



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUALIDADE HIGIÊNICO - SANITÁRIA DE ALFACES (*Lactuca sativa*)
COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DO SERTÃO DA PARAÍBA**

VITÓRIA VIVIANE FERREIRA DE AQUINO
ORIENTADOR: PROF. DR. ONALDO GUEDES RODRIGUES

PATOS - PB
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**QUALIDADE HIGIÊNICO - SANITÁRIA DE ALFACES (*Lactuca sativa*)
COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DO SERTÃO DA PARAÍBA**

VITÓRIA VIVIANE FERREIRA DE AQUINO
MÉDICA VETERINÁRIA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - PPGCA, para a obtenção do título de mestre.

PATOS - PARAÍBA, BRASIL
FEVEREIRO DE 2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA MARIA ANTONIA DE SOUSA CRB 15/398

A657q Aquino, Vitória Viviane Ferreira de.
Qualidade higiênico - sanitária de alfaces (*lactuca sativa*)
comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba / Vitória
Viviane Ferreira de Aquino. – Patos, 2019.
41 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia
Rural,
2019.
"Orientação: Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues".
Referências.

1. Doenças transmitidas por alimentos. 2. Enterobactérias.
3. Parasitos. I. Rodrigues, Onaldo Guedes. II. Título.

CDU 641:614.31(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

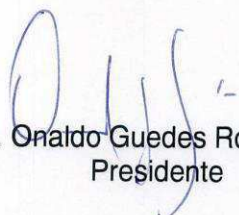
TÍTULO: “Qualidade higiênico-sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do sertão da Paraíba”

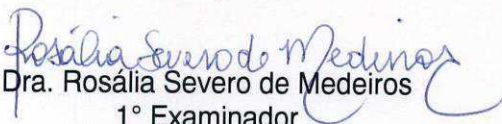
AUTORA: Vitória Viviane Ferreira Aquino


ORIENTADOR: Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

JULGAMENTO


CONCEITO: APROVADO


Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
Presidente


Dra. Rosália Severo de Medeiros
1º Examinador


Dr. Wilson Wouflan Silva
2º Examinador

Patos - PB, 27 de fevereiro de 2019


Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCG
Mat. SIAPE1506999
Coordenador

“Paciência na vida é a força que te guarda. O amor do sacrifício é o degrau que te eleva. Deus age em toda parte, construindo o melhor. Serve com paciência, depois entenderás.”

Emmanuel

DEDICATÓRIA

À minha mãe, o meu maior exemplo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me conceder a realização de tantos sonhos. Obrigada por me permitir errar, aprender e evoluir.

Um agradecimento especial, a pessoa que sempre lutou para que eu conseguisse alcançar os meus objetivos, minha mãe: Tâmara Maria Moreira Ferreira, a qual eu dedico todas as minhas conquistas.

Aos meus avós: Maria Celi Ferreira, João Batista Ferreira (*in memoriam*) e Lindalva Batista da Silva Alencar, por todo amor, preocupação e por estarem presentes nas minhas melhores recordações.

Ao meu namorado, Lucas Cavalcante de Oliveira por todo amor, companheirismo e paciência.

À minha amiga de graduação e da vida: Maria Jussara Rodrigues do Nascimento, por sempre me aconselhar e conduzir para o bem.

As minhas amigas: Saula Virgínia Medeiros Confessor e Aline Antas Cordeiro, que sem dúvida, foram essenciais para a execução desse trabalho, com certeza essa caminhada teria sido muito mais difícil se não fosse a participação de vocês.

A todos os meus familiares e amigos, pelo apoio incondicional e por estarem sempre na torcida pelo meu sucesso.

A Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos, por ter fornecido toda estrutura necessária para execução do experimento. Grande orgulho em fazer parte desta instituição.

Ao meu orientador, Professor Onaldo Guedes Rodrigues, pelas oportunidades e por ter acreditado na minha capacidade desde a graduação, onde eu pude ter o meu primeiro contato com a pesquisa científica, despertando assim o meu interesse em seguir a carreira de docente.

A Professora Rosália Severo de Medeiros, por toda contribuição, orientação e tempo dedicado para ajudar, estando presente desde o início da pesquisa.

Ao Professor Wilson Wouflan Silva, por toda atenção e aconselhamento científico.

Ao Professor Severino Silvano dos Santos Higino, por todos os ensinamentos, compreensão e profissionalismo, desde as aulas ministradas até a qualificação da dissertação e realização do estágio docência.

A Professora Nara Geanne de Araújo Medeiros pela disponibilidade, participação e colaboração na qualificação da pesquisa.

A todos os mestres que constituem o PPGCA, por todo aprendizado que nos proporcionaram durante esta trajetória.

A toda equipe que constitui o programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFCG em especial ao Professor Coordenador José Fábio Paulino de Moura e ao Secretário Arimateia Cruz Guedes, por toda atenção, presteza e por terem sido sempre solícitos para com todos os alunos que constituem o programa.

Aos profissionais do Laboratório de Microbiologia: Aline de Farias Diniz e Sr. Eduardo Xavier de França, por toda atenção e auxílio que nos ofereceram desde o início do experimento.

Aos amigos da pós-graduação, por todo aprendizado que pudemos construir nestes dois anos, não somente relacionado à ciência, mas também à vida. Desejo a todos um futuro brilhante. Um agradecimento especial a Luciana Viana Diógenes, por todo apoio e ajuda que tive para a execução da pesquisa e pelo vínculo de amizade.

Aos produtores e feirantes que aceitaram participar dessa pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por estimular o exercício da pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos.

Ninguém vence na vida sozinho, gratidão a todos.

SUMÁRIO

| | |
|---|-------------|
| RESUMO..... | viii |
| ABSTRACT..... | ix |
| LISTA DE TABELAS..... | x |
| LISTA DE FIGURAS..... | xi |
| LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS..... | xii |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 13 |
| REFERÊNCIAS..... | 15 |
| | |
| CAPÍTULO I..... | 17 |
| Análise microbiológica de alfaces (<i>Lactuca sativa</i>) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba..... | 17 |
| Resumo..... | 18 |
| Abstract..... | 19 |
| Introdução..... | 20 |
| Material e Métodos..... | 21 |
| Resultados e Discussões..... | 23 |
| Conclusões..... | 26 |
| Referências..... | 27 |
| | |
| CAPÍTULO II..... | 22 |
| Diagnóstico parasitológico em alfaces (<i>Lactuca sativa</i>) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba através de técnicas distintas..... | 30 |
| Resumo..... | 30 |
| Abstract..... | 31 |
| Introdução..... | 32 |
| Material e Métodos..... | 33 |
| Resultados..... | 35 |
| Discussões..... | 35 |
| Conclusões..... | 37 |
| Referências..... | 37 |
| | |
| CONCLUSÃO GERAL..... | 40 |
| ANEXOS..... | xli |
| ANEXO A - Normas da Revista Acta Brasiliensis..... | xli |
| ANEXO B - Normas da Revista de Saúde Pública..... | xliv |

QUALIDADE HIGIÊNICO - SANITÁRIA DE ALFACES (*Lactuca sativa*) COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DO SERTÃO DA PARAÍBA

AQUINO, V.V.F; RODRIGUES. O.G.

RESUMO

O consumo de alimentos *in natura* tem aumentado, visto que, as pessoas buscam a cada dia manter uma alimentação mais saudável. Dentre esses alimentos, a alface (*Lactuca sativa*) é considerada a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo. Apesar dos diversos atributos nutricionais, esse alimento pode ser veiculador de diversos microrganismos como coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella*, que são potencialmente patogênicas ao homem, além de estruturas parasitárias, algumas causadoras de zoonoses. Nessa perspectiva, o objetivo do estudo foi verificar a qualidade higiênico - sanitária de alfaces comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba, através da realização de análises microbiológicas e parasitológicas. As análises foram realizadas seguindo o Standard Methods (Silva et al., 2007). Para os exames parasitológicos foram empregadas as técnicas descritas por Hoffmann (1934) e Willis - Mollay (1921). Foi possível verificar que 79,2% das amostras das duas unidades produtivas apresentaram-se em níveis considerados insatisfatórios para termotolerantes, além da presença de *E. coli* em uma das amostras, estando em desacordo com a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Quanto ao exame parasitológico, observou-se através da técnica de sedimentação espontânea estrutura compatível com oocisto de protozoário em uma das unidades produtivas. A legislação vigente estabelece como padrão a ausência de parasitos e larvas. Diante disto, estes alimentos representam um papel importante no que diz respeito aos problemas de saúde pública, havendo a necessidade de medidas que evitem a contaminação, reduzindo assim, os riscos relacionados à ocorrência de doenças de origem alimentar.

Palavras-chave: Doenças transmitidas por alimentos; enterobactérias; parasitos.

SANITARY HYGIENICQUALITY OF LETTUCE (*Lactuca sativa*) COMMERCIALIZED IN FREE FAIRS IN THE SERTÃO OF PARAÍBA

AQUINO, V.V.F; RODRIGUES. O.G.

ABSTRACT

The consumption of fresh food has increased, as people seek to maintain a healthier diet every day. Among these foods, lettuce (*Lactuca sativa*) is considered the most consumed hardwood crop in Brazil and in the world. In spite of several nutritional attributes, this food can be a carrier of several microorganisms such as thermotolerant coliforms, *E. coli* and *Salmonella*, which are potentially pathogenic to man, as well as parasitic structures, some of which cause zoonoses. In this perspective, the objective of the study was to verify the sanitary hygienic quality of lettuces sold in open fairs in the Sertão of Paraíba, through the performance of microbiological and parasitological analyzes. The analyzes were performed following the Standard Methods (Silva et al., 2007). For the parasitological examinations the techniques described by Hoffmann (1934) and Willis - Mollay (1921) were used. It was possible to verify that 79.2% of the samples of the two productive units presented in levels considered unsatisfactory for thermotolerant, in addition to the presence of *E. coli* in one of the samples, being in disagreement with RDC nº 12 of January 2, 2001 of the National Agency of Sanitary Surveillance - (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) ANVISA. Regarding the parasitological examination, a structure compatible with protozoan oocyst was observed in one of the productive units through the spontaneous sedimentation technique. The current legislation establishes the absence of parasites and larvae as standard. In view of this, these foods play an important role in relation to public health problems and there is a need for measures to prevent contamination, thus reducing the risks related to the occurrence of food-borne diseases.

Keywords: Foodborne diseases; enterobacteria; parasites.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Dados relacionados à pesquisa de microrganismos em alfaces dos tipos americana e crespa provenientes do Território rural Serra do Teixeira - PB, comercializadas em feira livre no município de Patos - PB, 2019. | 23 |
| Tabela 2. Dados relacionados à pesquisa de microrganismos em alfaces dos tipos americana e crespa produzidas e comercializadas em feira livre no município de Patos - PB, 2019. | 24 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Teste presuntivo positivo (A) e negativo (B) para coliformes totais.
(Fonte: arquivo pessoal) 22

CAPÍTULO II

Figura 1. Cálices de sedimentação contendo material filtrado das amostras.
(Fonte: arquivo pessoal)..... 34

Figura 2. Beckers contendo amostras de alface para realização da técnica de
Willis Mollay. (Fonte: arquivo pessoal) 34

Figura 3. Oocisto de protozoário, observado através de microscopia óptica,
utilizando objetiva de 10x. (Fonte: arquivo pessoal)..... 35

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas
ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BS - Ágar Bismuto Sulfito
°C - Graus Celsius
CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDC - Center of Disease Control
CE - Ceará
CSTR - Centro de Saúde e Tecnologia Rural
CT - Coliformes termotolerantes
EC - Caldo para *Escherichia coli*
EMB - Ágar Eosina Azul de Metileno
g - Grama
He - Ágar Entérico Hectoen
H₂S - Ácido sulfídrico
ISO - International Organization for Standardization
Kg - Quilograma
LIA - Ágar Lisina Ferro
LST - Caldo Lauril Sulfato
mL - Mililitro
NMP - Número Mais Provável
PCA - Ágar Padrão para Contagem
PB - Paraíba
RDC - Resolução da Diretoria Colegiada
TT - Caldo Tetracionato
TSI - Ágar Ferro Tríplice Açúcar
UACB - Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas
UAMV - Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária
UFC - Unidades formadoras de colônias
UFCG - Universidade Federal de Campina Grande
VBLB - Caldo verde brilhante lactose bile
XLD - Ágar Xilose Lactose Dextros

INTRODUÇÃO GERAL

As hortaliças frescas fazem parte da dieta de muitos indivíduos em razão de seus atributos nutricionais, preparo simples e baixo custo de produção. A ingestão desse alimento vem crescendo não só devido ao aumento populacional, mas também, devido a uma tendência de mudança nos hábitos alimentares dos consumidores (Hanning et al., 2009; Potrich et al., 2012).

No Brasil, a alface (*Lactuca sativa*) crespa é considerada a hortaliça folhosa mais consumida pela população, seguida pela alface americana (Belinelo et al, 2009; EMBRAPA, 2010) e a 3ª em maior volume de produção, perdendo apenas para a melancia e o tomate, segundo a Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas (ABCSEM, 2015).

A maior parte do volume de alface consumida no Brasil é oriunda de feiras livres, as quais apresentam alto grau de contaminação por ficarem na maioria das vezes, expostas ao ar livre, estando susceptíveis a alterações biológicas e contaminação por microrganismos e insetos devido à poluição urbana (Xavier, 2009).

O consumo da alface crua pode ser um importante meio de transmissão de várias doenças infecciosas, propiciadas por fatores como: umidade presente desde o plantio até a comercialização, flora microbiana proveniente do solo, pela água, ar, insetos e animais (Balioni, et al., 2003).

Vários são os microrganismos que provocam doenças e entre eles podemos destacar: *Salmonella*, *Shigella* e coliformes termotolerantes. A *Salmonella* é um dos microrganismos mais envolvidos em surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive no Brasil (Franco; Landgraf, 2001).

Dentro do grupo de coliformes estão as cepas de *Escherichia coli*, as quais são membros da microbiota intestinal normal, as mais comuns e clinicamente importantes, além de serem causadoras de diarreia. O significado da presença de *E.coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois aspectos. Um deles é que este possui uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que este possui uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas inadequadas, e o outro, é que cepas de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem (Trabulsi, 2005).

Diante disso, é de suma relevância para a Saúde Pública o seu estudo como veículo transmissor de doenças, o que pode ser feito por diagnóstico laboratorial, que além de informar acerca dos microrganismos presentes, fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas na produção, transporte, manipulação e armazenamento deste vegetal (Silva; Andrade; Stamford, 2005).

Apesar de receber menos manipulação e tratamento vigoroso do que o produto ainda em plantio, após sua colheita a alface recebe ainda alguns processos que podem afetar a sua segurança bacteriológica. Estas etapas de processamento envolvem necessariamente o contato humano para a imersão na água e o corte. Em tudo isso, existe o potencial para contaminar o produto com as bactérias patogênicas, assim como a possibilidade em favorecer o crescimento destes contaminantes (Brackett, 1994).

Além disso, o hábito de alimentar-se com verduras *in natura* possibilita a disseminação de uma grande parte das formas transmissíveis de parasitos entre a população. Pessoas com distúrbios imunes, crianças e idosos são as mais susceptíveis a adquirir doenças parasitárias. As formas de controle das enfermidades transportadas por alimentos têm recebido grande atenção em todo o planeta, pois estes desempenham importante papel na transmissão de estruturas parasitárias (Takayanagui et al., 2006).

Nesse contexto, a realização desse estudo torna-se relevante pela obtenção de dados referentes à qualidade microbiológica de alfaces comercializadas em feiras livres do município de Patos, Paraíba, visto que, tal localidade possui um mercado de destaque no que diz respeito à produção desses alimentos, como também na comercialização de hortifrúteis provenientes de cidades circunvizinhas.

Sabendo-se, que a contaminação desses vegetais pode ocorrer em qualquer etapa da cadeia de produção, seja no plantio, colheita, acondicionamento, transporte e comercialização, a equipe proponente a esse projeto, analisou acerca dos aspectos microbiológicos existentes em plantios convencionais e orgânicos, verificando níveis de contaminação significativos.

Nessa perspectiva, objetivou-se avaliar os índices microbiológicos e parasitológicos de alfaces (*Lactuca sativa*) oriundas de duas unidades produtivas, comercializadas em feiras livres da cidade de Patos - PB, de modo a disponibilizar um perfil dos contaminantes presentes no referido alimento.

A presente dissertação é composta por dois capítulos. O primeiro objetiva relatar acerca da qualidade microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) oriundas de feiras livres do município de Patos, o qual será submetido à Revista Acta Brasiliensis. O segundo capítulo possui como objetivo obter o perfil parasitológico dessas hortaliças, utilizando duas técnicas como métodos de diagnóstico, o mesmo será submetido à Revista de Saúde Pública.

REFERÊNCIAS

ABCSEM, Rainha das folhosas é a mais consumida no Brasil. **Revista de Hidroponia**. 5 ed. 2015.

Balioni, A. B. et al. Avaliação higiênico-sanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxicos comercializadas na região de Campinas - SP. **Hig. Alim.**, v. 17, n. 112, p.73-78, 2003.

Belinelo V.J, Gouvêia M.I, Coelho M.P, Zamprogno A.C, Fianco B.A, Oliveira L.G.A. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na cidade de São Mateus, ES, Brasil. **Arq ciênciassaúde UNIPAR**. jan.-abr.;13(1):33-6, 2009.

Brackett, R.E. Esporos e patógenos microbiológicos em frutas e em vegetais minimamente processados. In: WILEY, R.C. (Ed.) Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. New York: Nostrand Reinhold, p. 269-312, 1994.

Empresa Brasileira de Pecuária e Agricultura - EMBRAPA. Novos rumos na produção de hortaliças. 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Atheneu, São Paulo, 2004, ed.1, 182p.

Hanning, I. B.; Nutt, J. D.; Ricke, S. C. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. **Foodborne Pathogens and Disease**, New York, v. 6, n. 6, p. 635-648, 2009.

Potrich, A. C. G.; Pinheiro, R. R.; Schmidt, D. Alface hidropônica como alternativa de produção de alimentos de forma sustentável. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15; p. 36-48, 2012.

Silva, C. G. M.; Andrade, S. A. C.; Stamford, T. L. M. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 10, n. 1, p. 63-69, 2005.

Takayanagui, O. M.; Capuano, D. M.; Oliveira, C.A.D.; Bergamini, A.M.M. Okino MHT, Castro - e - Silva AC, Oliveira MA, Ribeiro EGA, Takayanagui A. Análise da cadeia de produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Rev Soc Bras Med Trop** 39: 224-226, 2006.

Trabulsi, L.R. Microbiologia. Editora Atheneu, 4 ed, São Paulo, 679p, 2005.

Xavier, A.Z.P.; Vieira, G.D.G.; Rodrigues, L.O.M.; Valverde, L.O.; Pereira, V.S.
Condições higiênico - sanitárias das feiras-livres do município de Governador Valadares. Governador Valadares - MG: UNIVALE, 2009.
Trabalho de Conclusão de Curso de nutrição, Faculdade de Ciência da Saúde - FACS, Universidade Vale do Rio Doce, 2009.

CAPÍTULO I

Análise microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba

(Manuscrito que será submetido à Revista Acta Brasiliensis)

Análise microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba

Resumo

A alface (*Lactuca sativa*) é relatada como sendo a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo. Esse alimento pode ser carreador de microrganismos patogênicos ao homem, tornando-se um problema de saúde pública. O objetivo do estudo foi verificar a qualidade microbiológica de alfaces provenientes de feiras livres do sertão da Paraíba. As análises foram realizadas seguindo o Standard Methods (Silva et al., 2007). Foram coletadas 24 amostras de alfaces do tipo americana e crespa, provenientes de duas unidades produtivas e comercializadas em feiras livres do município de Patos, PB. Foi possível verificar que 79,2% das amostras das duas unidades produtivas apresentaram-se em níveis considerados insatisfatórios para coliformes termotolerantes, além da presença de *E. coli* em uma das amostras, estando assim em desconformidade com a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Diante disto, estes alimentos representam um papel importante no que diz respeito aos problemas de saúde pública, havendo a necessidade de medidas que evitem a contaminação, reduzindo assim, os riscos relacionados à ocorrência de doenças de origem alimentar.

Palavras-chave: Coliformes termotolerantes; hortaliças *in natura*; higiene dos alimentos; microrganismos patogênicos.

Microbiological analysis of lettuces (*Lactuca sativa*) marketed in free trade fairs in the Sertão of Paraíba

Abstract

Lettuce (*Lactuca sativa*) is reported to be the most consumed hardwood crop in Brazil and worldwide. This food may be a carrier of microorganisms pathogenic to man, becoming a public health problem. The objective of the study was to verify the microbiological quality of lettuce from free trade fairs in the backwoods of Paraíba. The analyzes were performed following the Standard Methods (Silva et al., 2007). Twenty - four samples of American and Curly - type lettuce were collected from two production units and marketed at free markets in the municipality of Patos, PB. It was possible to verify that 79.2% of the samples of the two productive units presented in levels considered unsatisfactory for thermotolerant coliforms, besides the presence of *E. coli* in one of the samples, being thus in discontinuity with the RDC nº 12 of January 2 of 2001 of the National Agency of Sanitary Surveillance - ANVISA. Due to this, these foods play an important role with regard to public health problems, and there is a need for measures to avoid contamination, thus reducing the risks related to the occurrence of diseases of food.

Keywords: Thermotolerant coliforms; vegetables *in natura*; food hygiene; pathogenic microorganisms.

Introdução

As hortaliças de um modo geral são essenciais e fazem parte da dieta alimentar de boa parte da população mundial. Normalmente são consumidas na forma “*in natura*” e, sem lavagem e controle sanitário adequados, servem como transmissores de microrganismos patogênicos causadores de doenças (Itohan et al., 2011).

A alface (*Lactuca sativa*) é uma planta herbácea, originária de clima temperado, que pertence à família *Asteracea* e subfamília *Cichoriaceae*. Sendo uma das hortaliças folhosas mais comercializadas no Brasil e, atualmente é considerada a mais consumida na forma *in natura* no país e no mundo (Abnor Gondim, 2010; Cavalcante et al., 2014; Albuquerque Junior et al., 2016).

O consumo dessa hortaliça vem crescendo não só devido ao crescimento populacional, mas também devido a uma tendência de mudança nos hábitos alimentares dos consumidores (Potrich et al., 2012).

A maior parte do volume da alface consumida no Brasil é oriunda de feiras livres, as quais, por estarem expostas ao ar livre sofrem muitas alterações biológicas e o contato com a poluição do ambiente facilita a contaminação por microrganismos e insetos (Xavier, 2009; Abreu, et al., 2010).

A feira livre é considerada um dos locais mais tradicionais de comercialização de alimentos a varejo destacando-se o produto “*in natura*”, sendo uma melhor forma de comércio móvel, com circulação dentro das áreas urbanas. Entretanto, é motivo de preocupação e investigações, em virtude de suas deficiências higiênico-sanitárias, pois os alimentos de origem animal, vegetal e seus produtos derivados, ficam expostos sob condições ambientais, sujeitos a ações diretas dos microrganismos oriundos da poluição ambiental, como também da ação de vetores como insetos e outros animais, quando não estão adequadamente acondicionados ou embalados (Soares et al., 2014).

Para evitar as doenças de origem alimentar, devem-se enfatizar as situações que visem à prevenção de agentes patogênicos e as condições de maior risco e, para assegurar que os alimentos sejam preparados de modo garantir a segurança do consumidor, devem ser adotadas medidas de prevenção e controle em todas as etapas da cadeia produtiva (Kaur, 2012).

Portanto, a verificação laboratorial da sanidade microbiológica das hortaliças torna-se um importante instrumento de controle de transmissão de doenças para o setor da saúde pública, uma vez que fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas na produção, armazenamento, transporte e manuseio desses produtos, identificando os

riscos de contaminação e subsidiando medidas corretivas e preventivas para a descontaminação (Silva et al., 2005; Ferro et al., 2012).

Diante da importância e atualidade da temática, bem como, do crescente consumo dessa hortaliça na alimentação humana e dos problemas relacionados à contaminação, o presente trabalho teve como objetivo determinar o perfil microbiológico de alfaces oriundas de feiras livres do sertão paraibano, promovendo um estudo das condições higiênico-sanitárias das amostras analisadas.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em feiras livres da cidade de Patos - PB, que comercializavam hortifrútiis. Foram coletadas vinte e quatro amostras de alface, sendo doze advindas do Território rural Serra do Teixeira - PB e doze provenientes do município de Patos - PB.

A unidade amostral foi o “pé” de alface (*Lactuca sativa*), independentemente do tamanho e peso. Foram utilizadas duas variedades de alfaces, sendo “alface americana” e “crespa”. As amostras foram retiradas pelos comerciantes e acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso contendo informações do local da coleta, data, horário e variedade. O transporte foi realizado utilizando caixa térmica contendo gelo. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da UACB para realização das análises microbiológicas.

A pesquisa de *Salmonella spp.* foi realizada seguindo as recomendações do ISO (International Organization for Standardization) e da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), afim de verificar a ausência ou presença em 25g da amostra e a homogeneização em água peptonada tamponada incubada a 35 °C durante 24 horas. Transcorrido o tempo de incubação a amostra foi colocada em tubos contendo o Caldo tetrionato (TT) e o Caldo Rappaport-Vassiliadis, incubadas a 35 °C/24 h. Após esse período de incubação foi realizado o plaqueamento diferencial fazendo estrias com alça de platina nos seguintes meios Ágar Xilose Lactose Dextrose (XLD), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Entérico Hectoen (HE) que foram incubados a 35 °C por 24h.

A etapa seguinte foi destinada para realização das provas bioquímicas das colônias típicas, transferindo-as e inoculando-as através de estrias nos tubos inclinados nos meios Ágar Ferro Tríplice Açúcar (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA), incubados a 35 °C por 24 horas.

A série bioquímica continuou utilizando outras provas, como o Teste da Uréia, Indol, Malonato, VM-VP e Citrato, além da coloração de Gram. Testes bioquímicos

adicionais podem ser realizados, em virtude da necessidade de confirmação de reação típica para *Salmonella* (SILVA, 2007).

O teste presuntivo de coliformes foi feito por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). Transferiu-se 10g da amostra para um erlenmeyer contendo 90 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se a diluição de 10^{-1} . Utilizou-se o caldo lauril sulfato (LST) em concentração simples. Cinco séries de três tubos contendo o caldo LST com tubos de Durham invertidos foram inoculadas com 1 mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Incubaram-se os tubos a 35°C por 24 - 48 h. Após o tempo de incubação, a suspeita da presença de coliformes foi verificada nos tubos com formação de gás e turvação (Figura 2).

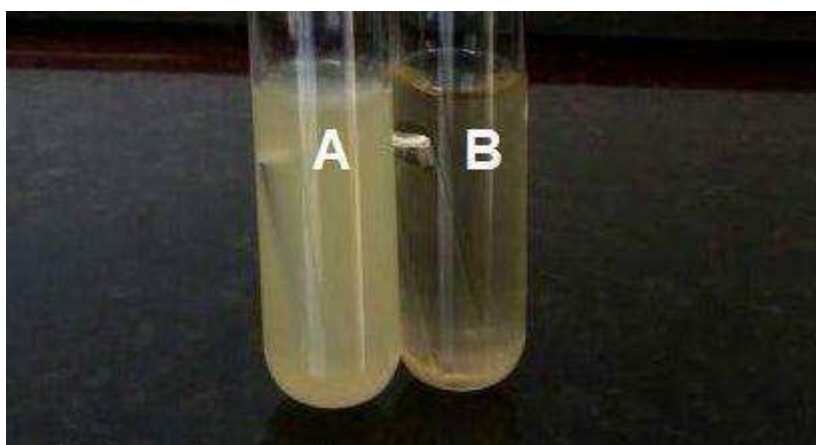


Figura 1. Teste presuntivo positivo (A) e negativo (B) para coliformes totais. (Fonte: arquivo pessoal).

Para o teste confirmativo de coliformes totais, repicou-se cada tubo positivo, na prova presuntiva, para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, seguida de incubação a $37^{\circ}\text{C}/24$ ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica a da prova presuntiva.

Para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durham invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45°C em banho Maria sob agitação, a confirmação foi feita igual à prova presuntiva.

O número mais provável foi estimado usando a tabela específica de Hoskins para o teste na faixa 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . A pesquisa de *E. coli* foi realizada através da repicagem dos tubos contendo EC para placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) incubada a $35-37^{\circ}\text{C}/24$ h para observação do crescimento de colônias típicas.

Após o crescimento de unidades formadoras de colônias, estas foram transferidas com auxílio de alça de platina para tubos inclinados contendo Ágar Padrão

Para Contagem (PCA) que foram incubados a 35 °C/24 h. A confirmação de *E. coli* foi realizado através da coloração de Gram e de testes bioquímicos, a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA). Os testes bioquímicos utilizados foram: Indol, Voges-Proskauer, Citrato e vermelho de metila.

Os dados das análises microbiológicas foram agrupados e tratados pelo programa Excel® para estabelecimento de frequência simples e percentual.

Resultados e Discussões

Com a realização da análise microbiológica, observou-se que 79,2% de todas as amostras analisadas estavam em níveis insatisfatórios de acordo com a Resolução n° 12, de 02 de janeiro de 2001, da ANVISA (Brasil, 2001), devido à presença de coliformes termotolerantes, visto que, a legislação não estabelece limite de tolerância para coliformes totais. (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Dados relacionados à pesquisa de microrganismos em alfaces dos tipos americana e crespa provenientes do Território rural Serra do Teixeira - PB, comercializadas em feira livre no município de Patos - PB, 2019.

| Produtor 1 | | Microrganismos | | | Resol. N° 12 jan. de 2001 |
|-------------------------|---------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------------|
| Variantes | Col. Totais (NMP/g) | Col. Termotolerantes (NMP/g) | <i>Salmonella</i> ssp. | <i>E.coli</i> | |
| Alface americana | | | | | |
| 1 | 240 | <3 | ausência em 25g | - | Satisfatório |
| 2 | ≥2400 | 75 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 3 | ≥2400 | 23 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 4 | ≥2400 | 9 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 5 | ≥2400 | 23 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 6 | ≥2400 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| Alface crespa | | | | | |
| 1 | 7 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 2 | 23 | 15 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 3 | 23 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 4 | ≥2400 | 15 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 5 | ≥2400 | 20 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 6 | 240 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |

Tabela 2. Dados relacionados à pesquisa de microrganismos em alfaces dos tipos americana e crespa produzidas e comercializadas em feira livre no município de Patos - PB, 2019.

| Produtor 2 | | Microrganismos | | | Resol. N° 12 jan. de 2001 |
|-------------------------|---------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------|------------------------------|
| Variantes | Col. Totais (NMP/g) | Col. Termotolerantes (NMP/g) | <i>Salmonella ssp.</i> | <i>E.coli</i> | |
| Alface americana | | | | | |
| 1 | 240 | <3 | ausência em 25g | - | Satisfatório |
| 2 | ≥2400 | <3 | ausência em 25g | - | Satisfatório |
| 3 | 240 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 4 | ≥2400 | 23 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 5 | ≥2400 | 1100 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 6 | ≥2400 | <3 | ausência em 25g | - | Satisfatório |
| Alface crespa | | | | | |
| 1 | 210 | 4 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 2 | ≥2400 | ≥2400 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 3 | 23 | <3 | ausência em 25g | - | Satisfatório |
| 4 | ≥2400 | 23 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 5 | ≥2400 | ≥2400 | ausência em 25g | - | Insatisfatório |
| 6 | ≥2400 | ≥2400 | ausência em 25g | + | Insatisfatório |

O resultado das amostras foi classificado em satisfatório e não satisfatório, de acordo com os padrões da legislação, na qual é estabelecido o limite de tolerância de contaminação das amostras até a diluição 10^{-2} (BRASIL, 2001).

No que diz respeito à presença de coliformes totais no presente estudo, verificou-se contaminação para as duas unidades produtivas, revelando uma higiene precária no processo de produção, corte, lavagem, transporte, manipulação e acondicionamento das hortaliças, representando um sério risco para a saúde do consumidor, elucidando a necessidade de melhorias quanto ao processo de produção desses alimentos para a comercialização. No entanto, não existem padrões para contagem de coliformes totais para hortaliças *in natura* de acordo com a RDC 12/2001 (ANVISA).

Detectou-se que 91,7% das amostras oriundas do território rural Serra do Teixeira - PB estavam em níveis insatisfatórios para coliformes termotolerantes. Com relação às variedades de alfaces analisadas, observou-se que 83,3% das alfaces do tipo americana estiveram em níveis insatisfatórios, já para a alface do tipo crespa revelou-se que 100% estavam em níveis insatisfatórios.

Já as amostras provenientes do município de Patos - PB apresentaram 66,7% de inconformidade para coliformes termotolerantes. No tocante às variedades de alfaces, verificou-se que 50% das amostras do tipo americana estavam em níveis insatisfatórios, enquanto que a do tipo crespa apresentou 83,8% quanto ao nível de contaminação.

Ao comparar os níveis de contaminação por coliformes termotolerantes para as duas variedades de alfaces analisadas das duas unidades produtivas, verificou-se um maior grau de inconformidade para a alface do tipo crespa atingindo 91,7%.

No estudo não foi detectada a presença de *Salmonella* spp., o que demonstra uma baixa incidência desse microrganismo em hortaliças comercializadas em feiras livres do município de Patos - PB.

Em estudos desenvolvidos por Silva e Bitello (2016), Medeiros e Athayde (2017), Morato e Rodrigues (2017), Barreto, Rodrigues e Medeiros (2018) também não foi verificada a presença de *Salmonella* spp. em hortaliças, estando de acordo com a legislação vigente.

Resultados divergentes foram encontrados por Ferreira et al., (2016) em Minas Gerais. Os autores verificaram a presença de *Salmonella* nas amostras de hortaliças analisadas, no entanto, as amostras foram negativas quanto à presença de coliformes termotolerantes, diferindo do estudo em questão.

A presença de *E. coli* em uma das amostras analisadas (4,2%) sendo essa proveniente da cidade de Patos, é indicativo de contaminação fecal de origem humana e/ou animal, evidenciando desta forma a má condição higiênico-sanitária na produção e manipulação dessas hortaliças pelos operários, que pode ter ocorrido na lavagem e corte das alfaces, como também na falta de higiene das caixas de transporte e mesas de acondicionamento para a comercialização, além do contato com outros tipos de hortaliças que podem propiciar uma contaminação cruzada.

E. coli O157: H7 tornou-se o agente etiológico bacteriano mais comum em surtos envolvendo alface e outras hortaliças verdes, o que se torna preocupação para a saúde pública devido à gravidade de doenças agudas gastrointestinais e sobretudo às consequências que estas podem causar (Yang et al., 2012).

Em estudo desenvolvido por Morato e Rodrigues (2017), no qual realizaram a coleta de amostras de alface crespa em propriedade rural localizada em Serra do Teixeira - PB verificou-se que 40% das amostras estiveram em níveis insatisfatórios para coliformes totais e termotolerantes de acordo com a legislação.

Em uma pesquisa realizada por Medeiros e Athayde (2017) ao investigarem acerca dos níveis microbiológicos de alface do tipo lisa, constaram níveis significativos de contaminação atingindo 60% para o município de Patos e 90% para o território Rural Serra do Teixeira - PB. O que demonstra a importância de se manter uma higiene adequada por parte dos manipuladores em todas as etapas da cadeia de produção.

Barreto, Rodrigues e Medeiros (2018) obtiveram também resultados relevantes com relação à contaminação microbiológica de alface lisa de territórios rurais, indicando que 46,4% e 80% das amostras de duas unidades produtivas estiveram inaptas para o consumo.

Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com os citados anteriormente observa-se um maior nível de contaminação microbiológica no presente estudo, o que pode ser explicado pelo fato dessas hortaliças passarem por outras etapas da cadeia de produção, como a manipulação para realização do corte, lavagem e transporte para a posterior comercialização.

No decorrer da pesquisa foram observados alguns quesitos que podem ter favorecido à contaminação de cunho microbiológico, como a não higienização das mãos por parte dos feirantes para manipulação das hortaliças, bem como, o uso de aparelhos celulares.

Observou-se também a ausência de uma pessoa específica para o manuseio de dinheiro, a fim de evitar possíveis contaminações das alfaces. Além disso, foi possível notar a utilização de bancadas de madeira para acondicionamento dos vegetais, as quais associadas às condições de umidade das hortaliças podem favorecer a proliferação de microrganismos.

Diante destes resultados, elucida-se a relevância do estudo e a necessidade de aplicar medidas para conscientizar os feirantes acerca da importância de favorecer uma higiene adequada para esses alimentos, com a finalidade de evitar a contaminação e consequentemente reduzir o risco de doenças alimentares.

Conclusões

Com base na metodologia aplicada neste estudo e mediante os resultados que puderam ser obtidos, constatou-se que 79,2% das amostras analisadas apresentaram-se em condições insatisfatórias, não atendendo os padrões estabelecidos pela ANVISA, estando assim inapropriadas para o consumo, revelando deficiências nas condições higiênico-sanitárias das alfaces. Havendo uma maior ocorrência de contaminação nas alfaces do tipo crespa. Além disso, verificou-se a presença de *E. coli* e a ausência do microrganismo *Salmonella*.

Portanto, a investigação da contaminação microbiológica desses alimentos é relevante, pois viabiliza um sistema preventivo no que diz respeito à qualidade dos

mesmos. Além disso, os dados verificados fornecem subsídios para estudos posteriores relacionados a essa temática.

Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa. Bem como, a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a execução da pesquisa.

Referências

Abnor G. **Catálogo Brasileiro de Hortaliças**, Brasília, p.13-13, 2010.

Abreu, I.M.O.; Junqueira, A.M.R.; Peixoto, J.R.; Oliveira, S.A. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciênc Tecnol Aliment.**30(1):108-18. 2010.

Albuquerque Júnior, J. E.; Azevedo, C. A. V. de; Azevedo, M. R. Q.; Xavier, J. F. X.; Monteiro Filho, A. F. M. Qualidade de águas residuárias e salobra utilizadas no cultivo hidropônico de três cultivares de alface crespa. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 2, p. 19-24, 2016.

Barreto, N.P.; Rodrigues, O.G.; Medeiros, R.S. Indicadores de qualidade de alfaces (*Lactuca sativa*) produzidas em municípios do sertão paraibano: aspectos microbiológicos e parasitológicos. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF, 2001.

Cavalcante, D. A.; Júnior, B. R. D. C. L.; Lima, A. A.; Tribst, M. C. Sanitização de alface americana com água ozonizada para inativação de *Escherichia coli* O157:H7. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 21, n. 1, p. 373-378, 2014.

Ferreira, C.C.; Gregório, E.C.; Costa, J.D.; Oliveira de Paula, R.B.; Araújo Neta, H.A.G.; Fontes, M.D. Análise de coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte MG. **HU Revista**. Juiz de Fora, v. 42, n4. P. 307-313, 2016.

Ferro, J. J. B.; Costa-Cruz, J. M.; Barcelos, I. S. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município de Tangará da Serra, Mato Grosso, Brasil. **Rev Patol Tropical**, v. 41, p. 47-54, 2012.

Itohan, A. M.; Peters, O.; Kolo, I. Bacterial contaminants of salad vegetables in Abuja Municipal Area Council, Nigeria. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 7, n. 2, p.111-114, 2011.

Kaur J. S. K. Role of antigens and virulence factors of *Salmonella* enteric serovar Typhi in its pathogenesis. **Microbiological Research**. v. 404-167, n 4. 2012.

Medeiros, L.J.B.; Athayde, A.C.R. Aspectos microbiológicos e parasitológicos de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) produzida em sistema convencional por hortigranjeiros do sertão paraibano. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 2017.

Morato, A.J.D.; Rodrigues, O.G. Análise parasitológica e microbiológica em alface crespa produzidas por hortigranjeiros do sertão da Paraíba. 45f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 2017.

Potrich, A. C. G.; Pinheiro, R. R.; Schmidt, D. Alface hidropônica como alternativa de produção de alimentos de forma sustentável. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15; p. 36-48, 2012.

Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveira, N.E.A. (2007). Manual de métodos e análise microbiológica de alimentos. (1ªed.). São Paulo, SP: Varela.

Silva, J. O.; Capuano, D. M.; Takayanagui, O. M.; Giacometti, E. J. Enteroparasitoses e oncomicoses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Rev Bras Epidemiol**, v. 8, p.385-392, 2005.

Silva, V.M.; Bitello, A.R. Verificação da presença de *salmonella spp* em alimentos minimamente processados em um município do interior do Rio Grande do Sul. **Revista Destaques Acadêmicos**, Lajeado, v. 8, n. 3, 2016.

Soares, M. D. J; Mendes, L. M. M; Messias, C. M. B. O. Feiras livres: avaliação da estrutura física e do comércio. Salvador: **Revista Baiana de Saúde Pública**, vol.38, n.2, p.318-326, 2014.

Yang, Y.; Yaguang, L.; Millner, P.; Turner, E.; Feng, H. Assessment of *Escherichia coli* O157:H7 transference from soil to iceberg lettuce via a contaminated field coring harvesting knife. **Int J Food Microbiology**, v. 153, p. 345-350, 2012.

Xavier, A.Z.P.; Vieira, G.D.G.; Rodrigues, L.O.M.; Valverde, L.O.; Pereira, V.S. **Condições higiênico-sanitárias das feiras-livres do município de Governador Valadares**. Governador Valadares - MG: UNIVALE, 2009. Trabalho de Conclusão de Curso de nutrição, Faculdade de Ciência da Saúde - FACS, Universidade Vale do Rio Doce, 2009.

CAPÍTULO II

Diagnóstico parasitológico em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba através de técnicas distintas.

(Manuscrito que será submetido à Revista de Saúde Pública)

Diagnóstico parasitológico em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba através de técnicas distintas

Resumo

A alface (*Lactuca sativa*) é considerada a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo, sendo ingerida principalmente na forma crua, podendo veicular diferentes formas evolutivas de parasitos, servindo como via de transmissão de enteroparasitoses, algumas de cunho zoonótico, tornando-se uma importante questão de saúde pública. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi obter o perfil parasitológico de alfaces comercializadas em feiras livres do sertão da Paraíba, utilizando duas técnicas parasitológicas para o diagnóstico. Foram coletadas 24 amostras de alfaces, oriundas de duas unidades produtivas. Ambas submetidas às técnicas de sedimentação e flutuação descritas por Hoffmann (1934) e Willis-Mollay (1921), respectivamente. Detectou-se a presença de oocisto de protozoário em uma das amostras analisadas (4,2%). A legislação vigente estabelece como padrão a ausência de parasitos e larvas para hortaliças consumidas *in natura*. Portanto, apesar da baixa ocorrência de estruturas parasitárias, o diagnóstico laboratorial de estruturas parasitárias em hortaliças é relevante, pois permite obter as condições sanitárias envolvidas na cadeia de produção e consequentemente identificar os riscos oferecidos ao consumidor.

Palavras-chave: Doenças transmitidas por alimentos; enteroparasitoses; hortaliças; saúde pública.

Parasitological diagnosis in lettuces (*Lactuca sativa*) marketed in free trade fairs in the Sertão da Paraíba through different techniques

Abstract

The lettuce (*Lactuca sativa*) is considered the most consumed leafy vegetable in Brazil and in the world, being eaten mainly in the raw form, being able to carry different evolutionary forms of parasites, serving as a route of transmission of enteroparasitoses, some zoonotic, becoming an important public health issue. In this context, the objective of the study was to obtain the parasitological profile of lettuces marketed in open fairs in the Paraíba hinterland, using two parasitological techniques for the diagnosis. Twenty - four samples of lettuce were collected from two production units. Both were submitted to the sedimentation and buoyancy techniques described by Hoffmann (1934) and Willis - Mollay (1921), respectively. The presence of protozoan oocyst was detected in one of the analyzed samples (4.2%). The current legislation establishes as default the absence of parasites and larvae for vegetables consumed *in natura*. Therefore, in spite of the low occurrence of parasitic structures, the laboratory diagnosis of parasitic structures in vegetables is relevant, since it allows to obtain the sanitary conditions involved in the production chain and consequently identify the risks offered to the consumer.

Keywords: Foodborne diseases; enteroparasitoses; vegetables; public health.

Introdução

Atualmente as hortaliças consumidas *in natura* tem grande importância na dieta humana, esses alimentos além de ter baixo valor calórico também oferecem muitos nutrientes, como vitaminas e sais minerais. Por serem amplamente consumidas pela população são de grande importância para a saúde pública, pois podem conter cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos, servindo de via de transmissão de parasitas intestinais (Vieira et al., 2013).

As parasitoses intestinais possuem alta frequência em países em desenvolvimento como o Brasil, devido a fatores como a falta de condições de saneamento básico, nível socioeconômico, grau de escolaridade, idade, hábitos de higiene e demais situações (Osaki et al., 2010).

As enfermidades intestinais mais importantes são aquelas provocadas por protozoários e helmintos, cuja transmissão ocorre principalmente pela ingestão de alimentos contaminados por ovos, larvas e oocistos (Freitas et al., 2004).

Dentre algumas das principais enfermidades intestinais causadas por estes pode-se citar giardíase, amebíase, ascaridíase, teníase, estrogiloidíase, ancilostomíase e esquistossomose, cada um com seu ciclo de vida. Suas principais consequências são diarreia, hemorragias, além de complicações como anemia, obstrução intestinal e desequilíbrio nutricional (Gregório et al., 2012).

No Brasil, a alface (*Lactuca sativa*) crespa é considerada a hortaliça folhosa mais consumida pela população, seguida pela alface americana (Belinelo et al, 2009; EMBRAPA, 2010).

Desta forma é de extrema relevância para a Saúde Pública o seu estudo como veículo transmissor de parasitoses, o que pode ser feito por diagnóstico laboratorial, que além de informar os enteroparasitas presentes, fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas no transporte, produção, manipulação e armazenamento deste vegetal (Silva; Oliveira; Stamford, 2002).

Visando a importância da ingestão de hortaliças associada ao risco de contágio de enteroparasitas causadores de doenças intestinais, o presente estudo teve como objetivo o perfil parasitológico de alfaces comercializadas em

feiras livres do sertão da Paraíba, utilizando duas técnicas parasitológicas para o diagnóstico.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada em feiras livres da cidade de Patos - PB, que comercializavam hortifrútis. Foram coletadas vinte e quatro (24) amostras de alface, provenientes de plantio convencional, sendo doze advindas do Território rural Serra do Teixeira - PB e doze provenientes do município de Patos - PB, ambas as produções comercializadas em Patos.

As amostras foram coletadas entre os meses de setembro e dezembro de 2018, nas primeiras horas da manhã. A unidade amostral foi o “pé” de alface (*Lactuca sativa*), independentemente do tamanho e peso. Foram utilizadas duas variedades de alfaces, sendo “alface americana” e “crespa”.

As amostras foram retiradas pelos próprios comerciantes e acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso contendo informações do local da coleta, data, horário e variedade. O transporte foi realizado utilizando caixa térmica contendo gelo. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório para realização das análises parasitológicas.

Foi empregada a técnica de sedimentação espontânea, com modificação (Lutz, 1919; Hofmann, Pons e Janer, 1934). Para isso, foram pesados 50gda hortaliça, as quais foram colocadas em sacos plásticos de primeiro uso e adicionou-se 250 mL de água destilada para o processo de lavagem por agitação manual. O líquido resultante da lavagem foi filtrado utilizando uma peneira plástica e colocado em cálices de sedimentação, permanecendo por 24h em temperatura ambiente (Figura 1).

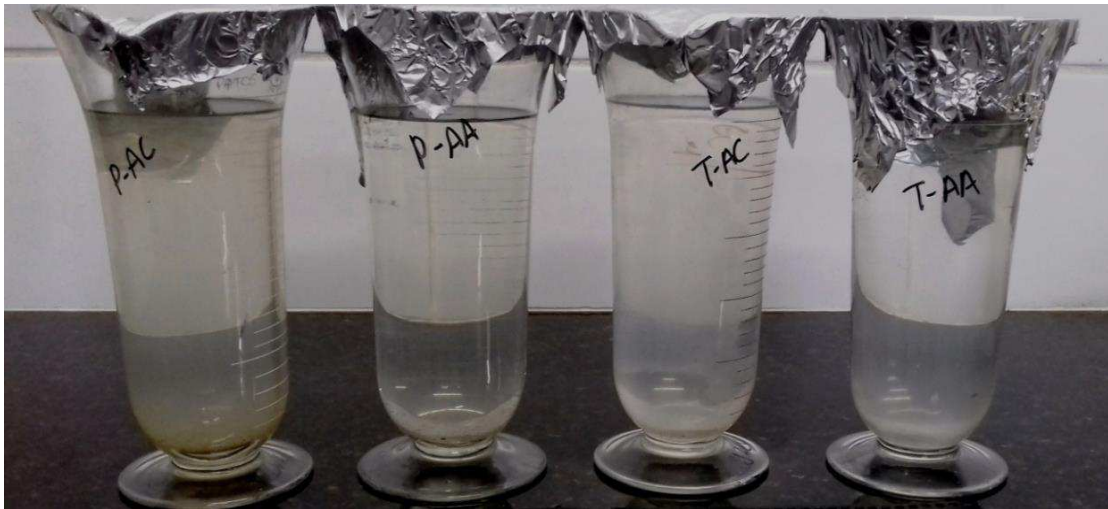


Figura 1. Cálces de sedimentação contendo material filtrado das amostras. (Fonte: arquivo pessoal).

Após 24h em repouso, eliminou-se o sobrenadante. Coletou-se aproximadamente 0,05 mL do sedimento, colocou-se em lâmina e utilizou-se o lugol como corante, cobriu-se com lamínula (foram feitas duas lâminas). Em seguida foi realizado o exame direto ao microscópio óptico, com objetiva de 10x, sendo a leitura realizada por varredura para detecção de estruturas parasitárias. O princípio dessa técnica é a sedimentação espontânea.

Para a realização da técnica de Willis-Mollay (1921), foram utilizadas 50g de cada amostra, as quais foram homogeneizadas em solução saturada de hipoclorito de sódio e dispostas em beckers, os quais foram preenchidos com a solução até a borda. Foi colocada uma lâmina sobre cada recipiente, onde permaneceram em repouso por 15 minutos (Figura 2).



Figura 2. Beckers contendo amostras de alface para realização da técnica de Willis - Mollay (Fonte: arquivo pessoal).

Ao fim desse tempo, as lâminas foram coradas com lugol, cobertas com lamínula e foram analisadas ao microscópio em objetiva de 10x (foram

preparas duas lâminas). Esse método possui como princípio a flutuação de ovos e larvas de nematódeos, além de oocistos de protozoários.

Resultados

Foi possível detectar a presença de estrutura parasitária compatível oocisto de protozoário em uma das 24 amostras analisadas (4,2%), através da técnica de sedimentação espontânea, sendo esta do tipo crespa, produzida e comercializada no município de Patos - PB, não estando assim de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA (Figura 3).

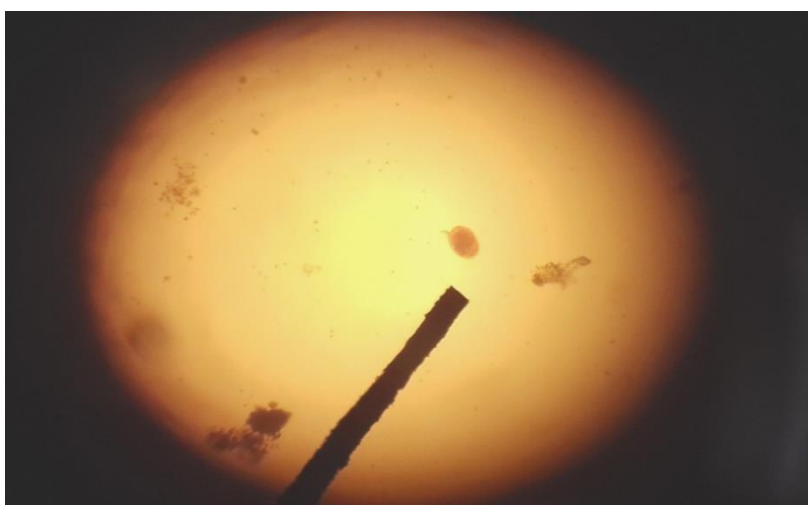


Figura 3. Oocisto de protozoário, observado através de microscopia óptica, utilizando objetiva de 10x (Fonte: arquivo pessoal).

Discussões

De acordo com Soares e Cantos (2006) a estrutura da alface crespa facilita uma maior adesão de determinados enteroparasitos, pois a mesma apresenta folhas múltiplas e com grande área de contato.

As amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres do município de Patos - PB apresentaram um baixo índice de contaminação por parasitos, visto que, apenas uma amostra das 24 analisadas, apresentou-se positiva. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária determinou, por resolução, que as hortaliças devem estar livres de contaminações, parasitos e larvas.

Os resultados verificados corroboram com os que foram encontrados por Ramos et al., (2014), os quais demonstraram um baixo índice de contaminação

por parasitos nas amostras de alface estudadas (7,5%) de um total de um total de 42 amostras.

Resultados semelhantes também foram verificados por Ferreira e Silva (2018), utilizando alfaces oriundas de feiras livres do Distrito Federal, onde a análise parasitológica revelou resultados negativos quanto à presença de microrganismos patogênicos.

Resultados diferentes foram obtidos por França, Bonnas e Silva (2014) no município de Uberlândia - Minas Gerais, onde foi possível observar que 100% das amostras apresentaram-se positivas ao exame parasitológico.

O presente resultado diverge dos que foram encontrados por Almeida et al, (2016) em Patos - PB. Onde os autores utilizaram 15 amostras de alfaces oriundas de três supermercados, onde verificaram uma elevada contaminação por enteroparasitas, ocorrendo em todas as amostras analisadas.

Silva et al., (2016) verificaram um menor nível contaminação parasitária em hortaliças oriundas de feiras livres e uma maior ocorrência nas que foram adquiridas de supermercados, diferindo dos achados obtidos por Ribeiro et al., (2015) em Minas Gerais, os quais observaram uma maior prevalência de contaminação parasitária em alfaces provenientes de feiras livres se comparado às comercializadas em supermercados.

Em estudo realizado por Moreira et al., (2017), verificaram resultados divergentes da pesquisa em questão. Os autores observaram que 56% das amostras analisadas apresentaram contaminação por enteroparasitas.

Silva et al., (2018) realizaram uma pesquisa em barracas de rua no município de Crato-CE e observaram que quando as hortaliças são submetidas a uma pré-lavagem com água de torneira, conseqüentemente diminui a taxa de contaminação.

O que pode explicar a baixa ocorrência de estruturas parasitárias no estudo em questão, visto que, foi relatado pelos feirantes que é realizada sempre uma lavagem das hortaliças após a realização do corte, o que pode ter propiciado uma remoção mecânica das sujidades e contaminantes, além disso, os produtos costumam ser vendidos rapidamente.

Outra hipótese pode ser justificada pelo fato da alface apresentar folhas largas, firmemente justapostas, o que dificulta a aderência dos cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos. (Oliveira, Germano, 1992).

A comparação de técnicas mostrou que o método de flutuação em solução salina, que corresponde ao procedimento de Willis, mostrou-se de baixa eficiência na detecção de estruturas parasitárias. Corroborando com os achados verificados por Mesquita et al., (2015). Onde os autores analisaram amostras de alfaces do tipo crespa, oriundas de hortas comunitárias e observaram através da técnica de Hoffmann que 79,7% apresentaram contaminação parasitária, enquanto que, na técnica de Willis foi de 8,27%.

Salienta-se que feiras-livres e supermercados são os principais locais de venda de vegetais in natura. Quando não possuem as condições físico-estruturais e higiênico-sanitárias adequadas, esses pontos de venda propiciam a comercialização de alimentos com menor valor nutricional e que podem ser veículos de patógenos (Matos et al., 2015).

Conclusões

Diante dos resultados que puderam ser obtidos com a realização das análises parasitológicas, observou-se uma maior eficiência da técnica de sedimentação espontânea, além disso, verificou-se uma baixa ocorrência de estruturas parasitárias em alfaces comercializadas em feiras livres do município de Patos, PB. No entanto, as medidas profiláticas devem continuar visando sempre à melhoria na qualidade desses alimentos.

Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa. Bem como, a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a execução do presente estudo.

Referências

Almeida, E.M.S.M.; Rodrigues, K.M.; Gonçalves, J.S.; Ramos, G.N.P.; Moraes, A.M.B. Análises parasitológicas em folhas de alface comercializadas em supermercados da cidade de Patos - PB. **Revista Temas em Saúde**, v.16, n.3, João Pessoa, 2016.

Belinelo V.J, Gouvêia M.I, Coelho M.P, Zamprogno A.C, Fianco B.A, Oliveira L.G.A. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na cidade de São Mateus, ES, Brasil. **Arq ciênciassaúde UNIPAR**. jan.-abr.;13(1):33-6, 2009.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos- CNNPA/ANVISA-Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Normas técnicas especiais, nº 12, de 1978. São Paulo: CNNPA/ANVISA; 1978.

Empresa Brasileira de Pecuária e Agricultura - EMBRAPA. Novos rumos na produção de hortaliças. 2010.

Ferreira, K.P, Silva J.X. Perfil parasitológico de alfaces comercializadas em feiras livres do Distrito Federal. **Rev. Cient. Sena Aires**; 7(2): 127-32. 2018.

França, B.R.; Bonnas, D.S.; Silva, M.O. Qualidade higiênico sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. Revista **Biosci. J.**, Uberlandia, v. 30, supplement 1, p. 458-466, 2014.

Freitas, A.A. et al. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do município de Campo Mourão, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Biological Sciences**. Ed.26 p.381-384, 2004.

Gregorio D. S., Morais, G. F. A., Nassif, J. M., Alves, M. R. N., Carmo, N. E., Jarrouge, M. G., Bouças, R. I., Santos, A. C. C., Couças, T. R. J. Estudo da contaminação por parasitas em hortaliças da região leste de São Paulo. **Science in health**, v.3, n.2, p.96-103, maio/ago 2012

Hoffman, W.A, Pons, J.A, Janer, J.L. **Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni**. Puerto Rico J Publ Hlth, 9:283-98, 1934.

Lutz, A. O Schistosomum m ansoni e a schistomatose segundo observações feitas no Brasil. Mem. Inst. Osw. Cruz, 11: 121-144, 1919.

Matos J.C, Benvindo, L.R.S, Silva to, Carvalho, L.M.F. Condições higiênico-sanitárias de feiras livres: umarevisão integrativa. **Rev. Eletrôn Gestão Saúde**;6(3):2884-93. 2015.

Mesquita, D.R; Sllva, J.P.; Monte, N.D.P.; Sousa, R.L.T.; Silva, R.V.S.; Oliveira, S.S.; Leal, A.R.S.; Freira, S.M. Ocorrência de parasitos em alface crespa (*Lactuca sativa* L.) em hortas comunitárias de Teresina, Piauí, Brasil. Rev Patol Trop Vol. 44 (1): 67-76. 2015.

Moreira, C.C.; Costa, K.S.A.; Duarte, A.C.; Serra-Freire, N.M.; Norberg, A.N. Avaliação microbiológica e parasitológica de hortaliças comercializadas na Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. **Revista UNIABEU**, v.10, n 26, 2017.

Oliveira, C.A.F.; Germano, P.M.L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São PauloSP, Brasil. I- Pesquisa de helmintos. Rev. Saúde Pública, v.26, n.4, p. 283-289, 1992.

Osaki, S.C; Moura, A B, Zulpo, D.L; Calderon, F.F. Enteroparasitas em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Guarapuava (PR). **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**. Jan./Abr. V. 6 N. 1. ISSN 18080251. 2010.

Ramos, M.O.; Begotti, I. L.; Rosa, G.; Vieira, G.F.P.; Messa, V.; Merlini, L.S. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município de Umuarama, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** (v.8, n.3) p. 1 - 12 jul - set (2014)

Ribeiro, G.M.R.; Silva, V.H.F.; Freitas, L.L.; Fazolo, K.P.; Fernandes, F.M. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feira livre e supermercados na cidade de Muriaé (MG). **Revista científica da faminas**- v. 11, n. 2, maio-ago. 2015.

Silva, C.G.M, Oliveira, A.M & Stamford, T.L.M. 2002. Enteroparasitas em vegetais: Uma revisão. **Revista Higiene Alimentar**. 17(109):13-18.

Silva, A.S.; Silva, I.M.M.; Rebouças, L.T.; Almeida, J.S.; Rocha, E.V.S.; Amor, A.L.M. Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia, Brasil. **Revista Vigil. Sanit. Debate**;4(3):77-85. 2016.

Silva, L.G.B.; Silva, L.M.B.; Arrais, F.M.A.; Melanda, G.C.S.; Ferreira, R.J. Prevalência de estruturas parasitárias de protozoário e de helmintos em hortaliças comercializadas em barracas de rua no município de Crato - CE, Brasil. **Revista Saúde (Sta. Maria)**.44 (3).2018.

Soares, B.; Cantos, G. A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Braz. J. Pharm. Sci.**, São Paulo, v.42, n.3, p.455-460, 2006.

Vieira, J.V. et al. Parasitos em hortaliças comercializadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Ciência Médica e Biológica**, Salvador, v.12, n.1, p.45-49, jan./abr. 2013.

Willis, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Med J Australia**, v.8, p.375-376, 1921.

CONCLUSÃO GERAL

O estudo acerca da qualidade higiênico - sanitária de alfaces comercializadas em feiras livres do Sertão da Paraíba revelou deficiências nas condições das alfaces, tanto com relação aos resultados das análises microbiológicas, quanto parasitológicas.

Portanto, a investigação da contaminação desses alimentos é relevante, pois viabiliza um sistema preventivo no que diz respeito à qualidade dos mesmos. Além disso, os dados verificados fornecem subsídios para estudos posteriores relacionados a essa temática.

ANEXOS

ANEXO A - Normas da Revista Acta Brasiliensis

Diretrizes para Autores

Manuscritos submetidos que não estejam dentro das diretrizes estabelecidas abaixo serão reencaminhados aos autores.

1. O arquivo enviado deve ter até 2MB.
2. O manuscrito deve ser redigido em português ou inglês. Entretanto, encorajamos a submissão em inglês, nesse caso, a versão em português do manuscrito e o certificado de tradução devem ser enviados como documentos suplementares.
3. A extensão máxima dos manuscritos, incluindo todos os elementos textuais, são as seguintes: 20 páginas para artigos; 25 páginas para revisões e 10 páginas para as notas.
4. O manuscrito deve ser organizado com os seguintes elementos, nesta ordem: título em português, Título curto, resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências. Não enumerar esses elementos. Separar cada tópico ou subtópico por um enter antes e depois.
5. Os nomes dos autores não devem ser inseridos no manuscrito submetido, apenas no sistema da revista, ao submeter o manuscrito. O manuscrito não deve superar o total de 10 autores.

Formato e estilo do documento

6. O manuscrito deve ser redigido em editor de texto (.doc ou .docx), com fonte Times New Roman, tamanho 12 pt, espaçamento entre linhas duplo, margens de 3 cm, com páginas e linhas enumeradas de maneira contínua.
7. Título: centralizado, com a primeira letra maiúscula e com até 15 palavras.
8. Título curto: centralizado, com a primeira letra maiúscula, com até 40 caracteres (com espaços).
9. Resumo: até 200 palavras (150 palavras, no caso de notas científicas). Iniciar com uma breve introdução, seguida dos objetivos e de cada parte dos elementos do manuscrito (metodologia, resultados e conclusões). Siglas e citações devem ser evitadas.

10. Palavras-chave: entre 4 a 5 palavras, cada qual com dois ou mais termos, em ordem alfabética. Não se deve repetir palavras contidas nos títulos.

11. Introdução: Deve conter até 40 linhas. Versar sobre o propósito da pesquisa e apresentar o estado do conhecimento sobre a área da pesquisa. Citar claramente os objetivos ou hipóteses que foram testados. Deve ser finalizada com os objetivos.

12. Material e Métodos: Explicar os procedimentos realizados, de maneira que possa ser reproduzido por outros pesquisadores. Descrever claramente o(s) tipo(s) de análises estatísticas utilizadas. Procedimentos-padrão devem ser apenas referenciados. As unidades de medidas e as suas abreviações devem seguir o Sistema Internacional. Equipamento específico utilizado no estudo deve ser descrito (modelo, fabricante, cidade e país de fabricação, entre parênteses). Caso haja a necessidade de subtítulos nesta seção, alinhá-los à esquerda e em itálico, com a primeira letra maiúscula.

13. Pesquisa que requeira autorizações especiais, tais como de Comissões de Ética (Humana ou Animal), devem anexar o parecer de aprovação em documentos suplementares. Caso contrário, o manuscrito não será avaliado.

14. Resultados e Discussão: Apresentar os dados obtidos, não devendo: repetir no texto toda a informação contida em tabelas e figuras; Não apresentar a mesma informação em tabelas e figuras simultaneamente. Não utilizar sub-subtítulos nesta seção. Algarismos devem estar separados de unidades (Ex.: 60 °C e não 60° C), exceto para percentagem (e.g., 5% e NÃO 5 %). Na discussão, a simples especulação sem fundamento deve ser evitada e utilizar somente referências relevantes para a discussão.

15. Conclusões: deve conter, no máximo 2 parágrafos, com uma interpretação sucinta dos resultados que responda ao(s) objetivo(s), ressaltando as implicações científicas do trabalho.

16. Agradecimentos: devem ser breves e concisos. Incluir agência de fomento. Não abreviar nomes de instituições.

17. Bibliografia: Organizada em ordem alfabética. O título dos periódicos não deve ser abreviado. É preferível que as referências citadas sejam dos últimos 10 anos onde, no mínimo, 70% delas sejam artigos de periódicos científicos. Evitar exceder 25 referências para artigos e notas e; 40 referências para revisões bibliográficas. Não utilizar monografias ou trabalhos publicados em anais de eventos científicos.

18. A partir do primeiro fascículo de 2019 (Janeiro/2019), o padrão de citação e referências seguem o padrão American Psychological Association (APA). Para citações no corpo do texto, seguem alguns exemplos abaixo. As citações com mais de uma referência devem seguir a ordem cronológica. Para duas ou mais referências publicadas no mesmo ano, citar por ordem alfabética. Por favor, siga o seguinte padrão para as citações:

- Um autor: Santos (2015) ou (Santos, 2015).
- Dois autores: Barros e Silva (2014) ou (Barros & Silva, 2014).
- Três a cinco autores (na primeira vez citado), citar todos os autores: Ferraz, A. S., Souza, E. P. e Barros, A. S. (2016) ou (Ferraz, A. S., Souza, E. P. & Barros, A. S., 2016)
- Três a cinco autores (a partir da segunda vez citado): Ferraz et al. (2016) ou (Ferraz et al., 2016).
- Mais de cinco autores: Pereira et al. (2016) ou (Pereira et al., 2016).

19. Todas as referências devem conter o DOI ou link direto a seu acesso, exceto para livros, dissertações ou teses que não estejam publicadas online. As referências devem ser formatadas segundo os exemplos abaixo:

Artigos de periódicos:

Baron, R.M. & Kenny, D.A. (1986). The moderator-mediator variable distinction in social psychological research. *Journal of Personality and Social Psychology*, 51(8), 1173-1182. doi: 10.1590/1809-43921982123S023

Dissertações e teses:

Ribeiro, M.C.L.B. (1983). *As migrações dos jaraquis (Pisces: Prochilodontidae) no rio Negro, Amazonas, Brasil* (Dissertação de mestrado). Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. Recuperado de link do arquivo.

Livros:

Ornelas, M. M. G. (2000). *Perícia contábil* (3a ed.). São Paulo: Atlas.

Capítulos de livros:

Martone, C. L. (2000). Modelo básico para economia fechada e aberta. In L. M. Lopes, & M. A. S. Vasconcellos (Orgs.), *Manual de macroeconomia: Nível básico e nível intermediário* (2a ed., Cap. 13, pp. 299-311). São Paulo: Atlas.

Para mais exemplos, sugerimos a consulta do manual da Biblioteca da Fundação Alvares Penteado. [Download aqui](#).

20. Figuras: As figuras devem ser incorporadas dentro do texto, próxima de onde é citada pela primeira vez. Além disso, elas devem ser anexadas, em separado, em documentos suplementares (no formato JPG ou TIFF) nomeando o anexo com a sua ordem no manuscrito (Ex.: Figura 1). Devem ter alta qualidade e resolução mínima de 300 dpi. Não criar gráficos de barras ou de

pizza para dados qualitativos binários (Ex.: sim e não; hipertenso e não hipertenso).

21. Tabelas: Máximo de 4 tabelas por manuscrito. Elas devem ser incorporadas dentro do texto, próxima de onde é citada pela primeira vez. Não deve conter linhas verticais e não ser fechada nas laterais. O seu título e conteúdo devem estar em espaçamento simples. A tabela não deve ser colada ou inserida como imagem, mas, criada no documento do manuscrito, utilizando a guia “inserir tabela”.

22. As seguintes informações devem acompanhar todas as espécies citadas no artigo:

Para zoologia: o nome do autor e da data de publicação da descrição original deve ser dada a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos; Para botânica e ecologia: somente o nome do autor que fez a descrição deve ser dado a primeira vez que a espécie é citada nos trabalhos.

23. A Acta Brasiliensis pode alterar o formato e estilo do texto, figuras e tabelas e promover correções gramaticais para torná-los no padrão de edição do periódico. Caso necessário, será solicitada a planilha de dados que contém os gráficos para melhores ajustes.

ANEXO B - Normas da Revista de Saúde Pública

Os manuscritos são aceitos nos seguintes idiomas: **português, espanhol e inglês**. O manuscrito de uma pesquisa original deve seguir a estrutura conhecida como IMRD: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão (Estrutura do Texto). Os manuscritos baseados em pesquisa qualitativa podem ter outros formatos, assimilando Resultados e Discussão em uma única seção e Considerações Finais / Conclusões. Outras categorias de manuscritos (revisões, comentários, etc.) seguem formatos de texto específicos apropriados. Os detalhes dos itens necessários para a submissão do manuscrito são descritos de acordo com a categoria do artigo.

Categorias de artigos

a) Artigos Originais

Incluem estudos observacionais, estudos experimentais ou quase-experimentais, avaliação de programas, análise de custo-efetividade, análise de decisão e estudos de avaliação de desempenho de testes diagnósticos para triagem populacional. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, design e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões. Também incluem ensaios teóricos (crítica e formulação de conhecimentos teóricos relevantes) e artigos dedicados à apresentação e discussão de aspectos metodológicos e técnicas utilizadas na pesquisa em saúde pública. Nesse caso, o texto deve ser dividido em tópicos para orientar o leitor, em relação aos elementos essenciais do argumento que está sendo desenvolvido.

Instrumentos de medição em inquéritos à população

Os manuscritos que lidam com instrumentos de medição podem incluir aspectos do desenvolvimento, avaliação e adaptação transcultural para uso em estudos populacionais, excluindo aqueles de aplicação clínica, que não se enquadram no âmbito da RSP. Para os manuscritos que exploram os instrumentos de medição, recomendamos a apresentação de uma avaliação detalhada do construto a ser avaliado, incluindo possíveis gradientes de intensidade e subdimensões. O desenvolvimento de um novo instrumento deve ser apoiado pela literatura existente, identificando explicitamente a falha das propostas anteriores e justificando a necessidade de um novo instrumento. A proposta, seleção e preparação dos itens devem ser detalhados, bem como o emprego de estratégias para adaptá-los ao construto, incluindo o uso de técnicas de pesquisa qualitativa (entrevistas em profundidade, grupos focais etc.), reuniões com painéis de especialistas, entre outros. O caminho utilizado para definir a maneira como os itens são medidos e os pré-testes realizados com suas configurações preliminares deve ser descrito no texto. A avaliação da face, conteúdo, critério, validade de construção e / ou dimensional deve ser apresentada em detalhes.

A análise da confiabilidade do instrumento também deve ser apresentada e discutida, incluindo medidas de consistência interna, confiabilidade teste-reteste e / ou concordância interobservador. Os autores devem explicar o

processo de seleção do instrumento final e colocá-lo em uma perspectiva crítica e comparativa com outros instrumentos usados para medir o mesmo construto ou construtos semelhantes.

Os manuscritos sobre **adaptação transcultural** de instrumentos de medida devem atender, em geral, a todas as recomendações mencionadas acima, e devem também esclarecer o modelo teórico orientador utilizado no processo. Os autores também devem justificar a escolha de um instrumento para adaptação a um contexto sociocultural específico, com base em uma revisão completa da literatura. Por fim, os autores devem indicar explicitamente quais etapas do modelo teórico foram utilizadas e como foram empregadas para a adaptação do trabalho submetido à publicação. Nota: O instrumento de medida deve ser incluído como um anexo dos artigos submetidos.

Durante a preparação do manuscrito, além das recomendações mencionadas acima, por favor, verifique as seguintes instruções de formatação.

Formatação:

- Deve incluir até 3500 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências).
- Número de tabelas / figuras: até 5 no total.
- Número de referências: até 30 no total.
- Resumos no formato estruturado com até 300 palavras.

Dados para identificação do manuscrito

Autoria

O conceito de autoria baseia-se na contribuição substancial de cada uma das pessoas listadas como autores, especialmente em relação ao design do projeto de pesquisa, análise e interpretação dos dados, redação e revisão crítica. A contribuição de cada autor deve ser esclarecida em uma declaração para essa finalidade específica. A inclusão de autores cuja contribuição não atende aos critérios acima não se justifica.

Dados de identificação do autor (registro)

Nome e sobrenome: O autor deve seguir o formato no qual ele já foi indexado nos bancos de dados.

Correspondência: Deve conter o nome e endereço do autor responsável pela correspondência.

Instituição: Podem ser incluídas até três hierarquias de afiliação institucional (por exemplo, departamento, faculdade, universidade).

Co-autores : Identifique os co-autores do manuscrito por nome, sobrenome e instituição, seguindo a ordem de autoria.

Financiamento de pesquisa: Se a pesquisa foi subsidiada, o tipo de ajuda, o nome da agência de financiamento e o número do processo devem ser indicados.

Conflitos de interesse

Quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e a instituição onde foi apresentado.

A confiança do público no processo de revisão por pares e a credibilidade dos artigos publicados dependem, em parte, de como os conflitos de interesses são gerenciados durante a redação, a revisão por pares e a tomada de decisões pelos editores. Conflitos de interesse podem surgir quando autores, revisores e editores têm interesses que, claros ou não, podem influenciar o desenvolvimento ou a avaliação dos manuscritos. Conflito de interesses pode ser pessoal, comercial, político, acadêmico ou financeiro por natureza.

Quando os autores submetem um manuscrito, eles são responsáveis por reconhecer e divulgar conflitos financeiros ou outros, que podem ter influenciado seu trabalho. Os autores devem reconhecer todo o apoio financeiro para o trabalho e outras conexões financeiras ou pessoais ligadas à pesquisa. O relator deve divulgar aos editores quaisquer conflitos de interesse que possam influenciar suas opiniões sobre o manuscrito e, quando apropriado, declarar-se desqualificado para analisá-lo.

Se os autores não tiverem certeza do que pode constituir um potencial conflito de interesses, eles devem entrar em contato com o escritório editorial.

Declaração e documentos

De acordo com as diretrizes do **Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas**, alguns documentos e declarações são solicitados ao (s) autor (es) para a avaliação do manuscrito. Observe a lista de documentos abaixo e, quando aplicável, anexe o documento ao processo. O momento em que esses documentos serão solicitados varia:

| Documento / declaração | Quem assina | Quando anexar |
|---|--------------------|----------------------|
| a. <u>Carta de apresentação</u> | Todos os autores | Na submissão |
| b. <u>Declaração de Responsabilidade</u> | Todos os autores | Na submissão |
| c. <u>Responsabilidade pelos agradecimentos</u> | Autor Responsável | Após aprovação |
| d. <u>Transferência de direitos autorais</u> | Todos os autores | Após aprovação |

a) CARTA DE APRESENTAÇÃO

A carta deve ser assinada por todos os autores e deve conter:

- Informações sobre os resultados e conclusões mais importantes do manuscrito, explicando sua importância para a saúde pública.
- Se os autores tiverem artigos publicados na linha de pesquisa do manuscrito, mencione até três.
- Declaração de responsabilidade para cada autor: contribuiu substancialmente para a concepção e design, ou análise e interpretação dos dados; contribuíram significativamente para o rascunho do manuscrito ou revisão crítica do conteúdo; e participaram da aprovação da versão final do manuscrito. Para obter mais informações sobre critérios de autoria, consulte o site do RSP.
- Declaração de potenciais conflitos de interesse dos autores.
- Confirme a submissão exclusiva do manuscrito ao RSP.
- Resposta - O que há de novo em seu estudo? Por que deveria ser publicado nesta revista?

b)DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

De acordo com os critérios de autoria do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas, os autores devem atender a todas as seguintes condições: (1) ter contribuído significativamente para a concepção e delineamento, ou análise e interpretação dos dados; (2) contribuíram significativamente para a elaboração do esboço ou revisão crítica do conteúdo; e (3) estiveram envolvidos na aprovação da versão final do manuscrito. No caso de um grupo grande ou multicêntrico ter desenvolvido o trabalho, o grupo deve identificar os indivíduos que aceitaram a responsabilidade direta pelo manuscrito. Esses indivíduos devem preencher os critérios de autoria definidos acima e os editores solicitarão que eles enviem as declarações exigidas na submissão de manuscritos. O autor correspondente deve indicar claramente a citação preferida para o nome do grupo e identificar seus membros. Normalmente, os nomes serão listados no final do artigo. Aquisição de financiamento, coleta de dados ou supervisão geral do grupo de pesquisa, por si só, não justificam a autoria.

Todos aqueles listados como autores devem assinar uma declaração de responsabilidade

c) AGRADECIMENTOS

Devem incluir os nomes daqueles que, embora não cumpram os requisitos de autoria, forneceram colaboração ao trabalho. A razão para o reconhecimento deve ser citada, por exemplo, aconselhamento científico, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados, etc. Os mencionados devem ter permitido a inclusão de seus nomes e o autor deve anexar a Declaração de Responsabilidade para os Agradecimentos. Esta parte também pode incluir qualquer apoio logístico das instituições.

d) TRANSFERÊNCIA DE COPYRIGHT

Todos os autores devem ler, assinar e enviar este documento, transferindo seus direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando o documento estiver em posse do RSP.

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

Título na língua original do manuscrito e em sua versão em inglês. O título deve ser conciso e completo, contendo informações relevantes para possibilitar a recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 90 caracteres, incluindo espaços. Se o manuscrito for submetido em inglês, por favor, forneça o título em português também.

Título curto

Deve conter até 45 caracteres.

Descritores

Devem incluir entre 3 e 10, obtidos a partir dos "**Descritores em Ciências da Saúde**" (**DeCS**) (baseados no **Medical Subject Headings - MeSH**), quando em português, espanhol e inglês. Caso não sejam encontrados descritores apropriados ao tema do manuscrito, termos livres podem ser indicados (ou palavras-chave), mesmo que inexistentes nesses vocabulários estabelecidos.

Figuras e Tabelas

Todos os elementos gráficos e tabulares exibidos devem ser identificados como figuras ou tabelas, e numerados seqüencialmente, começando com um, e não como gráficos, gráficos, etc.

Resumo

Os resumos são publicados em português, espanhol e inglês. Para o registro do manuscrito, dois resumos devem ser apresentados, um na língua original do manuscrito e outro em inglês (ou em português, se o manuscrito for em inglês). As especificações para o tipo de resumo são descritas em cada uma das **categorias de artigos**. Como regra geral, o resumo deve incluir: o objetivo do estudo, os principais procedimentos metodológicos (população estudada, local e ano, métodos observacionais e analíticos), principais resultados e as conclusões.

Estrutura

textual **Introdução** - Deve ser curta, descrevendo o contexto e a justificativa do estudo, apoiada em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, as quais devem ser esclarecidas ao final desta parte. Nenhum resultado ou conclusão do estudo que está sendo apresentado deve ser mencionado.

Métodos - Os procedimentos adotados devem ser claramente descritos; bem como as variáveis analisadas, com suas respectivas definições quando necessárias e a hipótese a ser testada. As descrições devem incluir a população e a amostra, instrumentos de medição, com a apresentação, se

possível, das medidas de validade; e contêm informações sobre a coleta e o processamento dos dados. Deve ser incluída a devida referência aos métodos e técnicas empregados, incluindo métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, explicando as razões de seu uso e citando suas limitações. Os critérios éticos da pesquisa devem ser atendidos. Os autores devem afirmar que a pesquisa foi realizada dentro dos padrões éticos e aprovada pelo comitê de ética.

Resultados - Deve ser apresentado em uma seqüência lógica, começando com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e descrição dos dados no texto devem ser restritos aos mais importantes. Os gráficos devem ser usados para destacar os resultados mais relevantes e resumir os relacionamentos complexos. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados ou repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos usados na análise. Material extra ou adicional e detalhes técnicos podem ser divulgados na versão eletrônica do artigo.

Discussão - A partir dos dados obtidos e dos resultados alcançados, aspectos novos e importantes observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e evidências baseadas em comunicação pessoal ou divulgados em documentos restritos não podem servir para apoiar os argumentos do autor. Ambas as limitações do trabalho e suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Inclua apenas suposições e generalizações com base em dados de trabalho. Os resultados devem trazer a parte de trás desta parte, reiterando o objetivo do artigo.

Listagem de Referências - As referências devem ser padronizadas de acordo com o **estilo Vancouver - Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas: Escrita e Edição para Publicação Biomédica**, organizados em ordem de citação. Os títulos dos periódicos devem ser referidos em seu formato abreviado, de acordo com o PubMed, e em itálico. Nos casos de publicações com até seis autores, cite-os todos; acima de seis, cite os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências do mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente. Sempre que possível, inclua a DOI documentada acima, de acordo com os exemplos a seguir.

Referência de **texto A** referência deve ser indicada por seu número na lista, colocado como um sobrescrito antes da pontuação no texto, sem usar parênteses, colchetes ou algo semelhante. Nos casos em que o nome do autor e o ano de citação são relevantes, o número de referência deve ser colocado após o nome do autor. Trabalhos com dois autores devem se referir aos dois autores ligados por “e”. Em outros casos, deve exibir apenas o primeiro autor (seguido por “et al.” Nos casos de vários autores).

Exemplos:

A promoção da saúde na população tem como referência o artigo de Evans e Stoddart⁹, que considera a distribuição de renda, desenvolvimento social e

reação individual na determinação dos processos de saúde e doença. Segundo Lima et al.9 (2006), a prevalência de transtornos mentais em estudantes de medicina é maior do que na população geral.

Tabelas

Devem ser apresentadas no final do texto, após as referências, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que são mencionadas no texto. Cada um deve ter um título breve, sem marcas horizontais ou verticais. As notas devem ser colocadas nas notas de rodapé da tabela e não no cabeçalho ou título. Se uma tabela for extraída de outra obra, previamente publicada, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou para reprodução. Para uma tabela legível, o número máximo de colunas é 10, dependendo da quantidade do conteúdo de cada célula. As notas nas tabelas devem ser indicadas por letras e sublinhadas.

Figuras

As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como figuras e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que são mencionadas no texto e apresentadas após as tabelas. Deve conter um título e uma legenda exibidos na parte inferior da figura. Eles só serão aceitos para publicação se forem suficientemente claros e com qualidade digital, preferencialmente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima é de 300 dpi. Gráficos apresentados com linhas de grade não serão aceitos, e os elementos (barras, círculos) não devem apresentar volume (3-D). Se houver uma figura extraída de outro trabalho, publicado anteriormente, os autores devem solicitar permissão por escrito para reproduzi-lo.

Lista de verificação para submissão

1. Nome de cada autor e sua instituição afiliada, incluindo e-mail e telefone.
2. Título do manuscrito em português e inglês, com até 90 caracteres, incluindo espaços entre as palavras.
3. Título curto com até 45 caracteres.
4. Artigo apresentado em Arial, tamanho 12, no formato Word ou similar (doc, docx e rtf).
5. Resumos estruturados para trabalhos de pesquisa originais em dois idiomas, um deles necessariamente em inglês.
6. Resumos narrativos para manuscritos que não são pesquisas em duas línguas, uma delas necessariamente em inglês.
7. Carta de Apresentação, declarando a responsabilidade de autoria e conflito de interesses, assinada por todos os autores.
8. Nome da agência financiadora e número (s) do processo.
9. As referências devem seguir as diretrizes de Vancouver, organizadas em ordem de citação, certificando-se de que todas elas sejam citadas no texto.
10. As tabelas devem ser numeradas sequencialmente, com título e notas, com um máximo de 10 colunas.
11. A figura no formato vetorial ou em pdf, ou tiff, ou jpeg, ou bmp deve ter uma resolução mínima de 300 dpi; quando se trata de gráficos, eles devem estar

sem linhas de grade e sem volume.

12. Tabelas e figuras não devem exceder um total de cinco, no total.