vitamina A, vitamina B1 e B2 e vitamina C. As folhas externas contêm cerca de 30 vezes mais vitaminas do que as folhas internas (GOTO et al., 1998). O solo ideal para o cultivo dessa hortalça é o arenoso-argiloso, rico em matéria orgânica e com boa disponibilidade de nutrientes. Para maior produtividade, é necessário o uso de insumos que melhorem as condições físicas, químicas e biológicas do solo. A matéria orgânica adicionada ao solo na forma de adubos orgânicos, por meio da decomposição provoca o melhoramento das condições do mesmo. Em trabalhos realizados com alface foram observados aumentos na produção e nos teores de nutrientes nas plantas, após a aplicação de adubos orgânicos (RODRIGUES, 1990 apud SANTOS et. al. 2001).

O cultivo tradicional de hortalças utiliza canteiros de terra, onde o vegetal fica em contato com o solo durante seu desenvolvimento. Além disso, a permanência em ambientes úmidos associados a adubos orgânicos, favorece a contaminação que é potencializada em hortalças como a alface, cultivada diretamente em contato com o solo, meio de considerável proliferação bacteriana (NASCIMENTO; MARQUES, 1998). Esta contaminação por enteroparasitos e enterobactérias pode ocorrer de muitas formas, dentre elas, pode ser citado o solo e água de irrigação contaminados por fezes, entulhos e esgotos; práticas de lavagem em tanques de água parada; utilização de adubos constituídos de fezes provenientes de diversos animais e, finalmente por falta de higiene pessoal dos manipuladores (FREITAS et al., 2004).

Nas periferias das cidades de médio e grande porte é comum a existência de grandes áreas denominadas “cinturões verdes”, onde se cultivam frutas e hortaliças que abastecem o mercado consumidor. Muitas vezes, as águas utilizadas na irrigação dessas hortaliças originam-se de córregos e pequenos rios que em algum trecho receberam dejetos humanos, comprometendo sua qualidade. Assim, os alimentos produzidos nestas áreas apresentam-se como via importante de transmissão de enteroparasitos através da via oral, assumindo papel fundamental na disseminação de doenças (BARROS, et al., 1999).

A poluição das águas de irrigação com material fecal as transforma em veículos de transmissão de doenças infecciosas causadas por microrganismos enteropatogênicos responsáveis por cerca de 50% das doenças entéricas (BONILHA, 1986 apud BARROS et al., 1999).

A ingestão de hortaliças cruas contaminadas por enterobactérias tem sido reportada com frequência. Tal fato é preocupante, pois esses contaminantes fecais podem causar gastroenterites e outras infecções extraintestinais (NASCIMENTO et al., 2005). As doenças mais frequentemente ligadas à contaminação fecal por microrganismos são: febre tifóide e paratifóide, salmonelose, gastroenterites (FERNANDEZ et al., 2000, apud PACHECO et al., 2002). Vegetais frescos, especialmente alface, foram identificados como veículos de bactérias patogênicas relevantes para a saúde pública, tais como: *Salmonella* sp., *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* enteropatogênica, enterogênica e enterohemorrágica, além de protozoários, helmintos e vírus da hepatite A (FRANK; TAKEUSHI, 1999 apud NASCIMENTO e SILVA, 2003).

O isolamento e identificação de todos os tipos de microrganismos que podem estar presentes nos alimentos tornariam inviável a análise dos alimentos com a rotina e padronização necessária para torná-las seguras para a saúde pública. Desta forma, são geralmente analisados microrganismos bioindicadores, que possuem protocolo de análise padronizado e de baixo custo e que são capazes de indicar com relativa segurança o potencial de perigo que um alimento possa representar na transmissão de patógenos (com. Pes., ROSSI).

No desenvolvimento do conceito de organismos indicadores de contaminação, por muito tempo prevaleceu o emprego da *E. coli*, isolada e inicialmente denominada de *Bacterium coli* por Theodor Escherichi em 1955. Entretanto, a busca por agilidade e simplicidade deu lugar à utilização disseminada dos “coliformes” e, mais tarde dos “coliformes fecais”, determinados pelo teste da termotolerância, introduzidos por Eijkman em 1904 (MÜLLER e MOSSEL, 1982 apud BASTOS, 1998). Reconhecidamente, o grupo dos

coliformes totais inclui espécies de origem não-exclusivamente fecal, podendo ocorrer naturalmente no solo, na água e em plantas. Já o grupo dos coliformes fecais inclui os microrganismos que aparecem em sua maioria no trato intestinal. No laboratório, a diferença entre coliformes totais e fecais é feita através da temperatura (os coliformes fecais crescem mesmo a 45°C, enquanto os coliformes totais têm crescimento a 35°C). Sua identificação na água e em alimentos permite afirmar que houve presença de matéria fecal, embora não exclusivamente humana, pois os coliformes fecais são encontrados nas fezes de animais homeotermos, portanto inclui o homem e todos os mamíferos (OMS, 1995 apud BASTOS, 1998).

A presença de *E. coli* nos alimentos deve ser avaliada sob dois aspectos. Um deles é que por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que este possui uma contaminação de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas inadequadas, e o outro, é que algumas cepas de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem (FRANCO; LANDGRAF, 2001 apud BALIONI, 2003). Como se sabe, bactérias do grupo coliforme são indicadores de contaminação fecal mais utilizados em água e alimentos, principalmente devido à facilidade de isolamento e identificação, além da predominância em números relativos e tempo de sobrevivência adequados (LEITÃO et al., 1981). Segundo Pacheco et al. (2002) detectar a presença de microrganismos bioindicadores nos alimentos justifica as condutas higiênico-sanitárias como medidas de controle de qualidade, em todo o processo de cultivo e manipulação.

O hábito alimentar de consumir hortaliças cruas, além de gerar doenças provocadas por bactérias, pode expor uma grande parcela da população às formas de transmissão de helmintos e protozoários (SCHAECHTER et al., 2002).

Helmintos são animais multicelulares, que incluem desde espécies de vida livre não causadoras de danos à saúde humana, até espécies patogênicas observadas em grande parte da população (REY, 1991). No Brasil, de um modo geral, os helmintos são de ampla distribuição geográfica, sendo encontrados em zonas rurais ou urbanas de vários estados, com intensidade variável, segundo o ambiente e espécie parasitária, prevalecendo geralmente, em altos níveis onde são mais precárias as condições sócio-econômicas da população (SANTOS et al., 2001). Dentre as helmintoses intestinais humanas, ocupam lugar de destaque entre as doenças parasitárias, destacando-se: ascaridíase, tricuriase, enterobiase, ancilostomíase, estrongiloidíase. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que existam, em todo o mundo, cerca de um milhão de indivíduos infectados por *Ascaris lumbricoides*, sendo que uma parcela pouco menor de indivíduos é infectada por *Trichuris trichiura* e pelos

ancilostomídeos (SANTOS et. al., 2001).

Os danos que os helmintos podem causar a seus portadores incluem, entre outros agravos, a obstrução intestinal (*A. lumbricoides*), a desnutrição (*A. lumbricoides* e *T. trichiura*), anemia por deficiência de ferro (ancilostomídeos), sendo que as manifestações clínicas são usualmente proporcionais à carga parasitária e as diferentes espécies encontradas no indivíduo (CARMO et. al., 2005). Assim, a predominância e desenvolvimento do parasito no organismo humano levam à doenças que variam desde a dificuldade de aprendizado até à morte (NEVES, 1991).

Protozoários são animais unicelulares e englobam espécies de vida livre e espécies parasitas de diversos animais, inclusive do homem (REY, 1991). Protozoários patogênicos são comumente transmitidos por alimentos nos países em desenvolvimento, destacando-se os protozoários dos gêneros *Entamoeba* sp. e *Giardia* sp., cujos cistos podem ser veiculados por água e hortaliças contaminadas. Infecções por *Giardia lamblia*, são responsáveis por diarreia persistente com graves consequências sobre o estado nutricional e desenvolvimento físico e mental, principalmente das crianças (SILVA et. al., 2003).

Os parasitos intestinais estão entre os patógenos mais frequentemente encontrados em seres humanos, constituindo agravo importante à saúde. No entanto, mesmo com a significativa importância na transmissão de enteroparasitos, as técnicas para exames parasitológicos de alimentos, são ainda pouco desenvolvidas. A maioria dos procedimentos visa a identificação de ovos ou larvas nas amostras, através de técnicas como sedimentação espontânea, centrifugação simples e centrifugação simples associada à centrífugo flutuação (OLIVEIRA e GERMANO, 1992).

A preocupação quanto ao aspecto higiênico-sanitário de hortaliças, os principais meios contaminantes e métodos para a redução da contaminação, que é considerada elevada nestes alimentos, levaram ao desenvolvimento de trabalhos científicos em diferentes países. No Brasil várias pesquisas foram realizadas nos últimos anos, com ênfase no cultivo, manipulação, e consumo de hortaliças.

Nascimento et al. (2005) analisaram 42 mostras de alface (*Lactuca sativa*) obtidas de feiras e supermercados do município de São Luís (MA) e encontraram contaminação por *Escherichia coli* em 29 (69%) das amostras.

Balioni et al. (2003) analisaram 20 amostras de alfaces cultivadas com defensivos agrícolas e outras 20 amostras agro-ecológicas; constataram que 75% das amostras agro-ecológicas estavam contaminadas com coliformes fecais e 85% das alfaces cultivadas com agrotóxico apresentaram índices altíssimos de contaminação por coliformes fecais,

observaram ainda o isolamento de *Shigella* em uma das amostras.

Em um trabalho avaliando 30 amostras de alface de restaurantes self-service de Niterói (RJ), quanto à presença de bactérias e parasitos, Paula et al. (2003) detectaram contaminação por coliformes fecais em 53% das amostras, microrganismos mesófilos aeróbios em 53,3% e cistos de *Entamoeba coli* em 9,9% das amostras.

Nascimento e Silva (2003) realizaram uma avaliação da qualidade higiênico-sanitária de 40 amostras de frutas e hortaliças comercializadas no município de Campinas (SP), e detectaram a presença de *E. Coli* em seis (15,0%) das amostras de frutas e hortaliças analisadas, sendo que das 10 amostras de alface, cinco foram positivas (50,0%) e de 10 amostras de repolho, uma amostra foi positiva (10,0%).

Pacheco et al. (2002) analisaram 105 amostras sendo 72 verduras e 33 legumes quanto as condições higiênico-sanitárias, comercializadas no CEAGESP de Sorocaba (SP). Encontraram contaminação por *E. Coli* em 78 (74,29%) das amostras e 32 (36,7%) foram positivas para parasitos, sendo encontrados ancilostomídeos 25 (28,7%) e *Strongyloides* sp. sete (8,0%).

Takayanagui et al. (2001) em Riberão Preto (SP), realizaram avaliação microbiológica e parasitológica de verduras de folha, preferencialmente a alface (*Lactuca sativa*) ou, na sua ausência, almeirão (*Chicorium intybus*), rúcula (*Eruca sativa*), agrião (*Nasturtium officinale*) ou chicória (*Chicorium endivia*); comercializadas no município, abrangendo todos os pontos de venda ao consumidor. Do total de 172 estabelecimentos fixos ou ambulantes analisados, 115 (67%) apresentaram hortaliças com irregularidades: elevada concentração de coliformes fecais em 63%, presença de *Salmonella* em 9% e de enteroparasitos em 33%. Os pontos de venda com maior frequência de hortaliças com resultados inadequados foram: mercearias (92%), CEAGE-SP (75%), quitandas (71%), vendedores ambulantes (71%), feiras-livres (69%), supermercados (52%) e hortas (18%).

Ainda em Riberão Preto (SP), Takayanagui et al. (2006) para avaliarem o risco cumulativo de contaminação de hortaliças, investigaram 45 cadeias de produção de verduras e os resultados revelaram presença de coliformes fecais e/ou parasitos em 31(69%) das 45 cadeias de produção, sendo nas verduras no comércio em 16%, no canteiro em 31% e após lavagem nos tanques em 22%. A água de irrigação apresentou irregularidades em 22% e a água de lavagem de hortaliças em 38%. Das cadeias de produção investigadas 24 (54%) apresentaram contaminação em alguma amostra obtida na horta, mas não no comércio. A irregularidade mais freqüente foi a presença de elevada concentração de coliformes fecais em 10 (22%) das amostras da água de irrigação, 11 (24%) das verduras no canteiro, 15 (33%) da

água dos tanques de lavagem, 9 (20%) das verduras após lavagem e 7 (16%) das verduras no comércio. Constataram ainda a presença de *Salmonella* sp. nas hortaliças e de vários enteroparasitas considerados patogênicos ao homem tanto nas amostras de água como nas de verduras. Também constataram a presença de *Entamoeba* sp., ancilostomídeos, *Ascaris* sp., *Giardia* sp., *Isospora* sp. e *Trichuris* sp.

Guimarães et al. (2003) determinaram a frequência de enteroparasitas em 120 amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados, sacolões e feiras livres de Lavras-MG. Em todas as 120 amostras de alfaces, independente do tipo de estabelecimento comercial (sacolões, supermercado e feiras-livres), encontraram algum tipo de contaminação. As formas parasitárias e/ou contaminantes mais frequentes foram: larvas de nematódeos 47,5% (57/120); ovos de ácaros 41,7% (50/120); ácaros 40,8% (49/120); insetos 34,2% (41/120); ovos de outros nematódeos 30,8% (37/120); oocistos não esporulados 23,3% (28/120), ovos tipo estrogilóide 21,7% (26/120); cistos de *Entamoeba* sp. 5% (6/120) e ovos de *Toxocara* sp. 1,7% (2/120).

Freitas et al. (2004), investigaram a contaminação por enteroparasitos em 150 amostras de alfaces (*Lactuca sativa*), sendo 75 provenientes de supermercados e 75 provenientes de feiras do município de Campo Mourão (PR). Das amostras analisadas, detectaram contaminação por parasitos em 56% (42/75) e 58,7% (44/75), dos supermercados e feiras, respectivamente. Os principais parasitos encontrados nos supermercados foram: *Ascaris* sp. 54,7%, *Toxocara* sp. 2,4%, *Strongyloides* sp. 4,8%, *Entamoeba* sp. 35,7% e *Taenia* sp. 2,4% e em feiras foram: *Ascaris* sp. 13,6%, *Strongyloides* sp. 11,4%, *Entamoeba* sp. 47,7% e *Taenia* sp. 2,3%, *Ancylostoma* sp. 9,1%, *Fasciola hepática* 6,8% e *Trichuris* sp. 9,1%.

Ainda no Estado do Paraná, Guilherme et al. (1999) investigaram as condições sanitárias de hortaliças consumidas cruas, vendidas na Feira do Produtor de Maringá (PR). Para isso, analisaram a contaminação de hortaliças, de produtores (fezes e depósito subungueal) e da água utilizada na irrigação. Constataram que 16,6% das 144 amostras de cinco diferentes hortaliças: alface (*Lactuca sativa*) variedades lisa e crespa, escarola (*Chicorium* sp.), agrião (*Nasturtium officinale*), rúcula (*Eruca sativa*), almeirão (*Chicorium intybus*), salsinha (*Petroselinum sativa*) e cebolinha (*Allium fistulosus*), estavam contaminadas por enteroparasitas. Dos 163 indivíduos analisados, 43 (26%) apresentaram um ou mais parasitas. Quanto aos depósitos subungueais, apenas três foram positivos para enteroparasitas entre os 49 analisados. O resultado da análise microbiológica das amostras de água utilizadas na irrigação das hortaliças não satisfaz os padrões bacteriológicos de

potabilidade.

Em Uberlândia (MG) foram analisados os aspectos sanitários caracterizando os níveis de contaminação microbiológica de frutos e hortaliças. O índice de contaminação para coliformes totais foi de aproximadamente 100% para todos os vegetais analisados, apresentando os maiores índices na cenoura e alface. Para coliformes fecais, a hortaliça que apresentou maiores índices de contaminação foi o alface embora não ultrapassou o nível máximo permitido pela legislação (MARQUES & BONNAS, 1994 apud FELIX, 2000).

Poucos trabalhos têm avaliado a contaminação de hortaliças nos locais de produção, na cidade de Ubelândia-MG, o que dificulta a obtenção de dados sobre a situação das mesmas como veículos na transmissão de patógenos ao homem. Portanto, é importante realizar estudos qualitativos e quantitativos sobre os tipos de organismos presentes nos alimentos, sendo estes indicadores de contaminação, resultando também em constatação das condições higiênico-sanitária dos produtos comercializados pela população. Os resultados poderão ser úteis na orientação dos produtores e comerciantes quanto à necessidade de adotar técnicas mais seguras de manejo das culturas, manipulação e acondicionamento dos alimentos. As informações também poderiam ser úteis para a conscientização da população quanto à necessidade de desinfecção das hortaliças de forma adequada antes do consumo.

2. OBJETIVOS

- Definir os níveis de contaminação por coliformes totais e fecais e parasitos intestinais em amostras de alface cultivadas em hortas da cidade de Uberlândia (MG);
- Identificar as formas de contaminação presentes nessas amostras (ovos, larvas e cistos);
- Avaliar a qualidade microbiológica da água utilizada na irrigação das hortas;
- Investigar a presença de nematóides intestinais no solo utilizado para o cultivo da hortaliça pesquisada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostra

Foram analisadas 56 amostras de alface (*Lactuca sativa*) variedade crespa, sendo o pé de alface a unidade amostral, independente do peso e tamanho e apresentando boa qualidade, estado físico das folhas sem alterações de coloração e/ou forma. Destas, 24 amostras foram analisadas quanto aos padrões microbiológicos e parasitológicos; as demais somente em termos parasitológicos.

3.2 Local e Período de Coleta das amostras

As amostras de alface (*Lactuca sativa* L.) foram adquiridas aleatoriamente em quatro hortas localizadas no perímetro urbano na cidade de Uberlândia, MG, com intervalo médio de 15 dias entre as coletas, num período de sete meses.

As amostras foram acondicionadas individualmente e depositadas em sacos plásticos de coloração negra, evitando contato com a luminosidade; etiquetados adequadamente, com identificação do local e data da coleta. Essas amostras foram levadas para os Laboratórios de Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) e Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), onde foram processadas para as análises microbiológicas e análises parasitológicas, respectivamente.

Além das pesquisas microbiológicas e parasitológicas da alface, foram pesquisados aspectos ambientais associados, especialmente a contaminação do solo e da água utilizada para irrigação dessa cultura.

3.3 Análise microbiológica de alface

3.3.1 Preparo das amostras e homogeneizados

As amostras foram analisadas utilizando o método do Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais e totais, por serem parâmetros microbiológicos estabelecidos pelo Ministério da Saúde (Portaria 01, de 28 de Janeiro de 1987 apud NASCIMENTO, MARQUES, 1998). Foram utilizados métodos padronizados para análise microbiológica alimentos de acordo com Silva et. al. (1997).

Foram retirados 25 g de cada amostra para o preparo dos homogeneizados, com 225 mL de solução peptonada (H2Op) 0,1% (diluição 10^{-1}); logo após foram realizadas às diluições decimais seriadas até 10^{-5} , usando-se solução salina peptonada (0,1%) como

diluyente. Três diluições adequadas da amostra foram selecionadas (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), e com uma pipeta de, no máximo, 10,0 ml; foi inoculada uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição, aos quais foi adicionado 1,0 mL da diluição.

Os tubos de LST foram incubados a 35°C por 48 horas e observados se houve crescimento com produção de gás. Em caso positivo (crescimento e produção de gás) procedeu-se a contagem de organismos.

3.3.2 Contagem de coliformes totais e coliformes fecais

Os tubos de L S T com produção de gás foram repicados, transferindo uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile (VB) e para tubos de Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos foram incubados por 48 horas em estufa a 35°C e em banho-maria a 45°C, respectivamente, e observados quanto à produção de gás. A quantidade de tubos com produção de gás foi anotada e uma alçada foi transferida para os tubos de VB, confirmando a presença de coliformes totais e também para EC, confirmando a presença de coliformes fecais. Em seguida, o Número Mais Provável (NMP)/g ou ml foi calculado com base em uma tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas.

3.3.3 Contagem de bactérias mesófilas

A contagem padrão de bactérias mesófilas foi realizada a partir de diluições seriadas decimais empregando-se como diluyente água peptonada (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), escolhidas em função do nível de contaminação estimado das amostras. Assim um mL de cada diluição foi colocado em placas de Petri esterilizadas, vertendo-se a seguir cerca de 15 mL de ágar Plate Cont (PCA) previamente fundido e resfriado a 45°C. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas em posição invertida em estufa a 35°C por 48 horas. Posteriormente, com o auxílio de um contador de colônias, foi feita a contagem das colônias presentes nas placas. O resultado obtido foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e o resultado foi expresso em número de unidades formadoras de colônias por mL de amostra (UFC/g ou mL).

3.4 Análise parasitológica de alface

As amostras foram processadas de acordo com a técnica descrita por Oliveira e Germano (1992) e adaptada neste trabalho.

Utilizando-se luvas de borracha, as amostras pesquisadas tiveram suas folhas separadas e aquelas manchadas ou deterioradas foram descartadas, bem como o talo. Em uma

bandeja plástica, foram colocados 300 ml de solução de detergente neutro (10 mL de detergente líquido diluídos em dois litros de solução fisiológica recém preparada), no qual foram mergulhadas algumas folhas da amostra esfregando-se toda a superfície com o auxílio de um pincel. Em seguida, as folhas foram levantadas para escorrer o líquido e depois desprezadas. O líquido obtido foi filtrado através de gaze dobrada em quatro e recolhido em um cálice cônico, a bandeja foi lavada por duas vezes com 10 ml de solução detergente, e o líquido obtido foi recolhido no mesmo cálice. Após a sedimentação, o material resultante foi lavado até que o líquido sobrenadante se tornasse claro. Essa solução foi deixada em repouso por 24 horas. O sedimento foi transferido para uma lâmina de vidro, corado com solução de Lugol e coberto por uma lamínula. Foram montadas três lâminas por amostra, estas foram levadas ao microscópio e observadas em objetivas de 10 x e 40 x para identificação de ovos e larvas dos parasitos.

3.5 Análise microbiológica da água

3.5.1 Coleta das amostras

Foram coletadas uma amostra de 200 mL da água utilizada na irrigação das hortaliças de cada horta investigada. As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis e levadas ao Laboratório de Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) para a análise.

3.5.2 Análise

As amostras foram analisadas quanto ao método do número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais. Usando-se solução salina peptonada 0.1% como diluente. Foram utilizadas as diluições de 10^{-1} a 10^{-3} .

Cada amostra foi bem misturada, invertendo o conteúdo do frasco 25 vezes em arco de 30 cm. Posteriormente, área externa do frasco foi limpa com etanol 70% e foram transferidas cinco porções de cada diluição para os cinco tubos contendo 10 ml de LST. Foram usadas três séries de cinco tubos de LST.

A incubação e contagem de coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos foi feita de acordo o método utilizado nos itens 3.3.2. e 3.3.3.

3.6 Análise nematológica do solo

3.6.1 Coleta e Preparo das amostras

Amostras de solo foram coletadas até a profundidade de 30 cm com auxílio de um

trado, dos diferentes canteiros de alface de cada horta (coleta em zig-zag). Estas foram misturadas em um vasilhame e uma parte (aproximadamente 1 kg) foi acondicionada em um saco plástico e levada para o Laboratório de Nematologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFU.

No laboratório, cada amostra de solo foi cuidadosamente misturada para que se tornasse homogênea.

3.6.2 Análise

A análise nematológica de solo foi realizada pelos métodos de Baermann e Jenkins (DIMITRY, 2000).

- Método do Funil de Baermann

Após a homogeneização da amostra de solo, foi retirada uma alíquota de 50 cm³, colocando-a sobre uma tela plástica previamente forrada com papel facial. Esta foi colocada sobre um funil cônico cheio de água de torneira, no qual estava ligado um tubo de borracha preso na extremidade por uma presilha. O conjunto, assim preparado foi mantido em repouso por 24 horas. Após esse período foi coletada uma alíquota de água do funil (em torno de 20 mL), por meio da abertura da presilha, em tubos de ensaio que foram deixados em repouso por 24 horas. O líquido sobrenadante foi desprezado com o auxílio de uma mangueira, e os tubos foram colocados em banho-maria a 55°C por cinco minutos. Posteriormente foram fixados com TAF (solução de trietanolamina, formalina e água destilada) em concentração dupla para preservar os nematóides.

- Método de Jenkins ou Flutuação centrífuga em solução de sacarose

Uma alíquota de 150 cm³ de solo previamente homogeneizado foi colocada em um balde com dois litros de água de torneira e os torrões de terra foram desmanchados.

A mistura ficava em repouso por 15 segundos, posteriormente era passada numa peneira de 20 mesh, sobreposta a uma peneira de 400 mesh. O resíduo da peneira de maior mesh foi recolhido para um copo de béquer, com auxílio de uma piseta. A suspensão do copo de béquer foi distribuída em tubos para centrifuga que foram centrifugados a 5.000 r p m, por cinco minutos. O líquido sobrenadante foi descartado, adicionando-se ao tubo com sedimento, solução de sacarose (454 g de açúcar em 1 L de água). Estes foram centrifugados novamente a 5.000 r p m por um minuto. Em seguida o sobrenadante foi despejado em uma peneira de 400 mesh, na qual foi adicionando um pouco de água para retirar o excesso de solução de sacarose. O resíduo da peneira foi recolhido com auxílio de uma piseta para um copo de

béquer (em torno de 40 mL). Este líquido obido foi deixado em repouso por 24 horas para sedimentação. O líquido sobrenadante foi desprezado com o auxílio de uma mangueira, e os tubos foram colocados em banho-maria a 55°C por cinco minutos. Posteriormente foram fixados com TAF em concentração dupla para preservar os nematóides.

Após a fixação, foram montadas lâminas pelo método de “pescaria” de nematóides para posterior identificação. A suspensão foi colocada numa placa de Petri e levada sob um microscópico estereoscópico (Lupa), e com o auxílio de um estilete de ponta fina, os espécimes foram retirados da suspensão com fixativo e colocados em lâminas de vidro cobertas por lamínulas. Foram montadas 63 lâminas no total, que foram observadas no microscópio de luz para a identificação dos nematóides.

3.7 Aplicação de questionário

Foram conduzidas entrevistas individuais com os responsáveis ou funcionários das hortas, para investigar os possíveis fatores de risco para a contaminação das hortaliças. O instrumento utilizado para a coleta de dados foi um questionário (Apêndice I)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Microbiologia

A Tabela 1 mostra os resultados obtidos na quantificação de bactérias mesófilas nas amostras de alface.

Evidenciou-se a presença de bactérias mesófilas em todas as amostras analisadas com contagens variando de $4,2 \times 10^5$ a $7,5 \times 10^7$ UFC/g. As amostras provenientes da horta B possuíam as maiores contagens, todas as repetições detectaram contagem igual a 10^7 UFC/g. Embora esse elevado grau de contaminação não possa ser associado diretamente como risco à saúde do consumidor, pois não foram identificadas as espécies, indica que tais alimentos não suportariam o armazenamento por um tempo mais longo podendo gerar prejuízo econômico ao consumidor (PAULA et. al., 2003). A análise de bactérias mesófilas não possui padrão na legislação vigente, no entanto, sua contagem pode indicar as condições higiênicas do produto e do processo de manipulação do mesmo. De maneira geral, quanto maior o número de bactérias mesófilas, maior a probabilidade de presença de microrganismos patogênicos acompanhantes (RAFAEL, 2004).

De acordo com a legislação, a contagem de coliformes fecais para hortaliças consumidas cruas, é de no máximo, 2×10^2 NMP/g. Com os resultados encontrados foi constatado que as amostras de alface das quatro hortas investigadas apresentaram contagens elevadas para coliformes totais e coliformes fecais (Tabelas 2 e 3). As amostras coletadas na horta C apresentaram as maiores contagens de coliformes totais, chegando a valores superiores a $1,1 \times 10^5$ NMP, resultado que concorda com o estudo de Leitão et. al., (1981) no qual constatou a presença de coliformes totais superiores a $1,1 \times 10^4$ em 75,5% das amostras analisadas. Os resultados da Tabela 3 demonstram que em 14/24 (58%) das amostras de alface analisadas em Uberlândia apresentaram um índice de coliformes fecais acima do padrão estabelecido para hortaliças consumidas cruas. A horta C apresentou a maior frequência de contaminação, 6/6 (100%) das amostras estavam acima do padrão estabelecido, e as amostras das coletas 2 e 6 apresentaram contagens bem elevadas de coliformes fecais. Seguida da horta A onde foi encontrada uma frequência de contaminação de 4/6 (66,7%) e duas amostras apresentaram contagem inferior à 3×10^2 NMP/g. Na horta B foi verificada uma frequência de contaminação em 3/6 (50%) das amostras e três amostras apresentaram contagem inferior à 3×10^2 NMP/g. Na horta D encontrou-se a menor frequência de contaminação 2/6 (33,3%) das amostras, sendo que na maioria delas, quatro amostras, foi detectada uma contagem inferior à 3×10^2 NMP/g (Tabela 3).

Tabela 1: Contagem de bactérias mesófilas de alface coletadas de quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005.

Bactérias mesófilas (UFC)/g				
Horta				
Coleta	A	B	C	D
1	$2,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$3,9 \times 10^6$
2	$2,2 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$7,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$
3	$2,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$
4	$1,9 \times 10^6$	$2,7 \times 10^7$	$2,1 \times 10^6$	$6,6 \times 10^5$
5	$4,0 \times 10^6$	$7,7 \times 10^7$	$1,4 \times 10^6$	$8,7 \times 10^5$
6	$4,2 \times 10^5$	$4,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$	$8,7 \times 10^5$

Tabela 2: Contagem de coliformes totais (NMP/g) em amostras de alface coletadas em quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005.

Coliformes totais NMP/g				
Horta				
Coleta	A	B	C	D
1	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$9,2 \times 10^2$
2	$9,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^5$	$3,8 \times 10^3$
3	$< 3,0 \times 10^2$	$9,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$
4	$9,2 \times 10^2$	$4,3 \times 10^3$	$4,6 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$
5	$9,3 \times 10^3$	$3,6 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	$9,2 \times 10^2$
6	$2,1 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^5$	$4,3 \times 10^3$

Tabela 3: Contagem de coliformes fecais (NMP/g) em amostras de alface coletadas em quatro hortas na cidade de Uberlândia-MG, de março à outubro de 2005.

Coliformes fecais NMP/g¹				
Horta				
Coleta	A	B	C	D
1	$< 3,0 \times 10^2$	$< 3,0 \times 10^2$	$2,8 \times 10^3$	$< 3,0 \times 10^2$
2	$9,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$> 1,1 \times 10^5$	$< 3,0 \times 10^2$
3	$< 3,0 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$	$4,2 \times 10^3$	$< 3,0 \times 10^2$
4	$9,2 \times 10^2$	$< 3,0 \times 10^2$	$9,3 \times 10^3$	$< 3,0 \times 10^2$
5	$9,3 \times 10^3$	$< 3,0 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$
6	$2,1 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^5$	$4,3 \times 10^3$

¹ Padrão estabelecido pela legislação 2×10^2 NMP/g.

Como a legislação estabelece o padrão de no máximo 2×10^2 NMP/g, não foi possível estabelecer se as amostras que apresentaram valores inferiores a 3×10^2 NMP/g estão em acordo ou desacordo com o padrão, pois valores inferiores a 3×10^2 NMP/g podem ser superiores ao padrão estabelecido pela legislação. Podemos sim, afirmar com segurança que todas as outras amostras estão acima deste padrão e, portanto, impróprias para o consumo a princípio.

Os resultados obtidos no presente trabalho discordam dos resultados encontrados por Nascimento et. al. (2003) que obteve para alface, contagens baixas de coliformes fecais, menores que $1,26 \log\text{UFC/g}$, estando todas as amostras de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação.

Em um trabalho realizado por Santana et al. (2006) todas as amostras de alface apresentaram contagem de coliformes totais e coliformes fecais, sendo que frequência de amostras que se mostraram acima de $2,0 \times 10^2$ NMP/g no cultivo tradicional foi de 13,33%, um resultado muito inferior se comparado ao nível de contaminação que em nosso estudo, variou de 33,3% a 100% na horta A e B, respectivamente.

No Brasil, estudos têm constatado verduras com alto grau de contaminação por coliformes fecais, sendo a água utilizada na irrigação uma importante fonte de contaminação para as hortaliças (GUIMARÃES et al., 2003). Esse fato ficou comprovado com a análise da água utilizada na irrigação das hortaliças da horta C e D, podendo justificar, em parte, a alta contagem de coliformes fecais nas amostras de alfaces. Uma vez que o adubo orgânico utilizado nos canteiros pode ser outra fonte de contaminação para as amostras de alface avaliadas em nosso estudo.

4.2 Parasitologia

Foram encontrados ovos e/ou larvas de enteroparasitos em 31 amostras analisadas (55,36%), sendo que 9/14 (64,29%) foram originadas da horta B, 8/14 (57,14%) originadas da horta A, 7/14 (50,0%) originadas da horta C e 7/14 (50,0%) originadas da horta D (Figura 1).

As amostras de alface contaminadas da cidade de Uberlândia apresentaram frequência de 18/56 (32,14%) para ovos e larvas de ancilostomatídeos, 9/56 (16,07%) para ovos de *Ascaris* sp., 5/56 (8,93%) para ovos e larvas de *Strongyloides* sp., 2/56 (3,57%) para ovos de *Enterobius* sp., 3/56 (5,36%) para ovos de *Taenia* sp. e 3/56 (5,36%) para ovos de *Toxocara* sp. (Figura 2).

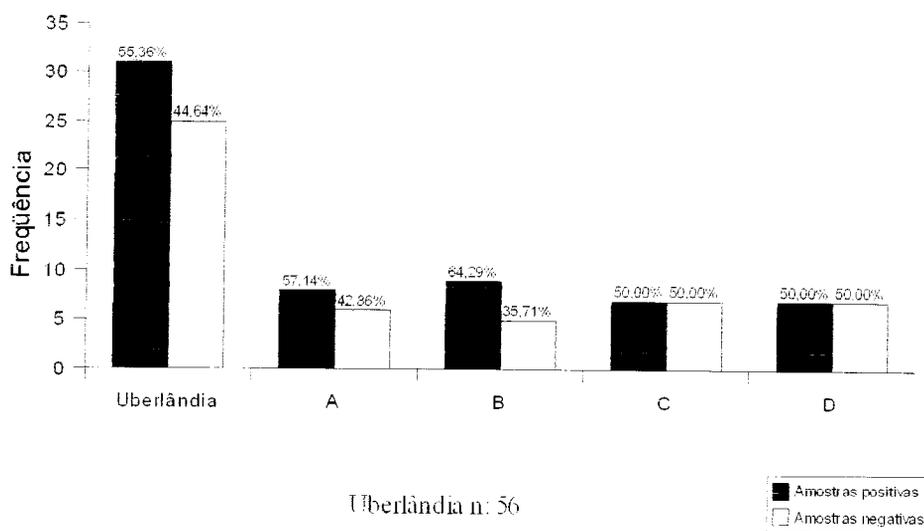


Figura 1: Frequência de contaminação por enteroparasitos em alfaces coletadas em Uberlândia e frequência de distribuição nas hortas coletadas, Horta A, Horta B, Horta C e Horta D, no período de março a outubro de 2005.

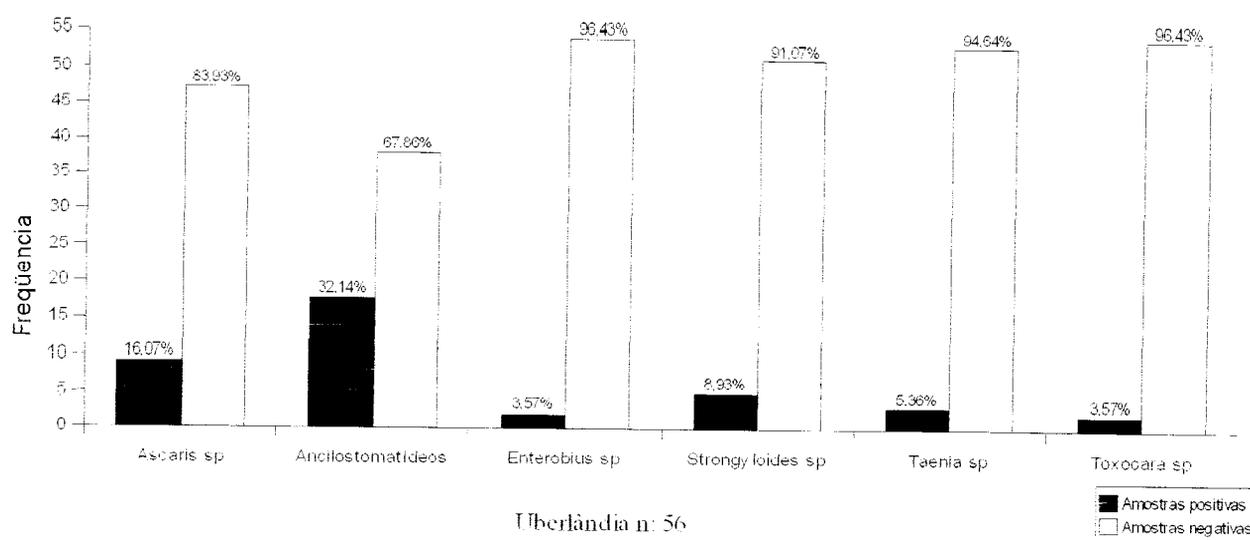


Figura 2: Identificação e frequência de enteroparasitos nas hortaliças coletadas em hortas de Uberlândia-MG, no período de março a outubro de 2005.

A frequência de entoparasitas nas alfaces coletadas na horta A, foi de 4/14 (28,57%) para ovos e larvas de ancilostomatídeos, 2/14 (14,29%) para ovos de *Ascaris* sp., 2/14 (14,29%) para ovos e larvas de *Enterobius* sp. e 1/14 (4,14%) para ovos de *Taenia* sp. (Figura 3). Para alfaces coletadas na horta B, a frequência foi de 7/14 (50,0%) para ovos e larvas de ancilostomídeos, 2/14 (14,29%) para ovos de *Ascaris* sp. e 2/14 (14,29%) para ovos e larvas de *Strongyloides* sp. e 2/14 para ovos de *Toxocara* sp. (Figura 4). Nas alfaces coletadas na horta C foi encontrada frequência de 3/14 (21,42%) para ovos e larvas de ancilostomatídeos, 2/14 (14,29%) para ovos de *Ascaris* sp., 2/14 (14,29%) para ovos e larvas de *Strongyloides* sp., 2/14 para ovos de *Taenia* sp. e 1/14 (7,14%) para ovos de *Toxocara* sp. (Figura 5). Para alfaces coletadas na horta D, a frequência foi de 4/14 (28,57%) para ovos e larvas de ancilostomídeos, 3/14 (21,42%) para ovos de *Ascaris* sp. e 1/14 (7,14%) para ovos e larvas de *Strongyloides* sp. (Figura 6).

Os resultados obtidos revelaram elevados níveis de contaminação por helmintos, o que reflete práticas de cultivo inadequadas do ponto de vista higiênico-sanitário. Esses resultados referem-se às análises efetuadas durante o período de seca, época em que as hortas são irrigadas com maior frequência.

A maioria dos ovos e/ou larvas de parasitos encontrados nas amostras de alface são ancilostomatídeos, concordando com os resultados encontrados por Pacheco et al. (2002) que em um estudo avaliando as condições higiênico-sanitárias de verduras e legumes comercializados em Sorocaba (SP), constataram a presença de ancilostomatídeos em 27,7% das amostras investigadas. Contudo deve ser considerado que outros ovos de parasitos de plantas e animais domésticos, tais como *Meloidogyne* sp. e *Oesophagostomum* sp., respectivamente são muito semelhantes aos ancilostomídeos, dificultando o diagnóstico preciso destes helmintos (BURROWS, 1965; SOULSBY, 1977 apud OLIVEIRA e GERMANO, 1992).

A afirmação de que os parasitos encontrados são de origem fecal humana, só seria possível se utilizássemos técnicas de cultivo de ovos e identificação de larvas, o que se torna muito complexo devido à dificuldade de isolamento de grande quantidade de ovos no material analisado (PACHECO et al., 2002).

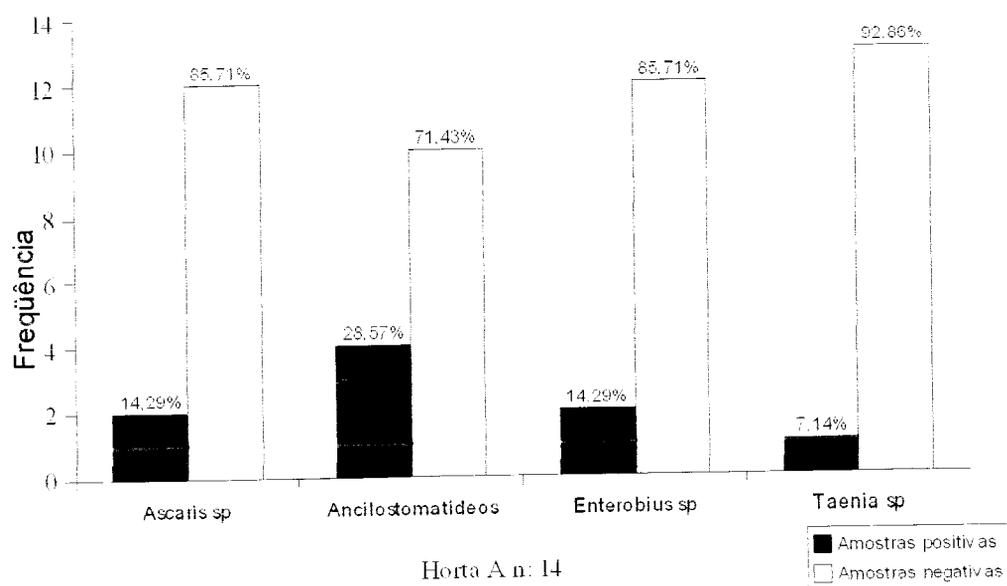


Figura 3: Identificação e freqüência de enteroparasitos nas amostras de alface provenientes da horta A, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG.

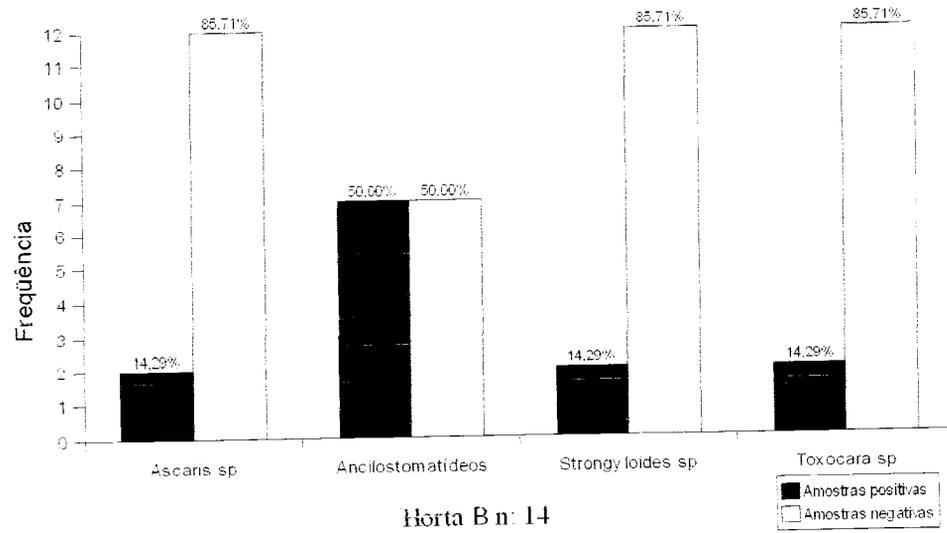


Figura 4: Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alfaces provenientes da horta B, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG.

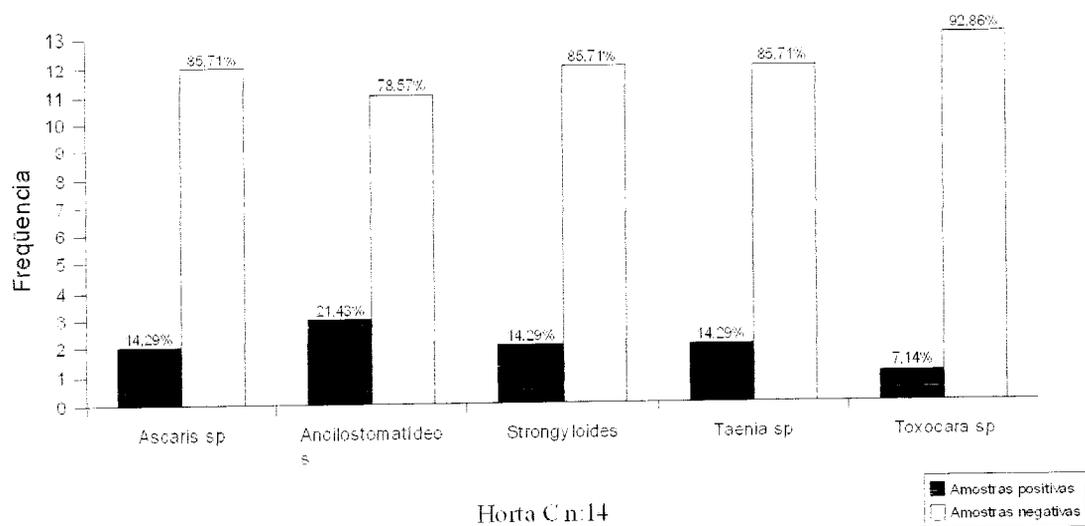


Figura 5: Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alfaces provenientes da horta C, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG.

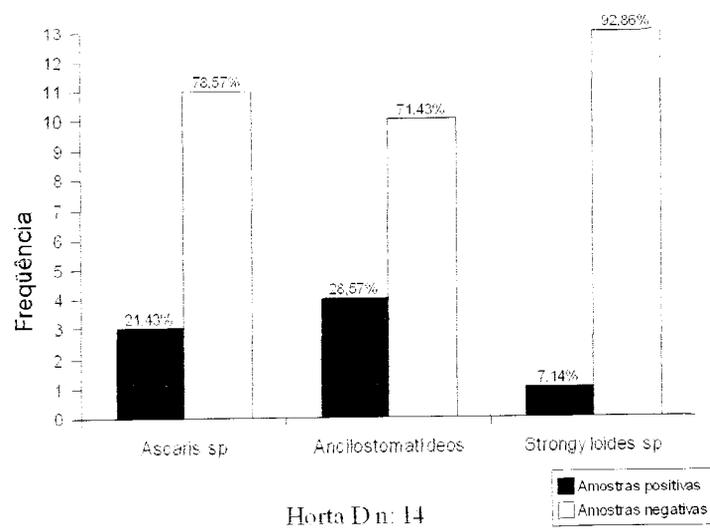


Figura 6: Identificação e frequência de enteroparasitos nas amostras de alfaces provenientes da horta D, coletadas no período de março a outubro de 2005 em Uberlândia-MG.

O segundo contaminante mais encontrado nas amostras foi os ovos de *Ascaris* sp. 9/56 (16,07%). Esse fato pode ser explicado pela maior frequência deste helminto em relação aos outros parasitos, ou pelo fato da morfologia de sua casca conferir maior adesividade às folhas da hortaliça (FREITAS et. al., 2004) e possuírem grande resistência aos fatores do meio externo. No entanto, não é possível afirmar tratar-se de *Ascaris lumbricoides*, pois encontramos no porco uma espécie muito parecida morfologicamente com o parasito humano denominado por alguns autores *Ascaris suum*, enquanto que outros o consideram uma subespécie ou variedade: *A. lumbricoides* var. *suum* (REY, 1991); podendo então, esses ovos encontrados serem provenientes de fezes humanas ou de fezes de porcos, uma vez que, em todas as propriedades é utilizado o adubo orgânico na preparação dos canteiros.

Foi detectada a presença de larvas e/ou ovos de *Strongyloides* sp. em 5/56 (8,93%) das amostras, entretanto, a espécie que parasita o homem, que é o *Strongyloides stercoralis*, não se distingue morfologicamente das espécies que parasitam outros vertebrados, como cães e gatos, por exemplo (REY, 1991).

Cães e gatos foram vistos muitas vezes nas propriedades, apesar de três dos proprietários afirmarem não possuir animais domésticos. Fato que explica a presença de ovos de *Toxocara* sp. em 5/56 (8,93%) das amostras. O *Toxocara* sp. tem como hospedeiro normal o cão, gato e felídeos selvagens, mas podem acometer o homem levando a uma síndrome denominada *larva migrans* cutânea, quando os nematóides penetram no organismo através da pele ; ou uma outra doença denominada *larva migrans* visceral (NEVES, 1991).

Outros parasitos encontrados, como *Enterobius* sp. 2/56 (3,57%) e *Taenia* sp. 3/56 (5,35%) são exclusivos do homem, e fortalecem a hipótese de contaminação por fezes humanas. Os ovos de *Enterobius* sp., além de serem pouco resistentes, geralmente não são eliminados junto com as fezes dos indivíduos parasitados (NEVES, 1991), no entanto foram encontrados em amostras da horta A . Quanto à *Taenia* sp., sabemos que não é possível fazer a identificação da espécie a partir dos ovos, uma vez que não há diferenças morfológica entre os ovos de *Taenia saginata* e *T. solium*. Mas a ingestão de ovos de *Taenia solium*, leva uma grave doença neurológica, a neurocisticercose, que no Brasil é encontrada com elevada frequência nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Goiás (CARMO, 2005). O gado e os porcos são os únicos hospedeiros intermediários das tênias do homem com significação para sua epidemiologia (REY, 1991).

Observamos que há similaridade entre os resultados deste estudo e os encontrados por outros autores no país, embora possam apresentar variação na espécie ou frequência de

enteroparasitos encontrados, explicada, em parte, pela metodologia utilizada no exame parasitológico. Não detectamos cistos de protozoário em nenhuma das amostras, o que se explica pelo fato de não utilizarmos um método mais específico para a verificação dessa forma de parasito como o método de Faust (centrifugo-flutuação).

Guilherme et al. (1999), encontraram frequência de contaminação muito inferior para alface crespa, apenas 2/30 (6,6%) mostraram-se positivas para *Stongyloides* sp. e *Entamoeba coli*, sendo que utilizaram a mesma técnica que utilizamos nesse estudo para detecção de helmintos e utilizaram o método de Faust para verificar a presença de cistos de protozoários.

4.3 Análise microbiológica da água

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos na quantificação de bactérias mesófilas, coliformes totais e fecais nas amostras de água.

De acordo com a resolução do CONAMA (2005), as águas destinadas à irrigação de hortaliças que crescem rente ao solo devem estar dentro dos padrões estabelecidos para águas de classe 1. Desta forma, as amostras de água com esta finalidade não deverão ultrapassar um limite de $1,0 \times 10^3$ NMP de coliformes fecais em 100 mL de água.

Os resultados obtidos permitem classificar a água utilizada na irrigação das hortas A e B como de classe 1, portanto, ambas estão dentro dos padrões estabelecidos pelo CONAMA (2005). Já as amostras de água das hortas C e D, foram classificadas como de classe 2, apresentando contagens de coliformes superiores a $1,0 \times 10^3$ NMP e portanto, acima do valor estabelecido pelo CONAMA (2005) (Tabela 4). Takayanagui et. al. (2001) analisando amostras da água de irrigação e de água utilizada na lavagem de hortaliças detectaram contagens de coliforme fecais acima do padrão em 22% e 38% das amostras, respectivamente.

Barros et al. (1999) analisaram a qualidade das águas de irrigação de cinco hortas e encontraram concentrações médias de coliformes fecais nas águas de irrigação que variaram entre $1,1 \times 10^2$ a $3,2 \times 10^4$ NMP na época de chuva e de $3,2 \times 10^3$ até $7,9 \times 10^4$ NMP na época de estiagem, sendo que 88% das amostras continham coliformes fecais acima dos padrões recomendados pelo CONAMA (1986).

Tabela 4: Contagem de bactérias mesófilas, coliformes totais e coliformes fecais em amostras de água utilizada para a irrigação das hortaliças.

Horta	Bactérias mesófilas (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/100 ml de amostra)	Coliformes fecais (NMP/100 ml de amostra)¹
A	$3,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$
B	$5,2 \times 10^3$	$4,7 \times 10^2$	$4,7 \times 10^2$
C	$3,8 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$
D	$1,4 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$

¹ Padrão estabelecido pelo CONAMA 1×10^5 .

4.4 Análise nematológica do solo

A Tabela 5 apresenta os resultados da análise nematológica do solo. Foi constatada uma grande diversidade de gêneros (15 gêneros distintos), dos quais cinco são nematóides parasitos de plantas, nove são de vida livre e um pode parasitar o homem (*Strongyloides* sp.) *Strongyloides stercoralis* foi encontrado em três das hortas investigadas sendo que a horta B apresentou 11/16 (68,7%) das lâminas positivas para esse parasito, a horta D apresentou 4/16 (25,0%) de positividade e na horta C foi encontrada a frequência de 1/13 (7,7%) (Tabela 5). O que confirma o solo como um provável agente contaminador de hortaliças, pois encontramos nas amostras de alface dessas hortas positividade para ovos e/ou larvas de *Strongyloides* sp. que variou de 7,14% a 14,29%, para as hortas B, C e D (Figuras 4, 5 e 6).

O solo apresenta em geral elevado número de espécies de nematóides podendo ser de vida livre, parasitas de plantas ou parasitas do homem e animais (REY, 1991) e suas interações com os microrganismos do solo podem resultar num aumento na disponibilidade de nutrientes para as plantas. Uma população elevada do gênero *Rhabditis*, pode indicar alta atividade bacteriana no solo, pois se alimentam das bactérias nele presentes (MATTOS et. al. 2002). Foi constatada a presença de *Rhabditis* no solo de todas as hortas investigadas, sendo que a horta A e horta B apresentaram uma frequência elevada desse gênero nas lâminas analisadas, 88,8% e 75,0% , respectivamente (Tabela 5). Resultado que pode indicar o solo dessas hortas não só como contaminante de parasitos, mas também de bactérias para as hortaliças nele cultivadas.

Tabela 5: Identificação e frequência de nematóides encontrados por lâmina de solo dos canteiros utilizados para o cultivo de alface em Uberlândia (MG).

Nematóides	Frequência (%)			
	Horta A (n: 18)	Horta B (n: 16)	Horta C (n:13)	Horta D (n:16)
<i>Criconemella</i> sp. *	11,1	37,5	0,0	0
<i>Rotylenchulus</i> sp. *	2,8	56,25	76,9	6,2
<i>Rhabditis</i> sp.	88,8	75,0	38,4	6,2
<i>Mononchus</i> sp.	33,3	12,5	46,1	6,2
<i>Chromadorita</i> sp.	50,0	12,5	53,8	37,5
<i>Ditylenchus</i> sp. *	11,1	12,5	7,7	0,0
<i>Helicotylenchus</i> sp. *	50,0	75,0	76,9	25,0
<i>Dorylaimus</i> sp.	11,1	31,2	23,0	6,2
<i>Dorylaimdides</i> sp.	38,9	18,7	0,0	81,25
<i>Aphelenchus</i> sp. *	11,1	18,7	0,0	12,5
<i>Strongyloides stercoralis</i> .	0,0	68,7	7,7	25,0
<i>Cephalobus</i> sp.	0,0	6,2	0,0	0,0
<i>Tripyla</i> sp.	0,0	6,2	7,7	12,5
<i>Iotonchus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	25,0
<i>Panagrolaimus</i> sp.	0,0	0,0	30,7	12,5

*Nematóides parasitos de plantas.

5. CONCLUSÃO

As amostras de alface cultivadas na cidade de Uberlândia-MG apresentaram condições higiênico sanitárias insatisfatórias, com elevados níveis de contaminação por coliformes fecais e parasitos intestinais, sendo portanto, consideradas impróprias para o consumo.

As principais formas contaminantes das amostras foram ovos e/ ou larvas de helmintos, destacando-se a elevada contaminação por ancilostomatídeos e *Ascaris* sp.

Os fatos de duas hortas apresentarem água fora dos padrões de potabilidade estabelecidos colocam a água de irrigação como um dos prováveis fatores de contaminação da alface.

A presença de *Strongyloides stercoralis* no solo das hortas investigadas, indica o mesmo, como um dos fatores de contaminação para a alface.

Considerando o risco de doenças advindas do consumo dessa hortaliça, ressaltamos a necessidade de vigilância sanitária mais atuante na fiscalização das hortas e ações educativas sobre higiene pessoal aos funcionários das mesmas. Recomendamos para a população em geral, que utilizem meios adequados de lavagens e desinfecção das hortaliças antes do consumo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ¹

BALIONI, G.A.; FERNANDES, F.V.; SOARES, M.M.S.R.; RIBEIRO, M.C.; Avaliação higiênico-sanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxico, comercializadas na região de Campinas, SP. **Higiene Alimentar**, v.17, n.112, p.73-77, Setembro. 2003.

BARROS, A.J.M.; CEBALLOS, B.S.O.; KÖNIG, A.; GHEYI, H. R. Avaliação sanitária e físico-química das águas para irrigação de hortaliças no Agreste e Brejo Paraibanos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.3, n.3, p 355-360, 1999.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acesso em: 15/08/06

BARUFFALDI, R.; PENNA, T.C.V.; MACHOSVILI, I.A.; ABE,L.E.; Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.18, n.3, p.225-34, Junho. 1984.

BASTOS, R. K.X.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E.; CARVALHO, G.R.M.; SILVA, C.V. Coliformes como indicadores da qualidade da água: alcance e limitações. ABES-Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. **XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**.

Disponível em: <http://www.ciplima.org.pe/sanitaria>

Acesso em: 15/08/06

CARMO, E.H.; PEREZ, E.P.; GEROLOMO, M.; SILVA, M. P.; ALVES, R.M.S. Plano Nacional de vigilância e controle das enteroparasitoses. **Ministério da Saúde**, Brasília-DF, 2005.

Disponível em: <http://www.ministeriodasaude.gov.br>

Acesso em: 15/08/06

¹ De acordo com as normas da ABNT NBR 6023: 2002

CONAMA-Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, março, 2005.

Disponível em: <http://www.amae.sc.gov.br>

Acesso em: 15/08/06

DIMITRY, T. Nematologia Agrícola aplicada. 2ª ed. Jaboticabal-SP: Editora Funep, 2000.

FELIX, C.F. **Estudo da contaminação por enteroparasitos, de hortaliças comercializadas na cidade de Uberlândia-Minas Gerais.** (Monografia), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), dez. 2000.

FILGUEIRA, F. A.R.; **Novo Manual de Olericultura – Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** Minas Gerais: Editora Universidade Federal de Viçosa, 2002.

FREITAS, A.M.; KWIATKOWSKI, A.; NUNES, S.C.; SIMONELLI, M.; SANGIONI, L.A. Avaliação Parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do município de Campo Mourão, Estado do Paraná. **Biological sciences.** v.26, n.4, p.381-384, 2004.

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

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acessado em: 15/08/06

GUILHERME, A.L.F.; ARAÚJO, S.M.; FALAVIGNA, D.L.M.; PUPULIM, A.R.T.; DIAS, M.L.G.G.; OLIVEIRA, H.S.; MAROCO, E.; FUKUSHIGUE, Y. Prevalência de enteroparasitos em horticultores e hortaliças da Feira do Produtor de Maringá, Paraná. **Revista Brasileira de Medicina Tropical** v.32 n.4 p.405-411, 1999.

GOTO, R.; TIVRILLI, S.W. Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. São Paulo: Editora Acribia, 1975.

LEITÃO, M.F.F.; MONTEIRO F. E.; DELAZAR, I.; ANGELUCCI, E. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface (*Lactuca sativa* L.). **Bol. ITAL**, Campinas, v.18, n. 2, p. 201-23, 1981.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acesso em: 18/07/06

MATTOS, J.K.A. Nematóides do solo como indicadores da interferência humana nos sistemas naturais: aspectos gerais e alguns resultados obtidos no Brasil. **Revisão anual de Patologias de Plantas**, Passo Fundo, RS, v. 10, 2002.

NASCIMENTO, A.R.; MARQUEZ, C.M.P.; Avaliação microbiológica de saladas “in natura”, oferecidas em restaurantes *self-service* de São Luiz, MA. **Higiene Alimentar**, v.12, n.17, p.41-4, Set-Out. 1998.

NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK, J.E.; MOUCHREK, V.E.; MARTINS, A.G.L.A.; MARINHO, S.C.; SERRA, C.L.M. Avaliação da sensibilidade de antimicrobianos a cepas de enterobacteriaceae isoladas de amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializada na cidade de São Luís-MA. **B. CEPPA**, Curitiba, v.23, n.2, p. 265-272, jul/ dez. 2005.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acesso em: 18/07/06

NASCIMENTO, M.S.; SILVA, N.; Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, comercializadas no município de Campinas – SP. **Higiene Alimentar**, v.17, n.114/115, p.73-76, Nov-Dez. 2003.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000.

OLIVEIRA, 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 de Saúde Pública**, São Paulo, v.26, n.4, p.238-89, 1992.

OLIVEIRA, A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. II-Pesquisa de protozoários intestinais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.26, n.3, p.332-5, 1992.

PACHECO, M.A.S.R.; FONSECA, Y.S.K.; DIAS, H.G.G.; CÂNDIDO, V.L.P.; GOMES, AH. S.; ARMELIN, I.M.; BERNARDES, R.; Condições higiênic-sanitárias de verduras e legumes comercializados no CEAGESP de Sorocaba – SP. **Higiene Alimentar**, v.16, n.101, p.50-55, Outubro. 2002.

PAULA, P.; RODRIGUES, P.S.S.; Tórtora, J.C.O.; UCHÔA, C.M.A; FARAGE, S.; Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes *self-service*, de Niterói, RJ. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v.36(4), n. 435-544, p. 535-37, Jul-Ago. 2003.

RAFAEL, K.R.S. Coliformes fecais e termotolerantes, bolores e leveduras e bactérias mesófilas em polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Uberlândia-MG. **Monografia apresentada à Coodenação do Curso de Ciências Biológicas da UFU**, Uberlândia, dez. 2004.

REY, L. **Parasitologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara koogan S.A., 1991.

RIBEIRO, L.L. **Contaminação bacteriana em alface (*Lactuca sativa* L.) e avaliação de métodos para desinfecção**. (Monografia), Universidade Federal de Uberlândia, 1995.

SANTOS, R.H.S.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D.; CONDES, A.R. Efeito residual da adubação com composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, nov. 2001.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENSTEIN, B.I.; MEDOFF, G.; **Microbiologia – Mecanismos das Doenças Infecciosas**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

SILVA, M. D. G.; OLIVEIRA, A. M.; STAMFOD, T. L. M. Enterparasitas em vegetais: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v.17, n.109, p 13-18, junho, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo, SP: Editora Livraria Varela, 1997.

TAKAYANAGUI, O.M.; OLIVEIRA, C.D.; BERGAMINI, A.M.M.; CAPUANO, D.M.; OKINO, M.H.T.; FEBRÔNIO, L.H.P.; SILVA, A.M.C.; OLIVEIRA, M.A.; RIBEIRO, E.G.A.; TAKAYANAGUI, A.M.M. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.1, p.37-41, jan/fev., 2001.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acesso em: 12/10/05

TAKAYANAGUI, O.M.; CAPUANO, D.M.; OLIVEIRA, C.D.; BERGAMINI, A.M.M.; CAPUANO, D.M.; OKINO, M.H.T.; SILVA, A.M.C.; OLIVEIRA, M.A.; RIBEIRO, E.G.A.; TAKAYANAGUI, A.M.M. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n. 2, p.224-226, mar/abr., 2006.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>

Acesso em: 15/08/06

Apêndice I**IDENTIFICAÇÃO**

Horta: A () B () C () D ()

Endereço:

Nome:

QUESTIONÁRIO

1. Qual o destino das hortaliças aqui cultivadas?
2. Qual o tipo de adubação utilizada?
3. De onde provem a água utilizada na irrigação das hortaliças?
4. Existem animais (cão e /ou gato) na propriedade? Há algum contato deles com os canteiros de hortaliças?
5. Existem sanitários para uso dos funcionários?
6. Qual a dimensão da área de plantio da horta?