

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB

MONOGRAFIA

Análises parasitárias e microbiológicas de hortifrútis
no município de Juazeirinho – PB.

Alania Carlos de Oliveira

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB

MONOGRAFIA

Análises parasitárias e microbiológicas de hortifrútis
no município de Juazeirinho – PB.

Alania Carlos de Oliveira
Graduanda

Prof. Dr. Wilson Wouflan Silva
Orientador

Junho, 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

O48a Oliveira, Alania Carlos de
 Análise parasitária e microbiológica de hortifrútiis no município de
 Juazeirinho – PB / Alania Carlos de Oliveira. – Patos, 2017.
 26f. : il. color.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade
 Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2017.

 “Orientação: Prof. Dr. Wilson Wouflan da Silva”

 Referências.

 1. Parasitos. 2. Micróbios. 3. Alimentos. I. Título.

CDU 576.8:619

Aos meus pais Antônio e Helena e em especial meu primeiro cão resgatado Chico (*in memoriam*), seu amor incondicional me tornou um ser humano melhor do que eu jamais sonhei ser. Te Amo!

AGRADECIMENTOS

A Ele, o mestre do tempo, onipotente que me sustentou nos momentos de medo, fraquezas e alegrias! Senhor meu Deus, Obrigada!

Aos Meus Pais, Maria Helena Carlos de Oliveira, mainha, amiga, conselheira, tenho em ti a inspiração para vida, para os sonhos. Uma sertaneja que enfrentou o mundo o analfabetismo de uma criação difícil, sei que não foi fácil e hoje me enche de orgulho, Te Amo. Á você painho Antônio Faustino de Oliveira, homem admirável, que enfrentou o preconceito da sociedade e criou as filhas fazendo um papel de mãe e pai, quando a ausência de nossa mãe, se fazia necessária. Segurando a barra e os abusos de duas adolescentes, saiba que uma honra me dirigir á sociedade e falar que sou sua filha! Amo-te, imensamente.

A minha irmã Alidiane Carlos de Oliveira, pelo apoio e conselhos de irmã mais velha! Você é um espelho no qual me inspiro, tenho muito orgulho de fazer parte do mesmo laço familiar que nos une. Ao meu cunhado Joctã Carlos, por fazer nossos dias mais alegres e divertidos, por aumentar e abrilhantar ainda mais nossa família e fazer você feliz!

As minhas primas que mesmo estando em lugares diferentes, me apoiam, me amam incondicionalmente, Katharina, Lila, Claudia, Carlos e Rafa. Esse ano longe nos mostra quem é de verdade em nossas vidas e vocês sabem o quanto a distância é difícil. Ela doí, amarga e principalmente ensina. Amo vocês, obrigada por existirem.

Agradeço imensamente as minhas curicas lindas, a família que a Veterinária me concedeu, Jaci, Juliana, Sara, Elisama (Ruíva), Amandinha, Nora, Aline (luizim), tia Catarina, meninas vocês me ajudaram muito, foram o alicerce para criar raízes em uma cidade nova, vida nova. Foi com vocês que a menina do sitio, neta de Celina (com muito orgulho), teve forças pra aguentar saudade, essa nossa amizade eu levo no peito para eternidade.

A um amigo especial que aprendi a ter respeito, carinho e um amor imenso, Pedro Alves, não imagino o orgulho que sua mãe sente por você nesse momento! O meu é grande imagina o dela, conte comigo para qualquer coisa e você sabe que é de verdade. Você é muito mais do que imagina a sociedade, tudo que você tem e terá, será fruto do amor que Deus tem por ti, te admiro e te amo muito.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wouflan pelos ensinamentos, pela paciência, por me aceitar com todos os meus problemas, por me estender a mão e se tornar um mestre. A Prof.^a Msc. Rosália Severo de Medeiros, pelas portas abertas no meio do caminho, pela paciência, seus passos são espelhos para todos os amantes da veterinária.

As minhas amigas e médicas veterinárias Apâmela, Wanesk e Cecília! Que dividir comigo um lugar que pude chamar de lar! E por confiar seus pets aos meus cuidado companhia, que muito me tiraram o sossego mais me deram alegrias e excelentes recordações do qual chamo carinhosamente de sobrinhos!

As grandes amigas que fiz ao longo desses anos de graduação em especial a Lázaro, Débora, compadre Tobias, Patrícia Adelino, Fabiana Adelino, Mayara Guedes! Amigos que admiro e respeito muito.

Aos meus colegas Aline Ferreira, Newcélia e seu Eduardo, que me ajudaram muito nos trabalhos laboratoriais. Sua dedicação e seu jeito pacífico de dar broncas (Aline) (Risos), me fizeram mais cuidadosa! Á vocês meu obrigada.

Aos demais professores e professoras do curso de Medicina Veterinária e das Ciências biológicas pelos bons momentos vividos e a enorme carga de conhecimento transmitido.

A todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram, me incentivaram e me apoiaram na realização desse sonho. A estas o meu sincero carinho e gratidão!

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS	07
RESUMO	08
ABSTRACT	09
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1. Agricultura Familiar	11
2.2. A Alface (<i>Lactuca Sativa</i>)	11
2.3. O Coentro (<i>Coriandrum Sativum</i>)	12
2.4. Os Microrganismos	14
2.4.1 Parasitas e Protozoários	14
2.4.2 Bactérias	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Coleta das Amostras	19
3.2. Análise das Amostras	19
3.2.1 Parasitológica	19
3.2.2 Salmonella	19
3.2.3 Coliformes fecais e totais	19
3.2.4 Pesquisa de <i>E.coli</i>	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
4.1 Parasitológico	22
4.2 Salmonella	23
4.3 Coliformes fecais e totais	23
4.4 Pesquisa de <i>E. coli</i>	24
5. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

LISTA DE TABELAS

	Pág.
1. TABELA 1 - Os Principais Nematóides de importância veterinária com sua respectiva classificação e aspectos morfológicos, independente do local de origem (sangue, fezes, solo, intestinos etc.).....	14
2. TABELA 2 - Principais agentes biológicos que contaminam alimentos.....	16
3. TABELA 3 - Coliformes Totais, Termotolerantes e cepas de <i>E. coli</i> isoladas alface (<i>Lactuca sativa</i>).....	21
4. TABELA 4 - Coliformes Totais, Termotolerantes e cepas de <i>E. coli</i> isoladas em do coentro (<i>Coriandrum sativum</i>).....	21
5. TABELA 5 - Coliformes Totais, Termotolerantes e cepas de <i>E. coli</i> isoladas em coentro (<i>Coriandrum sativum</i>).....	22

RESUMO

OLIVEIRA, ALANIA CARLOS. **Análises parasitárias e microbiológicas de hortifrúti no município de Juazeirinho – PB.** Patos - PB, UFCG. 2017 26p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária). Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande.

O presente estudo teve como objetivos: 1º Determinar a contaminação parasitológica das hortifrúti a Alface (*Lactuca sativa*) e o Coentro (*Coriandrum sativum*). Onde foram coletadas 12 amostras de dois produtores distintos (7 coentro e 5 alface), pelo método de sedimentação espontânea método de Hooffman, Post e James ou Lutz, onde é lido através do microscópio eletrônico e repetido após duas horas e observa se há ou não apresenta de parasitos. As espécies encontradas *Ancylostoma spp*, oocisto de trematódeo, Cestodéo *Echynococcus granulosus*. 2º Avaliar a presença ou não de microrganismos causadores de infecções alimentares, como coliformes fecais e coliformes totais e identificação da presença da bactéria *E. coli* como uma das principais responsáveis por está contaminação. Através de análises laboratoriais com seguidas diluições e determinarem através da NMP (Número Mais Provável), uma análise estatística, o grau ou nível da contaminação das amostras em discussão. Onde foram 12 amostras, com 3 grupos de produtores. O grupo A com 5 amostras de coentro (*Coriandrum sativum*), o grupo B com 5 amostras da alface (*Lactuca sativa*) e o grupo C com 2 amostras de coentro. Foram encontradas amostras biológicas com alto nível de contaminação de coliformes totais e fecais e foi confirmada através dos testes bioquímicos a presença da bactéria *E. coli*, em pelo menos uma diluição das doze amostras analisadas, durante os meses de março e junho de 2017.

Palavras chaves: Parasitos, Micróbios e Alimentos.

ABSTRACT

OLIVEIRA, ALANIA CARLOS. **Parasitic and microbiological analyzes of hortifrúti in the municipality of Juazeirinho - PB.** Patos-PB, UFCG, 2017, 26p. Monograph (Work Completion of course in Veterinary Medicine). Academic Unit of Veterinary Medicine, Federal University of Campina Grande.

The present study had the following objectives: 1) Determine the parasitological contamination of vegetables, Lettuce (*Lactuca sativa*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). Twelve samples were collected from two different producers (7 coriander and 5 lettuce), which were analyzed by the spontaneous sedimentation method of Hooffman, Post and James or Lutz, through an electron microscope reading. Procedure repeated after two hours, for observation of the presence or absence of parasites. The species found were *Ancylostoma* spp, trematode oocyst, Cestodéo *Echynococcus granulosus*. 2 ° To evaluate the presence or absence of microorganisms that cause food infections (fecal coliforms and total coliforms) and to identify the presence of the *Escherichia coli* bacterium through laboratory analysis with subsequent dilutions and determination of the density of viable microorganisms present in the sample under analysis through NMP (Most Likely Number). Twelve samples were formed, divided into three groups of producers. Group A with 5 samples of coriander (*Coriandrum sativum*), group B with 5 samples of lettuce (*Lactuca sativa*) and group C with 2 samples of coriander. Biological samples showed a high level of contamination of total and fecal coliforms and presence of *E. coli* bacteria confirmed by biochemical tests in at least one dilution of the twelve samples analyzed during the months of March and June of 2017.

Key Words: Parasites, Microbes and Food.

1. INTRODUÇÃO

Hortaliças um substantivo feminino, nome comum das plantas herbáceas comestíveis que, geralmente, se cultivam em hortas; verduras. As hortifrútiis de um modo geral são essenciais e fazem parte da dieta alimentar de boa parte da população mundial. Normalmente são consumidas de forma “*in natura*” e, sem o controle sanitário adequado, servem como transmissores de microrganismos patogênicos causadores de doenças.

É uma atividade ligada á plantação de hortaliças, legumes e frutas, sendo uma ótima fonte de renda para pequenas propriedades. Nosso alimento é muito diversificado e, para que seja seguro fazem-se necessário uma abordagem que minimize a contaminação que pode ocorrer desde a produção até o prato do consumidor.

Produtos destinados ao consumo humano, visto que sua contaminação por excretas de origem humana e animal pode torná-las um veículo de transmissão de agentes de doenças infecciosas e parasitárias, os quais influenciam diretamente à saúde da população são de importância fundamental para a saúde pública, o conhecimento e o diagnóstico desses microrganismos e parasitos são essenciais, para garantir a qualidade do alimento consumido e evitar as sintomatologias como vômitos, náuseas, diarreia, desidratação, entre outros. Com o aumento da comercialização de produtos beneficiados, o manuseio das hortifrútiis antes de serem comercializadas torna-se muito grande, ampliando o risco de contaminação biológica.

Esse estudo buscou identificar hospedeiros presentes nas hortifrútiis e contaminação biológica das mesmas, produzidas através da agricultura familiar. Sendo elas usadas no consumo pelos produtores, servindo não apenas como uma fonte extra de renda, mas também como uma fonte de contaminação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agricultura Familiar

A agricultura familiar, ou a unidade de produção agrícola familiar, tem especificidades que a distinguem de outros empreendimentos familiares e a principal delas é a uma estabilidade, com menor vulnerabilidade e os ciclos de crescimento e de extinção, como frequentemente acontece com pequenos negócios. O pensamento sociológico brasileiro, diferentemente do econômico, sempre incorporou as classes sociais no campo, dando destaque à produção familiar, denominada de camponesa por alguns ou também merecendo denominações nacionais ou regionais como parceiros, caiçaras, ribeirinhos, acampamentos entre outras denominações das quais se assemelham os adjetivos dados a esses produtores (BAIARDI; ALENCAR, 2014).

O agricultor familiar não tem nenhuma conotação de superioridade em relação aos não familiares, trata-se apenas de diferenciar uma categoria que baseia sua produção no uso preferencial da mão de obra familiar e que exerce a gestão do empreendimento de forma direta, presencial, por meio de alguns dos seus familiares envolvidos na produção agrícola dentro de sua propriedade, atuando juntos em conjunto e dentro do convívio familiar, e se tem na prática o contexto da agricultura familiar (GUANZIROLI; BUAINNAIN; DI SABBATO, 2012).

2.2 A Alface (*Lactuca sativa*)

A alimentação com hortaliças é indicada como a base para o funcionamento correto do nosso organismo, devido ao grande percentual de vitaminas, fibras e também de sais minerais e por apresentar baixo teor calórico e um elevado valor nutricional. São plantas anuais, bianuais ou perenes cultivadas em hortas, canteiros, a campo aberto ou sob o cultivo protegido, de acordo com a propriedade e os recursos, tais como a alface (*Lactuca sativa*), a couve (*Brássicas oleracea*) e o coentro (*Coriandrum sativum*), três dos principais alimentos mais consumidos e produzidos no Brasil. Neste estudo será abordada a alface (*Lactuca sativa*)

que é da família *Cichoriaceae* e é uma das hortaliças folhosas de maior consumo no Brasil (MARTINS, 2012).

É uma planta herbácea com caule ao qual se desprendem as folhas. Uma das hortaliças mais importantes do mercado consumidor, a alface chegou o Brasil com os portugueses, em meados do século XVI. É rica em sais minerais como potássio, fósforo, cálcio, sódios, além de vitaminas A, B1, B2, niacina e Vitamina C e outros nutrientes fundamentais para saúde e desenvolvimento do nosso organismo (MARTINS, 2012). Estes alimentos devem ser consumidos preferencialmente em sua forma original, inseridos dentro da alimentação, de forma que possam demonstrar o seu real benefício, dentro de um padrão alimentar normal (VIDAL, 2012).

2.3 O Coentro (*Coriandrum sativum*)

Também conhecido salsa chinesa, é anual erva anual da família *Apiaceae*. O coentro é nativo de regiões que vão desde o sul da Europa até o norte da África e sudoeste da Ásia. Planta macia sem pelos. Cresce até 50 cm de altura. As folhas são variáveis, em termos gerais lobuladas na base da planta e hastes de florescência. Flores são suportadas em pequenas umbelas, brancas ou muito rosa pálida, assimétrico, com as pétalas apontando para longe do centro da umbela mais tempo (5-6 mm) do que os outros (apenas 1-3 mm de comprimento). O fruto é globular e tem entre 3-5 mm de diâmetro (PLANTIER, 2014).

Plantier (2014), recomenda o consumo diário de 100g, devido ao seu valor nutricional elevado com cerca de 95 kcal, sendo que 4g de carboidratos, 3g de fibra dietética, 0,5g de gordura, 2g de proteína. Além das vitaminas A e C.

Coentro, como muitas especiarias, contém antioxidantes que podem retardar ou prevenir a deterioração dos alimentos temperados. Um estudo revelou ambas as folhas e sementes possuem antioxidantes, sendo que nas folhas foram encontrados efeitos mais fortes. Produtos químicos derivados do coentro foram encontrados em atividade antibacteriana contra *Salmonella*, atividade encontrada para ser causada, em parte, por estes produtos químicos que atuam como agentes não iônicos (PLANTIER, 2014).

Segundo Oliveira et al. (2005), a associação de coentro com alface tem se tornado uma combinação desejável entre as hortaliças, capaz de proporcionar maior índice de uso de

eficiência da terra e retorno econômico por área, além de se complementarem em termos de valor nutricional.

Segundo Plantier (2014) o coentro é a palavra espanhola que ficou popular com a mesma taxionomia nos países latino-americanos. Termo comum na América do Norte por causa da ampla utilização na culinária mexicana. Todas as partes da planta são comestíveis, folhas frescas e sementes secas são as partes mais utilizadas na culinária de maneira tradicional. O coentro é comum no sul da Ásia, sudeste asiático, oriente-médio, Ásia central, Mediterrâneo, Índico, América Latina, Portugal, China, Africano e cozinha escandinava.

2.4 Os Microrganismos

2.4.1 Parasitas e Protozoários

Segundo Ferreira (2000), parasito, é uma palavra de origem grega que significa organismo que pelo menos uma fase do seu desenvolvimento, se acha ligado á superfície ou ao interior de ser vivo, que é a espécie hospedeira.

Os endoparasitos são aqueles que têm contato profundo com tecidos e órgãos dos hospedeiros, como os helmintos e protozoários. Ectoparasitos são aqueles que têm contato com a pele dos hospedeiros a exemplo deles são os artrópodes (ácaros e insetos) como berne, carrapatos, pulgas. A infecção é a invasão de um hospedeiro por organismos (vírus, bactérias, protozoários, helmintos). Termo utilizado para endoparasitos (pode ocorrer infecção sem haver manifestação de doença) (MONTEIRO, 2007).

Existem vários tipos de parasitos segundo Monteiro (2007): obrigatório: aquele que precisa de um hospedeiro para sobreviver. Facultativo: aquele que pode ou não viver parasitando, ou seja têm fase de vida livre. Acidental: acidentalmente entra em contato com o hospedeiro porém não evolui nele. Aquele que vai a outro lugar que não o ideal e fica por acaso. Temporário procura o hospedeiro somente para se alimentar. Permanente presente no hospedeiro em todas suas fases. Periódico, apenas em uma determinada fase de sua vida é parasito, aquele que parasita por tempo determinado.

Assim como existe os tipos de hospedeiros definitivos é aquele onde o parasito é encontrado na sua forma adulta, como os protozoários, eles se encontram na fase sexuada. Intermediário é aquele onde se encontra a forma imatura do parasito, como os protozoários na fase assexuada (MONTEIRO, 2007).

As hortaliças consumidas cruas são meio de transmissão de enteroparasitas no Brasil, podendo ser resultado de adubos utilizados no seu plantio ou do manejo inadequado do próprio produtor, da água utilizada no processo de desenvolvimento desses produtos (CARMINATE et al., 2011).

A maioria são microrganismos são de vida livre, ou os que vivem como parasitas nos órgãos de mamíferos. No entanto, existem protozoários que se comportam como patógenos sendo responsáveis por algumas das mais importantes enfermidades dos seres humanos e animais domésticos (BOWMAN, 2010).

Os organismos se relacionam entre si, em um complexo sistema de inter-relação no qual define seu processo evolutivo. Observa-se que formam grupos naturais com características morfológicas, em comum. Os principais helmintos para a medicina veterinária são os Nematelmintos (vermes cilíndricos) e os Platelmintos (vermes achatados) e os Acantocéfalos (vermes de cabeça espinhosa), esse ultimo chamado de secundário (URQUHART et al., 1998).

TABELA 1 – Os Principais Nematóides de importância veterinária com sua respectiva classificação e aspectos morfológicos, independente do local de origem (sangue, fezes, solo, intestinos etc.).

Filo Nematelmintos - Classe Nematoda	Aspectos morfológicos
Gênero Strongyloides <i>S. papillosus</i> <i>S. westeri</i> <i>S. ransomi</i> <i>S. stercoralis</i>	Muitos pequenos menores que 1 cm. Fêmeas partenogênicas, com boca trilabiada, sem capsula bucal e esôfago claviforme. Ovários e úteros anfidelfos (alças para lados diferentes).
Gênero Trichuris <i>T. suis</i> <i>T. vulpis</i> <i>T. discolor</i> <i>T. ovis</i> <i>T. trichuria</i>	Pequeno de 2 a 7 cm (machos) e 4 a 5 cm, as fêmeas. Possui sistema digestivo completo, abertura simples da boca sem lábios, sistema reprodutor simples onde as fêmeas são ovíparas e os machos têm 1 espículo envolvido por uma bainha dando aspecto de prepúcio.
Gênero Ancylostoma <i>A. caninum</i> <i>A. tubaeformae</i> <i>A. braziliense</i> <i>A. duodenale</i>	Tamanho pequeno 1 a 2 cm e são curvados dorsalmente. Cápsula bucal subglobular grande, com 3 pares de dentes. Esôfago claviforme e bem musculoso.
Gênero Toxocara <i>T. canis</i> <i>T. cati</i>	Possui tamanho médio, fêmea 9 a 18 cm e machos 4 a 10 cm. Boca trilabiada. Asa cervical longa e estreita. Com ventrículo esofágiano e os machos possuem uma projeção digitiforme na cauda.
Gênero Ascaris <i>A. galli</i> <i>A. suum</i>	Tamanho grande, o macho 15 a 25 cm e a fêmea 20 a 40 cm. Vagina no terço anterior. Fêmeas terminam com cauda romba e

<i>Parascaris equorum</i> <i>A. lumbricóides</i>	machos possuem dois espículos. E boca trilabiada.
Filo Platyhelminthos - Classe Cestoda	Aspectos morfológicos
Gênero Taenia <i>T. solium</i>	Verme com cabeça ou escoléx, 4 ventosas, um colo e um estróbilo onde formam cada proglote. Com até 1000 anéis chegando a 3 metros. Ausência do sistema digestivo.
Gênero Echinococcus <i>E. granulosus</i>	O adulto possui 4 ventosas e rostró com acúleos, aberturas genitais laterais. O ovo é bilobado. O ovário e glândulas são vitelínicas.
Filo Platyhelminthos - Classe Trematoda	Aspectos morfológicos
Gênero Fasciola <i>F. hepática</i>	Verme achatado, corpo foliáceo, coloração avermelhada. Os vermes adultos medem 20 a 30 mm de comp. Por 8 a 13 mm larg., com 2 a 3 mm de espessura. Ventosa oral, faringe muscular, ventosa ventral, poro genital e intestino ramificado.

FONTE: Adaptado de Silva e Delfino (2010).

Os protozoários, são como a maioria dos organismos, são eucariotos, já que sua informação genética é guardada dentro dos cromossomos contida no invólucro nuclear. Diferente das bactérias, que não possuem núcleo e o único cromossomo que possui é enrolado como novelo de lã no citoplasma, ou seja, procariótica. Estes organismos não são animais nem plantas, é de um reino de organismos procarióticos, o reino Monera (URQUHART et al., 1998).

2.4.2 Bactérias

Conforme Marouelli e Silva (1998) afirmam é frequente a ocorrência de micro-organismos patogênicos, como *E. coli*, *Salmonella spp.* E formas evolutivas de parasitos humanos em hortaliças e frutas consumidas “*in natura*” pela população. A maior parte das bactérias é patogênica para o homem e muitas espécies animais, apesar das diferenças quanto às características e gravidade da doença que provocam (GERMANO; GERMANO, 2008).

Os eucariotos possui uma vida livre, apresentam uma grande variedade de estruturas subcelulares com características organizacionais e funções diferentes como a locomoção que varia da presença de flagelos múltiplos ou únicos, com a presença de cílios ou são pseudópodes. A nutrição desses protozoários parasitas ocorre por pinocitose ou também por fagocitose, dependendo muito da absorção celular de gotículas com fluidos ou por pequenos fragmentos sólidos de dimensão macro celulares. Reproduzem-se assexuadamente, por

divisão binária ou por brotamento no interior dos eritrócitos como a *Babesia* (URQUHART et al., 1998).

TABELA 2 - Principais agentes biológicos que contaminam alimentos.

Agentes biológicos	
<p>Bactérias</p> <p>Produtoras de toxinas pré-formadas</p> <p><i>A Clostridium botulinum</i></p> <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><i>Bacillus cereus</i></p>	<p>Vírus</p> <p>Vírus da hepatite</p> <p>Vírus da hepatite B</p> <p>Rotavírus</p> <p>Adenovírus (entérico)</p> <p>Parvovírus</p>
<p>Produtoras de toxinas na luz intestinal</p> <p><i>Vibrio spp.</i></p> <p><i>E. Coli</i> produtora de toxina Shiga</p> <p><i>E. Coli</i> enterotoxigênica</p>	<p>Protozoários</p> <p><i>Cryptosporidium parvum</i></p> <p><i>Giardia lamblia</i></p> <p><i>Entamoeba histolytica</i></p> <p><i>Isospora belli</i></p> <p><i>Dientamoeba fragilis</i></p> <p><i>Blastocystis hominis</i></p>
<p>Invasoras do epitélio intestinal</p> <p><i>Salmonella spp</i></p> <p><i>Campylobacter spp</i></p> <p><i>Yersinia spp</i></p> <p><i>Shigella spp</i></p> <p><i>E. coli</i> enteroinvasiva</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i></p>	<p>Parasitas</p> <p><i>Taenia solium</i></p> <p><i>Taenia saginata</i></p> <p><i>Hymenolepis nana</i></p> <p><i>Ascaris</i></p> <p><i>Trichuris</i></p> <p><i>Trichinella spiralis</i></p>

FONTE: Adaptado de BALBANI E BUTUGAN (2001).

Embora esteja se referindo aos protozoários patogênicos de importância veterinária, existem muitas espécies, que são puramente comensais ou simbióticos, visto que auxiliam a digestão da celulose e atuam como fonte de proteínas para o hospedeiro (URQUHART et al., 1998). E na detecção de alguns desses microrganismos como cistos de *Giardia*, por exemplo, pode ocorrer a distorções de flutuação causada por algumas soluções no organismo desses parasitos, impedindo a sua identificação laboratorial dos mesmos e dificultar também a

identificação de alimentos possivelmente contaminados e nocivos durante o consumo desses alimentos ‘*in natura*’ (SLOSS; ZAJAC e KEMP, 1999).

Hábitos alimentares influenciam a epidemiologia das salmoneloses. A preparação e o armazenamento de grandes quantidades de alimentos, manuseio e controle inadequados, e ainda temperaturas desfavoráveis são condições que propiciam o aparecimento de contaminações deste tipo, e favorecem o processo multiplicativo dessa bactéria. A capacidade de algumas espécies de microrganismos sobreviverem em determinados alimentos, depende não somente de suas características físicas e nutricionais, mas também de fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos como: temperatura, Ph, Atividade de água entre outros, como também, manipulação e armazenamento inadequado (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2011).

Produtos de origem vegetal, como verduras e frutas, podem ser contaminados durante diferentes etapas de cultivo, devido a práticas agrícolas incorretas, sobretudo as concernentes à adubação com excrementos não tratados e águas servidas (GERMANO; GERMANO, 2008).

Os coliformes totais incluem bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbicos ou anaeróbicos, capaz de produzir gás fermentando a lactose, em 24 a 48 horas á 35°C. O grupo conta com 20 espécies, presente tanto no trato gastrointestinal de humanos quando em animais, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo. Sua presença em alimentos é considerada uma indicação de contaminação. Dos coliformes fecais objetivou selecionar apenas coliformes do trato gastrointestinal, incluindo três gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais dois (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

As bactérias a *E. coli* é a mais conhecida e de fácil diferenciação, todos os demais possuem associação duvidosa com a contaminação fecal e *E. coli*, embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta das Amostras

As 12 amostras foram coletadas nas propriedades de agricultores na comunidade da Ilha Grande, no município de Juazeirinho – PB. Foram divididos em dois grupos, Grupo A (produtor 01), Grupo B e C (Produtor 02). As amostras foram recebidas no laboratório embaladas em sacos plásticos vedados e em bolsa térmica para alimentos.

Realizaram-se os experimentos microbiológicos na Central de Laboratórios da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, e parasitárias no laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital Veterinário, ambos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) campus de Patos – PB, de março a maio de 2017.

3.2. Análises das Amostras

3.2.1 Parasitológica

Foi utilizado o Método de Hooffman, Post e James ou Lutz (Sedimentação Espontânea), um procedimento eficaz para o diagnóstico de parasitas, de baixo custo financeiro e fácil execução, A Sedimentação espontânea é um procedimento simples. Fundamenta-se na sedimentação espontânea em água, permitindo encontrar cistos de protozoários, como também, ovos e larvas de helmintos (ARAÚJO; SILVA; FREITAS, 2012).

A amostra foi colocada em um coador sofrendo imersão em 500 ml de água e armazenadas em Proveta graduada de 1 000 ml, após duas horas foi selecionado com pipeta de 1 ml parte do conteúdo abaixo do sobrenadante, ou seja, do fundo e transferido para lâmina uma gota do sedimento, coberto com uma lamínula para visualização em microscópio ótico eletrônico. Visualizando a partir das objetivas de 10x/0.25; 40x/0.65. Foi realizada a sedimentação na união do conteúdo das amostras A, pelo fato de pertencerem a um único canteiro. Enquanto as amostras B e C foram sedimentadas separadamente.

3.2.2 Salmonella

As análises para *Salmonella* foi determinada pela International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMSF) que recomenda também o uso de água Peptonada como caldo de pré-enriquecimento não seletivo, com objetivo de recuperar as células injuriadas e incubar as amostras em condições não seletivas. Colocou na estufa á 35°C, por 48 horas e observou o crescimento com produção de gás, sendo positivo ou não.

3.2.3. Coliformes fecais e totais

Para a determinação de coliformes foram realizados os testes presuntivo e confirmativo para coliformes totais e fecais. Para o teste presuntivo, foram retirados 25 g da amostra e preparadas cinco diluições sucessivas que foram homogêneas com 225 ml de água Peptonada 0,1% o que correspondem as diluições (10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} e 10^{-5}) e para cada diluição foram utilizados três tubos contendo 9 ml de caldo lauril sulfato triptose (CLST), em tubos de ensaio adicionando 1,0 ml da diluição por tubo. Obtendo assim cinco alíquotas de diluições em uma serie de três tubos cada, resultando assim em 15 tubos de diluições, que foi incubado em estufa bacteriológica à 35°C, durante 48 horas e observou o crescimento com a produção de gás. O confirmativo dos coliformes totais, usando os tubos positivos do caldo lauril sulfato triptose (CLST), foi transferido, através de alça de platina, transferiu uma alçada de cada cultura para os tubos de caldo verde brilhante (CVB), e os incubou na estufa bacteriológica á 35°C, durante 48 horas e observou o crescimento com produção de gás, outra alçada para os tubos contendo caldo *Escherichia coli* (CEC), para o teste confirmativo para coliformes fecais, que foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C durante 48 horas, já os tubos de CEC em banho-maria, a 45°C, durante 24 horas. Em ambos os caldos, observou-se a produção ou não de gás, sendo considerados positivos os tubos com crescimento e produção de gás. Esta observação foi feita com os tubos de Durham, que estavam invertidos dentro dos tubos de ensaio. As análises seguem uma sequência padrão laboratoriais da qual utilizamos neste estudo, esquematizado logo a baixo:

AMOSTRA 1 ml → H₂O Peptonada → CLST (+) → CVB - estufa 35°/48h/ NMP



CEC - BM 45°/24h/NMP → EMB - estufa 35° /24h →

PCA 48h → ACS

24h → CT 24h → Reativo de Kovacs/5gts

24h → MR-VP 24h → α -Naftol/0,6ml+KOH/0,2ml

48 h → Vermelho metila/5gts

3.2.4 Pesquisa de *E. coli*

Para a detecção de *E. coli*, foi transferido uma alçada de cada caldo (EC) positivo para a cultura em placa de ágar eosina azul de metileno (EMB), que ficou encubado em estufa bacteriológica a 35°C durante 24 horas e observou-se o crescimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico). De cada placa foram transferidas para tubos contendo ágar padrão para contagem (PCA), inclinados e incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os testes bioquímicos conhecidos, segundo Pereira (2006), como IMViC (indol, vermelho de metila, voges-proskauer e citrato), e realizado de acordo com Silva (1997). Todos os meios foram inoculados a partir de uma única alçada de cultura, porém o ágar citrato de simmons foi inoculado em primeiro lugar para evitarmos a introdução de compostos de carbonos dos demais meios-testes.

Para o teste de citrato (ágar citrato de simmons - ACS), foi inoculada uma alçada do PCA, na rampa dos tubos de ACS, e incubado em estufa bacteriológica a 35°C por 48 horas. Decorrido esse período, observou-se a viragem alcalina, alterando a cor do meio verde para azul, indicando o teste positivo para *E. coli*, se a cor permanecer na cor verde o teste indica negativo para *E. coli*.

Para o teste do Indol, foi transferida uma alçada da cultura para 2 ml do caldo triptona (CT) e incubado em estufa bacteriológica a 35°C, por 24 horas. Após esse período, foi adicionado ao meio 05 gotas do reagente de Kovacs e observado a formação de um anel vermelho-violeta na superfície do caldo, e considerado positivo para *E. coli*. Retirou-se, também do PCA, uma alçada e inoculou-se em caldo MR-VP ficou na estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Para o teste voges-proskauer (VP), transferimos assepticamente 1,0 ml da cultura para o tubo de ensaio e adicionamos 0,6 ml de α naftol e 0,2 ml de KOH, agitou a solução e deixou descansar por duas horas em temperatura ambiente. Em seguida, foi observada a mudança na coloração do meio, se avermelhado, foi considerado positivo para *E. coli*. Para o teste vermelho de metila (MR) foi adicionado 2 ml do caldo para outro tubo de ensaio estéril e adicionado 5 gotas da solução vermelho de metila, observou a mudança na coloração do meio, se avermelhado, é considerado positivo para *E. coli*, se amarelo, negativo, as cepas de *E. coli* são vm positivas, segundo Silva (1997).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Parasitológico

Através da morfologia, foi realizada a identificação das estruturas parasitárias, entretanto, esta técnica encontra dificuldade na diferenciação de cistos, ovos e larvas, de distintas espécies parasitas do homem e dos animais, principalmente na diferenciação de alguns helmintos de vida livre (BARUFFALDI et al., 1984).

Foram evidenciados que nem todas as amostras estavam positivas para a presença de estruturas parasitárias, e nem todas as lâminas observadas apresentaram mais de uma ou duas estruturas. As alfaces e os coentros analisados apresentaram baixos índices de contaminação e nenhuma frequência na presença de parasitas. As estruturas parasitárias encontradas foram: *Ancylostoma spp*, oocisto de trematódeo, Cestodéo *Echynococcus granulosus* e pseudoparasita evidenciados apenas uma vez, indicando uma provável contaminação com excretas de animais, estruturas relevantes para a medicina veterinária, pela capacidade patogênica nos animais. Porém, podem ocasionalmente parasitar o homem.

TABELA 3 – Estruturas parasitárias encontradas nas amostras A, B e C estudadas.

AMOSTRAS	PARASITAS ENCONTRADOS
A	Artrópode/Cestodéo <i>Echynococcus graanulosus</i>
B	Presença de sujidades, areia e esterco
C	Oocistos de Trematódeo

Em algumas amostras analisadas nesta pesquisa, foi notória a presença de partículas de areia e resíduos de esterco proveniente de fezes de animais utilizado na adubação. O alto grau de sujidades pode estar relacionado a falhas durante o processo de lavagem realizada pelos produtores após a colheita (COUTINHO et al., 2015).

Além das estruturas potencialmente parasitárias, registrou-se a presenças de lagartas e de artrópodes, entre eles, alguns insetos, apesar das alfaces apresentarem um aspecto verde e saudável. Outros estudos realizados com alfaces, também evidenciaram a presença de artrópodes. Terto; Oliveira; Lima (2014) relatou em sua pesquisa a presença de artrópodes e acreditam que eles podem funcionar como meio de propagação de doenças, atuando como vetores que levam parasitas as hortaliças. No entanto os parasitas encontrados foram

insuficientes para formar um padrão estatístico de contaminação padrão, porém a presença desses microrganismos aponta a baixa qualidade higiênica dessas hortifrúteis, uma vez que são espécies de interesse médico, pois podem acometer a saúde do homem e dos animais.

4.2. Salmonella

Os resultados microbiológicos das doze amostras de alface (*Lactuca sativa*) e coentro (*Coriandrum sativum*) de *Salmonella* não observaram crescimento nem formação de gás em nenhuma das 12 amostras. Sendo assim não contendo positivos não foram feitas as etapas seguintes pela confirmação da ausência do patógeno.

4.3. Coliformes fecais e totais

Os resultados obtidos para presença da *E. coli*, coliformes totais e fecais estão relatadas nas tabelas 4, 5 e 6. Observou-se um alto grau de contaminação nas amostras A1 e A2 tanto de coliformes fecais ou termotolerantes como nos coliformes totais, com NMP 2.400nmp/ml, o que torna o alface impróprio para o consumo. No entanto podemos visualizar na tabela uma redução no nível de contaminação de coliformes totais nas amostras A3 e A4.

TABELA 4 - Coliformes Totais, Termotolerantes isoladas em da alface (*Lactuca sativa*).

Amostras	Coliformes totais NMP/ml	Coliformes Termotolerantes NMP/ml
A1	2.400	2.400
A2	2.400	2.400
A3	93	460
A4	93	240
A5	210	2.400

Na tabela 5 observamos uma alta presença de coliformes totais encontrada nas amostras B1, porém com nível baixo de termotolerantes apenas 9nmp/ml das amostras B2 e B4.

TABELA 5 - Coliformes Totais, Termotolerantes isoladas em coentro (*Coriandrum sativum*).

Amostras	Coliformes totais NMP/ml	Coliformes Termotolerantes NMP/ml
B1	93	23
B2	11	9
B3	23	23
B4	43	9

B5	43	43
-----------	----	----

TABELA 6 - Coliformes Totais, Termotolerantes isoladas em coentro (*Coriandrum sativum*).

Amostras	Coliformes totais NMP/ml	Coliformes Termotolerantes NMP/ml
C1	23	23
C2	240	43

No entanto a contaminação existe e fatores como a água e o solo devem ser focos para outros estudos, para determinar a origem segura da contaminação desses alimentos, fazendo o uso de técnicas moleculares como reação em cadeia pela polimerase (PCR) começou a ser utilizadas como uma alternativa na identificação na microbiologia dos alimentos.

5. CONCLUSÃO

Acredita-se que, apesar dos baixos índices de contaminação de parte das amostras parasitológicas, com as taxas de incidência ausentes, nos fazem pensar nos fatores que influenciam a disseminação dos patógenos encontrados no experimento. Percebendo que as fontes de infecção são amplas, incluindo a contaminação do solo com material fecal, o uso de adubo proveniente de fezes de animais ou humanos, o uso de água contaminada para irrigação a lavagem dos vegetais, o modo como são transportadas, as mãos de manipuladores e até mesmo pelo contato com animais vetores.

Sendo necessário um cuidado com a higiene dos alimentos '*in natura*', desde sua origem até a mesa do consumidor. Visto que a pratica da agricultura familiar esta cada vez ganhando mercado e requer atenção dos produtores, consumidores e pesquisadores voltados a análises mais objetivas nessa área de extensão. Com objetivo de orientar esses produtores desde a obra prima até o produto final, levando ao consumidor um alimento de qualidade e livre de qualquer contaminação, seja ela de origem bacteriológica ou parasitológica.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C. C. F.; SILVA, F. M. de L.; FREITAS, R. A. Alves. **Comparação Entre Os Métodos De Hoffman E Blagg No Diagnóstico De Enteroparasitoses.** Disponível em: <http://www.editorarealize.com.br/revistas/conacis/trabalhos/Modalidade_2datahora_24_03_2014_12_46_59_idinscrito_2815_8e31212319cdae4b073db14a4359fe82.pdf> Acesso em 22 mai. 2017.
- BAIARDI, A.; ALENCAR, C. M. M. de. **Agricultura Familiar, Seu Interesse Acadêmico, Na Lógica Constitutiva e Sua Resiliência no Brasil.** Revista Econ. Social Rural. Vol. 52. Brasília, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-20032014000600003> Acesso em: 02 mai. 2017.
- BALBANI, A. P. S; BUTUGAN, O. **Contaminação biológica de alimentos.** Pediatria (São Paulo), 2001.
- BARUFFALDI, R.; PENNA, T. C. V.; MACHOSHVILI, I. A.; ABE, L. E. **Tratamento químico de hortaliças poluídas.** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.18, 1984.
- BAÚ, D.; SIQUEIRA, M. R.; MOOZ, E. D. **Salmonella - Agente Epidemiológico Causador de Infecções Alimentares: uma revisão.** Disponível em: <http://www.xxcbcd.ufc.br/arqs/gt6/gt6_72.pdf> Acesso em: 05 abr. 2016.
- BOWMAN, D. D. **Georgis – Parasitologia Veterinária.** 9. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier ed. 2010.
- CARMINATE, B.; MELLO, I. O. de.; BELINELO, V.J.; MELLO, C.J.; CORDEIRO, C.N. **Levantamento De Enteroparasitas Hortaliças Comercializadas No Município De Pedro Canário, ES, Brasil, 2011.** Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011a/saude/levantamento.pdf>> Acesso em: 24 mar. 2016.
- COUTINHO, M. G. S.; FERREIRA, C. S.; NEVES, A. M.; ALVES, F. R L.; SOUZA, F. F. P.; FONTENELLE, R. O. S. **Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces (Lactuca sativa L.) comercializadas em feiras livres no município de Sobral – CE.** Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três corações, v. 13, n.2, p. 388-397, 2015.
- FERREIRA, A.B.H. **Mini Aurélio Século XXI Escolar: O minidicionário da língua portuguesa.** 4 ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira. 2000.
- GERMANO, P. M. L., GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos.** Barueri, SP: Manole, 2008. 229-230; 317p.
- GUANZIROLI, C. E.; BUAINAIN, A. M.; DI SABBATO, A. **Dez Anos de Evolução da Agricultura Familiar no Brasil: (1996 e 2006).** Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/resr/v50n2/v50n2a09.pdf>> Acesso em: 24 mar. 2016.

MARQUELLI, W. A.; SILVA, H. R. **Aspectos sanitários da água para fins de irrigação**. Brasília, DF: EMBRAPA HORTALIÇAS, 1998. 8p. (Comunicado Técnico, n. 5).

MARTINS, R.S.; **Farmácia Natural**: Medicina alternativa para o seu dia-a-dia. São Paulo: PAE ed. 2012.

MONTEIRO, S. G. **Livro didático de parasitologia veterinária**. Universidade Federal de Santa Maria – RS. 2 ed. 2007.

OLIVEIRA, E.Q.; BEZERRA NETO, F.B.; NEGREIROS, M.Z.; BARROS JÚNIOR, A.P.; FREITAS, K.K.C.; SILVEIRA, L.M.; LIMA, J.S.S. **Produção E Valor Agroeconômico No Consórcio Entre Cultivares De Coentro E De Alface**. Horticultura Brasileira, Brasília, v.23, n.2, p.285-289, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/hb/v23n2/25069.pdf>. Acessado em: 03.05.17.

PLANTIER R. D. **Coentro (*Coriander Sativum*): Um Tempero Muito Apreciado No Brasil**. 2014. Disponível em: <http://flores.culturamix.com/dicas/coentro-coriander-sativum-um-tempero-muito-apreciado-no-brasil> Acessado em 03.05.17.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C A.; SILVEIRA, N. F. de A. **Manual De Métodos De Análises Microbiológicas De Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.
SILVA, W. W; DELFINO, L. J. B. **Manual de Parasitologia Veterinária**: Principais parasitos gastrintestinais que acometem os animais domésticos. Vol.1, 2010.

SLOSS, M. W.; ZAJAC, A. M.; KEMP, R. E. **Parasitologia Clínica Veterinária**. Ed. Manole LTDA, São Paulo – SP. 6ª ed.1999.

TERTO, W. D.; OLIVEIRA, R. G.; LIMA, M. M. **Avaliação parasitológica em Alfaces (*Lactuca Sativa L.*) comercializadas em Serra Talhada, Pernambuco**. Revista Vigilância sanitária em Debate, v. 2, n. 3, 2014
URQUHART, G. M.; AMOUR, J.; DUNN, A. M. & JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. Guanabara Koogan S. A, Rio de Janeiro – RJ. 2 ed. 1998.

VARALLO, A. C. T.; SOUZA, M. de; RESENDE, S. S. R.; SOUZA, C. F. **Avaliação da qualidade sanitária da alface (*Lactuca sativa, L.*) irrigada com água de reuso comparada com amostras comercializadas**. Disponível em: <http://www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/view/671/pdf_500> Acesso em: 24 mar. 2016.

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M. S. CORREIA, M. das G. S. **A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para A diminuição da incidência de doenças**. Cadernos de graduação, ciências e biológicas da saúde. ISSN eletrônico 2316-3151. Aracaju | v. 1 | n.15 | p. 43-52 | out. 2012. Disponível em: <<https://periodicos.set.edu.br/index.php/cadernobiologicas/article/view/284/112>>. Acesso em 31.mar.2017.