

Segurança Alimentar: Padronização de Metodologia para Detecção dos Protozoários potencialmente Patogênicos (*Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.) em hortaliças de produção orgânica e convencional.

Gabriele S. S. Gois*, Nilson Branco, Regina Maura B. Franco.

Resumo

Giardiose e Criptosporidiose são infecções que causam grande problemas para a saúde pública, ocasionando quadro clínico de gastroenterite; a transmissão desses protozoários ocorre principalmente através de água e alimentos contaminados com cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. O objetivo do estudo é avaliar a presença desses parasitas em amostras de rúcula e alface vendidos comercialmente na região de Campinas, de modo a avaliar as diferenças entre o cultivo orgânico e convencional, porém pelo fato de não existir uma metodologia padronizada para detecção desses parasitas em vegetais frescos no Brasil, testes de eficiência de recuperação dessas formas de resistência parasitária foram realizados a partir de contaminação das hortaliças em laboratório e lavagem com solução de glicina 1M, Tween 20 (0,1%) e SDS (0,1%); em sequência, o líquido obtido foi sedimentado e concentrado por centrifugação e analisado mediante o método de imunofluorescência direta.

Palavras-chave:

Protozoários, Doenças transmitidas por alimentos, Cultivo orgânico.

Introdução

Parasitoses intestinais são as infecções mais frequentes ao redor do mundo, com grande relevância em saúde pública. Como a ingestão de vegetais frescos tem sido incentivada como um requisito básico para melhor saúde, muitos protozoários entéricos tem explorado essa via de transmissão de forma eficaz para completarem seus ciclos biológicos. Assim, os produtos consumidos crus, como as hortaliças, favorecem a transmissão desses patógenos. Fatores como as precárias condições socioeconômicas e de saneamento básico contribuem para a dispersão desses agentes parasitários no ambiente já que esses protozoários possuem formas de resistência, eliminadas nas fezes dos hospedeiros infectados, que são resistentes aos desinfetantes à base de cloro, de modo que água e alimentos podem ser contaminados com cistos e oocistos. De 2000 a 2017, ocorreram no Brasil 12.503 surtos de doenças de transmissão alimentar e 236.403 pessoas adoeceram devido à ingestão de alimentos contaminados. Nos últimos anos, houve um aumento pela procura de vegetais de cultivo orgânico, no qual se utiliza fezes de animais como fonte de adubo, o que pode potencializar o risco de contaminação desses alimentos, pela presença de bactérias, protozoários e helmintos contidos nessas fezes. No Brasil, ainda não existe uma metodologia padronizada e validada para a detecção de cistos e oocistos em vegetais frescos, sendo necessária a pesquisa e desenvolvimento de uma técnica eficiente para a recuperação dessas formas de resistência e, um estudo comparando os tipos de cultivo (orgânico e convencional) face à contaminação por esses protozoários.

Resultados e Discussão

Para análise dos vegetais, desenvolveu-se uma metodologia para detecção de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*, fundamentada no método ISO 18744 (europeu) avaliando-se diferentes soluções de destacamento durante a eluição da superfície dos vegetais, a saber: solução de glicina 1M, Tween 20 (0,1%) e sódiododecilsulfato (SDS) (0,1%).

Para o ensaio de eficiência de recuperação, as hortaliças foram contaminadas com suspensões purificadas de cistos

de *Giardia duodenalis* e oocistos de *Cryptosporidium*, previamente enumerados.

Os ensaios utilizando solução de Tween 20 (0,1%) alcançaram melhor índice de eficiência de recuperação (Tabela 1) sendo escolhido para verificação da segurança microbiológica das amostras comercializadas na região de Campinas. Até o momento foram analisadas 26 amostras de Alface (13 convencionais e 13 orgânicas) e 6 de rúcula (5 convencionais e 1 orgânica); todas apresentaram-se negativas quanto à contaminação pelos protozoários pesquisados. Com o objetivo de confirmar os resultados obtidos será realizado análise molecular, utilizando-se técnica de *nested*-PCR.

Entre as dificuldades encontradas, resalte-se a formação de espumas durante as lavagens com Tween e SDS, o que pode interferir no resultado encontrado, devido à perda de líquido de eluição implicando em perda de cistos/ooocistos e, redução no percentual de recuperação da solução. Além disso, amostras com significativa sedimentação de sujidades prejudicam a análise microscópica, pois apresentam grande quantidade de algas e estruturas que interferem na detecção dos protozoários.

Tabela 1. Eficiência de recuperação das soluções de eluição.

Amostra	Glicina 1M pH 5.5	Tween 20 – 0,1%	SDS – 0,1%
Alface e <i>Giardia</i>	16,6%	32,0%	22,6%
Rúcula e <i>Giardia</i>	60,0%	33,3%	19,6%
Alface e <i>Cryptosporidium</i>	8,8%	33,3%	2,8%
Rúcula e <i>Cryptosporidium</i>	11,2%	44,4%	8,3%

Conclusões

A solução de Tween 20 (0,1%) apresentou-se dentro dos padrões internacionalmente aceitos (30%) quanto ao índice de recuperação, tendo potencial para ser utilizada na indústria alimentícia como um sanitizante alimentar.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).