

## AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO EM HORTIFRÚTIS POR COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM RESTAURANTES

Ray Almeida Da Silva Rocha<sup>1</sup>  
Aline Delgado Barbosa<sup>1</sup>  
Gabriella Alves Ribeiro<sup>1</sup>  
Joaquim Santos Martins Nepomuceno Fonseca<sup>1</sup>  
Carina Scolari Gosch<sup>2</sup>

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a contaminação de hortifrúteis comercializados em restaurantes tipo *self-service* por coliformes termotolerantes, uma vez que, a concentração acima do padrão estabelecido pela vigilância sanitária indica precária higiene e risco de toxinfecção alimentar. Foram avaliados alfaces e tomates comercializados em 5 restaurantes de Porto Nacional – TO, coletados de setembro a novembro de 2014. Das amostras de alface e tomate, 78,6% e 46,7%, respectivamente, encontravam com níveis insatisfatórios de coliformes a 45°C, segundo Resolução nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O restaurante 4 (R4) apresentou diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) com relação à presença e à quantidade de coliformes a 45°C permitidos na legislação, nas alfaces, quando comparado aos restaurantes R2, R3 e R5 e nos tomates, quando comparado aos restaurantes R1, R3 e R5. Há diferenças na higienização dos hortifrúteis de um estabelecimento para outro e risco de toxinfecção em quatro dos restaurantes avaliados.

**Palavras-chave:** Enterobacteriaceae. Alface. Saúde Pública.

### ABSTRACT

This study's objective was to investigate contamination of vegetables and fruit sold in self-service restaurants for coliform thermotolerant, once, the concentrations above the standard set by the health surveillance indicate precarious hygiene and risk of food poisoning. Were evaluated lettuce and tomatoes sold in 5 restaurants of Porto Nacional - TO, collected between September to November of 2014. From lettuce and tomato's samples, 78.6% and 46.7%, respectively, were with unsatisfactory levels of coliforms at 45 ° C, according to Resolution No. 12 of the National Health Surveillance Agency. The restaurant 4 (R4) showed statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) regarding the presence and amount of coliforms at 45 ° C allowed by the law, in lettuce, compared to restaurants R2, R3 and R5 and tomatoes, compared to restaurants R1, R3 and R5. There are differences in the cleansing of the grocers and risk of poisoning in four of the restaurants rated.

**Keywords:** Enterobacteriaceae. Lettuce. Public Health.

### INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, vem se verificando um aumento dos serviços de alimentação coletiva, esse aumento demonstra-se expressivo tanto em países

---

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de graduação em Medicina do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos – Porto Nacional (ITPAC / FAPAC); Rua Gov. Moisés Avelino, Quadra 31, Lote 12, Aurenny II, Palmas, Tocantins, Brasil, CEP: 77.270-000; Tel.: (63) 99978-2361; [rasr.5@hotmail.com](mailto:rasr.5@hotmail.com).

<sup>2</sup> Biomédica, Mestre pela Universidade Federal de Goiás, Docente do curso de graduação em Medicina do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos – Porto Nacional (ITPAC / FAPAC); Rua 02, Quadra 7, Jardim dos Ypês, Porto Nacional, Tocantins, Brasil, CEP: 77.500-000. Caixa Postal: 124. Tel.: (63) 98444-4454 [0318@prof.itpacporto.com.br](mailto:0318@prof.itpacporto.com.br).

desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil (POERNER et al., 2009).

Observa-se uma mudança na alimentação da população no que se refere ao aumento do consumo de hortifrúteis *in natura*, pois estes alimentos fornecem inúmeros benefícios ao organismo como, por exemplo, o desenvolvimento e regulação orgânica do corpo, em razão de seu elevado teor de vitaminas e minerais. Entre os hortifrúteis mais vendidos para consumo cru estão a alface e o tomate, sendo bastante utilizados na preparação de sanduíches, decorações de pratos e saladas, além do produto pronto para consumo, minimamente processado (OLIVEIRA et al., 2006).

Paralelo ao aumento do consumo desses alimentos, tem-se observado que os tomates e as alfaces estão entre as hortifrutícolas mais incriminadas em surtos de toxinfecção alimentar no mundo, especialmente por terem sido identificados como fonte de patógenos de significância em saúde pública como *Escherichia coli* O 157:H7, *Salmonella* sp., *Listeria* sp., *Shigella* sp., coliformes totais e fecais, bem como de agentes causais da hepatite A e parasitos (ABREU et al., 2010; FONTANA, 2006).

A ocorrência da contaminação desses alimentos pode ocorrer por diversas causas, relacionadas a processos que ocorrem antes e após a colheita, através do contato com o solo, irrigação com água contaminada, transporte e mão dos manipuladores (NASCIMENTO et al., 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a contaminação, por Coliformes a 45°C, em alfaces e tomates comercializados em restaurantes *self-service* de Porto Nacional, Tocantins, no ano de 2014.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras**

Folhas de alfaces e fatias de tomate *in natura*, prontas para consumo humano, comercializadas em *Buffet* de cinco restaurantes do tipo *self-service* na parte urbana da cidade de Porto Nacional – TO.

### **Coleta das Amostras**

Os hortifrúteis foram coletados do *Buffet* de *self-service* e acondicionados em recipiente de papel alumínio apropriados para o transporte de alimento, sendo estes encaminhados imediatamente para análise no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos de Porto Nacional, ITPAC/PORTO. As coletas aconteceram simultaneamente nos cinco restaurantes, nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014.

### **Análises Microbiológicas**

As análises microbiológicas dos hortifrúteis foram realizadas segundo metodologia recomendada pela ABNT (1991) e Apha (1992), sendo verificada a presença de coliformes a 45°C.

Para análise de coliformes, foram utilizados 10 gramas de cada amostra de alface e tomate, macerados em cadinhos com pistilos esterilizados. O caldo produzido foi diluído em soro fisiológico, obtendo-se a diluição de  $10^{-1}$ . A partir dessa, foram feitas diluições em série até a obtenção da diluição  $10^{-3}$ .

A técnica dos tubos múltiplos para a determinação do Número Mais Provável (NMP) foi utilizada para realizar a estimativa do número de coliformes totais e coliformes a 45°C. As diferentes diluições de cada amostra foram inoculadas em séries de três tubos contendo caldo lactosado, com tubo de Durham invertido, como teste presuntivo, indicado pela presença de gás no tubo de fermentação (Durhan) após incubação a 37°C por 24 a 48 horas. Os tubos positivos foram repicados com alça de platina para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante.

Em seguida, foram incubados a 37°C por 24 a 48 horas, para confirmação de coliformes totais, através da presença de gás. Os tubos positivos foram repicados com alça de platina para tubos contendo Caldo EC (*Escherichia coli*) e estes incubados a 45°C, por 24 a 48 horas, para confirmação da presença de coliformes termotolerantes.

Após o período de incubação, realizou-se a leitura dos tubos positivos (presença de gás) e a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes a 45°C foi realizada através da Tabela de Hoskins (APHA, 1992).

### Análise Estatística

O número de tubos positivos obtido pela técnica dos tubos múltiplos para determinação NMP foram avaliados estatisticamente pelo programa *GraphPad Prism 4.0 Software*, através da análise de variância (One-Way ANOVA) e teste de Bonferroni. Nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de verduras cruas constitui importante meio de transmissão de várias doenças infecciosas e parasitárias. A contaminação de hortifrúteis por agentes patogênicos ocorre, principalmente, por meio de água contendo material fecal de origem humana, utilizada na irrigação de hortas ou, ainda, contaminação do solo por uso de adubo orgânico com dejetos fecais (ARBOS et al., 2010).

A legislação brasileira estabelece os limites microbiológicos aceitáveis para coliformes fecais, em hortifrúteis consumidos *in natura* (Tabela 1) que não são potencialmente prejudiciais ao homem.

Takayanagui et al. (2001) verificaram que 67% das hortaliças comercializadas em 172 pontos de vendas ao consumidor: hortas, supermercados, feiras livres ou ambulantes na cidade de São Paulo, apresentavam irregularidades, com níveis acima do máximo permitido pela legislação.

Ferreira et al. (2016) analisaram amostras de hortaliças cultivadas na fronteira oeste do Rio Grande do Sul e verificaram que as produções que utilizaram água de açude apresentaram maiores contaminações microbiológicas, com 66,7% das amostras apresentando coliformes termotolerantes em quantidade insatisfatória para o consumo.

**Tabela 1.** Padrões e Recomendações utilizados para a classificação dos resultados das análises microbiológicas.

Amostra/ Análise	Limite Aceitável
<b>Tomate</b>	
Coliformes a 45°C	$5 \times 10^2$ UFC/g ou $5,5 \times 10^2$ NMP
<b>Alface</b>	

Coliformes a 45°C	$10^2$ UFC/g ou $1,1 \times 10^2$ NMP
-------------------	---------------------------------------

Fonte: Adaptado da Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Alfices cultivadas de modo convencional, comercializadas em diferentes pontos de venda de Pará de Minas, MG, apresentavam 20% das amostras analisadas com baixos padrões higiênico-sanitários (SANTOS et al., 2011). Concentrações muito acima dos padrões aceitáveis (>2400 NMP) foram verificadas em alfices comercializadas em feiras livres de João Pessoa, PB (ALVES et al., 2013).

Tendo em vista que o processo de cultivo, coleta, transporte, armazenamento e manipulação expõem os hortifrúteis a um grande risco de contaminação por microrganismos patogênicos, se faz necessária a higienização adequada destes produtos antes do consumo.

Nos cinco restaurantes *self-service* pesquisados em Porto Nacional, nos períodos de setembro a novembro de 2014, foi encontrada a presença de coliformes (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de amostras positivas para coliformes a 45°C, pela técnica dos tubos múltiplos, em hortifrúteis comercializados em restaurantes de Porto Nacional, TO.

Amostras	Nº total de amostras analisadas	Diluições	Nº de amostras positivas para Coliformes a 45°C
Alface	14	$10^{-1}$	14
		$10^{-2}$	14
		$10^{-3}$	12
Tomate	15	$10^{-1}$	15
		$10^{-2}$	15
		$10^{-3}$	13

Os coliformes formam um grupo de enterobactérias presentes nas fezes e no ambiente, como o solo e as superfícies de vegetais, animais e utensílios. A qualidade higiênico-sanitária pode ser indicada através de sua pesquisa. Os coliformes podem ser agrupados em dois grupos: coliformes totais, coliformes a 37 °C, que são provenientes do local; coliformes fecais, que são oriundos de uma contaminação fecal (BROD; CARVALHAL; ALEIXO, 2003).

Os coliformes fecais estão relacionados às bactérias que fermentam a lactose com produção de gás a 45 °C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam essa característica de termotolerância (coliformes a 45 °C), porém, somente *E. coli* tem como *habitat* primário o intestino humano e de outros animais, os demais, sobrevivem em outros locais além do trato intestinal (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006)<sup>13</sup>.

Dessa forma, o Ministério da Saúde, através da Resolução nº 12, 2001, adotou os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliforme termotolerantes” como equivalentes a coliforme a 45°C (BRASIL, 2001). A presença deles na água e em produtos alimentícios revela potencial risco ao consumidor quanto ao desenvolvimento de toxinfecções entéricas, quando o número ultrapassa o limite aceitável.

A presença dos coliformes a 45°C é indicador de qualidade higiênico-sanitária precária, no entanto, embora tenha sido detectada a presença de coliformes a 45°C nos cinco restaurantes, níveis acima do permitido pela

legislação foram detectados em 78,6% das alfaces e de 46,7% dos tomates pesquisados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resultados de análises de coliformes a 45°C realizadas em hortifrúteis comercializados em restaurantes de Porto Nacional – TO.

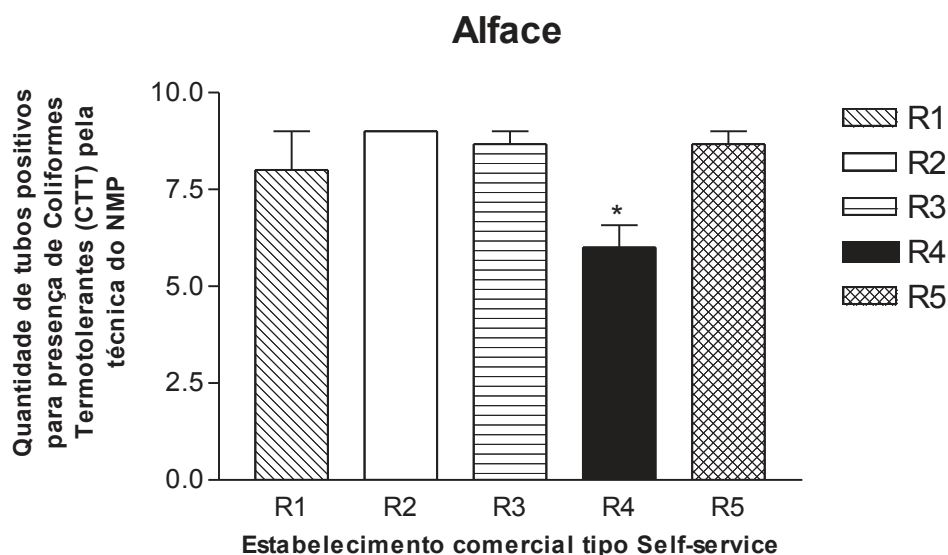
Análise	Satisfatório (%)	Insatisfatório (%)
Alface	21,4	78,6
Tomate	53,3	46,7

Isso demonstra que existem diferenças quanto à qualidade de higienização dos hortifrúteis de um estabelecimento para o outro (Figura 1 e Figura 2). O restaurante 4 (R4) apresentou diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) em relação à presença e à quantidade de coliformes a 45°C permitidos na legislação, nas alfaces, quando comparado aos restaurantes R2, R3 e R5 e nos tomates, quando comparados aos restaurantes R1, R3 e R5.

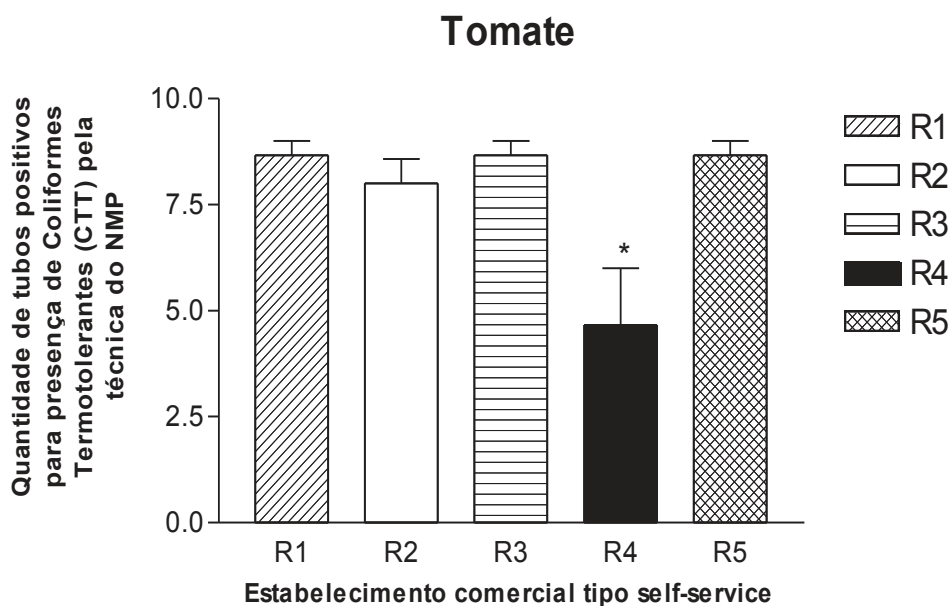
Falha nas práticas de higienização em restaurantes do tipo *self-service* são comumente relatadas. Peres Júnior, Gontijo e Silva (2012), quando avaliaram 10 restaurantes em Gurupi, TO, identificaram que 68,42% das alfaces analisadas apresentavam níveis de coliformes a 45°C fora dos padrões estabelecidos pela legislação.

Em Taubaté, SP, Tavares, Araújo e Ueno (2009) registraram a presença de coliformes termotolerantes, inclusive determinaram a presença de *E. coli*, em amostras de alfaces coletadas em diferentes restaurantes. Almeida (2006) encontrou níveis insatisfatórios em 25,7% das alfaces em 7 restaurantes avaliados em Limeira, SP.

Provável surto de toxinfecção alimentar em 10 funcionários de uma empresa do município do Guarujá, SP, em 2009, foi relacionada à presença em quantidades insatisfatórias de coliformes termotolerantes na salada de alface com queijo (PASSOS et al., 2010).



**Figura 1.** Concentração de Coliformes a 45°C em Alface nos estabelecimentos comerciais tipo *Self-service* em Porto Nacional, TO. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 3 experimentos, de acordo com a tabela de Hoskins para NMP, 9 tubos representam uma concentração de 1100 NMP/g; 8 tubos - 460; 7 tubos - 240; 6 tubos - 110; 5 tubos - 93. Todas as amostras apresentaram as combinações de tubos positivos para os valores máximos da tabela, \* $p < 0,05$  (R2 vs R4; R3 vs R4 e R4 vs R5), One-Way ANOVA/Bonferroni.



**Figura 2.** Concentração de Coliformes a 45°C em tomate nos estabelecimentos comerciais tipo *Self-service* em Porto Nacional. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 3 experimentos, de acordo com a tabela de Hoskins para NMP, 9 tubos representam uma concentração de 1100 NMP/g; 8 tubos - 460; 7 tubos - 240; 6 tubos - 110. Todas as amostras apresentaram as combinações de tubos positivos para os valores máximos da tabela, \* $p < 0,05$  (R1 vs R4; R3 vs R4 e R4 vs R5). One-Way ANOVA/Bonferroni.

Para minimizar o risco de toxinfecção pelo consumo dos hortifrúteis *in natura*, as práticas de lavagem, desinfecção e a higiene dos utensílios e manipuladores devem ser rigorosamente realizadas.

A lavagem dos vegetais e frutas é a prática mais utilizada para se obter um produto mais seguro. No entanto, é importante que essa água seja, antes de tudo, de boa qualidade. Se esse requisito não for atendido, a água passa a ser fonte de contaminação primária. A eficácia da operação de lavagem pode ser aumentada com a inclusão de produtos antimicrobianos ou desinfetantes, como o detergente, vinagre e o hipoclorito (COSTA et al., 2012; MOREIRA et al., 2013).

Surto de toxinfecção alimentar em 54 funcionários de uma empreiteira da construção civil a serviço em uma refinaria do município de Cubatão, SP foi notificado. Os sintomas de diarreia, cólica abdominal, náuseas, mal-estar, cefaleia, vômitos, tontura e febre foram observados. Coliformes totais foram identificados em altas concentrações na água de abastecimento do restaurante, e coliformes termotolerantes na carne assada (PASSOS et al., 2008).

A análise microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos, no município de Santo André, SP verificou que em 50% das amostras coletadas das unhas, 33% dos dedos e 67% das palmas das mãos apresentaram a presença de coliformes termotolerantes (ABREU; MEDEIROS; SANTOS, 2011).

Os equipamentos e utensílios também são um problema, pois quando estão com higienização deficiente têm sido responsáveis, isoladamente ou associados a outros fatores, por surtos de doenças de origem alimentar ou por alterações de alimentos processados (PINHEIRO; WADA; PEREIRA, 2010).

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados, apenas o restaurante 4 apresenta higienização adequada dos hortifrúteis (alface e tomates) analisados, que encontravam-se expostos em *Buffet* para consumo humano *in natura*. Os demais estabelecimentos comerciais do tipo *self-service* pesquisados oferecem risco potencial à saúde humana, por possibilitarem a ocorrência de toxinfecção alimentar em razão da presença de níveis insatisfatórios de coliformes a 45°C nos seus produtos.

## REFERÊNCIAS

ABREU, E.S.; MEDEIROS, F.S.; SANTOS, D.A. Análise microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos do município de Santo André. **Revista Univap**, v. 17, n. 30, p. 39-57, dez. 2011.

ABREU, I.M.O. et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 108-118, maio 2010.

ALMEIDA, M.T.T. **Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) em restaurantes self-service no Município de Limeira, SP**. 92 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2006.

ALVES, Gilcean Silva et al. Análise microbiológica de alface (*Lactuca sativa* Var. *crispa*) de diferentes pontos de comércio da cidade de João Pessoa-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 3, p. 09-11, jul./set. 2013.

ARBOS, K.A. et al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 30, n. 1, p. 215-220, maio 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde do, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Portaria nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

BROD, C.S.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas-RS. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 23, n. 3, p. 447-452, set./dez. 2003.

COSTA, E.A. et al. Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa* L.) convencionais e orgânicas e a eficiência de dois processos de higienização. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 23, n. 3, p. 392, jul./set. 2012.

FERREIRA, M.B. et al. Relação entre contaminação microbiológica e práticas empregadas na produção de hortaliças folhosas. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão** – Universidade Federal do Pampa, v. 7, n. 2, 2016.

FONTANA, N. **Atividade antimicrobiana de desinfetantes utilizados na sanitização de alface**. 26 f. Tese (Graduação) – Faculdade de Nutrição, Centro Universitário Franciscano, Rio Grande do Sul, 2006.

MOREIRA, I.S. et al. Eficiência de soluções antimicrobiana na desinfecção de alface tipo *crispa* comercializada em feira livre. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 2, p. 171-177, abr./jun. 2013.

NASCIMENTO, A.R. et al. Incidência de *Escherichia coli* e *Salmonella* em alface (*Lactuca sativa*). **Hig. aliment**, v. 19, n. 128, p. 121-124, jan./fev. 2005.

OLIVEIRA, M.L.S. et al. Análise microbiológica de alface (*Lactuca sativa*, L.) e tomate (*Solanum lycopersicum*, L.), comercializados em feiras-livres da cidade de Belém, Pará. **Hig. aliment**, v. 20, n. 143, p. 96-100, ago. 2006.

PASSOS, E.C. et al. Provável surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empresa no litoral da região sudeste do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 1, p. 136-140, 2010.

PASSOS, E.C. et al. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 67, n. 3, p. 237-240, 2008.



PERES JUNIOR, J.; GONTIJO, É.E.L.; SILVA, M.G. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes *self-service* de Gurupi – TO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v. 5, n. 1, jan. 2012.

PINHEIRO, M.B.; WADA, T.C.; PEREIRA, C.A.M. Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Rev. Simbio-Logias**, v. 12, n. 2, p. 24-31, dez. 2010.

POERNER, N. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 68, n. 3, p. 399-405, 2009.

SANTOS, L.C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica da alface (*Lactuca sativa*), comercializada na cidade de Pará de Minas, MG. **Hig. aliment**, v. 25, n. 194/195, p. 148-152, mar./abr. 2011.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciênc Tecnol Aliment**, v. 26, n. 2, p. 352-9, abr./jun. 2006.

TAKAYANAGUI, O.M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 1, p. 37-41, jan./fev. 2001.

TAVARES, T.; ARAÚJO, A.J.U.D.S.; UENO, M. Patógenos veiculados por saladas de alface servidas em restaurantes. **Hig. aliment**, v. 23, n. 172/173, p. 136-141, maio/jun. 2009.