



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS PORTO NACIONAL  
LICENCIATURA EM BIOLOGIA - EAD**

**DEUSILENE COELHO SANTOS  
EVANILDE FRANCISCO DA CRUZ**

**CONTAMINAÇÃO POR BACTÉRIAS TERMOTOLERANTES EM  
SALADAS DE ALFACE OFERECIDAS EM RESTAURANTES**

**Porto Nacional, TO  
2018**

**DEUSILENE COELHO SANTOS  
EVANILDE FRANCISCO DA CRUZ**

**CONTAMINAÇÃO POR BACTÉRIAS TERMOTOLERANTES EM  
SALADAS DE ALFACE OFERECIDAS EM RESTAURANTES**

**Porto Nacional, TO  
2018**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

S237c Santos e Cruz, Deusilene e Evanilde.  
Contaminação por bactérias termotolerantes em saladas de alface oferecidas em restaurantes : contaminação por bactérias termotolerantes em saladas de alface oferecidas em restaurantes . / Deusilene e Evanilde Santos e Cruz. – Porto Nacional, TO, 2018.  
13 f.

Artigo de Graduação - Universidade Federal do Tocantins –  
Câmpus Universitário de Porto Nacional - Curso de Biologia EAD,  
2018.

Orientadora : Carina Scolari Gosch

1. Restaurantes. 2. Termotolerantes. 3. Contaminação. 4. Alface.  
I. Título

**CDD 574**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## TERMO DE APROVAÇÃO

Deusilene Coelho Dos Santos

Evanilde Francisco Da Cruz

Contaminação por Bactérias Termotolerantes em Saladas de Alfaces  
Oferecidas em Restaurantes

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Fundação Universidade  
Federal do Tocantins como requisito  
parcial para a obtenção do título de  
Licenciada em Ciências Biológicas.

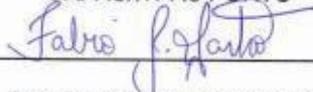
Aprovado em 10 de novembro de 2018

BANCA EXAMINADORA



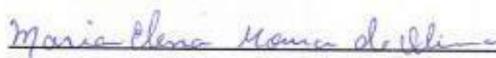
Prof.ª Drª Carina Scolari Gosch-Orientadora

FAPAC/ITPAC PORTO



Prof. Dr. Fabio de Jesus Castro

Universidade Federal do Tocantins – UFT



Prof.ª M.ª Maria Elena Moura

Universidade Federal do Tocantins – UFT

## RESUMO

O presente trabalho retrata um estudo sobre contaminação por bactérias termotolerantes, em saladas de alface em restaurantes na cidade de Porto Nacional – TO, fundamentada na literatura pertinente na área. A escolha do tema da pesquisa surgiu da necessidade de demonstrar os riscos que as bactérias termotolerantes podem causar à saúde humana através da ingestão da salada de alface pronta para o consumo em restaurantes. O objetivo geral da pesquisa é investigar o grau de contaminação por bactérias termotolerantes em saladas de alface oferecidas em restaurantes no município de Porto Nacional –TO. Quanto aos processos metodológicos, foram coletadas para a pesquisa, saladas de quatro restaurantes, em utensílio de alumínio (marmite), levadas para o laboratório de microbiologia do Instituto de Ensino Superior – ITPAC/PORTO. Os meios usados na análise foram: caldo lactosado, caldo Verde Brilhante e caldo EC (*Escherichia coli*), totalizando nove tubos por amostra. Os resultados dos tubos positivos e a identificação do número mais provável (NMP) de microrganismos contaminantes foi quantificado através da leitura na Tabela de Hoskins (APHA, 1992). Observa-se que maneiras bem simples e de baixo valor econômico podem ser adotadas nos restaurantes, para a eliminação ou redução desses microorganismos que podem estar presentes nas alfaces.

**Palavras - Chave:** alfaces, termotolerantes, contaminação, restaurantes.

## ABSTRACT

The present work presents a study about contamination by thermotolerant bacteria in lettuce salads in restaurants in the city of Porto Nacional - TO, based on relevant literature in the area. The choice of the research theme arose from the need to demonstrate the risks that thermotolerant bacteria can cause to human health by eating ready-to-eat lettuce salad in restaurants. The general objective of the research is to investigate the degree of contamination by thermotolerant bacteria in lettuce salads offered in restaurants in the municipality of Porto Nacional -TO. As for the methodological processes, salads from four restaurants in aluminum utensils (marmitex) were taken to the microbiology laboratory of the Institute of Higher Education - ITPAC / PORTO. The means used in the analysis were: lactosate broth, Bright Green broth and EC broth (*Escherichia coli*), totaling nine tubes per sample. The results of the positive tubes and the identification of the most probable number (NMP) of contaminating microorganisms were quantified by reading in the Hoskins Table (APHA, 1992). It is observed that very simple and low economic value can be adopted in restaurants, for the elimination or reduction of these microorganisms that may be present in lettuces.

**Keywords:** Lettuces. Thermotolerant. Contamination. Restaurants.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 METODOLOGIA.....</b>	<b>9</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>13</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>13</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A contaminação das saladas pode ocorrer de várias formas. As mais frequentes são aquelas provenientes de má higienização, armazenamento e preparo inadequado, o manuseio das hortaliças, bem como o contato do cliente consumidor por meio da saliva ou do suor. E devido estar ciente dos benefícios que as saladas fazem a humanidade, pelo valor nutritivo, as pessoas não se preocupam com as contaminações, que podem causar muitos problemas de saúde.

De acordo com Trigo (1999, p.24) “observar-se que há uma infração às regras fundamentais de lavar as mãos após usar sanitários, antes das refeições e em outras situações de risco possibilitando a contaminação de produtos”, esse é um fator que leva a muitas doenças, tanto para quem não faz a higienização, quanto para quem nem sabe da ausência dessa higienização.

Conforme aponta Silva (1995, p.10) a maioria dos problemas com alimentação “[...] são com infecções alimentares, tendo assim como agentes etiológicos bactérias e parasitas, principalmente devido à manipulação inadequada, matérias-primas contaminadas e ausência de higiene durante a preparação”, ou seja, esse é um problema recorrente na sociedade e requer muita atenção.

Nesse sentido, sabe-se que a busca por alimentos prontos é decorrente da falta de tempo das pessoas que trabalham ou estudam longe de suas residências, principalmente pela ausência da figura feminina em casa. E na busca por alimentos mais saudáveis, as saladas são as mais consumidas principalmente a alface que oferece um baixo valor calórico e costuma ser recomendado para as dietas. Porém, esse tipo de alimento pode representar um risco para saúde, levando em conta as contaminações por alguns tipos de bactérias que causam problemas de saúde nos consumidores.

O tema em evidência foi escolhido pelo fato da pouca divulgação das doenças causadas por bactérias termotolerantes através do consumo de alimentos, em especial as saladas de alface que apresentam boa aparência, mas que não revelam se estão contaminados ou não, deixando a saúde pública vulnerável a esse problema.

A pesquisa se justifica pela necessidade de demonstrar os riscos que as bactérias termotolerantes podem causar à saúde humana através da ingestão da salada de alface pronta para o consumo em restaurantes, nosso intuito é contribuir para fins de esclarecimentos a sociedade portuguesa sobre as possíveis doenças causadas por saladas

de alface aparentemente saudáveis oferecidas em restaurantes mais frequentados em Porto Nacional -TO.

Portanto, o objetivo geral da pesquisa é investigar o grau de contaminação por bactérias termotolerantes em saladas de alface oferecidas em restaurantes no município de Porto Nacional -TO.

## **2 METODOLOGIA**

Em relação aos procedimentos metodológicos observou-se que em Porto Nacional encontram-se 10 restaurantes do tipo self-service, de médio ou grande porte, que atendem a população local, estudantes universitários e pessoas em trânsito. Para o estudo de campo a pesquisa foi executada em quatro destes restaurantes que estão identificados neste estudo como R1, R2, R3 e R4, no período de 20 de junho a 07 de julho de 2018. Sendo realizadas duas coletas por semana, durante o horário de almoço da clientela, totalizando quatro coletas no geral. As amostras provenientes de cada coleta foram identificadas como: A1, A2, A3, A4.

Para armazenamento das saladas coletadas dos buffets de cada restaurante usou-se utensílio de alumínio (marmitex) cedido pelos respectivos, tais utensílios foram transportados em caixa térmica até o laboratório para análise. Vale salientar que cada coleta de salada tinha aproximadamente 100g.

A análise da pesquisa bacteriológica para a identificação da presença de bactérias termotolerantes nas saladas foi realizada no laboratório de microbiologia do Instituto de Ensino Superior – ITPAC/PORTO. Foi utilizado a metodologia recomendada pela ABNT (1991) e Apha (1992), técnica dos tubos múltiplos para verificação de estimativa do Número Mais Provável (NMP).

Salienta-se que os materiais que foram utilizados passaram por um processo de esterilização em autoclave, isso se fez necessário para a veracidade dos prováveis resultados.

As amostras de alfaces foram maceradas em gral com auxílio de pistilo para extração do caldo. Com o caldo foram preparadas três concentrações diferentes: caldo

puro, diluição de 1/10 onde foram colocados 9 ml de água destilada e 1 ml do caldo puro, e na diluição de 1/100, onde foram adicionados 9ml de água destilada e 1ml da diluição 1/10.

A partir da maceração das alfaces formou-se uma série de três tubos de ensaio para cada amostra (Pura, 1/10 e 1/100) de alface coletada. Os meios de cultura usados na análise foram: caldo lactosado, caldo Verde Brilhante e caldo EC (*Escherichia coli*), totalizando nove tubos por amostra. No primeiro meio de análise, Caldo Lactosado, foram adicionados 1ml de cada uma das três concentrações a serem avaliadas em triplicata, em seguida, os tubos foram levados para a estufa a 37°C por 24 horas. Decorrido o período de incubação, foi verificado se havia formação de bolhas no tubo de fermentação contido no interior dos tubos de ensaio (Durhan), sendo o resultado positivo.

Quando observado a formação de bolhas, o resultado era considerado positivo para crescimento bacteriano e com auxílio da alça de platina estéril em chama de bico de Bunsen realizou-se o repique das amostras positivas para o segundo meio de cultura da análise, caldo Verde Brilhante. Novamente, cada amostra foi semeada em triplicata. Esses tubos foram incubados novamente nas mesmas condições de tempo e temperatura. Após as 24 horas, analisou-se os tubos e a presença de bolhas confirmava a contaminação por coliformes totais (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* e *Enterobacter sp.*) no caldo Verde Brilhante.

Nos tubos que indicaram a presença de coliformes totais repetiu-se a mesma técnica de repique para o caldo EC (*Escherichia coli*), em seguida foram levados para o Banho Maria a 45°C, por um período de 24 horas, para depois serem submetidos ao teste confirmatório da presença de coliformes termotolerantes pela visualização de bolhas.

Os resultados dos tubos positivos e a identificação do número mais provável (NMP) de microrganismos contaminantes foram quantificados através da leitura na Tabela de Hoskins (APHA, 1992).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos últimos anos, as pessoas têm se alimentando cada vez mais de hortaliças cruas como as saladas, tornando-se vulneráveis a problemas de saúde como infecções intestinais entre outras patologias provenientes de contaminação por helmintos, bactérias, protozoários e vírus que podem estar presente nos alimentos (ALVES, 2002). Sabe-se que

várias doenças microbianas transmitidas às pessoas podem ser de origem de ingestão de alimentos que não estão adequados para serem consumidos (SILVA, 1995).

É notório o aumento de estabelecimentos comerciais que trabalham com alimentos prontos para o consumo humano, dentre eles, destacam-se os restaurantes do tipo self-service, onde as saladas são oferecidas com expansiva variedade, chamando ainda mais a atenção da clientela que vem mudando seus hábitos alimentares em busca de uma vida mais saudável.

Segundo Almeida (2006) essa busca se deve ao fato de que a alimentação deve promover uma satisfação ao ser humano, sendo assim, os proprietários de restaurantes devem preocupar-se com a qualidade dos alimentos, disponibilizando alimentos saudáveis.

De acordo com Martins (2003) há um grande perigo da contaminação através do manuseio das hortaliças, no caso em estudo, das alfaces, dos utensílios usados para manipulação, podendo ocorrer ainda nas hortas, no caminho para os restaurantes, na preparação ou mesmo pelos clientes, através da saliva quando estão se servindo.

Nesse contexto sobre a contaminação afirmam Zandonadi et al (2007, p.21) que:

A contaminação dos alimentos se inicia na produção da matéria-prima e se estende às etapas de transporte, recepção, armazenamento. No Brasil a mão-de-obra recrutada para realização das atividades frequentemente não é qualificada e, em muitos casos, sequer é treinada para assumir as atividades referentes à produção de refeições observa-se também a falta de informação desses profissionais quanto às normas de segurança alimentar na produção de refeições

Nesse sentido, certifica Trigo (1999, p.14) que a falta de higienização prejudica a saúde humana, “há uma infração às regras fundamentais de lavar as mãos após usar sanitários, antes das refeições e em outras situações de risco possibilitando a contaminação de produtos”. De acordo com Rodrigues (2004) os clientes têm o direito de saber sobre as doenças que podem ser adquiridas através de ingestão de alimentos em restaurantes.

Sabendo da importância de tais estudos é de extrema relevância a busca pelo conhecimento acerca da alimentação servida em restaurantes de Porto Nacional-Tocantins, observando assim os possíveis riscos desses alimentos para a saúde da população.

Quanto ao material/objeto de estudo coletado, o número de amostras positivas para coliformes termotolerantes nas alfaces coletados nos quatro restaurantes está representado na tabela 1.

**Tabela 1:** Resultados da leitura do NMP das amostras analisadas e contaminadas por coliformes a 45°C.

Material	Restaurantes	Número total de amostras	Diluições	Número de tubos	Número de tubos positivos para coliformes termotolerantes
Alface	R1	4	100	12	5
			10-1	12	4
			10-2	12	5
	R2	4	100	12	5
			10-1	12	3
			10-2	12	3
	R3	4	100	12	12
			10-1	12	12
			10-2	12	12
	R4	4	100	12	8
			10-1	12	7
			10-2	12	4

Elaborado pelas autoras, 2018.

Considerando os resultados obtidos, os quatro restaurantes apresentaram amostras contaminadas por coliformes totais (*E. coli*, *Klebsiella sp.* e *Enterobacter sp.*) e coliformes termotolerantes. No entanto, a concentração de coliformes termotolerantes em quantidades inaceitáveis pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi verificado apenas em um dos estabelecimentos, identificado como R3. Em que foram analisadas 12 amostras e todas foram positivas para coliformes termotolerantes, enquanto nos demais restaurantes (R1, R2 e R4) o resultado foi inferior ao que determina a ANVISA, sendo que sua tolerância máxima permitida para hortaliças frescas, *in natura*, sanificadas, para consumo direto é  $2 \times 10^2$  NMP/g.

De acordo com o estudo, as contaminações das hortaliças podem ocorrer por vários fatores. Diante disso, sugerem-se maiores cuidados e boas práticas higiênicas no plantio, no processamento, manipulação, distribuição e comercialização das alfaces, mantendo as hortas protegidas por telas pode evitar a presença de alguns animais evitando a contaminação por fezes.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa foi realizada com o intuito de conhecer e esclarecer a eficácia da higiene sanitária das alfaces que chegam ao consumidor final. A identificação da presença de coliformes termotolerantes (*E. coli*, que é de origem fecal humana) em concentrações significantes nas amostras do restaurante R3 comprova que houve falhas em uma das três fases envolvidas no processo de produção das alfaces para consumo, estando essas amostras em desacordo para o consumo humano e inaceitável pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Vale salientar que maneiras bem simples e de baixo valor econômico podem ser adotadas nos restaurantes, para a eliminação ou redução desses microorganismos que podem estar presentes nas alfaces, tais como: a lavagem dos vegetais de maneira correta, o uso ácido acético e de hipoclorito de sódio (sanitizantes com eficácia comprovada para eliminação parcial ou total de bactérias), é necessário a imersão das alfaces nestas soluções, para a descontaminação das hortaliças, possibilitando uma alimentação adequada ao consumo humano.

Mediante ao estudo realizado, sugere-se que os restaurantes proporcionem a seus funcionários curso de aperfeiçoamento e treinamento capacitando-os, diminuindo assim os meios de contaminação pelos manipuladores.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. T. T. **Avaliação Microbiológica de Alfaces (*Lactuca Sativa*) em Restaurantes Self Service no Município de Limeira - SP.** Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba 2006.

ALVES, E.G.L et al. **Parasitas em hortaliças comercializadas em Lavras, Minas Gerais.** UFLA, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/rxGfzyhGxFRZ569WhxBrdNy/>. Acesso em: 04 jun 2018.

APHA. **American Public Health Association Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 3 ed, 2001. Disponível em <http://www.revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ASA/article/view/317>>Acesso em: 10 outubro de 2017.

MARTINS, F.O. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de preparações a base de pescado cru servidos em bufês na cidade de São Paulo.** 2006. 126p. Dissertação

(Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública (FSP), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

OLIVEIRA, Maria de Lourdes Soares et al. **Análise microbiológica de alface (*Lactuca sativa*, L.) e tomate (*Solanum lycopersicum*, L.), comercializados em feiras-livres da cidade de Belém, Pará. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.20, n.143, p.96-101, ago. 2006.**

RODRIGUES, T. S. **Restaurante self service: Práticos e Perigosos.** Monografia de especialização, Universidade de Brasília, Centro de Excelência em turismo. Brasília, 2004.

SILVA, E. A. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Alimentos.** 5 ed. São Paulo: Varela, 1995.

TRIGO, VC. **Manual prático de higiene e sanidade das unidades de alimentação e nutrição.** São Paulo: Livraria Varela; 1999.

ZANDONADI, R.P. et al. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto serviço. **Revista de Nutrição.** Campinas, v. 20, n. 1, p. 19 – 26, 2007.