

AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DE AGENTES QUÍMICOS UTILIZADOS NA HIGIENIZAÇÃO DE ALIMENTOS

Gabriella de Araújo Freitas¹, Nykon Craveiro², Tereza de Fátima Souto Maior³, Abraham Rocha⁴, Eduardo Brandão⁵

IN VITRO ACTIVITY OF ANTI-HELMINTHIC CHEMICALS USED IN FOOD HYGIENE

Endereço dos autores:

^{1,5} Faculdade Pernambucana de Saúde, Recife, PE, Brasil.

³ Laboratório Central de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

^{1,2,4,5} Departamento de Parasitologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Avenida Moraes Rego. s.n. Cidade Universitária. Recife, PE, Brasil.
CEP: 50670-420. E-mail: brandaoe@cpqam.fiocruz.br

RESUMO

Objetivos: avaliar, *in vitro*, o potencial ovicida do hipoclorito de sódio, ácido acético e do hidrosteril[®].

Métodos: foi realizado um estudo de base experimental, *in vitro*, para avaliar o potencial ovicida dos agentes químicos hipoclorito de sódio, ácido acético e hidrosteril[®]. Para isso foi utilizado um *pool* de amostras de fezes, processado pela técnica de sedimentação espontânea, contendo ovos dos helmintos *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*. Amostras foram tratadas com os agentes químicos, hipoclorito de sódio, ácido acético e hidrosteril[®] nas concentrações 2,5%, 6% e 2,5%, respectivamente. Em seguida aproximadamente 200 µL dessas amostras foram examinadas em microscópio óptico, durante 10, 15, 20 e 30 minutos, para avaliar a integridade dos ovos. Foram considerados eficientes os compostos químicos que, em qualquer dos tempos analisados, causassem a destruição dos ovos.

Resultados: foi observado que nenhum dos agentes químicos testados, durante os períodos do estudo, apresentou-se eficiente, uma vez que os ovos de *A. lumbricoides* e de *T. trichiura* não apresentaram alterações morfológicas detectáveis.

Conclusões: apesar de não ter sido observada nenhuma alteração morfológica nos ovos, não podemos afirmar a viabilidade desses no que diz respeito ao potencial infeccioso, sendo necessário que estudos complementares sejam realizados a fim de verificar com maior precisão a ação desses agentes químicos sobre as estruturas parasitárias.

Palavras Chave Parasitos, Atividade ovicida, Agentes químicos

ABSTRACT

Objectives: to evaluate in vitro the potential ovicidal of sodium hypochlorite, acetic acid and hydrosteril[®].

Methods: we performed a study on an experimental basis, in vitro, to assess the potential ovicidal chemical agents sodium hypochlorite, acetic acid and hydrosteril[®]. For this we used a pool of stool specimens processed by the sedimentation technique, containing eggs of helminthes *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura*. Samples were treated with chemical agents, sodium hypochlorite, acetic acid and hydrosteril[®] at 2.5%, 6% and 2.5% respectively. Then about 200 μ L of samples were examined under an optical microscope for 10, 15, 20 and 30 minutes, to assess the integrity of the eggs. Were efficient chemical compounds which, in any of the time periods analyzed, they caused the destruction of the eggs.

Results: it was observed that none of the chemical tested during periods of the study, showed to be efficient, since eggs *A. lumbricoides* and *T. trichiura* showed no detectable morphological changes.

Conclusions: although not observed any morphological changes in eggs, we can not affirm the viability of these with regard to the potential infection, it is necessary that further studies be conducted to determine more precisely the action of these chemicals on the parasitic structures.

Key Words *Parasites, Ovicidal activity, Chemical*

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos, comumente conhecidas como DTAs, representam um grave problema de saúde pública e são causadas pela ingestão de alimentos ou bebidas, contaminados. Existem mais de 250 tipos de DTAs e a maioria são infecções causadas por microorganismos e parasitos.¹ A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, a cada ano, mais de dois milhões de pessoas morram por doenças diarreicas, adquiridas com a ingestão de alimentos contaminados.² Estudos realizados nos Estados Unidos estimam em aproximadamente 76 milhões, o número de casos com 325.000 hospitalizações e 5 mil mortes.³ No Brasil, faz-se a vigilância epidemiológica de surtos de DTAs (VE-DTAs) e não de casos individuais, com exceção da cólera, febre tifoide e botulismo. Essa vigilância teve início em 1999 e há registro médio de 665 surtos por ano.⁴

Dentre as DTAs, aquelas de origem parasitária merecem especial atenção, pois são infecções crônicas, de curso geralmente assintomático.⁵ Os parasitos causadores de DTAs pertencem a um amplo grupo de helmintos e protozoários denominados enteroparasitos.⁶ Destacam-se entre os enteroparasitos os helmintos pertencentes as espécies *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*; e os protozoários *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*. Segundo dados da OMS estima-se que existam, em todo mundo, cerca de um milhão de indivíduos parasitados por *A. lumbricoides*, sendo apenas pouco menor o contingente infectado por *T. trichiura*. Estima-se, também, em 200 e 500 milhões o número de indivíduos infectados por *G. lamblia* e *E. histolytica*, respectivamente.^{7,8}

Vários são os mecanismos de transmissão das enteroparasitoses, porém o principal ocorre mediante a ingestão de ovos e cistos dos parasitos veiculados por alimentos e água contaminados por fezes humanas e/ou animais.⁹ Um estudo realizado

por Rocha e colaboradores para avaliar a presença de enteroparasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade do Recife (PE) evidenciou altas taxas de contaminação biológica, sendo o *Strongyloides spp* a espécie mais encontrada.¹⁰

Visando reduzir o número de casos de DTAs os órgãos sanitários responsáveis recomendam como principais medidas preventivas a não ingestão de alimentos produzidos em locais com baixas condições de higiene, a higienização adequada de alimentos que são consumidos *in natura* e o tratamento da água antes de seu consumo. Para essas duas últimas medidas, vários são os procedimentos e agentes químicos recomendados.¹¹ No entanto, são escassos os trabalhos que avaliam a ação desses agentes.

Diante do exposto e levando-se em conta a escassez de trabalhos que avaliem a eficiência dos agentes químicos utilizados para descontaminação de água e alimentos, o presente estudo se propôs a avaliar, *in vitro*, o potencial ovicida do hipoclorito de sódio, ácido acético e do hidrosteril[®].

MÉTODOS

Foi realizado um estudo de base experimental, *in vitro*, para avaliar o potencial ovicida dos agentes químicos hipoclorito de sódio, ácido acético e hidrosteril[®] frente às espécies *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*.

Para avaliação do potencial ovicida dos agentes químicos foi utilizado um *pool* de fezes, obtido através de amostras fecais, processado pela técnica de sedimentação espontânea pelo método de Hofmann realizado no Laboratório de Análises Clínicas de Recife e Olinda e coletadas sem conservantes, que continham ovos dos helmintos *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*.

Amostras contendo ovos dos helmintos *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* foram tratadas com os agentes químicos: hipoclorito de sódio, ácido acético e

hidrosteril[®] nas concentrações 2,5%, 6% e 2,5%, respectivamente. Em seguida aproximadamente 200 µL dessas amostras foram transferidas para lâminas de vidro, cobertas com lamínulas e examinadas em microscópio óptico, com objetiva de 100x, durante 10, 15, 20 e 30 minutos, para avaliar a integridade dos ovos.

Foram considerados eficientes os compostos químicos que, em qualquer dos tempos analisados, causassem a destruição dos ovos.

RESULTADOS

Foi observado que nenhum dos agentes químicos testados, durante os períodos do estudo, apresentou-se eficiente, uma vez que os ovos de *A. lumbricoides* (Figura 1) e de *T. trichiura* (Figura 2) não apresentaram alterações morfológicas detectáveis.

DISCUSSÃO

As DTAs são resultantes predominantemente do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle tem recebido cada vez maior atenção em todo mundo. Ocorrem tanto nas áreas rurais quanto urbanas dos países do terceiro mundo, geralmente, devido às más condições sanitárias associadas à ingestão de alimentos contaminados.¹²

Um estudo desenvolvido por Marzochi e Cavalheiro (1978) sobre a presença de enteroparasitos em vegetais demonstrou que o uso de práticas inadequadas de produção, comercialização e consumo desses tipos de alimentos, associados ao uso de água contaminada, contribui de forma significativa para disseminação de parasitos e outros microrganismos patogênicos.¹³ Outro estudo realizado na região metropolitana de São Paulo com o objetivo de investigar a presença de enteroparasitos em hortaliças, evidenciou um alto índice de positividade, sendo os helmintos da espécie *A. lumbricoides* encontrados em todas as amostras analisadas.¹⁴

A lavagem dos vegetais é a prática mais comum para se obter um produto mais seguro, sendo de primordial importância que essa água seja de boa qualidade. Se esse

requisito não for atendido, a água passa a ser fonte de contaminação primária. A eficácia da operação de lavagem, entretanto, pode ser aumentada com a inclusão de antimicrobianos ou desinfetantes nessa água de lavagem.¹⁵

Vários são os protocolos e os produtos utilizados para a higienização de alimentos. O centro de Vigilância Sanitária de São Paulo, através da portaria CVS-6/99 estabelece que para preparado de hortigranjeiros deve ser realizada a higienização completa que compreende: a lavagem criteriosa em água potável, a imersão em solução clorada por 15 a 30 minutos e o enxágue em água potável.¹⁶

Outro agente químico utilizado na higienização de vegetais que serão consumidos *in natura* é o vinagre. Esse produto tem como componente mais importante o ácido acético, que provém da oxidação do álcool do vinho no processo de acetificação. O vinagre para consumo deve ter entre 4% e 6% de ácido acético. A legislação brasileira estabelece em 4% o teor mínimo de ácido acético. Na Europa, o vinagre foi utilizado rotineiramente no combate às epidemias de cólera. O vinagre, no entanto, não apresenta ação anti-séptica somente contra o vibrião colérico, mas também atua sobre *Salmonella spp.* e outros patógenos do intestino que causam infecções e epidemia.¹⁷

A avaliação da eficácia desses agentes químicos sobre bactérias causadoras de infecções gastrintestinais tem sido alvo de alguns trabalhos.^{17,18,19} No entanto são escassos estudos que abordem a eficácia desses agentes sobre parasitos. Um estudo realizado para avaliar a atividade ovicida de vários agentes químicos frente ao *A. lumbricoides* evidenciou que os desinfetantes utilizados rotineiramente na higienização de alimentos não apresentaram atividade deletéria sobre os ovos e que esses tornaram-se embrionados assegurando seu potencial infeccioso.²⁰

Em nosso estudo, assim como relatado por Massara e colaboradores (2003),²⁰ não observamos nenhuma atividade, dos agentes químicos utilizados, sobre a estrutura dos ovos de *A. lumbricoides* e de *T. trichiura*, em nenhum dos tempos observados. Vale ressaltar ainda que as agências sanitárias competentes preconizam um período de exposição de 10 a 15 minutos e que nesse estudo extrapolamos o período de exposição para até 30 minutos.

Apesar de não ter sido observada nenhuma alteração morfológica nos ovos, principalmente no que diz respeito à integridade da membrana, não podemos afirmar a viabilidade desses ovos no que diz respeito ao potencial infeccioso, sendo necessário que estudos complementares sejam realizados a fim de verificar com maior precisão a ação desses agentes químicos sobre as estruturas parasitárias.

AGRADECIMENTOS

Aos laboratórios de Análises Clínicas dos Municípios de Olinda e Recife e ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Eletrônico Epidemiológico – Vigilância Epidemiológica de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil, 1999 – 2004, Ano 5, nº. 06, 2005.
2. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Departamento de Segurança Alimentar, Zoonoses e Doenças de Origem Alimentar da OMS. Cinco chaves para uma alimentação mais segura. Manual. Genebra: OMS; 2006.
3. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mccaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5: 607-25.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Glossário de Doenças – Doença Transmitida por Alimentos – Descrição de Doença. [Acesso em 5 jun 2012] Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31756.
5. Silva JO, Capuano DM, Takayanagui OM, Giacometti Júnior E. Enteroparasitoses e onicomioses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. Rev Bras Epidemiol. 2005; 8: 385-92.
6. CODEX- CAC [Codex Alimentarius Commission]. 2003. Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables.CAC/RCP53-2003.
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Health Report. WHO: Geneva. 1997.
8. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of a Consultation of Experts on Amebiasis. Weekly Epidemiological, Report of the World Health Organization, 1997a; 72: 97-99..
9. Santos AO. Investigação epidemio-parasitológica em hortaliças comercializadas em feiras livres, mercados e restaurantes do Distrito Federal. [Dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2007.
10. Rocha A, Mendes RA, Barbosa CS. *Strongyloides spp* e outros parasitos encontrados em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializados na cidade do Recife, PE. Rev Patol Trop. 2008; 37: 151-60.
11. Oliveira ABA. Comparação de diferentes protocolos de higienização de alface (*Lactuca sativa*) utilizados em restaurantes de Porto Alegre – RS. [Dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005.

12. Slifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite zoonose associated with water and food. *Int J Parasitol.* 2000; 30: 1389-93.
13. Marzochi MCA, Cavalheiro JR. Estudos dos fatores envolvidos na disseminação de enteroparasitas. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1978; 20: 31-35.
14. Oliveira CAF, Germano PML. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil, I - Pesquisa de helmintos. *Rev. Saúde Públ.* 1992; 26: 283-89.
15. Berbari SAG, Paschoalino JE, Silveira NF Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2001; 21: 197-201.
16. Silva JR. Manual de Controle Higiênico - Sanitário em Alimentos. 5 edição. São Paulo, 2002.
17. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RE nº 2586, de 10 de agosto de 2006. Altera o item "e" da Portaria nº. 122/DTN, de 29 de novembro de 1993, que incluiu na Portaria nº 15 de 23 de agosto de 1988, subanexo 1, alínea I, o princípio ativo ÁCIDO PERACÉTICO, para uso das formulações de desinfetantes/esterilizantes. Brasília-DF, 2006.
18. Eiroa MNU, Porto E. Influência de diferentes tipos de vinagre e de hipoclorito de sódio na sobrevivência de *Vibrio cholerae* em folhas de alface (*Lactuca sativa*) artificialmente contaminadas e sobre a microbiota natural. *Col do ITAL.* 1996; 26: 199-207.
19. Issa-Zacharia A, Kamitani Y, Muhimbula HS, Ndabikunze BK. A review of microbiological safety of fruits and vegetables and the introduction of electrolyzed water as an alternative to sodium hypochlorite solution. *Afr J Food Sci.* 2010; 4: 778-89.

20. Massara CL, Ferreira RS, Andrade LD, Guerra HL, Carvalho OS. Atividade de detergentes e desinfetantes sobre a evolução dos ovos de *Ascaris lumbricoides*. Cad Saúde Públ. 2003; 19: 335-340.

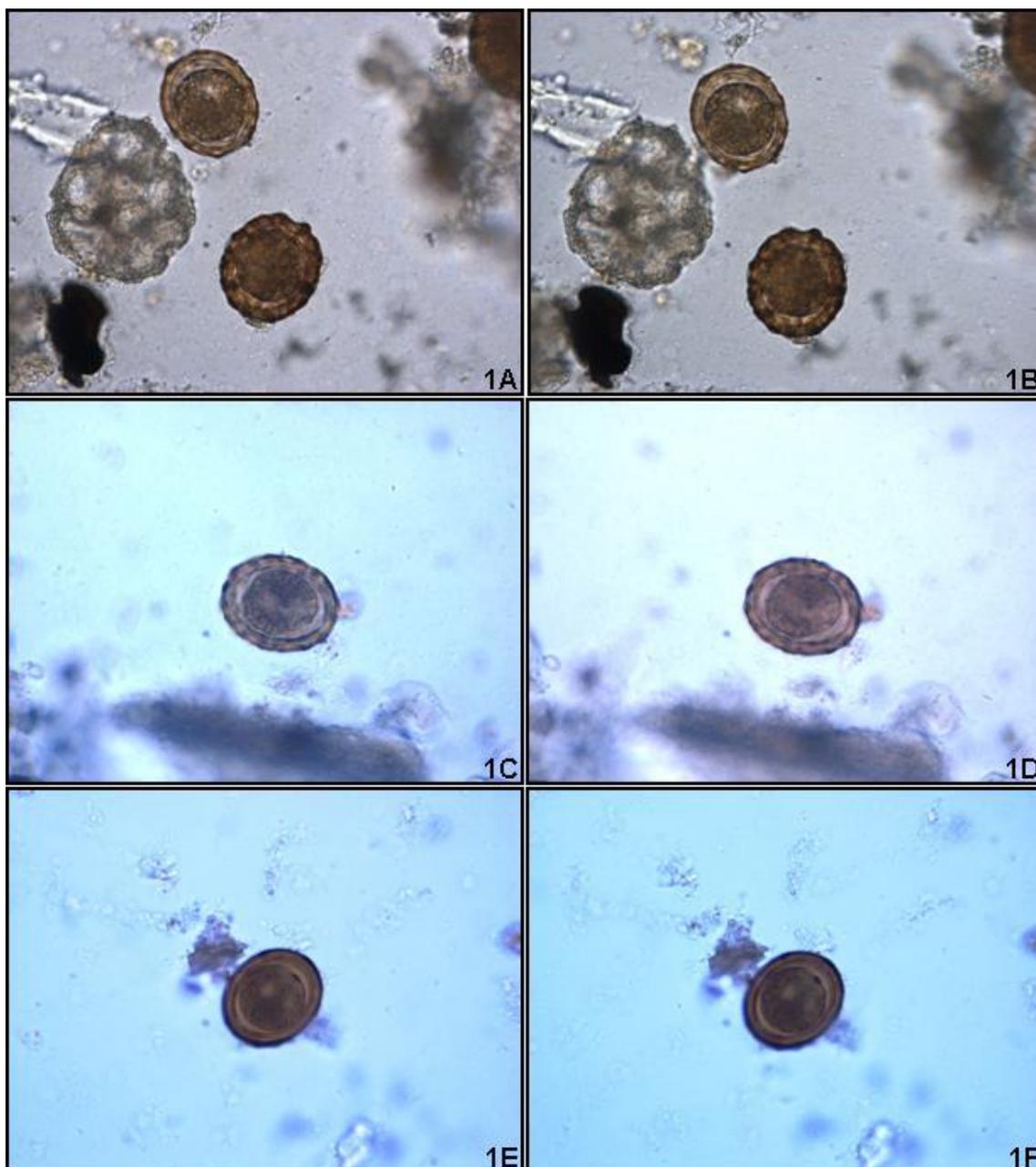


FIGURA 1: 1A – Ovo de *A. lumbricoides* no pré-tratamento com hidrosteril; 1B - Ovo de *A. lumbricoides* 30min após tratamento com hidrosteril; 1C – Ovo de *A. lumbricoides* no pré-tratamento com hipoclorito de sódio; 1D - Ovo de *A. lumbricoides* 30min após tratamento com hipoclorito de sódio; 1E – Ovo de *A. lumbricoides* no pré-tratamento com ácido acético e 1F - Ovo de *A. lumbricoides* 30min após tratamento com ácido acético.

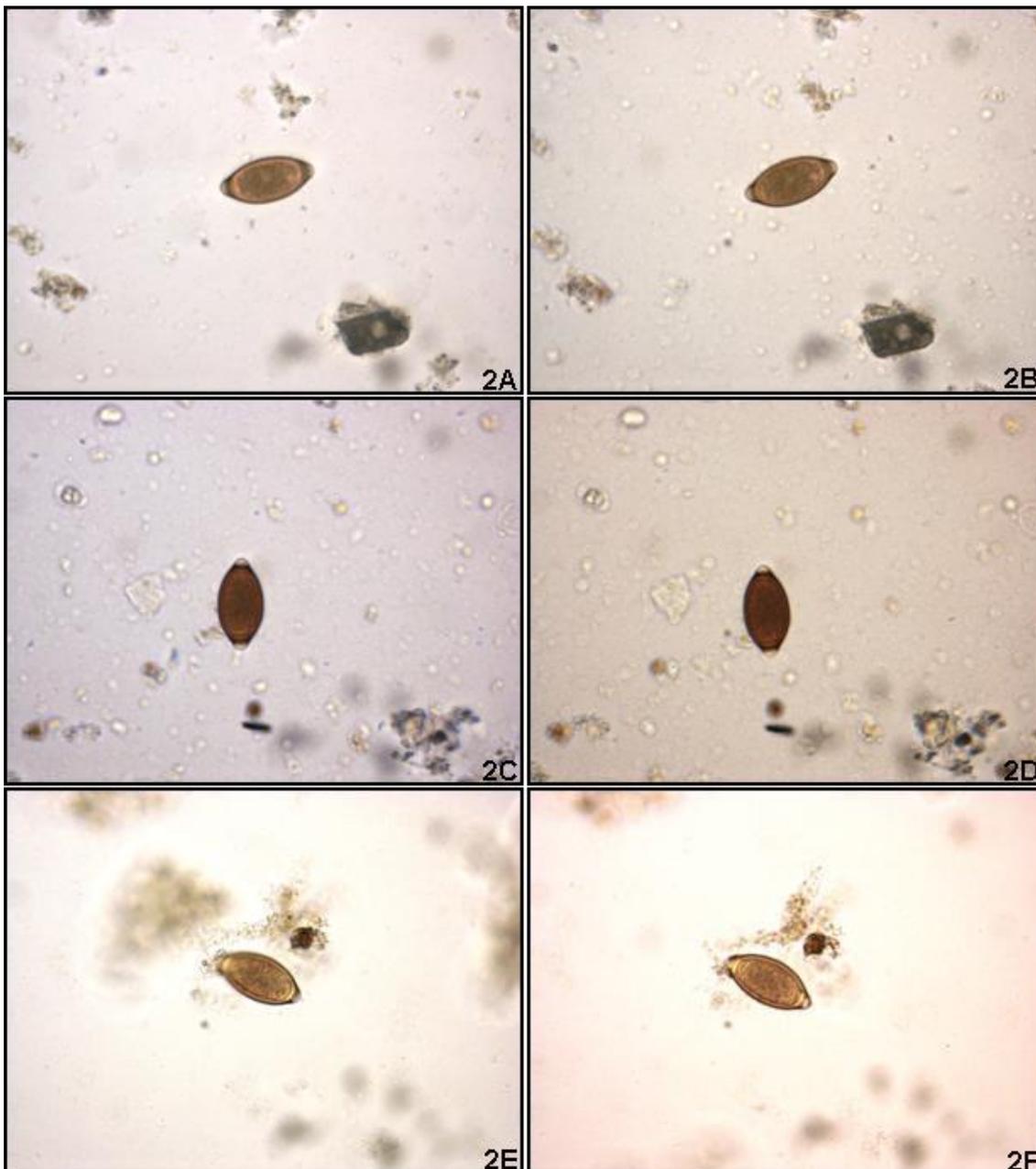


FIGURA 2: 2A – Ovo de *T. trichiuria* no pré-tratamento com hidrosteril; 2B - Ovo de *T. trichiuria* 30min após tratamento com hidrosteril; 2C – Ovo de *T. trichiuria* no pré-tratamento com hipoclorito de sódio; 2D - Ovo de *T. trichiuria* 30min após tratamento com hipoclorito de sódio; 2E – Ovo de *T. trichiuria* no pré-tratamento com ácido acético e 2F - Ovo de *T. trichiuria* 30min após tratamento com ácido acético.