

INVESTIGAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E *Escherichia coli* EM ALFACE COMERCIALIZADO NOS MUNICÍPIOS DE BOA VISTA E CAMPINA GRANDE

Vanessa L. Da Silva (IFPB, Campus Campina Grande), Izabelle da S. Barbosa (IFPB, Campus Campina Grande), Danúbio Leonardo Bernardino de Oliveira (IFPB, Campus Campina Grande); Cintia S. Bezerra (IFPB, Campus Campina Grande)

E-mails: Luzia.vanessa@academico.ifpb.edu.br, cintia.bezerra@ifpb.edu.br, izabelle.barbosa@academico.ifpb.edu.br

Área de conhecimento: 5.07.01.03-7 Microbiologia de Alimentos

Palavras-chave: Higienização de alimentos; análise microbiológica; Doenças transmitidas por alimentos; Salmonella.

1. Introdução

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça amplamente consumida no Brasil, sendo considerada um dos alimentos mais comuns na alimentação diária. Devido à sua popularidade e ao consumo frequente de forma crua, sua segurança microbiológica torna-se uma preocupação relevante, pois pode ser fonte de doenças transmitidas por alimentos. A presença de microrganismos patogênicos, como coliformes fecais e *Escherichia coli* (*E. coli*), pode indicar contaminação ocorrida durante a produção, manipulação ou armazenamento, o que destaca a importância da análise microbiológica como ferramenta essencial para garantir a qualidade dos alimentos e a saúde pública (Santos et al., 2020).

Diante desse cenário, torna-se cada vez mais urgente discutir a qualidade microbiológica das hortaliças, especialmente daquelas consumidas cruas. A ingestão de alimentos contaminados pode resultar em surtos de doenças alimentares, frequentemente causadas por bactérias patogênicas presentes desde o cultivo até a comercialização. Segundo Araújo (2014), a contaminação microbiológica é uma das formas mais comuns em hortaliças, principalmente devido ao uso de água contaminada, manuseio inadequado e condições precárias de venda.

Ainda que o preparo doméstico dos alimentos seja geralmente associado a maior segurança, isso depende diretamente das práticas de higienização realizadas pelos consumidores. A ausência de orientações adequadas sobre a higienização de hortaliças pode comprometer a qualidade do alimento, mesmo dentro do ambiente familiar (Araújo, 2014).

Neste contexto, os coliformes termotolerantes são utilizados como indicadores de contaminação fecal, e sua presença sugere possíveis riscos à saúde, inclusive por outros microrganismos patogênicos como a *E. coli*. A análise da presença desses microrganismos em alimentos frescos, como a alface, tem sido intensificada, especialmente em produtos comercializados em ambientes com menor controle higiênico-sanitário (Costa et al., 2017).

Este estudo teve como objetivo verificar e quantificar a presença de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em alfaces in natura comercializadas em feiras livres e supermercados das cidades de Campina Grande e Boa Vista.

2. Materiais e métodos

Este estudo empregou uma metodologia experimental, exploratória e laboratorial com abordagem quantitativa. Entre setembro de 2024 e abril de 2025, foram coletadas 18 amostras de alface (9 de Campina Grande e 9 de Boa Vista), com coletas quinzenais em feiras e supermercados. As amostras foram imediatamente refrigeradas e identificadas com um número sequencial de coleta, seguido da letra "S" para supermercado ou "F" para feira livre.

Para cada amostra, 10g de alface foram fragmentados e adicionados a um frasco com 90 mL de Água Peptonada (APT), resultando na diluição 10^{-1} após agitação. Em seguida, 1 mL da diluição 10^{-1} foi transferido para um béquer com 9 mL de APT, formando a diluição 10^{-2} . O mesmo processo foi repetido para obter a diluição 10^{-3} .

A partir das diluições, o teste presuntivo de coliformes foi realizado utilizando a técnica de tubos múltiplos. Foram inoculados 9 tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo 3 tubos por diluição, cada um contendo 1 mL da diluição e 9 mL de LST. Os tubos foram incubados a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A presença de crescimento e/ou formação de gás no tubo de Durham indicou um resultado positivo.

Os tubos positivos foram utilizados para o teste de coliformes termotolerantes, transferindo uma alçada de cada cultura para tubos com 10 mL de caldo EC. Esses tubos foram incubados a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas (com observação estendida até 48 horas, se necessário) para verificar o crescimento e produção de gás.

Finalmente, para a detecção presuntiva de *E. coli*, uma alçada de cada tubo de Caldo EC com crescimento e produção de gás foi inoculada em tubos com 5 mL de caldo tripton a 1%. Após incubação a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 horas, 0,5 mL de Reagente de Kovacs foi adicionado. A formação de um anel vermelho-violeta na superfície do meio após um minuto foi considerada indicativa da presença de *E. coli*.

As análises seguiram metodologias microbiológicas padronizadas, com diluições seriadas e aplicação da técnica de tubos múltiplos, conforme descrito por Silva et al. (2017). Os resultados obtidos foram interpretados com base na tabela de Número Mais Provável (NMP) e comparados aos limites estabelecidos pela Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da ANVISA.

A comparação entre os dois tipos de ponto de venda buscou identificar diferenças na qualidade microbiológica das alfaces, considerando as condições de manipulação e armazenamento a que os produtos estão sujeitos. Os achados reforçam a importância de práticas adequadas de higienização ao longo de toda a cadeia produtiva, além do papel fundamental da Vigilância Sanitária na fiscalização dos alimentos comercializados, visando garantir a segurança alimentar da população.

3. Resultados e discussão

Os resultados da análise microbiológica das amostras de supermercado 'S' e feira 'F' (tabela 1) evidenciam a presença de Coliformes termotolerantes, tanto as amostras S quanto às F variaram de <3 NMP/g (não detectado) a 1100 NMP/g. A detecção de *Escherichia coli* foi menos frequente. Os resultados variaram de <3 NMP/g a 35 NMP/g para as amostras S e nas amostras F os valores variaram de <3 NMP/g a 1100 NMP/g. Notavelmente, as amostras 3 F e 7 F apresentaram contagens extremamente altas de 1100 NMP/g para *Escherichia coli*, indicando uma contaminação significativa.

Das amostras analisadas 38,8% apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes e 11,11% por *E. coli* acima do limite permitido pela legislação. Pesquisa realizada na cidade de Feira de Santana-Bahia com alfaces comercializados em feiras livres, revelou que, 100% das amostras apresentaram contaminação para coliformes totais e 83,3% para coliformes termotolerantes (Andrade et al, 2022), índices de contaminação superiores aos encontrados neste estudo.

Apesar de um p-valor de 0,17 para Coliformes termotolerantes e 0,56 para *Escherichia coli*, que indicam não haver diferença estatisticamente significativa entre as amostras de supermercado e feira (S e F), a análise individual das amostras revela que várias delas excedem o limite legislativo de 100 NMP/g. Isso significa que, independentemente do local de origem (supermercado ou feira), algumas amostras apresentaram contaminação microbiológica acima do aceitável pela legislação, o que pode indicar problemas de higiene e segurança alimentar, representando um risco à saúde do consumidor.

Tabela 1 – Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em amostras de alface em feira livre e supermercado.

	1S	2S	3S	4S	5S	6S	7S	8S	9S	limite	valor p
Coliformes termotolerantes NMP/g	9,2	3,0	1100	1100	<3	35	1100	290	3	*10 ²	0,17
<i>Escherichia coli</i> NMP/g	9,2	<3	35	3,6	<3	11	28	<3	<3	**10 ²	0,56
	1F	2F	3F	4F	5F	6F	7F	8F	9F		
Coliformes termotolerantes NMP/g	6,1	<3	1100	93	36	7,2	>1100	1.100	6,2	*10 ²	0,17
<i>Escherichia coli</i> NMP/g	3,0	<3	1100	93	11	<3	1100	28	<3	**10 ²	0,56

Fonte: os autores. NMP/g = Número mais provável por grama. *Padrão para Coliformes termotolerantes segundo RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001; ** Padrão para *Escherichia coli*, segundo IN nº 161, 01 de julho de 2022.

Em comparação, no estudo de Tonet et al. (2011) foi detectada uma concentração de $1,1 \times 10^5$ NMP/g de coliformes a 35°C. Ressalta-se que, durante a realização daquele estudo, foi utilizado o sistema de aquaponia, no qual a água contém restos de alimentos e dejetos de peixes, utilizados como nutrientes para as plantas — o que favorece a contaminação por *E. coli*. Já em contextos como residências e restaurantes, há diversos fatores que contribuem para o aumento da contaminação, como o uso de solo ou água contaminados, manipulação e preparo inadequados, transporte e exposição a fatores ambientais.

De acordo com a Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e define critérios para interpretação dos resultados das análises, o limite permitido de coliformes a 45°C é de 10² NMP/g. Uma atualização dessa resolução a IN nº 161, 01 de julho de 2022 (Brasil, 2022) mantém o limite de 10² NMP/g mas especifica o microrganismo para *Escherichia coli* a ser pesquisada e vegetais crus.

Dessa forma, os resultados obtidos, apontam para um cenário preocupante de inadequação higiênico-sanitária. A exposição da população ao consumo de hortaliças contaminadas pode contribuir significativamente para a disseminação de doenças de veiculação hídrica e alimentar, afetando principalmente indivíduos em condições de maior vulnerabilidade, como crianças, idosos e imunodeprimidos.

Portanto, torna-se imperativo o desenvolvimento de ações educativas voltadas à capacitação de produtores rurais, comerciantes e manipuladores de alimentos, além da intensificação da fiscalização sanitária em feiras livres e mercados informais. A adoção de práticas corretas de higienização, armazenamento e transporte das hortaliças pode contribuir substancialmente para a oferta de alimentos mais seguros e saudáveis à população.

4. Considerações finais

Nas amostras de alface analisadas, observou-se que a presença de microrganismos foi mais evidente nas amostras coletadas em feiras livres, indicando um maior grau de contaminação microbiológica. Esse resultado pode estar relacionado à ausência de práticas adequadas de higienização e conservação durante o manuseio e comercialização desses produtos. Por outro lado, as amostras provenientes dos supermercados apresentaram melhores condições microbiológicas, possivelmente devido à adoção de protocolos mais rigorosos de limpeza, armazenamento e controle sanitário.

Esses achados reforçam a importância da vigilância quanto às condições de comercialização das hortaliças e, principalmente, da higienização adequada antes do consumo. O consumo de alface crua sem a devida limpeza pode representar riscos significativos à saúde, especialmente pela possível presença de microrganismos patogênicos. Portanto, é essencial que tanto comerciantes quanto consumidores adotem práticas de higiene rigorosas para garantir a segurança alimentar.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido por meio de bolsas através do PIBIC-EM a duas das autoras e ao IFPB – Campus Campina Grande pela disponibilização das instalações do laboratório de microbiologia.

6. Referências

ARAÚJO, Jéssica. Microbiológica de alimentos folhosos preparados em restaurantes e em residências. Educação superior CEUB, 2014. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/7177/1/J%c3%a9ssica%20Ara%c3%baio.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2024.

ANDRADE, R. M. D. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do tomate (*solanum lycopersicum*) e alface (*lactuca sativa*) comercializados em feiras livres em uma cidade do interior da Bahia. Revista Diálogos & Ciência, Feira de Santana BA, v. 2, n. 1, p. 129-138, abr./2022. Disponível em: <https://periodicos.unifc.edu.br/index.php/dialogoseciencia/article/view/190/120>. Acesso em: 2 out. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001

BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução Normativa - IN Nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 6 jul. 2022

COSTA, L. et al. Contaminação microbiológica de hortaliças frescas consumidas in natura e sua relação com a saúde pública. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Alimentar, v. 31, n. 2, p. 125-131, 2017.

SANTOS, M. et al. Segurança alimentar em hortaliças frescas: uma revisão sobre os riscos microbiológicos. Arquivos do Instituto Biológico, v. 87, n. 4, p. 506-514, 2020.

SILVA, N.; et al. Métodos para Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: Varela, 2017.

TONET, Andressa. et al. Análise microbiológica da água e da alface (*lactuca sativa*) cultivada em sistema aquapônico hidropônico e em solo. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, Campo Mourão (PR), v. 2 II. 2. p. 83-88, dez./2011. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa/article/view/3347/2271>. Acesso em: 2 out, 202.