

<https://doi.org/10.53924/pswr.02>

Capítulo
02

AVALIAÇÃO BACTERIOLÓGICA
EM LACTUCA SATIVA L.
COMERCIALIZADA NA CIDADE
DE MINEIROS-GO

AVALIAÇÃO BACTERIOLÓGICA EM *LACTUCA SATIVA* L. COMERCIALIZADA NA CIDADE DE MINEIROS-GO.

*Bacteriological Evaluation in Lactuca sativa L. Commercialized in the City of
Mineiros-GO*

Prosolina Martins dos Santos Rocha¹
Maria Júlia Zini Sitta²
Fábio Bahls Machado³
Camila Botelho Miguel^{4,5}
Wellington Francisco Rodrigues⁵

¹ Farmacêutica pela Faculdade Morgana Potrich (FAMP) Mineiros – Goiás, Brasil.

² Curso de Medicina pela Universidade Municipal de São Caetano do Sul - USCS, SP, Brasil.

³ Docente no curso de Farmácia do Centro Universitário de Goiás – UniGoiás, Goiânia, GO, Brasil.

⁴ Departamento de Medicina do Centro Universitário de Mineiros - Unifimes, Mineiros, GO, Brasil

⁵ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba, MG, Brasil.

RESUMO

A *Lactuca sativa* L (alface) é uma hortaliça amplamente consumida na sociedade. Sua forma de cultivo bem como o preparo para o consumo estão associados com fatores potencializadores à presença de bactérias patogênicas. Assim, o objetivo deste estudo foi relatar os agentes bacterianos presentes nesta hortaliça em município de Goiás-Brasil, além de associar com o potencial ao desenvolvimento de doenças humanas. Todos os procedimentos foram previamente cadastrados na plataforma Brasil e apreciados e aprovados por comitê de ética em pesquisa (914.797). Amostras (n = 44), foram obtidas de alfaces da cidade de Mineiros-GO, em 3 diferentes pontos (produtores, distribuidores e estabelecimentos comerciais alimentícios). As amostras coletadas foram encaminhadas ao laboratório para avaliação. As mesmas foram lavadas com solução salina (0,9%) em ambiente estéril. Com auxílio de alça de platina, em capela de fluxo laminar as amostras foram semeadas (técnica qualitativa) em ágar sangue e MacConkey. Após 24 horas em estufa a 35°C as amostras foram identificadas por automação e processadas seguindo as recomendações do fabricante (Vitek-2 – Biomérieux/ Marcy l'Etoile, France). Curiosamente todas as amostras avaliadas apresentaram positividade para pelo menos uma bactéria (90% bactérias Gram negativas e 10% Gram positivas). Entretanto 50% das amostras foram associadas com bactérias potencialmente patogênicas, incluindo coliformes fecais. As bactérias encontradas no presente estudo associadas a causarem doenças humanas foram: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* complex. Assim o presente estudo possibilitou demonstrar a positividade e frequência de bactérias patogênicas em *Lactuca sativa* L, apontando para a necessidade da atenção na monitoração alimentícia e desenvolvimento de políticas de saúde públicas voltadas para a manutenção da saúde humana.

Palavras-chave: Alface, Bactérias, Saúde.

ABSTRACT

The *Lactuca sativa*.L (lettuce) is a widely consumed vegetable in society, the way of cultivation as well as the preparation for consumption is associated with potentiating factors the presence of pathogenic bacteria. Thus, the objective of this study was to report the bacterial agents present in this vegetable in a municipality of Goiás-Brazil, in addition to associating with the potential to the development of human diseases. All procedures were previously registered in the Brazil platform and appreciated and approved by a research ethics committee (914.797). Samples (n = 44) were obtained from lettuces from the city of Mineiros-GO, at 3 different points (producers, distributors and commercial food establishments). The collected samples were sent to the laboratory for evaluation. They were washed with brine (0.9%) in sterile environment. With the aid of a platinum loop, the samples were seeded in a laminar flow hood (qualitative technique) on blood agar and macconkey. After 24 hours in a greenhouse at 35 ° C the samples were identified by automation and following the manufacturer's recommendations (Vitek-2 - Biomérieux / Marcy l'Etoile, France). Interestingly, all the samples evaluated showed positivity for at least one bacterium (100% + - 90% Gram negative bacteria and 10% Gram positive bacteria). However, 50% of the samples were associated with potentially pathogenic bacteria, including fecal coliforms. The bacteria found in the present study associated with human diseases were: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* complex. Thus, the present study made it possible to demonstrate the positivity and frequency of pathogenic bacteria in *Lactuca sativa* L, thus pointing to the need for attention in food monitoring and public health policies aimed at the maintenance of human health.

Keywords: Lettuce, Bacteria, Health.

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Lactuca sativa* L.

A *Lactuca sativa* L. popularmente conhecida por alface, é uma hortaliça folhosa da qual possui vários tipos. ⁽¹⁾ No Brasil a *Lactuca sativa* L. é muito usada em nossos pratos. ⁽²⁾ Vinda do Mediterrâneo, muito consumida em todo território nacional, podendo ser cultivada em solo ou hidropônica ⁽³⁾ a *Lactuca sativa* L. é nativa de temperaturas agradáveis, onde se destaca no mundo como as folhosas mais usadas cruas em diversos tipos de saladas com sabor nutritivo e baixo valor calórico.

A ingestão da *Lactuca sativa* L. crua em forma de salada caracteriza um elevado perigo à saúde humana, já que o aparecimento de agentes infecciosos de origem fecal pode ser transmitido originando vários tipos de doenças. ⁽⁴⁾ Há várias formas de contaminação, dentre elas através da utilização de água contendo fezes humanas, contaminação do solo por uso de adubo orgânico com fezes de animais, além da falta de higiene na hora do manuseio. ⁽⁵⁾

Desde a década de 90 é feito o manejo da terra a fim de fortalecer as atividades biológicas do solo ⁽⁶⁾ o processo aeróbico ou a postagem é a análise microbiana da matéria orgânica, composto orgânico (Corg) é o nome do produto adquirido, essa mistura é de baixo valor e muito simples. ⁽⁷⁾ A lavoura orgânica possui como origem o manuseio ecológico da flora e fauna, a responsabilidade social, a estabilidade econômica e garantia alimentar. Para esse fim dispõe de equilíbrio biológico de doenças e pragas. ⁽⁴⁾ Com o acréscimo de custo dos adubos e a poluição ambiental, a aplicação de resíduos orgânicos nas lavouras passa a aparecer como uma forma de economia. ⁽⁸⁾ Foram encontradas contaminações microbiológicas nas amostras de *Lactuca sativa* L. em virtude de serem irrigadas com água contaminadas, consequente de defensivos agrícolas. ⁽⁹⁾

O cultivo hidropônico caracteriza uma escolha de plantio, para o cliente. Existem vantagens para o meio ambiente, o fornecedor oferece uma mercadoria de alta qualidade e também utiliza menos água, mão de obra e defensivos agrícolas. O sistema utilizado é o NFT (Sistema Laminar de Nutrientes), em águas salinas a tolerância a salinidade é superior à do solo. ⁽¹⁰⁾

1.2. *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) é relacionada com diarreia humana na Alemanha e em outros países, e atua com um modelo de formação de barreira micro colônias após três horas de ligação entre células e bactérias. ⁽¹¹⁾ A *Escherichia coli* é produtora de toxina Shiga (STEC), ela também é diarreica por compor citotóxicas potentes com a eficácia em intimidar a síntese proteica em células eucarióticas. ⁽¹²⁾

A EHEC é resultante de vários aparecimentos de doenças de origem nutricional especialmente em encontrar-se no trato gastrointestinal. ⁽¹³⁾ A *Escherichia coli* que causa infecções extra intestinais é da família *Enterobacteriace* heterogênea complexa, um grupo de cepas que habitam o nosso intestino do nascimento até a nossa morte e causam diferentes tipos de infecções como meningite, osteomielite, infecções intra-abdominal, infecções do trato urinário, septicemia e infecções dos tecidos moles que também atingem um grande número de animais domésticos. ⁽¹⁴⁾

1.3. *Salmonella*

A *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, constitui-se de bacilos gram negativos que não formam esporos, diferente de muitas espécies pertencentes de colônias que contenham açúcar no meio. ⁽¹⁵⁾ O homem e outros animais são facilmente infectados pela *Salmonella*.

A gastroenterite é uma infecção grave da mucosa intestinal provocada pela *Salmonella* não tifoide, onde ocorre a infiltração e transmigração epitelial de neutrófilos, destinação de líquido seroso e diarreias em adultos que são conhecidas por estarem ligadas a intoxicações alimentares. ⁽¹⁵⁾

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos foram realizados na faculdade FAMP Morgana Potrich em Mineiros-Goiás. Foram avaliadas as *Lactuca sativa* L. do grupo crespa. Os dados foram coletados e realizados os procedimentos no laboratório Biofuncional da faculdade FAMP.

As amostras foram obtidas em diferentes lugares dentre eles: restaurantes, produtores e supermercados, totalizando ao todo 44 espécimes. Foram feitas higienizações das bancadas do laboratório com álcool 70% e as amostras colocadas em embalagens estéreis devidamente identificadas com nome, local e data em que foram coletadas.

Foi utilizada cabine de fluxo unidirecional, com higienização prévia com álcool 70%. Todas as embalagens estéreis foram higienizadas, as amostras de *Lactuca sativa* L. foram picadas e colocadas em tubos identificados. Foi adicionado cloreto de sódio, os tubos foram homogeneizados e as amostras semeadas em meio de cultura ágar sangue e ágar MacConkey. Posteriormente as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas e as amostras identificadas por automação, de acordo com as recomendações do fabricante (Vitek-2 – Biomérieux/ Marcy l'Etoile, France). Os procedimentos de identificação e preparo inicial das amostras podem ser observados na figura 1.

Figura 1. Sequência de identificação e processamento das amostras de *Lactuca sativa* L. coletadas.



Fonte: Própria dos autores e da pesquisa.

2.1. Coletas

Foram realizadas em recipientes plásticos estéreis e levadas ao laboratório de análises. As amostras não avaliadas imediatamente foram conservadas em temperatura de 2 a 8°C.

2.2. Cultivo e contagem de colônias

Vinte e cinco gramas da hortaliça foram pesados em balança analítica, triturada e misturada em 25 mL de água (isenta de microrganismos). Com auxílio de alça de platina (0,001mL), as amostras foram semeadas em meio ágar MacConkey e sangue. Os instrumentos utilizados e o processo de semeadura podem ser visualizados na figura 2.

Figura 2. Alça de platina e meios de cultura utilizada para semear as amostras em ágar MacConkey e sangue.



As amostras foram mantidas em estufa microbiológica em 36°C por 24 horas. Em seguida as colônias foram contadas e identificadas através da coloração de Gram e testes bioquímicos fenotípicos através de automação, como pode ser observado na figura 3.

Figura 3. Placas contendo as bactérias que cresceram das amostras semeadas e aparelho utilizado para identificação das bactérias.



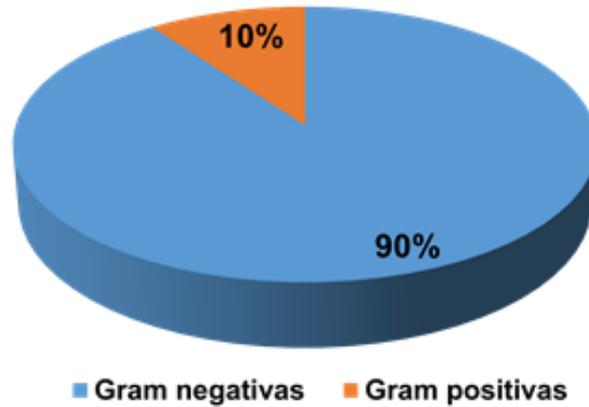
Fonte: Própria dos autores e da pesquisa.

3. RESULTADOS

Foram coletadas amostras de Produtores distribuídas em 5 coordenadas geográficas (17.555466 "S, 52.538187 "W; 17.553815 "S, 52.557292 "W; "S, 52.544616 "W; 17.593834 "S, 52.555493 "W; 17.573246 "S, 52.555794"W). Outros pontos de coleta foram supermercados e/ou mercados (17.572237 "S, 52.559731 "W, 17.566191 "S, 52.564744 "W, 17.575622 "S, 52.571691 "W, 17.559794 "S, 52.549494"W, 17.570855 "S, 52.564808 "W), e pontos de alimentação (17.56525 "S, 52.556354 "W, 17.566088 "S, 52.561477"W, 17.565613 "S, 52.552492 "W, 17.568161 "S, 52.553857 "W, 17.585975 "S, 52.555118 "W).

Todas as amostras avaliadas apresentaram positividade para pelo menos uma bactéria (90% bactérias Gram negativas e 10% Gram positivas) como pode ser visualizado na figura 4.

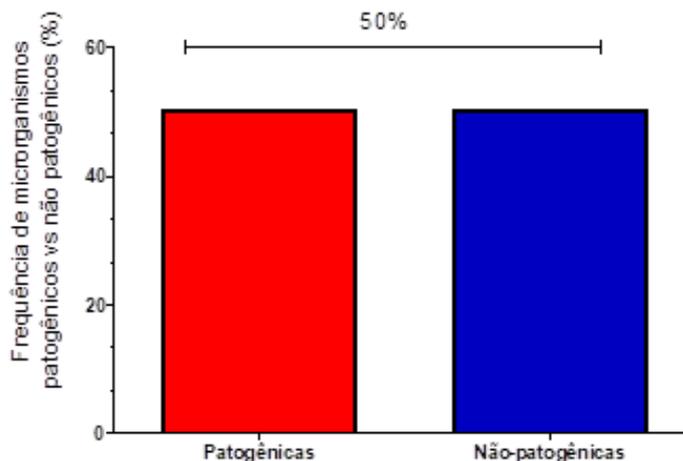
Figura 4. Porcentagem de positividade das amostras testadas



Fonte: Própria dos autores e da pesquisa.

Entretanto 50% das amostras foram associadas com bactérias potencialmente patogênicas (figura 5), incluindo coliformes fecais. As bactérias encontradas no presente estudo associadas a causarem doenças humanas foram: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* complex.

Figura 5. Frequência de microrganismos patogênicos e não patogênicos (%).



Fonte: Própria dos autores e da pesquisa.

Gêneros e/ou espécies relacionadas: *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pantoea sp.*,

Enterobacter cloacae, *Klebsiella* sp., *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Staphylococcus* sp., *Acinetobacter baumannii* complex.

Assim este estudo possibilitou demonstrar a positividade e frequência de bactérias patogênicas em *Lactuca sativa* L., apontando para a necessidade da atenção na monitoração alimentícia e políticas de saúde públicas voltada para a manutenção da saúde humana.

4. DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou a presença de bactérias Gram positivas e Gram negativas nas amostras analisadas. Outro estudo realizado na cidade de Uberlândia evidenciou a presença de patógenos relacionados à falta de higiene no manuseio da *Lactuca sativa* L., com a presença de 10^6 UFC/g. ⁽¹⁶⁾

De acordo com Tortora *et al.*, (2012) ⁽¹⁷⁾, a presença de *Escherichia coli* na água e em alimentos é uma indicação de contaminação fecal. Também encontramos a mesma bactéria em amostras que foram cultivadas em solo e adubadas com esterco de animais.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária possui a Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrão para Alimentos - CNNPA regulamentando que as hortaliças devem estar ausentes de sujidades. ⁽¹⁸⁾ Pelo que podemos notar essa resolução não está sendo executada de maneira correta pois, foi encontrada em nossas amostras a presença de bactérias patogênicas.

Souza, *et al.*, (2006) isolou cepas de *Klebsiella pneumoniae* (30%), *Providencia alcalifaciens*, *Enterobacter* e *Escherichia coli* (10%). ⁽¹⁹⁾ Nosso estudo mostrou resultados semelhantes e assim percebemos que isso ocorre devido ao tipo de água utilizada para irrigação. Oliveira *et al.*, (2010) demonstraram que hortaliças que são cultivadas com adubo orgânico e mineral respondem muito bem ao desenvolvimento do cultivo ⁽²⁰⁾ e este pode ser um fator que aumenta as possibilidades de contaminação com diversos agentes infecciosos.

As hortaliças mais contaminadas são cultivadas com esterco de animais e irrigadas com água de poço. Estudos têm mostrado que a troca ou consórcio de hortaliças que são combinações de tempo e de mais de duas culturas na mesma área, é um dos mais importantes sistemas sustentáveis agrícolas. Com isso existe um

aumento na produtividade, da efetividade econômica e biológica no uso acessível de recursos como solo, nutrientes, água e luz. ⁽²¹⁾ Tem-se visto que outros tipos de adubação são utilizados como a adubação verde, que promove a aplicação para o suprimento de nutrientes diretamente no cultivo, onde destacam-se as leguminosas por fornecerem uma enorme parte de biomassa que se junta a bactérias que convertem o nitrogênio do ar em compostos nitrogenados. ⁽²²⁾

Também podemos dizer que existem outros tipos de contaminação relativos às hortaliças. Fato que pode ocorrer no cultivo, transporte, colheita, acondicionamento e armazenamento em más condições. ⁽²³⁾

As colônias de características positivas para EC obtiveram uma coloração verde brilhante e foram identificadas com teste de sensibilidade. ⁽²⁴⁾ Assim sendo, é provável que os esterco interfiram com a mineração e forneçam muitos nutrientes para as plantas nos seus cultivos, a decomposição certifica que existe fluxo nutricional no solo. ⁽²⁵⁾

Foi constatado que no esterco bovino houve um bloqueio de nutrientes do solo após o primeiro mês da mistura, com um aumento aos poucos alcançando as maiores capacidades entre seis meses após a mistura. ⁽²⁶⁾ Vimos também que existem outros tipos de biofertilizantes usados nas culturas que aumentam a resistência das plantas por via de nutrientes, além desses outros produtos. ⁽²⁷⁾

5. CONCLUSÃO

Este estudo possibilitou demonstrar a positividade e frequência de bactérias patogênicas em *Lactuca sativa* L., apontando assim para necessidade da atenção na monitoração alimentícia e políticas de saúde públicas voltadas para a manutenção da saúde humana.

LISTA DE ABREVEATURAS

CNNPA: Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos

CORG: Composto Orgânico

E.C: *Escherichia coli*

EHEC: *Escherichia coli enterohemorrágica*

EPEC: *Escherichia coli enteropatogenica*

NFT: Sistema Laminar de Nutrientes

STEC: *Escherichia coli* produtora de toxina *Shiga*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christovão D de A. Contaminação da alface (*Lactuca sativa* L.) por microbioorganismo de origem fecal. [São Paulo]; 1958.
2. Moretti CL, Mattos LM. Processamento mínimo de alface crespa. 2011.
3. Silva, MSC da; Lima-Neto V da C. Doenças em cultivos hidropônicos de alface na região metropolitana de Curitiba/PR. *Scientia Agraria*. 2007;8(3):275–83. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v8i3.9511>
4. Simões AC, Alves GK, Ferreira RL, Araújo Neto SE. Qualidade da muda e produtividade de alface orgânica com condicionadores de substrato. *Horticultura Brasileira*.33(4):521–6. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620150000400019>
5. Santana LRR de, Carvalho RDS, Leite CC, Alcântara LM, Oliveira TWS de, Rodrigues B da M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. *Food Science and Technology*. 2006.;26(2):264–9. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200006>
6. Nogueira MA, Nogueira, Nascimento JLM, Vidigal SM, Lopes IP de C, Pinto CLL de O, Ferreira JML, et al. Compostos orgânicos produzidos com resíduos vegetais e dejetos de origem bovina e suína | *Cadernos de Agroecologia*. *Cadernos de Agroecologia*. 2011. *Hortic. Bras.*;6(2):1–5.
7. Lima PC, Moura WM, Venzon M, Paula JT, Fonseca MCM. Tecnologia para a produção orgânica. Viçosa: Unidade Regional EPAMIG Zona da Mata; 2011. 69–106.
8. Silva FA de M, Bôas RLV, Silva RB. Resposta da alface à adubação nitrogenada com diferentes compostos orgânicos em dois ciclos sucessivos. *Acta Scientiarum Agronomy*. 2010;32(1):131–7. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i1.1340>
9. Junior JP, Gontijo ÉEL, Silva MG da. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi-TO. *Revista Científica do ITPAC* . 2012;5(1):1–8.
10. Soares TM. Utilização de águas salinas no cultivo da alface em sistema hidropônico NFT com alternativa agrícola condizente ao semi-árido brasileiro. Tese de Doutorado Piracicaba. [Piracicaba]; 2007.
11. Gomes TAT. *Escherichia Coli enteropatogenica (EPEC)*: Microbiologia. 5ª. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu; 2008.
12. Guth BEC. *Microbiologia: Escherichia coli Produtora de toxina shiga (SPEC)*. 5ª. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu; 2008.

13. Kasnows MC. *Listeria* spp. *Escherichia coli*: Isolamento, Identificação, Estudo Sorológico e Antimicrobiano . [Niterói]; 2004.
14. Silva DCVC, Leila C. Microbiologia: *Escherichia coli* que causa infecções Extra intestinal (EXPEC Extraintestinal) Pathogenic E.coli. 5ª. Vol. 5. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu; 2008.
15. Ferreira EO, Campos LC. Microbiologia *Salmonella*. 5ª. Vol. 5. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu; 2008.
16. França BR, Bonnas DS, Silva CM de O. Qualidade higiênico sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. *Bioscience Journal*. *Bioscience Journal*. 2014;30(1):458–66.
17. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 10ª. Porto Alegre: Artmed; 2012. undefined-310.
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissão Nacional de normas e Padrão para alimentos - CNNPA / ANVISA – Agência nacional da vigilância sanitária. Vol. 12. 1978.
19. Sousa CPD. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Semantic Scholar*. *Revista APS*. 2006;9(1):83–8.
20. Oliveira EQ, Souza RJ, Cruz M, Marques VBF. A.C. Produtividade de alface e rúcula, em sistema consorciado, sob adubação orgânica e mineral. *Horticultura Brasileira*. 2010; 28: 36-40. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362010000100007>
21. Altieri MA, Silva EM, Nicholls CL. O papel da biodiversidade no manejo de pragas. 1ª. Ribeirão Preto: Holos ; 223 -226.
22. Santos IC, Carvalho LM. Produção sustentável de hortaliças. Belo Horizonte: EPAMIG; 2013.
23. Costantin B de S, Gelatti. Luciane Cristina, Santos o. Avaliação da contaminação parasitológica em alfaces: um estudo no sul do brasil. *Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia*. *Revista Facem Ciências*. 2013;3(1):9–22.
24. Koneman EW, Allen SD, Janda W, Winn WJ, Procop G, Schreckenberger P, et al. *Diagnostico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 6ª. Guanabara Koogan; 2008.
25. Souto PC, Souto JS, Santos RV, Araújo GT, Souto LS. Decomposição de esterco dispostos em diferentes profundidades em área degradada no semi-árido da Paraíba. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*.;29(1):125–30. DOI <https://doi.org/10.1590/S0100-06832005000100014>
26. Sampaio EV de SB, Oliveira NMB de, Nascimento PRF do. Eficiência da adubação orgânica com esterco bovino e com *Egeria densa*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2007;31(5):995–1002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832007000500016>
27. Venzon M, Oliveira RM, Bonomo IS, Perez AL, Rodrigues-Cruz FA. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Rodrigues-Cruz FA, Oliveira JM, Pallini A, editors. Viçosa: EPAMIG; 2010.