

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
HELENA FARIAS**

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA NA CADEIA PRODUTIVA  
DE OSTRAS, *Crassostrea* sp., CULTIVADAS NA BAÍA DE  
GUARATUBA, PR, BRASIL.**

**CURITIBA  
2008**

**HELENA FARIAS**

**QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA NA CADEIA PRODUTIVA  
DE OSTRAS, *Crassostrea* sp., CULTIVADAS NA BAÍA DE  
GUARATUBA, PR, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós –  
Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade  
Federal do Paraná, como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ostrensky

**CURITIBA**

**2008**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



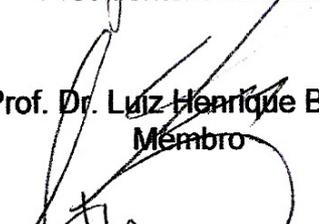
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA NA CADEIA PRODUTIVA DE OSTRAS, *Crassostrea* sp, CULTIVADAS NA BAÍA DE GUARATUBA, PR, BRASIL” apresentada pela Mestranda HELENA FARIAS, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03–CEPE/UFPR, que considerou a candidata Apta para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Produção Animal.

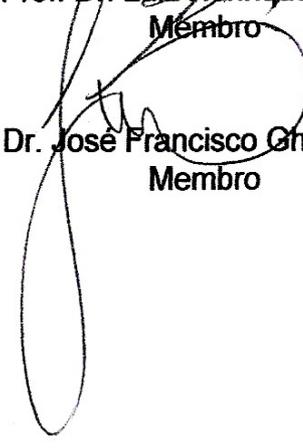
Curitiba, 11 de dezembro de 2008



Prof. Dr. Antonio Ostrensky Neto  
Presidente/Orientador



Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão  
Membro



Prof. Dr. José Francisco Ghignatti Warth  
Membro

*Agradeço aos professores, amigos e familiares  
que participaram desta caminhada.*

## Sumário

Agradecimento.....	4
Sumário.....	5
Lista de Figuras.....	8
Lista de Tabelas.....	9
Apresentação.....	10
Estrutura da Dissertação.....	12
Resumo Geral.....	13
General Abstract.....	14
CAPÍTULO I.....	15
Características da contaminação microbiológica de ostras cultivadas.....	15
Resumo.....	15
Introdução.....	16
Fisiologia da digestão de ostras.....	17
Surtos e problemas sanitários relacionados ao consumo de ostras.....	18
Ostras de cultivo como bioindicadores de contaminação ambiental.....	20
Medidas de controle microbiológico de ostras.....	22
Referências Bibliográficas.....	26
CAPÍTULO II.....	32
Pesquisa de opinião pública e avaliação dos padrões de qualidade dos restaurantes que comercializam ostras na região do Cabaraquara, município de Guaratuba, Paraná.....	32
Resumo.....	32
Palavra-chave: boas práticas de fabricação; legislação sanitária; alimento inócuo e turistas.....	32
Summary.....	32
Key-words:.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	34
Resultados.....	36
Discussão.....	38
Conclusão.....	39
Referências bibliográficas.....	40
CAPÍTULO III.....	42

Diagnóstico da qualidade microbiológica de ostras produzidas e comercializadas durante a alta temporada de 2007 na região da Baía de Guaratuba-PR.....	42
Resumo.....	42
Palavras-chave:.....	42
Abstract.....	42
Key words:.....	43
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	44
Resultados.....	46
Discussão.....	48
Conclusões.....	51
Referências.....	51
CAPÍTULO IV.....	54
Análise comparativa do nível de contaminação por Coliformes Totais e por Escherichia coli em ostras (Crassostrea sp.) e na água da Baía de Guaratuba, PR. ....	54
Resumo.....	54
Palavras-chave:.....	54
Abstract.....	54
Key words:.....	55
Introdução.....	55
Material e Métodos.....	56
Coleta e Processamento de Água.....	57
Coleta e Processamento de Ostras.....	58
Resultados.....	59
Discussão.....	61
Conclusão.....	63
Agradecimentos.....	63
Referências Bibliográficas.....	63
CAPITULO V.....	66
Gestão da qualidade higiênico-sanitária em mercados municipais de pescados.....	66
Definindo as ações necessárias para a implantação do processo de gestão higiênico-sanitária em mercados públicos de pescados.....	67

Propostas para a melhoria higiênico-sanitária do mercado.....	70
Considerações finais.....	75
Agradecimentos.....	75
CAPITULO VI.....	76
Qualidade Higiênico-Sanitária das Ostras Comercializadas nos Municípios de Guaratuba e Matinhos, Litoral do Paraná.....	76
O que estamos consumindo? .....	78
Como melhorar a qualidade do pescado ofertado à população? .....	81
ANEXO.....	83
Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005.....	83
Resolução Anvisa - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 .....	89

## Lista de Figuras

Figura 1. Técnico do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais aplicando questionário a turistas em restaurante de Guaratuba, PR, em fevereiro de 2007. ....	35
Figura 2: Parâmetros de qualidade do alimento citados pelos turistas de restaurantes de frutos do mar da Baía de Guaratuba/PR em fevereiro de 2008.....	37
Figura 3. Pontos de coleta de amostras de ostras (C – Cultivos, MM – Mercado de Matinhos, MG – Mercado de Guaratuba, R – Restaurantes e D – Depuradora) no litoral do Paraná, durante o mês de janeiro de 2007. ....	45
Figura 4. Percentual de amostras contaminadas por Coliformes totais (A) e de amostras positivas para <i>Escherichia coli</i> (B) nos pontos amostrais (C1-6; R1-2; MG, MM e D) analisados no mês de janeiro de 2007 no litoral do Paraná.....	47
Figura 5. Maiores valores de contaminação por Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i> identificados nos pontos amostrais (C1-6; R1-2; MG, MM e D) analisados no mês de janeiro de 2007 no litoral do Paraná.....	48
Figura 6. Localização dos pontos amostrais (P1 a P6) utilizados para coleta de ostras e água na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Fonte: Software Google Earth.....	57
Figura 7. Distribuição das análises quantitativas de <i>Escherichia coli</i> (EC) e coliformes totais (CT) na água da baía de Guaratuba (2A) e nas ostras (2B) coletadas em seis pontos amostrais (P1 a P6) durante o mês de fevereiro de 2007. Os retângulos apresentam a variação de 25 a 75% dos dados obtidos. Os quadrados representam as medianas nos valores quantificados por pontos amostrais. As barras verticais representam os valores mínimos e máximos. KW – resultado das análises de Kruskal-Wallis. As letras representam grupos homogêneos ao nível de 5% de significância...	60
Figura 8. Características consideradas mais importantes pelos consumidores na hora da compra de pescados no Mercado Municipal de Matinhos.....	68
Figura 9. (A) Percentual de consumidores preocupados com o produto. (B) Maiores preocupações reveladas pelos consumidores do mercado municipal de pescados.....	69
Figura 10. Gráfico contendo as não-conformidades identificadas antes da realização das ações de gestão da qualidade higiênico-sanitária do Mercado Municipal.....	70
Figura 11. Grau de escolaridade dos alunos participantes do curso de Boas Práticas de Manipulação de pescados. ....	71
Figura 12. Algumas técnicas de motivação aplicadas durante o curso. (A) Identificação dos riscos de contaminação do alimento durante a filetagem, (B) técnica aplicada para o aprendizado da forma correta de lavagem das mãos, (C) identificação das características de um produto fresco x estragado.....	73
Figura 13. Cultivo de ostras em sistema long-line na Baía de Guaratuba, Paraná.....	77
Figura 14. Técnico do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais aplicando questionário a turistas em restaurantes da região do Cabaraquara. ....	78
Figura 15. Mapa da Baía de Guaratuba - PR, com identificação dos pontos de coleta de amostras de ostras de acordo com as regiões de cultivo (Parati (C1 e C2); Cabaraquara (C3 e C4); Ilha da Sepultura (C5 e C6)); restaurantes (R1 e R2); mercados municipais (MM e MG) e depuradora (D).....	79
Figura 16. Percentual de contaminação por <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> e coliformes totais, em amostras de ostras coletadas em onze pontos de comercialização, na Baía de Guaratuba, no mês de janeiro de 2007. ....	79
Figura 17. Amostras de água (A) e ostras (B), utilizadas nos experimentos realizados nos meses de verão de 2007, analisadas no laboratório do GIA/UFPR.....	80

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Requisitos microbiológicos para moluscos vivos destinados ao consumo humano estipulados por diferentes órgãos reguladores.....	24
Tabela 2 – Resultados das principais perguntas de múltipla escolha aplicadas aos turistas em restaurantes de frutos do mar da Baía de Guaratuba/PR no mês de fevereiro de 2007.....	36
Tabela 3. Descrição dos pontos de coleta de amostras de ostras (C1-6; R1-2; MM e MG; D), em função do seu papel na comercialização, local geográfico e características intrínsecas de cada ponto.....	45
Tabela 4. Valores de coeficiente de correlação da regressão linear múltipla (r), coeficiente de determinação da regressão (r <sup>2</sup> ) e probabilidade de significância para os coeficientes de regressão (p) pelo teste de Scatterplot para os dados CTA – Coliformes totais da água; CTO – Coliformes totais das ostras; ECA – E. coli da água; ECO – E. coli das ostras; D – Data de coleta e P – Ponto de coleta ao nível de 5% de significância.....	61
Tabela 5. Plano de ensino aplicado no curso de boas práticas de manipulação de pescado.....	72
Tabela 6. Não-conformidades antes e após aplicação do curso de Boas Práticas de Fabricação.....	74
Tabela 7. Valores percentuais de contaminação por Escherichia coli e coliformes totais das amostras de água e de ostras coletadas na Baía de Guaratuba, no mês de fevereiro de 2007.....	81

## **Apresentação**

A presente dissertação faz parte de um conjunto de atividades desenvolvidas pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná, relacionadas à produção de ostras no litoral paranaense, como parte do projeto Cultimar.

A ostreicultura é uma atividade com grande potencial no litoral paranaense, mas o crescimento da atividade esbarra em uma série de problemas, como a falta de sementes produzidas em laboratório, a falta de regularização das áreas de cultivo e o baixo nível de capacitação técnica dos produtores regionais. Mas, talvez nenhum problema seja tão prioritário e crítico como o que trata da garantia da qualidade higiênico-sanitária das ostras cultivadas.

Na tentativa de garantir a qualidade das ostras, o governo federal, através da Secretaria Especial de Aqüicultura e Pesca, desenvolve o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB). O programa pretende normatizar a produção e comercialização de moluscos no Brasil, procedimento que já existe em vários países do mundo. Infelizmente, a legislação brasileira atual que trata dos níveis de contaminação microbiológica dos alimentos, não oferece valores de referência para moluscos vivos ou consumidos crus. Esta falha impede que haja parâmetros legais de análise laboratorial para garantir a segurança dos consumidores.

Para se definir os métodos de avaliação da qualidade microbiológica do molusco alguns fatores devem ser levados em conta. Sabe-se que existem diferenças entre as características microbiológicas da água do local de cultivo e da carne das ostras ali produzidas. Enquanto a análise da água reflete uma contaminação pontual no momento da coleta da amostra, as análises de tecidos das próprias ostras refletem alterações bióticas e abióticas ocorridas ao longo de várias horas ou mesmo de dias. Assim, a liberação para comercialização de um lote de ostras não poderá se basear

somente na análise da água, deve sim ser um conjunto de fatores a serem avaliados, incluindo a contaminação das ostras em si.

Outra etapa que nos parece fundamental para a implantação do PNCMB é a necessidade de campanhas de esclarecimento sobre o consumo de ostras, junto aos produtores e a população em geral. O consumidor deve saber identificar as características mínimas de qualidade do produto que irá adquirir e o produtor por sua vez deve oferecer um produto limpo, corretamente conservado e certificado. Somente a partir do momento que o consumidor final tiver a capacidade de perceber diferenças de qualidade do produto ofertado por diferentes fornecedores de ostras e obtiver a garantia de que a qualidade sanitária das ostras comercializadas é de fato assegurada por um sistema de inspeção eficiente, será possível se pensar em agregação de valor, em diferenciação de preços, e, em última instância, em expansão significativa da base produtiva no estado do Paraná.

No ano de 2007, em função do presente estudo, intensificaram-se os experimentos junto a consumidores, ostreicultores, restaurantes e mercados de pescado nas cidades de Guaratuba e Matinhos. A pesquisa aqui apresentada englobou os aspectos técnicos de produção e práticos da comercialização de ostras, *Crassostrea* sp., com o objetivo principal de caracterizar o perfil higiênico-sanitário ao longo da cadeia produtiva.

No presente trabalho são apresentados os dados obtidos em uma série de estudos relacionados à opinião pública sobre as ostras comercializadas no litoral paranaense; à contaminação de ostras e à contaminação da água de cultivo; bem como à aplicação das Boas Práticas de Fabricação por manipuladores de pescado.

Humildemente, acreditamos que este material possa servir de suporte para as atividades do PNCMB, bem como para a ampliação dos conhecimentos relativos à contaminação microbiológica das ostras de cultivo no Brasil.

A legislação referente aos padrões de contaminação microbiológicos do molusco - Anvisa e das áreas de cultivo – Conama encontra-se disponível em anexo.

## **Estrutura da Dissertação**

A presente dissertação é composta dos seguintes capítulos:

### **CAPÍTULO I**

Apresenta uma revisão bibliográfica sobre as características fisiológicas, potencial patogênico e características higiênico-sanitárias das ostras, *Crassostrea* sp.

### **CAPÍTULO II**

Avalia a visão do consumidor e dos proprietários de restaurantes especializados em ostras frente a aplicação dos padrões de qualidade exigidos pela Vigilância Sanitária.

### **CAPÍTULO III**

Caracteriza a qualidade microbiológica de ostras, através da pesquisa de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e Coliformes totais, produzidas e comercializadas em Guaratuba e Matinhos.

### **CAPÍTULO IV**

Objetiva correlacionar a contaminação da água de cultivo e das ostras da Baía de Guaratuba através da pesquisa de *Escherichia coli* e de Coliformes totais.

### **CAPÍTULO V**

Diagnostica a situação higiênico-sanitária de um mercado público de pescados e propõe cursos de Boas Práticas de Fabricação para manipuladores.

### **CAPÍTULO VI**

Expõe, em forma de artigo de divulgação científica, os objetivos, as experiências e os resultados alcançados ao longo da presente pesquisa. Assim, ao invés de se simplesmente encerrar a dissertação com uma lista de conclusões, opta-se por apresentar um artigo de divulgação científica que sintetiza o trabalho realizado e destaca o papel fundamental que o consumidor tem para a melhoria da qualidade higiênico-sanitária das ostras que o mercado lhe oferece.

## Resumo Geral

Por sua característica alimentar filtradora, as ostras são capazes de acumular microorganismos em seu trato digestivo. Essa característica faz com que sejam consideradas organismos bioindicadores, pois podem representar a qualidade microbiológica do meio aquático onde são cultivadas ou mantidas. Por serem freqüentemente consumidas cruas ou mal cozidas elas podem veicular patógenos ao ser humano. O Brasil não possui referências confiáveis de surtos causados pelo consumo de ostras. No Paraná, a Secretaria de Saúde relatou apenas quatro casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) relacionados ao consumo de pescado entre os anos de 2001 e 2005. Porém, como as DTAs não costumam ser de notificação compulsória existe um completo desconhecimento da verdadeira incidência do problema na população. O objetivo dessa pesquisa foi identificar as características microbiológicas ao longo da cadeia produtiva de ostras, *Crassostrea* sp., produzidas e comercializadas na região da Baía de Guaratuba, e foi dividido em quatro etapas. A primeira etapa tentou avaliar a visão dos freqüentadores de restaurantes de frutos do mar em relação à aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) normatizadas pela Vigilância Sanitária. O levantamento foi realizado através de questionários aplicados junto aos consumidores e de *checklist* nos restaurantes que servem o produto na região do Cabaraquara, município de Guaratuba. Os consumidores não souberam identificar a presença do sistema BPF no estabelecimento e tão pouco avaliar a qualidade do produto consumido. O *checklist* mostrou falhas internas estruturais, bem como ausência de conhecimentos relacionados ao sistema BPF dos proprietários e funcionários. Um segundo levantamento objetivou analisar a qualidade microbiológica de ostras comercializadas durante a alta temporada no litoral paranaense. Em janeiro de 2007 foram coletadas 45 amostras de ostras (*Crassostrea* sp.) em onze pontos (cultivos, restaurantes, mercados públicos e em uma estação de depuração). Pesquisou-se nos referidos moluscos a presença quantitativa, em UFC, de *Salmonella* sp. e a quantidade de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Se analisados de acordo com a legislação nacional, os resultados microbiológicos obtidos indicariam que as amostras não representam risco à saúde pública, estando liberadas ao consumo. No entanto, regulamentações internacionais mais rígidas consideram a presença de *E. coli* em ostras um fator de condenação das amostras, reforçando a necessidade de reavaliação da legislação brasileira. O terceiro estudo consistiu em um experimento em que se pesquisou a possível correlação entre os níveis de contaminação da água de cultivo e os níveis de contaminação da carne de ostras por *E. coli* e por coliformes totais em seis pontos da Baía de Guaratuba. Ao final do monitoramento foram realizadas 24 análises de ostras e 108 de água. Não houve correlação entre a contaminação microbiológica das ostras e da água de cultivo. Portanto, há evidências para se afirmar que o monitoramento microbiológico das ostras é mais seguro para a classificação higiênico-sanitária de um cultivo que o simples monitoramento ocasional da água. A última etapa do trabalho foi a melhoria das condições higiênico-sanitárias do Mercado Municipal de Pescado de Matinhos. Os manipuladores de pescado do Mercado participaram de um curso de capacitação em Boas Práticas de Fabricação. O curso teve duração de 12 horas, com participação de 20 alunos/turma. Ao final desta etapa observou-se que a maioria dos 60 alunos dos cursos melhorou seus métodos de conservação, higiene e exposição dos produtos.

## General Abstract

Because of their very special feeding habit characteristics, through filtration, oysters are capable to accumulate microorganisms in their digestive system. This physiologic aspect turns the oysters into bioindicator organisms, for they can represent the microbiologic quality of the environment where they are cultivated and kept. Because oysters are often eaten raw, they can transmit a number of diseases to humans. Brazil does not have reliable data of outbreaks caused by oysters. In Parana state the Secretaria da Saude (Health Office) reported only four cases of Food Transmitted Diseases (FTD) related to fish and shellfish consumption from 2001 to 2005. However, because FTD's are not compulsorily notified the real causes of its occurrences among the population are completely unknown. This research had the main objective to identify the microbiological characteristics along the productive chain of *Crassostrea* sp produced and sold at the Baia of Guaratuba-PR and it was divided in four phases. The first phase was a study meant to evaluate the vision of seafood restaurant customers' on Good Manufacturing Practices (GMP), established by the Secretaria de Vigilância Sanitária. Questionnaires were applied to customers and a Checklist applied to restaurants of Cabaraquara region at Guaratuba city. Customers could not identify whether a restaurant had a GMP or not, nor were able to evaluate the quality of the seafood eaten by them. The Checklist showed various internal infraestructure flaws of the restaurants, as well as lack of knowledge of the GMP systems from the restaurants owners and its employees. The second phase was a study meant to analyze the microbiological quality of the oysters sold during the Parana coast touristic high season. In January 2007, forty-five oysters (*Crassostrea* sp) samples were taken in eleven different points (at oyster farms, restaurants, public markets and one oyster depurator). The samples were examined to detect the presence of *Salmonella* sp and the quantity of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and total coliforms. If analysed accordingly to the Brazilian national laws, the results of the tests would show that the oysters did not bring any threat to public health, being then safe for consumption. However, International rules and regulations considered the single presence of *E.coli* in the oysters as a condemnation factor, reinforcing the need of re-evaluation of these Brazilian laws and raising doubts about the quality of the products offered by the markets. The third phase was a study consisting in an experiment to research the possible correlation between the contamination levels of *E. coli* on the water used by the oysters farms with those in the oysters meat in six points at Guaratuba bay, through 24 oysters and 108 water analysis. The study did not show any microbiological contamination correlation among the oysters and water tests. Therefore there are evidences to confirm that the microbiological monitoring of the oysters is much safer to the hygienic-sanitary classification of an oyster culture than a seldom water monitoring. The fourth and last phase of the work was dedicated to the improvement of the hygienic-sanitary conditions of the Matinhos Municipal Fish Market, where the workers received a GMP course. This course had duration of 12 hours, with 20 people per class. At the end of this phase, it was observed that the majority of the 60 people, who took it, improved their conservation and hygiene methods as well as the exposition of their products.

# CAPÍTULO I

## Características da contaminação microbiológica de ostras cultivadas

### Resumo

As ostras possuem características alimentares que as destacam como indicadores de contaminação biológica do meio aquático. A alimentação ocorre através da filtração da água, assim podem reter microrganismos em seu tubo digestivo, tornando-as possíveis veículos de patógenos ao homem, fato que é intensificado quando são consumidas *in natura* ou levemente cozidas. Poucos dados de surtos causados pelo consumo de ostras estão oficialmente disponíveis no Brasil. No Estado do Paraná a Secretaria da Saúde identificou apenas quatro casos de adoecimento relacionados ao consumo de pescado entre os anos de 2001 e 2005, porém como as doenças transmitidas por alimentos (DTA) não são considerados de notificação obrigatória, a real incidência do problema na população é totalmente subestimada. Para a utilização de ostras como bioindicadores costuma-se empregar a *Escherichia coli* como microorganismo de referência para a contaminação fecal das águas por dejetos humanos ou animais e o *Staphylococcus aureus* como indicador de falhas higiênicas no processamento pós-colheita. As medidas sanitárias mundialmente utilizadas compreendem o acompanhamento das áreas de cultivo, o manejo higiênico da produção, o processo de depuração e os cuidados de armazenamento, transporte e exposição à venda. Recentemente, a Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (SEAP), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, criou o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves, que deverá realizar levantamentos sanitários da orla brasileira, classificando as áreas de extração e produção de moluscos de acordo com seu grau de contaminação e mantém um programa de monitoramento da qualidade da água e dos moluscos nessas áreas. Através deste levantamento, baseado em dados bibliográficos, pretende-se demonstrar as características que tornam as ostras possíveis fontes de contaminação para o homem, bem como identificar medidas de controle sanitário aplicadas nacional e internacionalmente.

**Palavra-chave:** *Crassostrea* sp.; transmissão de patógenos; bioindicador ambiental; exigências sanitárias, Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves.

### Abstract:

Oysters have feeding habits, through water filtration, that can turn them into environmental bioindicators, reflecting the aquatic microbiota. The microorganisms are retained in their digestive tube, making the oysters possible pathogens' vehicles to humans. This fact is enhanced when the oysters are consumed *in natura* or rare cooked. Official data on diseases cause by the consumption of oysters are poorly available in Brazil. In Parana State, the Secretaria da Saude (Health Office) identified only four cases of illness related to the consumption of seafood between 2001 and

2005. However, because food transmitted diseases (FTD) are not compulsorily notified, the real occurrence of this kind of problem among the population is completely underestimated. In order to use oysters as bioindicators *Escherichia coli* is the microorganism used as indicator to water contamination by humans and animals' excrements and *Staphylococcus aureus* is the microorganism used as indicator to hygienic flaws of the post-harvest processing. The sanitary measures largely applied include the monitoring of the oysters' culture sites, the hygienic management of the whole production cycle, the depuration process and the care taken during storage transport and exposition of the final product at the markets. Recently, the Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca (Special Office of Aquaculture and Fishing) – SEAP, launched the *Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves* (National Program for Hygienic-Sanitary controls of Bivalve Mollusks). This Program will carry out a sanitary survey of the Brazilian coast, in order to classify the areas of mollusks' extraction according to their contamination degrees and will keep a program for the monitoring of water quality and mollusks on these areas. Through this survey, based on bibliographic data, is expected to be demonstrated the main characteristics that make the oysters possible contamination sources to humans, as well as to identify sanitary control measures to be nationally and internationally applied.

**Keywords:** *Crassostrea* sp.; pathogens transmission; environmental bioindicator; sanitary demands; Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves.

## Introdução

A produção de ostras, seja através da sua extração em bancos naturais ou da implantação de estruturas de cultivo, é uma fonte de renda importante para a economia de muitas comunidades pesqueiras espalhadas ao longo da costa brasileira (Ostrensky et al, 2008).

Para que um alimento seguro possa ser ofertado à população medidas de controle higiênico-sanitário devem ser implantadas por produtores e comerciantes de ostras (Pereira et al, 2003), tais como acompanhamento das condições químicas, físicas e microbiológicas do ambiente de origem, (Galvão, 2004) manipulação higiênica após extração, uso correto da cadeia de frio (Ogawa & Maia, 1999), entre outros. A conservação das ostras é garantida quando os animais são mantidos em baixas temperaturas e enquanto estiverem com suas valvas fechadas, mas a sua decomposição ocorre muito rapidamente após a morte (Vieira, 2004).

Através deste levantamento pretende-se demonstrar as características que tornam estes animais possíveis fontes de contaminação para o homem, bem como identificar medidas de controle sanitário aplicadas nacional e internacionalmente.

### **Fisiologia da digestão de ostras**

As ostras são organismos pertencentes ao filo Mollusca e à classe Bivalva, caracterizado por organismos com estrutura física composta basicamente por um corpo macio, protegido por duas sessões de conchas calcárias duras e unidas por um ligamento do tipo dobradiça em uma das extremidades (Wheaton, 2007). A carne propriamente dita é ligada a concha nas extremidades do músculo adutor (Barnabé, 1996).

Uma característica estrutural desta classe é o grande desenvolvimento das brânquias, que são responsáveis pela respiração e filtração do alimento. As partículas de detritos e os microorganismos presentes na corrente ventilatória são retidos nos filamentos branquiais e conduzidos, através de batimentos ciliares, até os palpos labiais e à boca (Barnabé, 1996). A partir do estômago, o alimento segue para os divertículos digestivos e intestino, já o material não aproveitado, conhecido por pseudofeces, é eliminado através da abertura inalante, quando as valvas se fecham e a água é forçada a sair levando esses detritos acumulados com ela (Ruper & Barnes, 1996).

Desta forma, como os moluscos bivalves obtêm seu alimento da coluna de água pela filtração de pequenas partículas materiais, elas acabam concentrando em seu trato digestório contaminantes bióticos e abióticos presentes no meio (Beirão, 2000). Os alimentos são enzimaticamente atacados desde o momento em que penetram nos condutos da glândula digestiva. Porém, é possível observar células vivas presentes no estômago nas seis horas seguintes à ingestão e durante oito a 16 horas no intestino (Barnabé, 1996). Assim, bactérias patogênicas, que estejam eventualmente presentes na água de cultivo, após serem filtradas poderão

permanecer viáveis no trato digestivo das ostras (Moraes et al., 2000). Segundo Nguyen & Graham (1980) e Pommeypuy et al (1996) bactérias relacionadas a DTAs em humanos, como a *Escherichia coli*, podem manter-se culturáveis mesmo após a ingestão pelas ostras, o que justifica altas contagens bacterianas em moluscos mesmo quando as contagens na água do mar não indicam restrições para coleta e consumo dos organismos.

O problema tende a se agravar quando há aumento da temperatura ambiental, pois as taxas de filtração e de crescimento das ostras também são aceleradas nessas condições (Christo, 2006), conseqüentemente aumentando a possibilidade de ingestão de bactérias patogênicas pelas ostras. No caso do Paraná, o verão, além do aumento da temperatura ambiental, coincide com a temporada de férias, quando há uma maior contaminação fecal das águas em função do significativo incremento do número de turistas que se dirigem ao litoral (Farias et al, 2007), potencializando os riscos de contaminação humana por agentes microbiológicos veiculados através das ostras consumidas.

### **Surtos e problemas sanitários relacionados ao consumo de ostras**

As ostras, bem como os demais frutos-do-mar, apresentam um tempo de prateleira curto e variável em função de suas características intrínsecas (Cordeiro et al, 2007), como a alta atividade de água, o pH neutro e pelo fato de freqüentemente abrigarem bactérias psicotróficas - com habilidade de crescer em ambiente de refrigeração. Somado a isto, há ainda a presença de enzimas autolíticas, responsáveis pelo aparecimento de odores e sabores desagradáveis no produto, contribuindo para sua rápida deterioração (Codex Alimentarius, 2004).

A microflora de pescados e da maioria dos moluscos bivalves é bastante variada, podendo incluir: vírus, como o da Hepatite A (Coelho et al, 2003), rotavírus (Kittigul, et al, 2007), vibrios, como o *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* (Lee, et al, 2008), bactérias, como *Pseudomonas* sp., *Moraxella/Acinetobacter*,

*Serratia* sp., *Proteus* sp., *Clostridium* sp. e *Bacillus* spp, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Vieira, 2003). Todos estes patógenos podem ser transmitidos do ambiente ao ser humano no momento da ingestão do molusco (Cruz-Romero et al, 2008).

Como geralmente ocorre nas intoxicações alimentares, as DTAs de origem aquática seguem as mesmas características epidemiológicas de outros produtos alimentícios: 1) ingestão como primeira rota de exposição; 2) uma grande variedade de etiologias (bactérias, vírus, parasitas e toxinas); 3) expressiva falta de notificação de casos e; 4) aparente aumento de incidência na população humana (Lenoch, 2004). As DTAs não costumam ser de notificação compulsória. Uma consequência disso é que na maioria dos países, dentre os quais o Brasil, desconhece-se a verdadeira incidência do problema na população.

Na tentativa de aprimorar o registro das informações referentes às DTAs, a América Latina e o Caribe criaram em 1993, através do Instituto Panamericano de Protección de Alimentos (INPPAZ, 1991), o Sistema Regional de Informações para a Vigilância das Enfermidades Transmitidas por Alimentos (SIRVETA, 2002), que é responsável pelo monitoramento e pela classificação dos surtos ocorridos nos países participantes. As afecções causadas por moluscos correspondem a 2,5% de todos os casos com origem em pescados, ocorridos entre 1993 e 2002 em todos os países do bloco. Dos 1232 relatos de DTAs envolvendo pescado, o Brasil participa com apenas 0,81% dos casos. Mas, pode-se creditar esses números mais à falta de informações sistematizadas que propriamente ao grau de ocorrência do problema.

No Paraná, a Secretaria Estadual de Saúde (SESA) acompanha e registra o número de surtos ocorridos anualmente, e a grande maioria dos casos reportados e investigados limita-se a pesquisa de bactérias. Entre 1978 e 2000 identificou-se 59,8% dos surtos de DTAs associados à contaminação bacteriana (Amson et al, 2006). Entre 2001 e 2005 (SESA, 2005) apenas 4 (0,7%), de 569 surtos, foram diagnosticados como tendo origem em pescados. Fica evidente que em muitos casos, inexistente uma

real associação epidemiológica entre a doença e o consumo de moluscos, fato também identificado por Richards (2003) que sugere que um número enorme de casos de incidentes de doenças e mortes associados ao consumo de moluscos permanece não reportado.

Seguramente, o pequeno número de dados está diretamente relacionado à desinformação da população, despreparo da classe médica em reconhecer e relatar casos de DTAs às autoridades e ao fraco sistema de vigilância e coleta de dados dos órgãos municipais e estaduais de saúde.

### **Ostras de cultivo como bioindicadores de contaminação ambiental**

A microflora bacteriana presente nas ostras costuma refletir as condições do ambiente de cultivo, podendo ser influenciada pela temperatura e pela salinidade da água de cultivo. Porém, o método de coleta das ostras e as condições de armazenamento também exercem grande influência sobre sua qualidade sanitária (Huss, 1997; Germano et al., 1998; Feldhusen, 2000).

Esses patógenos podem ocorrer naturalmente no ambiente marinho, como é o caso das espécies de *Vibrio*, mas podem também chegar pela contaminação das águas de estuários e de ambientes costeiros por material fecal de origem humana e/ou animal (Younger et al 2003). A contaminação por esgoto doméstico é sabidamente a principal causa de doenças gastrointestinais relacionada ao consumo de ostras (Rippey, 1994).

O principal grupo de microorganismos utilizados como indicadores de contaminação são as bactérias, e dentre elas destaca-se a *E. coli* e a *Salmonella* sp., como indicadores de contaminação do ambiente de cultivo (Feldhusen, 2000) e o *S. aureus*, como indicador de contaminação pós-manipulação humana (Barreto, 2000; Kusumaningrum et al, 2003). O habitat natural da *E. coli* é o intestino do homem e dos animais de sangue quente, sendo eliminada em grande quantidade nas fezes (Tortora, 2005). Por não fazer parte da microbiota natural do pescado marinho, a presença de

*E. coli* está associada principalmente à contaminação fecal da água do local da captura/cultivo (Barroso et al, 2006), podendo ser considerada a bactéria indicadora mais específica de contaminação fecal recente e da possível presença de microorganismos patogênicos entéricos (Brasil, 2001).

As variações de intensidade de contaminação por *E.coli* comumente observadas nas ostras de cultivo indicam o nível de contaminação do momento da coleta e podem ser influenciadas por vários efeitos ambientais como marés, ventos, chuvas, posicionamento do cultivo e até o posicionamento dos indivíduos dentro das lanternas (Younger, Lee & Lees, 2003).

A *Salmonella* sp. é amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e de animais de sangue quente e frio, com exceção dos peixes, moluscos e crustáceos, que podem contaminar-se após a pesca ou extração (Costa et al, 2007). Lee & Younger (2003) analisaram 3200 amostras de ostras do litoral do Reino Unido e perceberam que a presença de *Salmonella* era grandemente influenciada pelo local de coleta. A influência variava de acordo a descarga de esgotos e o tipo de agricultura executada na região. Esses fatores influenciavam diretamente a quantidade de bactérias presente no ambiente marinho e conseqüentemente nas ostras. Rampersad et al. (1999) relatou que o consumo de ostras em Trinidad e Tobago representa um sério risco a saúde, sendo responsável pela ocorrência de casos de salmoneloses e colibaciloses na população.

O *S. aureus* é um patógeno humano, que causa um amplo espectro de doenças que variam de infecções cutâneas superficiais a doenças sistêmicas letais (Brooks et al, 2000). Este patógeno habita freqüentemente as aberturas nasais, boca, pele e cabelos, a partir das quais contamina as mãos e as superfícies de contato (Tortora, 2005). Os estafilococos são capazes de crescer em meio com até 20% de cloreto de sódio (Vieira, 2004), sendo considerados resistentes aos estresses ambientais, fator que potencializa sua patogenicidade e possibilita sua sobrevivência

em alimentos de origem marinha, como é o caso das ostras. A sua presença em grande número costuma indicar práticas ineficientes de produção e higiene (Beirão, 2000).

O exame microbiológico periódico da água de cultivo e dos moluscos bivalves compõe excelente parâmetro indicador da contaminação por microorganismos patogênicos, fazendo com que as ostras sejam consideradas bioindicadores da qualidade do ecossistema marinho. Por outro lado, a qualidade das ostras comercializadas no Brasil e a segurança do consumidor deveriam ser baseadas em um programa integrado de monitoramento, que englobasse: controle das condições ambientais de cultivo, manejo correto da produção, práticas adequadas de higiene, educação dos manipuladores e medidas eficientes de armazenamento (FAO/IOC/WHO, 2004).

### **Medidas de controle microbiológico de ostras**

Dentre os vários microorganismos potencialmente patogênicos relacionados ao consumo de ostras, alguns são sabidamente recorrentes, o que fez com que seus limites máximos permitidos em ostras destinadas à alimentação humana fossem estipulados através de legislações nacionais e internacionais.

Muitos países já definiram as diretrizes legislativas para a produção e comercialização de moluscos bivalves. Nos Estados Unidos, após um surto de febre tifóide transmitido por ostras em 1925, rapidamente se estabeleceu o Programa Nacional de Sanitização de Moluscos (NSSP). O programa ficou responsável por estabelecer limites e parâmetros para a água nas áreas de produção. Moluscos não poderiam ser adquiridos de locais com água contendo níveis muito altos de poluição fecal, através da pesquisa de bactérias coliformes (NSSP, 2005). Esta regulamentação surgiu pela percepção de que muitas bactérias e vírus patogênicos estavam relacionados à descarga de esgotos e poderiam causar surtos de doenças

transmitidas por moluscos (Pereira, 2003). O NSSP formulou um Guia para Controle de Moluscos Bivalves que funciona até hoje.

O Codex Alimentarius criou, em 1978, o Código Internacional de Práticas de Higiene Recomendado para Mariscos Moluscoides, que destaca a importância dos processos de Boas Práticas de Fabricação e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na produção e comercialização de moluscos. O sistema americano trabalha com a análise regular da água dos locais de cultivo e os classificam como proibido, restrito ou aprovado para a produção de moluscos. Dentro do grupo "restrito" os moluscos devem passar por um rigoroso processo de depuração antes de serem comercializados.

A União Européia, por sua vez, determina quando a produção de moluscos pode ser dirigida diretamente para os mercados consumidores ou, contrariamente, quando deve passar por um processo de depuração ou descanso antes da comercialização. A legislação estipula o controle de toda a cadeia produtiva de ostras, estabelecendo limites e medidas de controle para a área de cultivo, tipo de molusco, higiene do local e dos manipuladores do molusco após sua retirada da água, carros de transporte, embalagem e formas de disposição do produto ao consumidor final. Prioriza ainda a pesquisa da presença de coliformes fecais e de *E. coli* diretamente na carne e no líquido intervalvar dos moluscos através do Conselho Diretivo 91/492/EEC (Comunidade Européia, 1991).

A Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 1986) é formada por um grupo de especialistas que tem por objetivo prover informações científicas básicas para governos e indústrias em temas relacionados à segurança microbiológica de alimentos. Este órgão tornou-se um grande banco de dados para pesquisadores e empresas de todo o mundo, e um de seus importantes papéis foi estabelecer critérios microbiológicos para matérias primas e produtos acabados, inclusive para pescados (Tabela 1).

O Brasil estuda atualmente a implantação de um modelo de monitoramento e controle integralmente baseado no modelo americano. Mas, enquanto isso não acontece, os instrumentos legais de segurança alimentar são relativamente escassos e pouco confiáveis.

A Resolução RDC n. 12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2001), define os critérios e padrões microbiológicos para alimentos expostos à venda. Os itens 7, 20 e 22 dessa Resolução abordam o pescado e os produtos derivados da pesca, bem como os limites bacteriológicos permitidos para sua comercialização. A presente legislação estabelece valores limites específicos para moluscos bivalves "in natura", resfriados ou congelados, não consumidos crus, porém sabe-se que grande parte do consumo de ostras se dá na forma fresca com o animal ainda vivo. A legislação mostra-se interpretativa e incompleta, evidenciando a necessidade de maiores estudos na área.

Importante ressaltar que as bactérias sobre as quais a legislação brasileira estabelece limites máximos de contaminação quase sempre não alteram a aparência física do pescado, a razão de suas limitações está relacionada ao fato de serem organismos patogênicos ao homem e não deterioradoras do produto (Vieira, 2004).

*Tabela 1. Requisitos microbiológicos para moluscos vivos destinados ao consumo humano estipulados por diferentes órgãos reguladores.*

Análise microbiológica - Molusco vivo	País/Região	Referência
<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> sp. <sup>3</sup> <i>V. parahaemolyticus</i> <sup>4</sup>	Mundo	ICMSF, 1986
<i>E. coli</i> enterotoxigênica <i>Salmonella</i> sp. <i>V. cholera</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>S. aureus</i>	Estados Unidos	FDA/CFSAN/NSSP, 2003
<i>Coliformes fecais</i> <i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> sp.	União Européia <sup>1</sup>	Directiva do Conselho 91/492/CEE
<i>Salmonella</i> sp. <i>S. aureus</i>	Brasil	ANVISA, 2001 <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Alguns países da União Européia exigem análises de Coliformes fecais e *Streptococcus fecalis*.

<sup>2</sup> Limites destinados a moluscos bivalves *in natura*, resfriados ou congelados, não consumidos cru.

<sup>3</sup> Em casos de suspeita de contaminação.

<sup>4</sup> Em caso de moluscos de áreas endêmicas ou regiões quentes.

Mais recentemente, a Secretaria Especial de Aqüicultura e Pesca (SEAP-PR) criou o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB) (Brasil, 2005), ainda em fase de elaboração. Através do Programa deverão ser realizados levantamentos sanitários da orla, classificando as áreas de extração e produção de moluscos de acordo com seu grau de contaminação e mantendo um programa de monitoramento regular da qualidade da água nessas áreas.

A região Sul do país destaca-se como maior produtora nacional de ostras (Ostrensky et al, 2008). O Estado de Santa Catarina, maior produtor do país, vem implantando desde 2006 um sistema de certificação de qualidade das ostras. Os produtores cadastrados devem atender a um conjunto de normas sanitárias, que além de estipular o monitoramento da qualidade da água de cultivo e dos moluscos também determinam as normas para depuração antes da comercialização.

O sistema de depuração é um processo em que os moluscos são colocados em tanques de água limpa por várias horas ou dias, com o intuito de reduzir a contaminação microbiológica existente no trato digestivo das ostras (Lenoch, 2004).

No Paraná ainda não existe nenhuma regulamentação específica para o cultivo e para a comercialização de ostras. Porém, o Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater) está instalando depuradoras comerciais em quatro diferentes regiões do litoral, com o objetivo de atender os produtores paranaenses (AEN, 2007). Após a depuração as ostras são embaladas em sacos plásticos e recebem o selo do Serviço de Inspeção do Paraná, que atesta sua qualidade.

Apesar da iniciativa dos órgãos de fomento do Paraná, o processo de depuração apresenta algumas limitações. Sabe-se que algumas bactérias patogênicas, como *Salmonella* sp. e *E. coli* são facilmente expelidas pelas ostras (Burri & Vale, 2006), em contrapartida metais pesados, membros do grupo vibrio e a maioria dos vírus entéricos resistem fortemente ao processo, permanecendo

armazenados nos tecidos das ostras, mesmo naquelas que foram previamente depuradas (Richards, 2003).

## Referências Bibliográficas

AEN – Agencia Estadual de Notícias do Governo do Paraná. Governador vai inaugurar primeira depuradora de ostras em Guaratuba. 2007. Disponível em <<http://www.agenciadenoticias.pr.gov.br/modules/news/article.php?storyid=33928>>.

Acessado em Julho de 2008.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L.; Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) no Estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, nov./dez., 2006.

BARNABÉ, G. coord. 1996. Bases biológicas y ecológicas de la Acuicultura. Edotrial Acribia, Zaragoza, 519 f. 1996.

BARRETO, E. S. Doenças transmitidas por alimentos: *Staphylococcus aureus*. *Boletim de Divulgação Técnica e Científica*, Superintendência de Controle de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária, Rio de Janeiro, ano 2, n. 7, p. 6-7, 2000.

BARROSO, G. F.; POERSCH, L. H. da S.; CAVALLI, R. O.; GALVEZ, A. O. Sistemas de cultivos aquícolas costeiros no Brasil: recursos, tecnologias e aspectos ambientais e sócio-econômicos. *Museu Nacional*, Ed. Instituto do Milênio, Rio de Janeiro, 2006.

BEIRÃO, H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M. Processamento e industrialização de moluscos. In: Seminário e workshop de tecnologias para aproveitamento integral do pescado. Campinas. *Anais...* Campinas: ITAL, p. 38-84, 2000.

BRASIL. 2001. Ministério da Saúde, Portaria n. 1469, de 29 de dezembro de 2001. *Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil, Distrito Federal: janeiro de 2001.

BRASIL. 2001. Resolução da Diretoria Colegiada nº. 12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*.

Revoga a Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Distrito Federal: Poder Executivo, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. 2005. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Decreto n. 5.594 de 19 de outubro de 2005. Institui o Comitê Nacional de Controle Higiênico-sanitário de Moluscos Bivalves. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Distrito Federal: Poder Executivo, outubro de 2005.

BROOKS G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. Microbiologia médica. In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiologia médica. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 142-143.

BURRI, S.; VALE, P. Contaminação de bivalves por DSP: riscos de episódios de gastroenterites em uma região de toxicidade endêmica. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, v. 24, n. 1, p. 115-124, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS. *Code of Practice for Fish & Fishery Products*. Código Internacional de Práticas Recomendado de Higiene para Mariscos Moluscoídeos. CAC/RCP 18, v. 9B, 1978.

CODEX ALIMENTARIUS. *Code of Practice for Fish & Fishery Products*. CAC/RPC 52-2003, Rev. 1-2004. Disponível em [http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU\\_LATERAL/AGRICULTURA\\_PECUARIA/RELACOES\\_INTERNACIONAIS/NEGOCIACOES\\_SANIT\\_E\\_FIT/NEGOCIACOES\\_MULTILAT/CODEX\\_ALIMENTARIUS/CODEX\\_PUBLICACOES/CODEX\\_CODIGOS\\_PRATICAS/FISHE.PDF](http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/RELACOES_INTERNACIONAIS/NEGOCIACOES_SANIT_E_FIT/NEGOCIACOES_MULTILAT/CODEX_ALIMENTARIUS/CODEX_PUBLICACOES/CODEX_CODIGOS_PRATICAS/FISHE.PDF). Acessado em Junho de 2008.

COELHO, C.; HEINERT, A. P.; SIMÕES, C. M. O. ; BARARDI, C. R. M. Hepatitis A virus detection in oysters *Crassostrea gigas* in Santa Catarina, Brazil, by RT-PCR. *Journal of Food Protection*, Estados Unidos, v. 66, n. 3, p. 507-511, 2003.

COMUNIDADE EUROPÉIA. *Council directive n. 91/492/EEC*, Fisheries Research Services, The health conditions for the production and the placing on the market of live bivalve mollusks, 1991.

CORDEIRO, D.; LOPES, T.G.G; OETTERER, M.; PORTO, E.; GALVÃO, J.A. Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção,

congelamento e armazenamento. *Boletim do CEPPA*. Curitiba, v. 25, n. 1, p. 165 – 179, 2007.

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; PEIXOTO, J. R. O; BRITO, M. V. Bactérias de interesse sanitário em sushi comercializado em Sobral – Ceará. *Boletim Téc. Cient. CEPENE*. Tamandaré, v. 15, n. 1, p. 15-19, 2007.

CHRISTO, W. SUSETE. Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea sacco*, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná: Brasil): um subsídio ao cultivo. (Tese doutorado). Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 146 f. 2006.

CRUZ-ROMERO, M., KERRY, J.P., KELLY, A.L. Changes in the microbiological and physicochemical quality of high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*) during chilled storage. *Food Control*, v. 19, n. 12, p. 1139-1147, 2008.

FARIAS, H., CASTILHO, G. G., OSTRENSKY, A., GIROTTO, M. V. F., BOEGER, W. A. Pesquisa de opinião pública para avaliar o grau de conhecimento e de exigência dos consumidores de frutos do mar em Guaratuba, PR, aos padrões legais de qualidade dos produtos consumidos em restaurantes. In: IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curitiba. *Anais...IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2007.

FELDHUSEN, F. Review: The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection*, v. 2, p. 1651-1660, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATION/  
INTERGOVERNMENTAL OCEANOGRAPHIC COMMISSION/WORLD HEALTH  
ORGANIZATION. *Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs*. Noruega, p. 24, 2004. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotoxin\\_report\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/biotoxin_report_en.pdf)>. Acessado em abril de 2008.

GALVÃO, J. A. Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna Perna* (Linnaeus, 1758), comercializados em Ubatuba, São Paulo. (2004) 109 f. *Dissertação* (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A. S. Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública. *Revista Higiene Alimentar*, n. 53, v. 12, p. 30-37, 1998.

HUSS, H.H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca - Food and Agriculture Organization. *Documento Técnico sobre a Pesca*. Roma: FAO, n. 334, 176 p., 1997.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microorganisms in foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*, Segunda Edição. Toronto: University of Toronto Press, 1986.

INPPAZ - *Instituto Panamericano de Protección de Alimentos*. 1991. Disponível em: <<http://www.panalimentos.org/panalimentos/Acercade>>. Acessado em julho de 2008.

KITTIGUL, L.; POMBUBPA, K.; RATTANATHAM, T.; DIRAPHAT, P.; UTRARACHKIJ, F.; PUNGCHITTON, S.; KHAMRIN, P.; USHIJIMA, H. Development of a method for concentrating and detecting rotavirus in oysters, *International Journal of Food Microbiology*. Amsterdam: Elsevier, v. 122, n.1-2, p. 204-210, 2008.

KUSUMANINGRUM, H. D.; RIBOLDI, G.; HAZELEGER, W. C.; BEUMER, R. R. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*, v. 85, n. 3, p. 227-236, 2003.

LEE, R. J & YOUNGER, A.D. Determination of the relationship between faecal indicator concentrations and the presence of human pathogenic micro-organisms in shellfish. *Molluscan Shellfish Safety*, Galicia: Grafanova S.A., p. 247-252, 2003.

LEE, J.K.; JUNG, D. W.; EOM, S. Y.; OH, S. W.; KIM, Y.; KWAK, H. S.; KIM, Y. H. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. *Food Control*, v. 19, n. 10, p. 990-994, 2008.

LENOCH, R. Saúde Pública e os moluscos marinhos cultivados. *Revista de Gestão Costeira Integrada*. Ed. n° 3, ano 2, p. 15 – 17, 2003.

MORAES, I. R.; MASTRO, N. L.; JAKABI, M.; GELLI, D. S. Estudo da radiosensibilidade ao 60CO do *Vibrio cholerae* O1 incorporado em ostras. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 34, n° 1, 2000.

NGUYEN, T. S.; GRAHAM H. F. Behavior of Pathogenic Bacteria in the Oyster, *Crassostrea commercialis*, During Depuration, Re-laying, and Storage. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 40, n. 6, p. 994-1002, 1980.

NSSP – NATIONAL SHELLFISH SANITIZATION PROGRAM. *Guide for the control of molluscan shellfish. Food and drug administration*. 2005. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ear/nss3-toc.html>>. Acessado em janeiro de 2008.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. *Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado*, São Paulo: Livraria Varela, 1999, 430 p.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J. R.; SOTO, D. *Aqüicultura no Brasil – O desafio é crescer*. Brasília, 2008, 276 p.

PEREIRA, C. S. *A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a Saúde Pública – Contexto político-social e microbiológico*. (Doutorado em Saúde Pública) Rio de Janeiro: ENSP, 2003.

POMMEPUY, M.; BUTIN, M.; DERRIEN, A.; GOURMELON, M.; COLWELL, R. R.; CORMIER, M. Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*. Washington, v. 62, n.12, p.4621-4626, 1996.

RAMPERSAD, F. S.; LALOO, S.; LA BORDE, A.; MAHARAJ, K.; SOOKHAI, L.; TEELUCKSINGH, J.; REID, S.; McDOUGALL, L.; ADESIYUN, A. A. Microbial quality of oysters sold in Western Trinidad and potential health risk to consumers. *Epidemiology and Infection*, v. 123, n. 2, p. 241-250, 1999.

RICHARDS, G.P. The evolution of molluscan shellfish safety. *Molluscan Shellfish Safety*, Galicia: Grafanova S.A., p. 221-245, 2003.

RIPPEY, S. R. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, v. 7, p. 419 – 425, 1994.

RUPPERT, E.E. & BARNES, R.D. *Zoologia dos Invertebrados*. São Paulo: Roca. Ed. n.6, p. 412 – 449, 1996.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, Centro de Saúde Ambiental. Número de surtos e percentual em relação ao total segundo alimento envolvido, PR, 2001 a 2005.

SIRVETA- *Sistema Regional de Información para la Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos*. 2002 Consultas Gerais. Disponível em: <<http://www.panalimentos.org/sirveta/e/salida2.asp>>. Acessado em Junho de 2008.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. *Microbiologia: Doenças Microbianas do Sistema Digestivo*. Porto Alegre: Artmed Editora S/A, Ed 8, cap. 25, p. 705-709, 2005.

VIEIRA, R. H. S. F.; *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 380 p.

WHEATON, F. Review of the properties of Eastern oysters, *Crassostrea virginica*: Part I- Physical properties. *Aquacultural Engineering*, v. 37, p. 3–13, 2007.

YOUNGER, A.D.; LEE, R. J & LEES, D.N. Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas in England and Wales – rationale and approach. *Molluscan Shellfish Safety*. Galicia: Grafanova S.A., p. 265-277, 2003.

## CAPÍTULO II

### **Pesquisa de opinião pública e avaliação dos padrões de qualidade dos restaurantes que comercializam ostras na região do Cabaraquara, município de Guaratuba, Paraná.**

#### **Resumo**

Grande parte dos casos de doenças alimentares ocorre fora das residências, em função de alimentos mal conservados ou preparados sem as devidas preocupações sanitárias. O objetivo deste trabalho foi avaliar o conhecimento de freqüentadores de restaurantes de frutos do mar em relação à aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) normatizadas pela Vigilância Sanitária. A pesquisa ocorreu em três restaurantes especializados em ostras, localizados na Baía de Guaratuba/PR, no mês de fevereiro de 2007, com aplicação de questionário aos consumidores e realização de *checklist* nos restaurantes. A totalidade dos entrevistados afirmou ser a qualidade do produto o fator primordial para escolha do restaurante. Mas, a preocupação quanto à origem do produto e a correta manipulação aplicada corresponderam a apenas 8% e 1% das respostas, respectivamente. O *checklist* identificou como principais falhas nos restaurantes: a precária infra-estrutura interna e a ausência de aplicação do sistema de BPF. Os consumidores desconheciam a existência do sistema BPF implantado no estabelecimento e tão pouco souberam avaliar a qualidade do produto consumido.

**Palavra-chave:** boas práticas de fabricação; legislação sanitária; alimento inócuo e turistas.

#### **Summary**

Most of foodborne diseases cases occur outside residences, related to bad food conservation or food preparation with no sanitary conditions. The objective of this paper was to evaluate the view of the seafood restaurant tourists about the application of Good Manufacturing Practices (GMP) normalized by Brazilian laws. Data collection was done in three restaurants specialized in oysters, located at Guaratuba Bay/PR, in February of 2007, the questionnaire was applied to the tourists and the checklist with the restaurants. It was observed that 100% of the people interviewed pointed quality as the main factor to choose a restaurant. But the concerning with product origin and correct handling correspond only for 8% and 1% of the answers, respectively. The checklist identified as principal flaws at the restaurants: internal infrastructure flaws and the absence of GMP system application. The consumers could not identify whether a GMP was in place or evaluated the quality food.

**Key-words:** good manufacturing practices; sanitary legislation; harmless food and tourist.

## **Introdução**

Estima-se que anualmente até 100 milhões de pessoas em todo o mundo contraíam doenças decorrentes da ingestão de alimentos e água contaminada (Germano & Germano, 2000). Em países desenvolvidos e em desenvolvimento, o aumento dos casos de surtos de toxiinfecções alimentares é decorrente principalmente do hábito de consumo de alimentos fora de casa, especialmente em restaurantes e lanchonetes (Antunes, 2005; Cardoso, 2008).

A alta incidência das doenças diarréicas e a gravidade de seus sintomas, principalmente em crianças e idosos, tornam de extrema necessidade o conhecimento, o controle e a fiscalização da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos ofertados ao público e dos próprios estabelecimentos que os comercializam (Valejo et al., 2003). Esta característica pode ser considerada um fator de segurança para o consumidor, uma vez que pode prevenir processos de contaminação do alimento e conseqüentemente, evitar danos a saúde do consumidor.

Na tentativa de garantir a oferta de alimentos de qualidade à população, o Ministério da Saúde, instituiu em 2004 a resolução RDC nº 216, estabelecendo diretrizes e preconizando a adoção dos métodos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) em todos os serviços de alimentação.

As BPF são conhecidas como um conjunto de normas e procedimentos utilizados a fim de atingir um determinado padrão de identidade e qualidade de um produto e/ou serviço na área de alimentos e incluem qualquer bebida, utensílio ou material que entre em contato com o alimento (Brasil, 1993).

Contudo, além das exigências dos órgãos de fiscalização, o consumidor final também deveria se preocupar com a qualidade dos produtos que consome em bares e restaurantes e exigir que tais estabelecimentos ofereçam produtos seguros e inócuos à saúde (Ornellas et al., 2006).

A presente pesquisa de opinião foi realizada com o propósito de avaliar a visão dos freqüentadores de restaurantes que comercializam ostras no município de

Guaratuba, frente à aplicação das Boas Práticas de Fabricação exigidas pela Vigilância Sanitária, bem como a adequação destes estabelecimentos a tais exigências.

## **Material e Métodos**

A pesquisa ocorreu no mês de fevereiro de 2007, período de alta temporada, quando há um significativo aumento no número de clientes nos estabelecimentos que comercializam frutos do mar no litoral paranaense. Os dados foram coletados junto aos três restaurantes da região do Cabaraquara, município de Guaratuba, que oferecem regularmente pratos a base de ostras aos seus fregueses. Essa região, por sua vez, transformou-se em um importante ponto de atração do turismo gastronômico do município justamente pela presença dos cultivos de ostra e dos restaurantes envolvidos no estudo.

A obtenção dos dados contou com dois instrumentos de abordagem: 1) a aplicação de questionário estruturado aos freqüentadores dos restaurantes, com perguntas do tipo abertas e fechadas; e 2) um formulário, comumente denominado de *checklist*, utilizado para coleta de informações dos restaurantes, quanto à adaptação às normas exigidas pela Vigilância Sanitária.

A técnica de abordagem e aplicação dos questionários (Figura 1) envolveu os seguintes procedimentos seqüenciais: a) a abordagem aos visitantes já instalados nas mesas e com consumo iniciado; b) a escolha do entrevistado ao acaso, e c) a entrevista de uma pessoa por mesa, permitindo, contudo, a manifestação dos seus acompanhantes.



Figura 1. Técnico do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais aplicando questionário a turistas em restaurante da Baía de Guaratuba, PR, em fevereiro de 2007.

A pesquisa junto aos freqüentadores visou principalmente a obtenção de informações sobre: a) as características dos restaurantes; b) os motivos que influenciam na sua escolha como destino turístico; c) a freqüência de visitação aos restaurantes; d) a preocupação sobre o alimento consumido e, e) a identificação do prato a base de ostras de sua preferência. Os dados foram avaliados através de estatística descritiva, com base na freqüência das respostas dadas pelos entrevistados. O número de pessoas a serem entrevistadas foi obtido através da fórmula  $n = (DP/erro\ padrão)^2$ , onde DP (Desvio Padrão) foi definido num questionário realizado previamente.

Já os itens avaliados no *checklist* basearam-se na legislação brasileira (Brasil, 2004) que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Serviços de Alimentação.

O *checklist* facilitou a visualização dos pontos positivos e negativos das unidades de alimentação, abrangendo a análise dos itens de infra-estrutura (edificação), fluxo de produção, higiene de instalações e de pessoal.

Toda a coleta de dados foi realizada por profissionais do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná (UFPR) que foram previamente treinados para essa atividade.

## Resultados

Foi aplicado um total de 85 questionários, abrangendo os três restaurantes visitados. Observou-se que 47% dos turistas entrevistados relacionaram como os principais problemas do município de Guaratuba a falta de limpeza e de saneamento da região (Tabela 2).

Outro fato identificado foi a alta taxa de fidelização aos restaurantes. Dos entrevistados 55% mencionaram já conhecer o estabelecimento e 34% já haviam estado no restaurante por mais de três ocasiões.

*Tabela 2 – Resultados das principais perguntas de múltipla escolha aplicadas aos turistas em restaurantes de frutos do mar da Baía de Guaratuba/PR no mês de fevereiro de 2007.*

Perguntas	Respostas	%
1. Qual é o principal problema ou ponto fraco do litoral do Paraná?	Sanidade	25,9
	Saneamento	21,2
	Infra-estrutura	17,2
	Outros	35,7
2. Quantas vezes já esteve no restaurante?	Uma	45
	Duas	20,5
	Entre 3 e 5	15,5
	Entre 6 e 10	8,5
	Mais de 10	10,5
3. Possui alguma preocupação em relação ao produto que consome?	Sim	76
	Não	24
4. O que é mais importante na escolha de um prato?	Qualidade	100
	Preço	0
5. Com que freqüência consome ostras?	Raramente	39
	Só no litoral	31,7
	Semanalmente	12,1
	Mensalmente	11
	Outros	6,2
6. Qual o prato ou forma preferida de consumir ostras?	In natura	43
	Gratinada	37
	Ao bafo	20

Nas perguntas abertas, os entrevistados não fizeram referência a preocupações com a contaminação da matéria-prima em si, mas citaram sanidade, origem e certificação como parâmetros relacionados à qualidade do produto (Figura 2). Apenas 1% dos entrevistados identificou a importância de cuidados higiênicos no processamento dos alimentos, citando a manipulação adequada como fator de qualidade.

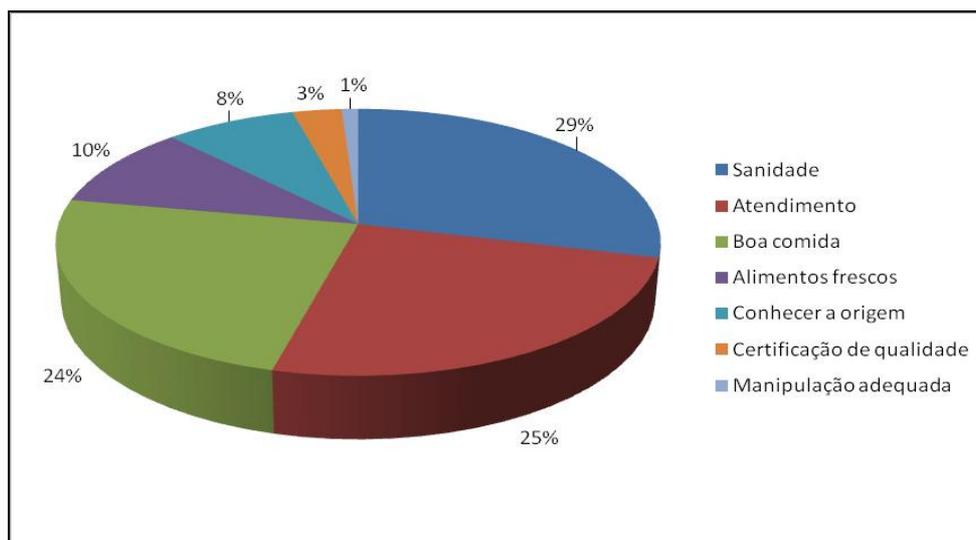


Figura 2: Parâmetros de qualidade do alimento citados pelos turistas de restaurantes de frutos do mar da Baía de Guaratuba/PR em fevereiro de 2008.

A aplicação do *checklist* mostrou que as principais falhas observadas nos três restaurantes em relação à legislação sanitária estão relacionadas à infra-estrutura interna (ausência de telas milimetradas nas portas e janelas para prevenir a entrada de insetos; ausência de forro no telhado e ausência de fechamento automático nas portas) e a aplicação do sistema de BPF (utensílios inadequados utilizados no preparo de alimentos; pouco conhecimento na manipulação higiênica de alimentos e ausência de exames de saúde admissionais). Em apenas um dos restaurantes os manipuladores de alimentos realizaram exames de saúde antes da contratação.

## Discussão

Os restaurantes abordados neste trabalho estão em local de intensa visitação turística e são referências regionais na comercialização de ostras, em especial as ostras de cultivo. Por isso, o primeiro item negativo destacado pelos entrevistados - a precária infra-estrutura sanitária do litoral paranaense – é um sério problema a ser enfrentado pelo Poder Público. Essa percepção dos turistas é justificada pelos dados existentes. Segundo a Companhia de Saneamento do Paraná (2008), em 2007, apenas 46% dos domicílios eram atendidos pela rede de esgotos na região de Matinhos e Guaratuba. O desenvolvimento do turismo na região do Cabaraquara pode vir a ser severamente limitado por este problema, com conseqüências negativas aos estabelecimentos comerciais instalados em locais com ausência de saneamento básico e recolhimento de lixo.

Quando questionados sobre o produto consumido nos restaurantes, 100% dos entrevistados afirmaram ser a qualidade e não o preço o fator primordial para a escolha do prato. Contraditoriamente, 24% delas não se preocupam com o alimento que consomem e apenas uma pessoa mencionou a intoxicação alimentar como um fator de risco. Esses números parecem indicar que as respostas dos entrevistados não estão se refletindo em preocupações concretas quanto a qualidade dos produtos consumidos.

Em relação ao consumo de ostras, a maior parte dos entrevistados escolheu a apresentação *in natura* como forma preferida de degustação. Baseado nesta informação torna-se importante orientar os responsáveis pelos restaurantes quanto aos cuidados com a preparação do produto e com a qualidade da matéria prima utilizada, pois o consumo de ostras cruas ou levemente cozidas pode atuar na veiculação de um grande número de bactérias patogênicas (Mendes & Mendes, 2004). A maioria dos surtos alimentares documentados envolvendo pescado marinho nos Estados Unidos está relacionada ao consumo de moluscos bivalves consumidos *in natura* (Cook, 1991).

Nas perguntas de respostas espontâneas, a qualidade do alimento foi relacionada pelos entrevistados a fatores como sanidade, atendimento e boa comida. Akutsu et al. (2005) enumerou parâmetros semelhantes para qualidade do produto, sendo eles aspectos intrínsecos do alimento (qualidade nutricional e sensorial), segurança (qualidades higiênico-sanitárias), atendimento (relação cliente-fornecedor), e preço.

Em nenhum momento foram citadas deficiências na higiene de equipamentos, utensílios e de pessoal como fatores predisponentes à ocorrência de doenças alimentares, embora se saiba que os dois principais aspectos que contribuem para surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são limpeza ineficiente e práticas inadequadas de higiene pessoal (Silva et al., 2000).

Dentre os problemas identificados pelo *checklist*, apenas um item também foi observado pelos turistas: a ausência de telas milimetradas (citada por 4,7% dos entrevistados). Porém, a visão do turista baseou-se na prevenção de picadas de insetos e não no fato destes animais serem possíveis vetores de microorganismos patogênicos causadores de doenças.

Apesar do grande número de fatores a serem corrigidos e melhorados, apenas um dono de restaurante relatou já ter ocorrido casos de reclamação de clientes por DTAs em seu estabelecimento.

## **Conclusão**

Os freqüentadores dos restaurantes não souberam identificar quando o sistema de BPF está presente em um estabelecimento, nem quais os fatores que devem ser observados para analisar a qualidade do alimento consumido. Em outras palavras, não há uma preocupação efetiva por parte desses consumidores quanto à qualidade higiênico sanitária dos alimentos que consomem.

Mesmo assim, sugere-se que os microempresários responsáveis pelos estabelecimentos visitados promovam, na medida de suas possibilidades econômicas,

a melhoria estrutural dos seus estabelecimentos, a conscientização e a capacitação de seus funcionários para a aplicação do sistema de BPF visando a garantia de um alimento seguro aos seus clientes.

### **Referências bibliográficas**

ANTUNES, F. *Relação entre a diarreia e os surtos alimentares em Curitiba*, 2005, 106f. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

AKUTSU, R. C.; BOTELHO, R. A.; CAMARGO, E. B.; SÁVIO, K. E.; ARAÚJO, W. C. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. *Revista de Nutrição*. Campinas, v. 18, nº 3, 2005.

BRASIL. Portaria nº 58/93 de 17 de maio de 1993. *Estabelece diretrizes e princípios para a inspeção e fiscalização sanitária de alimentos: Regulamento Técnico para o estabelecimento de padrões de identidade e qualidade dos alimentos*. Diário Oficial da União, Brasília, 31 maio 1993. Seção I, p. 7228-33.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216/04 de 15 de outubro de 2004. *Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação*. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.

COOK, D.W. Microbiology of bivalves molluscan shellfish. In: WARD, D.R. & HACKNEY, C. *Microbiology of marine food products*. New York: Van Nostrand Reinhold, p.19-34, 1991.

CARDOSO, R. C. V.; SANTOS, S. M. C.; SILVA, E. O. Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 1, p. 0274/2006-1, 2008.

GERMANO, P. M. L. & GERMANO, M. I. S. A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção de saúde. *O Mundo da Saúde*, São Paulo, v. 24, n.1, p.59-66, jan/fev. 2000.

MENDES, E. S. & MENDES, P. P. Sazonalidade dos microorganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. *Revista Higiene Alimentar*, v. 17, 2004.

ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n.1, p. 211-213, 2006.

SANEPAR – COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. *Sanepar conclui obras em Matinhos*. Julho de 2008. Disponível em <[http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/486DC62D75CF45330325747F006DA250?OpenDocument&pub=T&proj=InternetSanepar&sec=Internet\\_Busca](http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/486DC62D75CF45330325747F006DA250?OpenDocument&pub=T&proj=InternetSanepar&sec=Internet_Busca)>. Acessado em 16 de setembro de 2008.

SILVA, V. C.; ALVES, L. M. C.; RABELO, R. N. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de um restaurante universitário na cidade de São Luis – MA. In: XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. *Anais*. Fortaleza. 2000.

VALEJO, F. A., ANDRÉS, C., MANTOVAN, F. B., RISTER, G. P., SANTOS, G. D. Vigilância Sanitária: Avaliação e controle da qualidade dos alimentos. *Revista Higiene Alimentar*. Volume 17, nº 106, p. 16-21. 2003.

## CAPÍTULO III

### **Diagnóstico da qualidade microbiológica de ostras produzidas e comercializadas durante a alta temporada de 2007 na região da Baía de Guaratuba-PR**

#### **Resumo**

Os pescados caracterizam-se como uma das categorias mais intimamente relacionadas à ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's). Dentre os riscos associados aos pescados, os moluscos bivalves, como é o caso das ostras, destacam-se em função dos seus hábitos alimentares. Ao filtrar as partículas alimentares em suspensão na água, as ostras podem assimilar e acumular microorganismos patogênicos presentes no meio. Os objetivos deste estudo foram: (a) analisar a influência do local de cultivo de ostras na Baía de Guaratuba sobre a contaminação bacteriana e, (b) avaliar a qualidade microbiológica de ostras comercializadas durante o verão de 2007 no litoral paranaense. Em janeiro de 2007 foram coletadas 45 amostras de ostras (*Crassostrea* sp.) em onze pontos (cultivos, restaurantes, mercados públicos e em uma depuradora). Pesquisou-se nas ostras a presença de *Salmonella* sp. e a quantidade de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Não foi observada a presença de *Salmonella* sp e *S. aureus* nas amostras analisadas. Contaminações por *E. coli* e por coliformes totais foram identificadas em 20% e 71% das amostras, respectivamente. Os resultados não apresentaram correlação com a localização dos pontos de coleta dentro da Baía. Se analisados de acordo com a legislação nacional, os resultados obtidos indicariam que as amostras não representam risco à saúde pública, estando liberadas ao consumo. No entanto, regulamentações internacionais consideram a presença de *E. coli* em ostras um fator de condenação das amostras, reforçando a necessidade de reavaliação da legislação brasileira e colocando em suspeição a inocuidade das ostras ofertadas aos consumidores.

**Palavras-chave:** *Crassostrea*; moluscos bivalves; qualidade sanitária; bactérias fecais; litoral paranaense.

#### **Abstract**

Seafood stands out as one of the principal food category related with de spreading of Food Borne Diseases. Among seafood, bivalve mollusks, as oysters, stands out by their food eating habits. By filtering suspended food particles present in the water, the oyster can assimilate and store pathogenic microorganisms present in the environment. The objectives of this study were: a) to determine the influence of the cultivation place located in Guaratuba Bay on the bacteria levels, and b) evaluate the microbiological quality of commercialized oysters during the 2007 high season at Parana's coast. In January, 2007, 45 oyster (*Crassostrea* sp.) samples were collected in eleven sites (cultivation area, restaurants, market places and depuration system). The presence of *Salmonella* sp and the quantity of total coliforms, *Escherichia coli* and

*Staphylococcus aureus* was analyzed into the oysters. There was no identification of *Salmonella* sp and *S. aureus* at the samples. *E. coli* and total coliforms contaminations were identified in 20% and 71% of the samples, respectively. The results didn't show any correlation between microbiological contamination and the cultivation places. According with Brazilian laws and regulations, the samples didn't represent a risk to public health, being considered able for human consumption. Nevertheless, international regulations considered the presence of *E. coli* in oysters a condemnation factor. That incoherence reinforces the need to reevaluation in Brazilian regulations.

**Key words:** *Crassostrea*; bivalve mollusks; sanitary quality; fecal bacteria; Parana coast.

## Introdução

O alto teor de umidade e o elevado conteúdo protéico de alguns alimentos podem contribuir para a veiculação de patógenos causadores de toxiinfecções alimentares por propiciarem um ambiente favorável ao desenvolvimento de microorganismos (FDA, 2001). Os pescados, em particular, destacam-se como um dos principais grupos de alimentos relacionados à ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos – DTAs (Jones et al., 1999), dentre os organismos participantes deste grupo, atenção especial deve ser dada as ostras.

A causa principal da contaminação desses moluscos bivalves está no seu mecanismo de obtenção de alimentos. Filtrando cerca de 2 a 5 litros de água/hora, as ostras assimilam além do alimento, contaminantes bióticos e abióticos presentes no ambiente (Lederle, 1991; Nunes & Parsons, 1998). Esta característica, somada ao hábito de consumo de ostras cruas ou apenas levemente cozidas, contribui para o surgimento de freqüentes casos de DTAs (Mendes & Mendes, 2004).

Provenientes da contaminação antrópica, especialmente de origem fecal, as bactérias possuem relativa resistência ao ambiente marinho e são comumente utilizadas como indicadoras da qualidade sanitária de moluscos bivalves (Jay, 2000; Silva et al., 2004).

A Baía de Guaratuba, local de realização deste estudo, é uma região de grandes riquezas naturais, porém com realidades sociais diversas e contrastantes.

Segundo a Companhia de Saneamento do Paraná (2008), a cidade de Guaratuba contaria, em 2007, com apenas 46% do seu sistema de manilhamento de esgoto doméstico efetivamente implantado. Este percentual sugere, portanto, que haja o lançamento de uma alta carga de esgoto doméstico diretamente na Baía de Guaratuba, principalmente durante a temporada de férias, quando a população flutuante aumenta de forma exponencial (Prefeitura de Guaratuba, 2007).

Fundamentando-se em princípios de segurança alimentar, esse trabalho teve como objetivos: a) avaliar a qualidade microbiológica de ostras produzidas e comercializadas no período de alta temporada na região de Guaratuba; e b) pesquisar a possível relação entre os níveis de contaminação bacteriana e os locais de maior concentração urbana na Baía de Guaratuba.

## **Material e Métodos**

Durante o mês de janeiro de 2007 foram coletadas 45 amostras de ostras (*Crassostrea* sp.). Cada amostra era composta por um conjunto de 12 a 20 ostras, em uma relação inversa ao tamanho dos indivíduos coletados. As coletas ocorreram com periodicidade média de quatro dias, em onze pontos do litoral do Paraná, com destaque para a Baía de Guaratuba (25°50'30" S e 48°38'48" W).

Os pontos amostrais foram escolhidos em função de sua importância turística e do seu papel na produção local, distribuindo-se em uma extensa área da Baía e da cidade de Guaratuba. Os pontos de coleta relacionados às áreas de cultivo dentro da Baía de Guaratuba foram agrupados em três regiões: Parati, Cabaraquara e Ilha da Sepultura. A descrição caracterizada de cada ponto pode ser observada na Tabela 3 e a localização espacial dos mesmos na Figura 3.

Tabela 3. Descrição dos pontos de coleta de amostras de ostras (C1-6; R1-2; MM e MG; D), em função do seu papel na comercialização, local geográfico e características intrínsecas de cada ponto.

Produção	Ponto	Local	Características
Cultivo	C1 C2	Região do Parati	Baixa salinidade.
	C3 C4	Região do Cabaraquara	Às margens do Rio Pinheiros. Maiores cultivos de ostras da Baía de Guaratuba.
	C5 C6	Região da Ilha da Sepultura.	Próximo a entrada da Baía. Alta salinidade e grande adensamento populacional.
	R1 R2	Região do Cabaraquara	Especializados em ostras. As ostras são adquiridas diariamente de produtores locais.
	MM MG	Praia de Matinhos Cid. de Guaratuba	Ostras obtidas em grandes quantidades e de diversos locais do litoral paranaense.
	Depuradora	D	Cidade de Guaratuba



Figura 3. Pontos de coleta de amostras de ostras (C – Cultivos, MM – Mercado de Matinhos, MG – Mercado de Guaratuba, R – Restaurantes e D – Depuradora) no litoral do Paraná, durante o mês de janeiro de 2007.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Histologia e Microbiologia, do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais, da

Universidade Federal do Paraná, em Curitiba-PR. A metodologia de transporte das amostras seguiu o recomendado pelo *Codex Alimentarius* (1978) e o período entre a coleta e o início das análises nunca foi superior a 18 horas.

Na chegada ao laboratório as ostras eram cuidadosamente lavadas em água corrente. Após a limpeza externa efetuava-se a abertura das conchas, com auxílio de facas esterilizadas, e a subsequente coleta do material interno, composto por líquido intervalvar e carne, segundo metodologia sugerida por Silva *et al.* (1997). Análises microbiológicas foram realizadas para detectar a presença qualitativa de *Salmonella* sp. (Sistema Reveal<sup>®</sup>), e quantitativa de coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (Placas Petrifilm EC 6404 – marca 3M) e *Staphylococcus aureus* (Placas Petrifilm STX 6490 – marca 3M) (3M do Brasil, 2008).

Para interpretação dos resultados foram utilizados os parâmetros definidos na Resolução RDC n° 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2001) e no *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* – ICMSF (1986).

Os testes estatísticos mostraram que a distribuição dos dados não se ajustou à curva normal de Gauss (teste de Shapiro-Wilk), e ao teste de homogeneidade das variâncias (teste de Levene), assim eles foram analisados através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ANOVA. As análises foram realizadas através do programa Statistica<sup>®</sup> 7.0 (Statsoft, 2004).

## **Resultados**

Todas as amostras analisadas apresentaram resultados negativos para *Salmonella* sp. e *S. aureus*. Porém, todos os pontos, com exceção de C5 e R2, apresentaram mais que 50% de amostras contaminadas por CT (Figura 4A).

A identificação de *E. coli* ocorreu em apenas cinco dos onze pontos pesquisados, com grande variação entre os locais de coleta (Figura 4B).

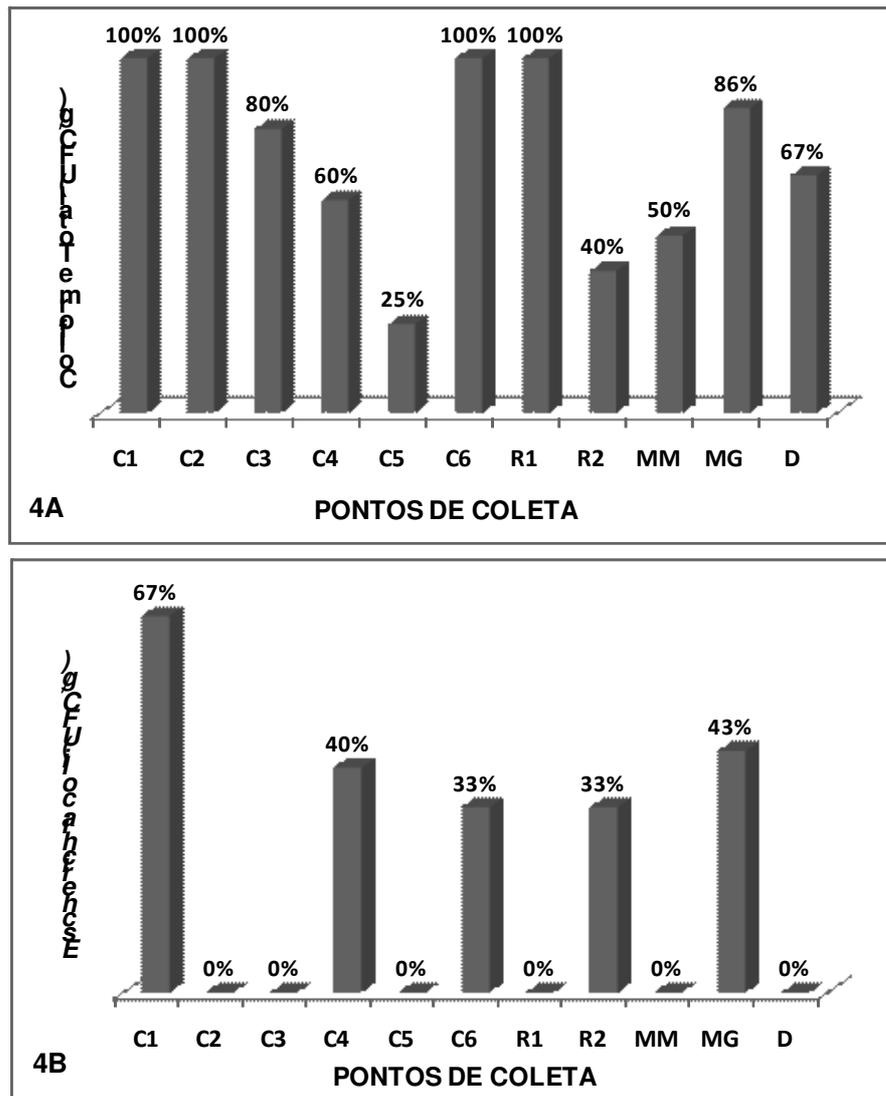


Figura 4. Percentual de amostras contaminadas por Coliformes totais (A) e de amostras positivas para *Escherichia coli* (B) nos pontos amostrais (C1-6; R1-2; MG, MM e D) analisados no mês de janeiro de 2007 no litoral do Paraná.

Foram observados valores elevados de coliformes totais no ponto de coleta C2 e de *E. coli* no ponto de coleta C1 (Figura 5).

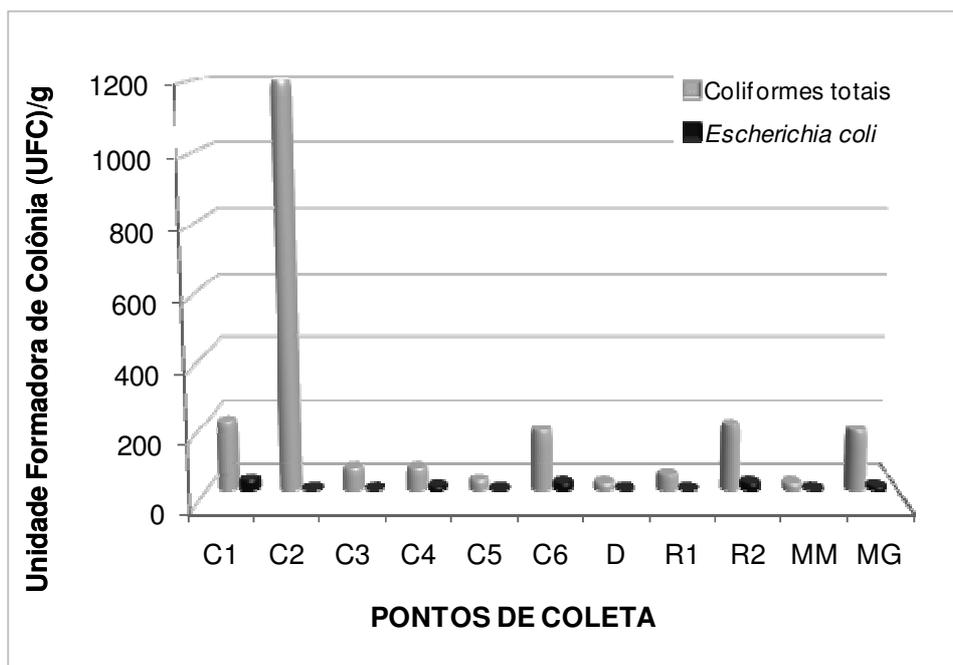


Figura 5. Maiores valores de contaminação por Coliformes Totais e *Escherichia coli* identificados nos pontos amostrais (C1-6; R1-2; MG, MM e D) analisados no mês de janeiro de 2007 no litoral do Paraná.

Nenhuma diferença significativa foi registrada quando da análise microbiológica das ostras coletadas nos diferentes pontos de cultivo da Baía de Guaratuba (*E. coli* – KW: 0,6827 e  $p = 0,7108$ , e CT- KW = 3,0710 e  $p = 0,2153$ ).

## Discussão

A quantidade de *S. aureus* nas amostras de ostras aqui analisadas não excedeu os níveis máximos permitidos por lei, de  $10^3$  UFC/g. Somando-se esse resultado à ausência de *Salmonella* sp. e tomando-se por base a Resolução RDC n° 12 (Brasil, 2001), as ostras analisadas seriam consideradas liberadas para o consumo. Por outro lado, considerando-se que os CT são indicadores da presença de bactérias de origem fecal (Galvão, 2004), a sua presença em grande parte das amostras pode indicar a ocorrência de microorganismos eventualmente relacionados à DTAs (Vieira, 2004), com evidentes riscos à saúde dos consumidores.

*E. coli* e *Salmonella* sp. são microorganismos capazes de sobreviver e se multiplicar em ambientes estuarinos (Rhodes & Kator, 1988), levando a riscos de contaminação das ostras. A Secretaria de Saúde de Paranaguá (Secretaria de Saúde de Paranaguá, 2003) já havia identificado a presença de *Salmonella* sp. em amostras de ostras comercializadas no Mercado Municipal de Paranaguá, em 2003. Porém, relatos da ausência de contaminação por *Salmonella* sp. também foram freqüentes. Bordignon et al. (Bordignon et al., 2006) não identificaram *Salmonella* sp. em *Crassostrea gigas* cultivadas na Baía de Guaratuba-PR. O mesmo ocorreu com Castilho (2006) que trabalharam com *Crassostrea* sp. provenientes de bancos naturais da mesma Baía, corroborando ao verificado na presente pesquisa.

Por ser de origem exclusivamente fecal, *E. coli* é uma bactéria comumente utilizada como indicadora da qualidade sanitária de moluscos bivalves e que, quando presente no alimento, torna-o impróprio ao consumo (ICMSF, 1986). Além disso, a identificação de contaminação fecal em alimentos, por meio de análises de *E. coli*, sugere que as ostras possam veicular outros patógenos também transmitidos pelas fezes, como o vírus da Hepatite A e o vibrião colérico (Barardi et al., 2001).

No entanto, a legislação brasileira não exige a identificação ou a quantificação de *E. coli*, nem tão pouco determina valores máximos de contaminação para moluscos consumidos crus, o que implica em riscos à saúde pública.

Desta forma, os resultados das análises do ponto Mercado de Guaratuba o classificam como um ponto crítico para comercialização regional de ostras, uma vez que 86% e 43% das amostras foram positivas para CT e *E. coli*, respectivamente. Isto pode estar relacionado ao fato dos comerciantes locais comprarem e estocarem grandes quantidades de ostras para atender ao aumento sazonal da demanda. A partir do momento que são retiradas da água, as ostras permanecem estocadas em pontos de venda, sem nenhum processo de limpeza e refrigeração, permanecendo em temperatura ambiente, o que favorece a multiplicação microbiana. Esse tipo de

procedimento faz com que o Mercado de Guaratuba seja considerado um local de risco em potencial.

O nível de contaminação de ostras identificado no Mercado de Guaratuba é também reflexo de um problema comum a outros pontos de venda: o desconhecimento da origem das ostras. Nesse caso, a dificuldade em monitorar a qualidade microbiológica, pode ser minimizada com a depuração das ostras antes da sua comercialização (Correa et al., 2006), embora seja necessário ressaltar que este tipo de procedimento não garanta obrigatoriamente a eliminação de níveis elevados de contaminação (Projeto Cultimar, 2007).

Há evidências, por sua vez, que a alta contaminação observada no ponto de coleta referente ao cultivo C1 esteja relacionada a uma combinação de fatores, entre eles as precárias técnicas de manejo adotadas pelo produtor e a possível contaminação local da água em função do lançamento de esgoto doméstico na região do cultivo.

A proximidade dos locais de cultivo com a entrada da Baía de Guaratuba, local de maior aglomeração urbana, não influenciou a qualidade microbiológica das ostras, visto que não foi observada diferença significativa entre os três locais de cultivo (região do Cabaraquara, região do Parati e região da Ilha da Sepultura). Tais resultados podem ser decorrentes da grande dinâmica física que caracteriza a Baía de Guaratuba.

Como a região de cultivo, nos diferentes locais da Baía de Guaratuba, não foi o fator preponderante na definição da qualidade microbiológica das ostras analisadas, pode-se inferir que os cultivos apresentaram problemas de contaminação pontual, enquanto restaurantes e mercados que comercializam ostras evidenciam problemas relacionados a processos inadequados de manipulação e conservação.

## Conclusões

Embora as ostras comercializadas em restaurantes, mercados municipais, depuradora e diretamente nos cultivos na Baía de Guaratuba não apresentaram níveis de contaminação por *Salmonella* sp. e *S. aureus* superiores aos limites estabelecidos pela legislação brasileira, muitas das amostras analisadas poderiam ser consideradas impróprias ao consumo pela presença de *E. coli*. Sugere-se, portanto, que novos indicadores de qualidade sanitária sejam legalmente estabelecidos, para um monitoramento mais eficiente da qualidade das ostras ofertadas aos consumidores.

## Referências

BARARDI, R. M.; SANTOS, C. S.; SIMÕES, C. M. Ostras de qualidade em Santa Catarina – Contaminação em águas de criações de moluscos será monitorada. *Revista Ciência Hoje*. Rio de Janeiro, v. 29, p. 172, 2001.

BORDIGNON, S; MUNIZ, E. ; CASTILHO, G. G.; IVANKIU, C.; FRANCESCHI, F.; OSTRENSKY, A.; PEREIRA, L. A.; SILVA, M. D.; BOEGER, W. Monitoramento microbiológico da carne de ostras *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) cultivadas na Baía de Guaratuba, Paraná. In: XVIII Semana Nacional de Oceanografia, 2006, Pontal do Paraná. *Anais ... XVIII Semana Nacional de Oceanografia*, 2006.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº. 12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília: Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

CASTILHO, G. G. A certificação sanitária - Um instrumento para o desenvolvimento da ostreicultura paranaense. *Revista do Gia*. Curitiba, v. 01, n. 01, p.18-19, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS. *Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para Mariscos Moluscoídeos*, CAC/RCP, 18:1-29, 1978.

CORREA, A.A.; ALBARNAZ, J.A.; MORESCO, V.; POLI, C.R.; TEIXEIRA, A.L.; SIMÕES, C.M.; BARARDI, C.R. Depuration dynamics of oysters (*Crassostrea gigas*) artificially contaminated by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Marine*

*Environmental Research*. Florianópolis, v. 63, p. 479–489, 2006.

FDA - Food and Drug Administration. *National Food Safety Programs*, 2001. Disponível em: <<http://www.foodsafety.gov/~dms/fs-toc.html>>. Acesso em jun. 2007.

GALVÃO, J. A. *Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões Perna perna (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba, SP*. Piracicaba. 2004. 109 f. Dissertação (mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ ESALQ.

ICMSF – International commission on microbiological specifications for foods. *Microorganisms in foods*. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications, Segunda Edição, Blackwell Scientific Publications, Toronto: University of Toronto Press. 1986.

JAY, J. M. *Modern Food Microbiology*. Maryland: Aspen Publication, 6.ed, 2000, 387p.

JONES, S. H.; HOWELL, T. L.; O'NEILL, K. R.; LANGAN, R. Strategies for removal of indicator and pathogenic bacteria from commercially harvested shellfish. *Purification des coquillages*. Aspects généraux : Perspectives et Evolution. New Hampshire, p. 69-77, 1999.

LEDERLE, J. *Enciclopédia moderna de higiene alimentar. Tecnologia e Higiene Alimentar*. São Paulo: Manole Dois, 1991.

MENDES, E. S.; MENDES, P. P. Sazonalidade dos microorganismos existentes em ostras consumidas na grande Recife, PE. *Revista Higiene Alimentar*. Recife, v. 17, 2004.

NUNES, A.J.P.; PARSONS, G.J. Dynamics of tropical coastal aquaculture systems and the consequences to waste production. *World Aquaculture*, Louisiana, v. 29, p. 27-37, 1998.

PREFEITURA DE GUARATUBA, *Portal Oficial do Município de Guaratuba* - Departamento de Comunicação Social, 2007. Disponível em: <[http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com\\_content&task=view&id=296&Itemid=2](http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com_content&task=view&id=296&Itemid=2)>. Acessado em: jun. 2007.

PROJETO CULTIMAR. *Um modelo de aqüicultura sustentável no Brasil*, Relatório trimestral, jan.-mar. Segundo Seminário de Meio Ambiente da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 32, 2007. Disponível em: <[www.funpar.ufpr.br:8080/nimad/atividades\\_apresentadas.doc](http://www.funpar.ufpr.br:8080/nimad/atividades_apresentadas.doc)>. Acessado em Dezembro de 2007.

RHODES, M. W. e H. KATOR. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in estuarine environments. *Appl. Environ. Microbiology*, v. 54, n.12, p. 2902–2907, 1988.

SANEPAR – COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. *Sanepar conclui obras em Matinhos*. Julho de 2008. Disponível em <[http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/486DC62D75CF45330325747F006DA250?OpenDocument&pub=T&proj=InternetSanepar&sec=Internet\\_Busca](http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/486DC62D75CF45330325747F006DA250?OpenDocument&pub=T&proj=InternetSanepar&sec=Internet_Busca)>. Acessado em 16 de setembro de 2008.

SECRETARIA REGIONAL DE SAÚDE DE PARANAGUÁ. In: *Análise de ostras comercializadas no Mercado Municipal de Paranaguá*. 2003. Disponível em: <[http://www.pr.gov.br/meioambiente/iap/qdd\\_agua\\_est\\_inf\\_amb.shtml](http://www.pr.gov.br/meioambiente/iap/qdd_agua_est_inf_amb.shtml)> Acesso em: jun. 2007.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*, São Paulo: Livraria Varela Ltda. 1997. 295p.

SILVA, A. M.; VIEIRA, H.S.F.; MENEZES, F.; FONTELES, A. A.; TORRES, C.O.; SANT'ANNA, S. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó River estuary, Ceará State, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* São Paulo, v. 35 n.1-2, 2004.

STATSOFT (2004). *StatSoft, Inc. STATISTICA* (data analysis software system), version 7. Disponível em: <[WWW.statsoft.com](http://WWW.statsoft.com)>. Acessado em janeiro de 2008

3M DO BRASIL LTDA. *Placa Petrifilm<sup>MR</sup> 6404*. Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*. Via Anhanguera, Km 110, Cep 13.181-900, Sumaré – SP. Disponível em: <[www.3m.com/microbiologia](http://www.3m.com/microbiologia)>. Acessado em Maio de 2008.

VIEIRA, R.H. *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado*. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 380p.

## CAPÍTULO IV

### **Análise comparativa do nível de contaminação por Coliformes Totais e por *Escherichia coli* em ostras (*Crassostrea* sp.) e na água da Baía de Guaratuba, PR.**

#### **Resumo**

As ostras são organismos filtradores e podem assimilar, além do alimento, contaminantes bióticos e abióticos presentes na água, contribuindo para a ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a correlação entre os níveis de contaminação da água de cultivo, na Baía de Guaratuba, PR, Brasil e os níveis de contaminação da carne de ostras por *Escherichia coli* e por coliformes totais. Durante o mês de fevereiro de 2007 foram realizadas coletas de água e ostras em seis pontos da Baía. Cinco desses pontos eram coincidentes com áreas onde existem cultivos comerciais de ostras em sistema de *long-lines* e um ponto era localizado próximo a construções e a aglomerados urbanos. As coletas de amostras de ostras e de água ocorreram em intervalos de 7 e de 3 dias, respectivamente. Ao final do monitoramento foram realizadas 24 análises de ostras e 108 de água. A presença de coliformes totais foi evidenciada em 95,4% das amostras de água e em 83% das amostras de ostras. Em 74,9% das amostras de água havia contaminação por *E. coli*, enquanto que em apenas 16,7% das amostras de ostras foi identificada a presença da bactéria. Não houve correlação entre a contaminação microbiológica das ostras e da água de cultivo da Baía de Guaratuba. Há evidências para se afirmar que o monitoramento microbiológico das ostras é mais eficiente para a classificação higiênico-sanitária de um cultivo que o monitoramento da água.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, coliformes totais, doenças transmitidas por alimentos, contaminação fecal, molusco bivalve, saúde pública, monitoramento microbiológico.

#### **Abstract**

Oysters are filtering organisms and can assimilate, beyond the nutrients, biotic and abiotic contaminants present in the water, contributing to the appearing of foodborne illnesses. The goal of this study is to research the correlation between the contamination level in the water from the cultivation area, in Guaratuba Bay, Paraná State, Brazil, and the contamination level of the oyster tissue by *Escherichia coli* and total coliforms. In February 2007, oysters and water were collected in six different sites of the Bay. Five of these collection sites were located in cultivation areas, using *long-line* systems, and one site was located next to buildings area and human presence. The collection of oysters and water samples occurred in intervals of 7 and 3 days, respectively. At the end of the monitoring period, 24 oyster samples and 108 water samples were analyzed. The presence of total coliforms was observed in 95,4% of the water samples and in 83% of the oysters samples. On the other hand, 74,9% of the water samples have showed contamination by *E. coli*, while in only 16,7% of the

oyster sampled the bacteria have been present. The statistical analysis reveal no relationship, on the microbiological contamination, between the oysters and the water from the cultivation areas in Guaratuba Bay. Therefore, the microbiological monitoring of the oysters appears to be more effective for the hygiene and sanitarian classification of the production than the water monitoring.

**Key words:** *Escherichia coli*, total coliforms, foodborne diseases, fecal contamination, shellfish, public health, microbiological tracking.

## Introdução

A contaminação das águas costeiras tem influência direta sobre a qualidade dos organismos aquáticos utilizados na alimentação humana, bem como a prevalência de doenças transmitidas por estes alimentos (DTAs) (Muller, 2008).

O risco de ocorrência de DTAs é mais evidente no caso da ostreicultura, em função do comportamento alimentar das ostras (Vieira, 2004). Filtrando cerca de 2 a 5 litros de água/hora, as ostras assimilam além do alimento, contaminantes bióticos e abióticos presentes na água (Lederle, 1991; José, 1999). Esta característica, somada ao hábito de se consumir ostras cruas ou levemente cozidas, contribui para o surgimento de inúmeros casos de DTAs (Mendes & Mendes, 2004).

Na tentativa de minimizar os problemas relacionados à qualidade sanitária da água de cultivo e dos produtos provenientes da aqüicultura, diversos países estabeleceram limites máximos permissíveis de contaminação de origem fecal para as áreas de cultivo de bivalves (Garcia, 2005) e para o próprio molusco (ICMSF, 1986). No Brasil, a Secretaria Especial de Aqüicultura e Pesca (SEAP-PR) criou o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves - CNCMB (Brasil, 2005). Um de seus objetivos é estabelecer os requisitos necessários para garantia da qualidade higiênico-sanitária dos moluscos através do monitoramento da água e da conseqüente classificação das áreas de cultivo e de extração de acordo com seu grau de contaminação. Nesse processo de discussão dos parâmetros sanitários a serem definidos por lei, uma importância muito menor tem sido dada à qualidade microbiológica da própria carne de ostras em detrimento das análises de água.

A ostreicultura tem se desenvolvido como atividade familiar, geradora de renda e empregos na região da Baía de Guaratuba – PR. A produção tem sido destinada principalmente para atender ao aumento de demanda que ocorre durante os meses de verão, que coincide com a alta temporada turística. Dados da Prefeitura de Guaratuba (2007) mostram que, entre 01 de janeiro e 31 de março de 2007, a população flutuante ultrapassou as 650.000 pessoas, significando um aumento de cerca de 2000% em relação à população fixa do município. Este aumento populacional, por sua vez, tende a refletir em uma piora das condições ambientais da Baía de Guaratuba, principalmente em função das deficiências de saneamento básico existentes na região. A SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná) (2008) identificou que em 2007 apenas 46% do sistema de manilhamento de esgoto da cidade de Guaratuba estava efetivamente implantado.

No presente trabalho avaliou-se a existência de relação entre os níveis de contaminação por *Escherichia coli* e por Coliformes totais (CT) na água da Baía de Guaratuba-PR e na carne e no líquido intervalvar de ostras coletadas em cultivos comerciais e em bancos naturais, com o objetivo de avaliar a adequação dos procedimentos metodológicos que deverão ser aplicados pelo CNCMB.

## **Material e Métodos**

Durante o mês de fevereiro de 2007 foram realizadas coletas de água e de ostras em seis pontos da Baía de Guaratuba-PR (25°50'30S; 48°38'48 W).

Os locais de coleta de ostras foram definidos em função de sua importância turística e sua relevância para a ostreicultura local, podendo ser utilizados como bioindicadores da qualidade microbiológica da água. Cinco pontos foram estabelecidos em áreas onde existem cultivos de ostras em sistema de *long-line* (P1, localizado na região do Parati, ambiente de baixa salinidade, caracterizado como um dos limites naturais de distribuição de ostras na região; P2 e P3 na região do Cabaraquara, as margens do Rio Pinheiros, que concentra os principais empreendimentos de cultivo e

comercialização de ostras da Baía de Guaratuba; P4 e P5 a jusante de P2 e P3, próximo a entrada da Baía, região de maior salinidade e de grande adensamento populacional) e também em um banco natural de ostras, localizado próximo a grande número de edificações e a intensa presença humana, representado por P6 (Figura 6).



Figura 6. Localização dos pontos amostrais (P1 a P6) utilizados para coleta de ostras e água na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. Fonte: Software Google Earth 4.0.2722.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Histologia e Microbiologia, do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais - GIA, localizado no Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba-PR.

### **Coleta e Processamento de Água**

Amostras de água foram coletadas em intervalos regulares de 3 dias, com 3 repetições por ponto amostral em cada coleta. A água coletada foi acondicionada em frascos de vidro esterilizados, com tampa autoclavável e capacidade de 250 ml. A abertura do frasco ocorreu por imersão, a uma profundidade média de 50 cm da linha d'água, com captação de 100 ml de água, segundo recomendações do IAP (2004). Os

vidros foram identificados e armazenados em caixas térmicas com gelo até a chegada ao laboratório (*Codex Alimentarius*, 1978).

Em laboratório, cada unidade amostral de água, representada por um frasco de vidro, era aberta, com subsequente coleta de 1 ml de água, através de pipeta estéril (Silva, et al., 1997). O referido volume era semeado em placas petrifilm, com período de incubação em estufa a 36°C de 48 horas.

### **Coleta e Processamento de Ostras**

As coletas de ostras ocorreram em intervalos regulares de 7 dias, sendo que em todas as coletas de amostras de ostras foram também coletadas concomitantemente amostras para análise de água. Cada unidade amostral era composta por 12 a 20 ostras, dependendo do seu tamanho, de forma que fosse possível obter aproximadamente 100 g de material para análise. As amostras eram devidamente identificadas e armazenadas em sacos plásticos de polietileno. O armazenamento e o transporte das amostras seguiram o método indicado pelo *Codex Alimentarius* (1978).

Na chegada ao laboratório as ostras eram lavadas em água corrente com auxílio de escova esterilizada. Após a limpeza externa, as ostras eram removidas de suas conchas com auxílio de faca esterilizada, sendo realizada a coleta do material interno, composto por líquido intervalvar e carne. O material de cada unidade amostral era macerado e homogeneizado em cadinho, com posterior pesagem de 25 g da subamostra em placa de Petri estéril. A quantidade pesada era diluída e incubada em 225 mL de meio de enriquecimento água salina peptonada durante 10 minutos (Silva et al., 1997). Em seguida, 1 mL da solução era semeada em placas petrifilm, com período de incubação em estufa a 36°C de 24 horas.

Todas as coletas de água e ostras iniciavam no princípio da manhã, com período entre coleta e início das análises não superior a 8 horas. Ao todo, foram realizadas 24 análises de amostras de ostras e 108 amostras de água.

Pesquisou-se a presença e a quantidade de coliformes totais e de *Escherichia coli* nas amostras de água e ostras pelo método de placas petrifilm (3M do Brasil, 2001). O método de semeadura, processamento e leitura dos resultados seguiu o recomendado pelo fabricante.

Os testes estatísticos mostraram que a distribuição dos dados não se ajustou à curva normal de Gauss (teste de Shapiro-Wilk), e ao teste de homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Desta forma, eles foram analisados através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ANOVA e de análises de regressão e correlação. Utilizou-se o programa Statistica® 7.0 (Statsoft, 2004) para realização das análises.

## **Resultados**

A presença de CT foi evidenciada em todos os pontos, em pelo menos uma das amostras analisadas, tanto em ostras quanto em água. Já em relação a *E. coli*, todos os pontos de coleta de água apresentaram contaminação, contra 50% dos pontos de coleta de ostras (P1, P3 e P4).

Houve diferença em relação à presença de CT entre os pontos de coleta, tanto nas amostras de água (KW-H = 14,6145 e  $p = 0,0121$ ) (Figura 7A), quanto nas de ostras (KW-H = 11,4505 e  $p = 0,0431$ ) (Figura 7B). Em ambas, o ponto P1 apresentou níveis de contaminação significativamente superiores aos demais locais de coleta.

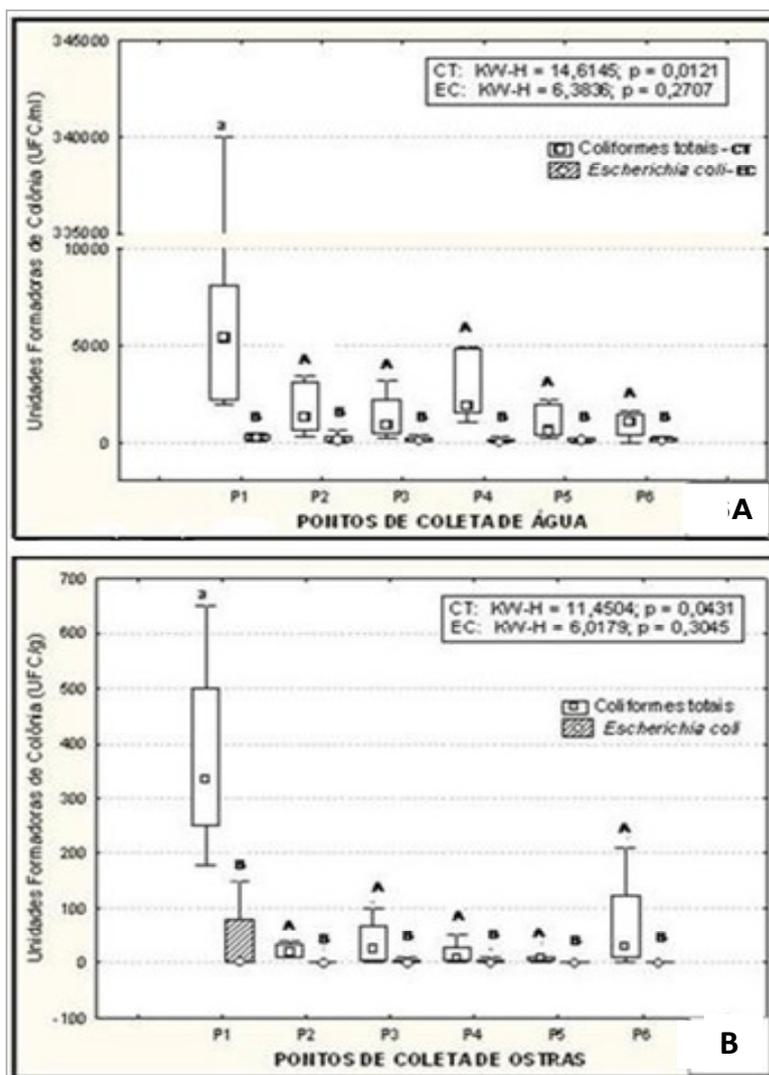


Figura 7. Distribuição das análises quantitativas de *Escherichia coli* (EC) e coliformes totais (CT) na água da baía de Guaratuba (A) e nas ostras (B) coletadas em seis pontos amostrais (P1 a P6) durante o mês de fevereiro de 2007. Os retângulos apresentam a variação de 25 a 75% dos dados obtidos. Os quadrados representam as medianas nos valores quantificados por pontos amostrais. As barras verticais representam os valores mínimos e máximos. KW – resultado das análises de Kruskal-Wallis. As letras representam os grupos homogêneos ao nível de 5% de significância.

Houve correlação significativa somente para as variáveis “contaminação por CT” e “pontos de coleta”, mesmo assim com baixo coeficiente de determinação ( $r^2 = 0,2631$ ,  $r = -0,5129$ ,  $p = 0,0104$ ), todas as outras combinações não mostraram correlação entre si, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de coeficiente de correlação da regressão linear múltipla ( $r$ ), coeficiente de determinação da regressão ( $r^2$ ) e probabilidade de significância para os coeficientes de regressão ( $p$ ) pelo teste de Scatterplot para os dados CTA – Coliformes totais da água; CTO – Coliformes totais das ostras; ECA – *E. coli* da água; ECO – *E. coli* das ostras; D – Data de coleta e P – Ponto de coleta ao nível de 5% de significância.

Variáveis	$r^2$	R	p
CTO x D	0,0173	0,1314	0,5406
CTA x D	0,0746	-0,02731	0,1967
ECO x D	0,0098	0,0992	0,6446
ECA x D	0,0162	-0,1274	0,5531
CTO x P	0,2631	-0,5129	0,0104
CTA x P	0,1018	-0,3191	0,1285
ECA x P	0,0162	-0,1274	0,5531
ECO x P	0,1066	-0,3264	0,1195
ECO x ECA	0,0078	0,0881	0,6824
CTO x CTA	0,1433	0,3785	0,0682

## Discussão

Embora a pesquisa da qualidade microbiológica do produto seja um parâmetro recomendado pela legislação brasileira (Brasil, 2001), não há valor de referência determinado para CT, Coliformes fecais e *E. coli* para moluscos bivalves consumidos crus. Além disso, pouco se sabe sobre os níveis de contaminação da água de cultivo que podem realmente oferecer riscos ao consumidor de ostras nas condições ambientais brasileiras.

Considerando a influência do ambiente na qualidade higiênico-sanitária das ostras, regulamentações nacionais (CONAMA, 2005) e internacionais (*National Shellfish Sanitation Program* - NSSP, 2003) se baseiam no monitoramento da água de cultivo como forma de se garantir que as ostras permaneçam em locais não contaminados. Seguindo este princípio, o CNCMB pretende implantar o Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), que deverá estabelecer critérios para a classificação das áreas de cultivo com base em vários métodos de monitoramentos, incluindo-se a análise da água (Brasil, 2005).

No presente estudo, os níveis de CT e *E. coli* presentes na água foram excessivamente altos, quando comparados aos limites máximos sugeridos pela legislação internacional, com a maioria das amostras sendo positivas para estes microorganismos. As amostras de água apresentaram 95,4% de contaminação por CT e 74,9% de contaminação por *E. coli* nas análises realizadas no mês de fevereiro. O NSSP (2003) estipula que as amostras da água dos cultivos não devam exibir contaminação por CT e *E. coli* em mais de 10% das amostras analisadas, sugerindo que a água da Baía de Guaratuba seja imprópria para o cultivo de moluscos.

A avaliação da qualidade microbiológica das ostras foi analisada também em relação aos valores de referência sugeridos pelo *International Committee of Microbiology Specification for Foods* (ICMSF, 1986), uma vez que a legislação brasileira, não estabelece valores para *E. coli* em moluscos bivalves. A análise das ostras mostrou contaminação por *E. coli* em 4 amostras (16,7%), das quais duas coletadas no mesmo ponto amostral (P1), com valores de 10 e 150 UFC/g.

De modo geral, foram observadas maiores concentrações de CT e *E. coli* na água de cultivo do que no molusco. Contrariamente, Colburn et al. (1989), em Seattle/EUA, identificaram uma maior contaminação por *Aeromonas hydrophila* em ostras (78%) do que na água (53%). No entanto, Cerutti & Barbosa (1991) e Lenocho (2003), afirmaram não existir uma real sincronia entre o grau de contaminação microbiológica da água com o grau de contaminação microbiológica do molusco. Segundo esses autores, enquanto a amostra de água caracteriza a condição ambiental no momento da coleta, a análise das ostras reflete à integração ocorrida entre a água e o molusco em um maior período de tempo.

Entre os pontos analisados, P1 se destacou por atingir um pico de contaminação por CT, de 340.000 UFC/ml na água e 650 UFC/g nas ostras, evidenciando as diferenças estatísticas observadas entre este ponto e os demais, bem como a correlação entre valores de CT e pontos de coleta. Inspeções *in loco* indicaram que este resultado provavelmente esteve relacionado ao lançamento de esgoto

doméstico diretamente na área do cultivo pelo próprio ostreicultor, que não dispunha de um sistema de captação e tratamento adequado de dejetos domésticos. A identificação do problema sanitário permitiu sua posterior correção, com reflexos positivos na qualidade das ostras cultivadas no local.

## **Conclusão**

A qualidade da água de cultivo não mostrou correlação significativa com os níveis de contaminação microbiana das ostras analisadas. Nessas condições, a análise microbiológica de ostras parece ser mais segura que as simples análises de água como instrumento de garantia da qualidade higiênico-sanitária do produto.

Não foi possível comparar os valores observados de contaminação das ostras com a legislação brasileira vigente, em função da inexistência de tais limites. No entanto, ao se basear em legislações internacionais, em vários casos a contaminação identificada classificaria as ostras produzidas na Baía de Guaratuba como impróprias ao consumo.

## **Agradecimentos**

Agradecemos a Cristiane Ivankiu e Marcus Fier Giroto pela colaboração na coleta e análise das amostras e à Petrobras e o Instituto HSBC Solidariedade pelo financiamento da pesquisa.

## **Referências Bibliográficas**

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº. 12 de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Revoga a Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997.* Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF: Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Secretaria Especial de Aqüicultura e Pesca. *Institui o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves*, Portaria nº 122, de 4 de julho de 2005.

CERUTTI, R. L., BARBOSA, T. C. P. Flora bacteriana heterotrófica em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e águas da Baía Norte, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 22, p. 330-334, 1991.

CODEX ALIMENTARIUS. *Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para Mariscos Moluscoides*, CAC/RCP, 18, p.1-29, 1978.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências*. DOU: 18 de março de 2005.

COLBURN. K.G.; KAYSNER, C.A.; WEKELL, M.M.; MATCHES, JR.; ABEYTA, JR.C.; STOTT, R.F. Microbiological quality of oysters (*C.gigas*) and water of live holding tanks in Seattle, WA markets. *Journal of Food Protection*, v. 52, p. 100-104, 1989.

GARCIA, A. NUNES. Contaminação microbiológica na área de cultivo de moluscos bivalves em Anchieta, ES. 2005, 67f. Monografia (graduação em Oceanografia) Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em: [http://www.dern.ufes.br/oceano/link/monografias/main\\_monografias\\_ufes.html](http://www.dern.ufes.br/oceano/link/monografias/main_monografias_ufes.html), Acessado: em 26 de julho de 2007.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microorganisms in foods*. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications, Segunda Edição, Blackwell Scientific Publications, Toronto: University of Toronto Press. 1986.

IAP – INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. *Manual para coletas e preservação de águas, solo, efluentes e animais*. Curitiba, 2004, 24 p

JOSÉ, V. F. Bivalves e a segurança do consumidor. In: JACOBI, Pedro Roberto (editor). *Ciência ambiental: os desafios da interdisciplinaridade*. São Paulo: Annablume, v. 1, p. 39-60, 1999.

LEDERLE, J. *Enciclopédia moderna de higiene alimentar*. São Paulo, Manole Dois, 1991.

LENOCH, R. Saúde pública e os moluscos marinhos cultivados. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, v. 9, p.65-70, 2003.

MENDES, E. S.; MENDES, P. P. Sazonalidade dos microorganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. *Revista Higiene Alimentar*, v. 17, 2004.

MULLER, A.C. *Introdução à ciência ambiental*. Curitiba: PUC/PR, v. 1, 98 p., 2002.

NSSP – NATIONAL SHELLFISH SANITIZATION PROGRAM. *Guide for the control of molluscan shellfish*. Food and drug administration, 2003. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ear/nss2-toc.html>>. Acessado em janeiro de 2008.

PREFEITURA MUNICIPAL DE GUARATUBA, *Portal Oficial do Município de Guaratuba, Verão 2006/2007*. 22 de dezembro de 2007 - disponível em: <[http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com\\_content&task](http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com_content&task)>. Acessado em 20 de janeiro de 2008.

SANEPAR – COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. *Sanepar conclui obras em Matinhos*. Julho de 2008. Disponível em <[http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/T&proj=InternetSanepar&sec=Internet\\_Busca](http://www.fundacaosanepar.com.br/sanepar/CalandraKBX/calandra.nsf/0/T&proj=InternetSanepar&sec=Internet_Busca)>. Acessado em 16 de setembro de 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*, São Paulo: Livraria Varela Ltda, 1997, 295p.

STATSOFT (2004). *StatSoft, Inc. STATISTICA* (data analysis software system), version 7. Disponível em [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

3M DO BRASIL LTDA. *Placa Petrifilm<sup>MR</sup> 6404*. Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*. Via Anhanguera, Km 110, Cep 13.181-900, Sumaré – SP. Disponível em <[www.3m.com/microbiologia](http://www.3m.com/microbiologia)>. Acessado em Maio de 2008.

VIEIRA, R.H. *Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado*. São Paulo: Livraria Varela, 2004, 380 p.

## CAPITULO V

---

### **Gestão da qualidade higiênico-sanitária em mercados municipais de pescados**

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 60% das doenças alimentares são relacionadas a práticas impróprias de higiene e de processamento de alimentos, como por exemplo, a refrigeração inadequada, falhas na higienização de instalações, presença de manipuladores infectados, ocorrência de contaminação cruzada e uso de produtos clandestinos ou de qualidade duvidosa.

Na tentativa de diminuir problemas relacionados a doenças transmitidas por alimentos (DTAs), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) passaram a exigir de estabelecimentos que processam ou comercializam alimentos a aplicação de um sistema de Boas Práticas de Fabricação (BPF). As BPFs são um conjunto de medidas que, quando aplicadas, tendem a reduzir ao máximo os riscos e os perigos de contaminação dos alimentos.

Dentre uma variedade de produtos destinados ao consumo humano, o pescado destaca-se por exigir cuidados especiais de manipulação, preparo e armazenamento, em função de sua alta perecibilidade. No entanto, o conceito de qualidade para a maioria dos pescadores, aqüicultores, consumidores e, às vezes, até de indústrias de processamento de produtos aqüícolas brasileiros, usualmente acaba se limitando às características organolépticas do produto, como o aspecto viçoso e a ausência de sinais de doenças ou traumas físicos devido ao manuseio.

Os problemas são ainda maiores quando leva-se em consideração o perfil dos manipuladores de pescado que têm no processamento e na comercialização uma atividade de geração de renda desenvolvida em escala familiar. Esses manipuladores, principalmente àqueles que trabalham em mercados públicos ou pequenas peixarias,

costumam apresentar baixos níveis de escolaridade e, na maioria das vezes, carecem de conhecimentos mínimos necessários para a correta manipulação dos alimentos e para a prevenção de riscos e perigos de contaminação.

É sob este panorama que se vislumbra a necessidade de capacitação dos manipuladores artesanais de mercados municipais de pescados. Profissionais que têm literalmente nas mãos a responsabilidade de ofertar alimentos seguros para o consumidor. Com esse foco, o Projeto Cultimar, executado pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), iniciou, no segundo semestre de 2007, um programa de gestão da qualidade higiênico-sanitária de mercados municipais de pescados no litoral paranaense, que poderá ser replicado em outros mercados.

### **Definindo as ações necessárias para a implantação do processo de gestão higiênico-sanitária em mercados públicos de pescados**

#### Local de ação:

O Mercado Municipal de Pescados de Matinhos é um dos principais locais de comercialização de pescados do litoral paranaense. Administrado pela Colônia de Pescadores Z4, funciona em escala familiar. Cada pescador ou família de pescador possui permissão para comercializar seus produtos em uma das bancas do mercado. São cerca de 30 bancas e aproximadamente 100 pessoas envolvidas na manipulação de pescados em todo o mercado.

Para definir as metas de ação que atenderiam às principais necessidades do mercado foram utilizados dois métodos:

1. Aplicação de questionários aos freqüentadores do mercado durante a alta temporada de 2006-2007
2. Realização de visitas técnicas ao estabelecimento para identificar e quantificar as não-conformidades.

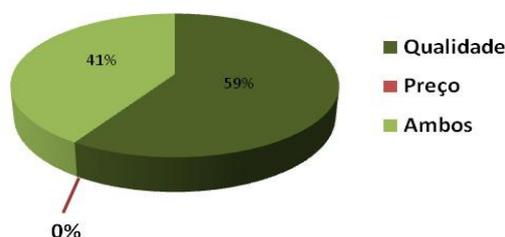
### Questionários:

Durante a temporada de verão 2006-2007 foram aplicados questionários aos freqüentadores do Mercado Municipal de Matinhos. Os entrevistados foram escolhidos aleatoriamente e as entrevistas realizadas entre os dias 28/12/2006 e 19/02/07, das 09:00h às 18:00h.

O questionário aplicado foi composto por cinquenta questões multi-estruturadas, formadas por dois tipos de perguntas: 1) perguntas de múltipla-escolha e 2) perguntas com repostas abertas, em que o entrevistado poderia responder livremente. Por meio do questionário procurou-se caracterizar: (a) o perfil sócio-econômico do entrevistado, (b) seu período e local de estada durante o verão e (c) suas expectativas quanto aos produtos ali comercializados.

Foram entrevistadas 41 pessoas, em sua maioria homens com pelo menos o segundo grau completo e com idade média de 42 anos (mínimo 22 e máximo 58 anos). A grande maioria dos entrevistados era paranaense e residia em Curitiba, e apenas 1% dos consumidores pesquisados morava em Matinhos.

Os resultados apontaram que a maioria dos consumidores são pais de família, de classe média e exigentes em relação aos produtos a serem consumidos. Reflexo disto é que 59% dos consumidores consideram a qualidade do produto como o critério mais importante na hora da compra (Figura 8).



*Figura 8. Características consideradas mais importantes pelos consumidores na hora da compra de pescados no Mercado Municipal de Matinhos.*

Além da qualidade ser um fator essencial na hora da compra, a maioria dos entrevistados (73%) demonstrou algum tipo de preocupação com questões higiênico-sanitárias (Figura 9).

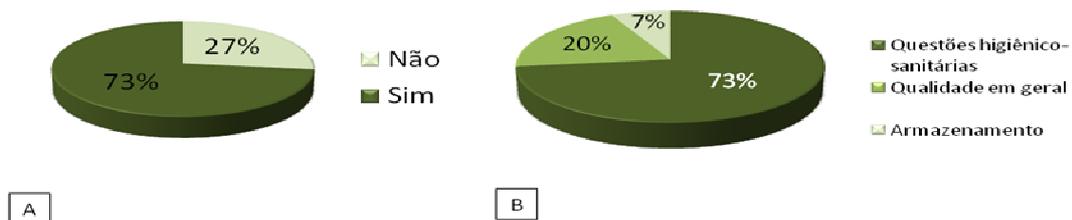


Figura 9. (A) Percentual de consumidores preocupados com o produto. (B) Maiores preocupações reveladas pelos consumidores do mercado municipal de pescados.

Interessante ressaltar que muitos consumidores se mostraram dispostos a pagar mais por produtos com maior qualidade higiênico-sanitária, um incentivo à implementação de ações para melhoria do Mercado.

#### Visitas técnicas:

Inicialmente, as visitas basearam-se no reconhecimento da área e das bancas do Mercado, bem como das pessoas envolvidas na manipulação. Dentre os itens observados, destacam-se: infra-estrutura, manutenção de equipamentos e utensílios, uniformização, higienização pessoal e do local, ambiente de trabalho e sistemas de controle de pragas. Todos os problemas identificados foram registrados através de fotografias e pela aplicação de um *checklist*, baseado na Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002, da ANVISA, que dispõe sobre a lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação (BPFs) e sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs), ambos aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos.

Os resultados das não-conformidades obtidos antes do início das ações de gestão, a partir da aplicação do *checklist*, estão expressos no gráfico abaixo (Figura 10). É importante destacar que o item com maior número de não-conformidades (24) está relacionado a Edificações, Instalações, Equipamentos, Móveis e Utensílios, seguido pelo item relacionado aos Manipuladores, caracterizado basicamente pela não aplicação das Boas Práticas de Fabricação na manipulação de pescados.



Figura 10. Gráfico contendo as não-conformidades identificadas antes da realização das ações de gestão da qualidade higiênico-sanitária do Mercado Municipal.

Dentro do item de Edificações, as Instalações aparecem com 9 não-conformidades, o que representa 37,5% do total, com os principais problemas relacionados a: número insuficiente de pias para lavagem das mãos dos manipuladores, bancadas quebradas, armários em péssimo estado de conservação e tubulação de água e instalação elétrica expostas.

### **Propostas para a melhoria higiênico-sanitária do mercado**

Com base nas não-conformidades encontradas, elaborou-se um plano de ações, cujo principal objetivo foi melhorar a qualidade higiênico-sanitária do Mercado Municipal de Pescados, a partir de modificações comportamentais dos manipuladores, e administrativas junto à gerência do mercado.

#### Curso de Capacitação em Boas Práticas de Fabricação na manipulação de pescados

Durante os meses de agosto e setembro de 2007 foram ofertados cursos de capacitação aos expositores do mercado. No entanto, pelo grande interesse demonstrado, foram também incluídos nas turmas: funcionários da limpeza, pescadores e o próprio administrador do mercado, que também é o Presidente da

Colônia de Pescadores da região, num total de 60 pessoas. A organização e execução dos cursos ficaram sob responsabilidade do Projeto Cultimar, que tem financiamento da Petrobras e do Instituto HSBC Solidarietà e apoio da Colônia de Pescadores Z4, e da Emater-PR.

As aulas foram ministradas no próprio mercado, com uma carga horária total de 12 h/turma, em um total de três turmas, com 20 alunos em média cada. Tanto o horário de realização do curso, quanto à escolha dos principais temas de interesse foram discutidos previamente durante uma reunião com os participantes.

A escolha das estratégias de ensino e dos recursos didáticos utilizados foi baseada em um levantamento precedente do nível de escolaridade dos participantes (Figura 11). Assim, as aulas foram adaptadas para permitir a inclusão e o aprendizado de todos os interessados, mesmo daqueles não alfabetizados.

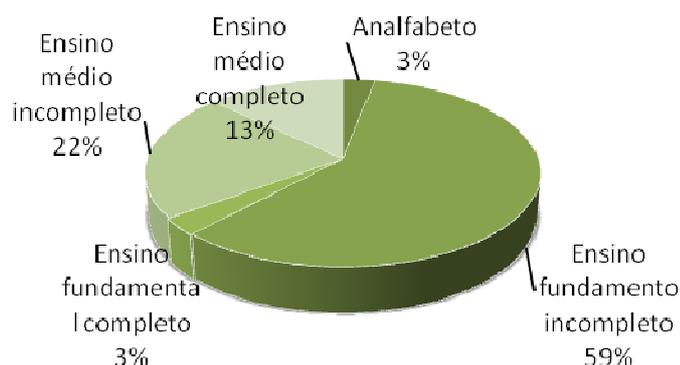


Figura 11. Grau de escolaridade dos alunos participantes do curso de Boas Práticas de Manipulação de pescados.

O método de ensino utilizado envolveu debates em grupo, exercícios práticos, atividades lúdicas, material didático impresso ricamente ilustrado, além de aulas teóricas. Como material impresso foi elaborado uma cartilha (Tabela 5) que abordou os seguintes temas: doenças transmitidas por alimentos, perigos relacionados a alimentos contaminados, qualidade de água e gelo, higiene pessoal, higiene do ambiente de trabalho, lavagem das mãos, lixo, características do pescado fresco e princípios de armazenamento.

*Tabela 5. Plano de ensino aplicado no curso de boas práticas de manipulação de pescado.*

<b>CONTEÚDO</b>	<b>ESTRATÉGIA DE ENSINO</b>	<b>RECURSO DIDÁTICO</b>
Conceitos básicos de BPF e noções de higiene.	Identificação de problemas higiênico-sanitários em outros mercados municipais.	Projeter multimídia
Quem é o manipulador de alimentos?	Identificação de atividade do dia-a-dia do Mercado relacionada à manipulação de alimentos.	Projeter multimídia
Riscos físicos, biológicos e químicos.	Assimilar que os produtos e materiais presentes no dia-a-dia podem representar um dos riscos.	Objetos de uso cotidiano que representam riscos de contaminação.
Microorganismos e doenças transmitidas por alimentos (DTA).	Fazer com que os alunos percebam a importância dos microorganismos na contaminação dos alimentos.	Microscópio
Tamanho e disseminação de microorganismos.	Perceber que os microorganismos são pequenos e que podem ser facilmente transmitidos entre pessoas e superfícies.	Bolas de isopor recobertas com glitter.
Técnica de lavagem correta das mãos.	Despertar os cuidados com a frequência e a correta limpeza das mãos e antebraços.	Tinta guache e venda nos olhos.
Cuidados com a higiene na manipulação de alimentos.	Deixar claro aos alunos a correta conduta de higiene que se exige dos profissionais que trabalham como manipuladores de alimento.	Figuras afixadas em papel cartolina.
Produtos e quantidades corretas para limpeza e desinfecção.	Incentivar o uso correto dos produtos de limpeza, evitando desperdícios ou quantidades ineficientes.	Produtos de limpeza disponíveis no comércio, balde e colher.
Higienização correta de instalações e equipamentos.	Mostrar como proceder à eficaz limpeza das superfícies de trabalho.	Detergente, solução de hipoclorito de sódio, balde e esponja.
Identificar área suja e área limpa.	Conhecendo as diferenças entre as áreas suja e limpa os alunos poderão evitar contaminações cruzadas.	Visita as futuras instalações da sala de filetagem.
Características do pescado fresco.	Identificação das características de um produto fresco e de qualidade e as diferenças de um pescado alterado.	Produtos frescos, como peixes, camarões, ostras e lulas, oriundos do mercado.
Cuidados e higiene na filetagem de peixes.	Conhecer as etapas da filetagem, impedindo a contaminação cruzada do filé.	Peixe inteiro fresco, faca, tábua plástica e luvas.
Conhecimentos adquiridos no curso e sua aplicação.	Fazer com que os participantes usem os conhecimentos fornecidos no curso para a contratação de funcionários.	Papel e lápis.

Com o uso de projetor de multimídia foram apresentadas figuras, vídeos e fotos relacionadas aos temas da cartilha, permitindo a realização de exercícios e debates em grupo, assim para cada tema abordado na cartilha, procurou-se realizar pelo menos uma atividade prática (Figura 12).



*Figura 12. Algumas técnicas de motivação aplicadas durante o curso. (A) Identificação dos riscos de contaminação do alimento durante a filetagem, (B) técnica aplicada para o aprendizado da forma correta de lavagem das mãos, (C) identificação das características de um produto fresco x estragado.*

### **Resultados preliminares: avaliação das condições do mercado após o início das ações de valorização da qualidade higiênico-sanitária:**

Após o curso, realizou-se um novo checklist com o objetivo de identificar quais não-conformidades foram suprimidas pela aplicação dos conhecimentos adquiridos em aula, pelas visitas técnicas ou por melhorias de infra-estrutura realizadas pela administração do mercado.

Verificou-se que, das 83 não-conformidades descritas inicialmente, conseguiu-se eliminar 25 (Tabela 6). Isto representou uma redução de 30% dos problemas relativos aos itens: acompanhamento técnico (responsabilidade); manipuladores; matéria-prima, ingredientes e embalagens; edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios; exposição do pescado; higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios; e, fluxo de produção.

As melhorias identificadas tiveram como causas: (a) início da construção de uma sala de filetagem financiadas pelo Governo do Estado do Paraná, através do Programa Paraná 12 meses, com execução da Prefeitura Municipal e coordenação da Colônia de Pescadores; (b) aplicação dos conhecimentos adquiridos durante o curso de Boas Práticas; e, (c) realização de visitas técnicas periódicas através do Projeto Cultimar.

*Tabela 6. Não-conformidades antes e após aplicação do curso de Boas Práticas de Fabricação.*

<b>NÃO-CONFORMIDADES</b>	<b>ANTES DO CURSO</b>	<b>APÓS O CURSO</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO</b>
Acompanhamento técnico (responsabilidade)	1	0	100%
Manipuladores	13	5	62%
Matéria-prima, ingredientes e embalagens	10	5	50%
Edificação, instalações, equipamentos, móveis e utensílios	24	17	29%
Exposição do pescado	8	6	25%
Higienização de instalações, equipamentos, móveis e utensílios	7	6	14%
Fluxo de produção	4	3	25%
Manejo dos resíduos	5	5	0%
Abastecimento de água	4	4	0%
Armazenamento do pescado	3	3	0%
Controle integrado de vetores e pragas urbanas	3	3	0%
Documentações e registros (POPs e BPFs)	1	1	0%
<b>Total</b>	<b>83</b>	<b>58</b>	<b>30%</b>

## Considerações finais

Os resultados obtidos com a aplicação dos questionários e do *checklist* iniciais foram fundamentais para nortear as ações a serem implantadas ao longo do ano pelo Projeto Cultimar. Essas ações, por sua vez, foram desenvolvidas com grande entusiasmo pelos expositores e funcionários do Mercado, que passaram a aplicar o conhecimento adquirido durante os cursos em seu dia-a-dia.

Além disso, a preocupação higiênico-sanitária com o produto não só beneficia o consumidor, que garante uma maior segurança alimentar, mas possibilita a agregação de valor ao produto e, conseqüentemente, pode significar aumento da renda das famílias de pescadores que expõem seus produtos em bancas do Mercado.

Ainda há uma enorme distância entre as normas e regulamentos higiênico-sanitários previstos para a manipulação e comercialização de pescados em mercados públicos de pescados e sua aplicação prática, especialmente no que se refere ao caso aqui relatado. Questões como falta de recursos, de informações e de conhecimentos, problemas de origem familiar, disputas políticas, ausência de incentivos públicos, comodismo e, principalmente, falta de fiscalização – previstas, em vão, em vários instrumentos legais - e de aplicação dos regulamentos por partes dos agentes públicos são fatores que ainda comprometem seriamente a segurança alimentar dos consumidores. Os resultados obtidos aqui, entretanto, mostram que é possível reverter esse quadro e aponta alguns dos caminhos para que isso possa ocorrer.

## Agradecimentos

Agradecemos ao **Sr. Mario J. Hanek**, presidente da Colônia de Pescadores Z4 e administrador do Mercado Municipal de Pescados Manoel Machado, por sua colaboração. Agradecemos também a **Emater-PR** e o **Instituto HSBC** pelo apoio e a **Petrobras** pelo financiamento das ações.

## CAPITULO VI

### **Qualidade Higiênico-Sanitária das Ostras Comercializadas nos Municípios de Guaratuba e Matinhos, Litoral do Paraná**

A ostreicultura paranaense destaca-se como uma atividade em franca expansão, geradora de emprego e renda para comunidades ribeirinhas. Anualmente, um grande número de pessoas agrega-se a esta cadeia produtiva, tanto através do cultivo das ostras, em fazendas marinhas, como na extração de ostras a partir de bancos naturais e da sua venda para restaurantes e mercados públicos da região.

O incremento na comercialização é fortemente acentuado nos períodos de verão, quando o número de habitantes das cidades litorâneas aumenta significativamente (Prefeitura de Guaratuba, 2007), refletindo no maior número de turistas nos restaurantes especializados em frutos-do-mar. No entanto, a cadeia produtiva da ostreicultura ainda é muito informal no estado do Paraná. Como consequência, na maioria dos casos, não se tem o controle adequado sobre a qualidade e sobre a origem do produto comercializado. E isso coloca em risco a saúde pública.

As ostras são conhecidas por causarem distúrbios gastrointestinais em pessoas pouco habituadas ao seu consumo. A causa do problema é o hábito de consumo da ostra crua ou levemente cozida. As ostras obtêm seu alimento através da filtração da água do mar, que muitas vezes pode estar contaminada com dejetos humanos ou animais (Wheaton, 2007). O esgoto doméstico, quando lançado sem tratamento em praias e baías, carrega junto grandes quantidades de bactérias e vírus. Muitos destes microorganismos são agentes causadores de doenças entéricas, tais como *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, vírus da Hepatite A, entre outros (Crus-Romero et al, 2008). No momento em que o consumidor ingere a carne de ostras

contaminadas, pode estar ingerindo microorganismos patogênicos com elevado potencial para lhe causarem doenças alimentares.

A Baía de Guaratuba concentra um grande número de fazendas marinhas dedicadas ao cultivo de ostras (Figura 13) e alguns restaurantes especializados nesses moluscos. É nesse cenário que o Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA) da Universidade Federal do Paraná vem realizando, desde 2005, o acompanhamento e a orientação técnica aos ostreicultores. Em 2007, esse trabalho foi intensificado com a realização de diversos experimentos nos locais de cultivo e investigações efetuadas em restaurantes e pontos de venda da região. Os resultados desses estudos foram apresentados em uma dissertação de mestrado intitulada "Qualidade higiênico-sanitária na cadeia produtiva de ostras, *Crassostrea* sp., cultivadas na baía de Guaratuba, PR, Brasil".



Figura 13. Cultivo de ostras em sistema long-line na Baía de Guaratuba, Paraná.

Através de uma pesquisa de opinião pública, realizada com consumidores em restaurantes especializados em ostras da região do Cabaraquara (Figura 14), ponto de

referência no turismo gastronômico do município de Guaratuba, pôde-se perceber o frágil grau de percepção que a população tem em relação à qualidade do alimento que consome. Na grande maioria das vezes, o público não soube identificar padrões mínimos de qualidade de um estabelecimento destinado à alimentação, nem se o sistema de Boas Práticas de Fabricação - padrão de qualidade exigido pela Vigilância Sanitária - estava implantado no local. A inspeção aos restaurantes também demonstrou o baixo grau de conhecimento das questões higiênico-sanitárias pelos funcionários e proprietários desses estabelecimentos.



*Figura 14. Técnica do Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais aplicando questionário a turistas em restaurantes da região do Cabaraquara.*

### **O que estamos consumindo?**

Para avaliar a qualidade das ostras que estavam sendo produzidas e comercializadas, um estudo envolvendo a coleta e análise de mais de 550 ostras foi realizado no mês de janeiro de 2007 na Baía de Guaratuba.

Foram analisadas 45 amostras contendo em média 12 ostras, de onze pontos da Baía, incluindo cultivos, restaurantes, mercados municipais e depuradoras (Figura 15). A pesquisa visou identificar a presença nas ostras das bactérias *Salmonella* sp.,

*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e coliformes totais (CT), todos microorganismos relacionados a casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA).



Figura 15. Mapa da Baía de Guaratuba - PR, com identificação dos pontos de coleta de amostras de ostras de acordo com as regiões de cultivo (Parati (C1 e C2); Cabaraquara (C3 e C4); Ilha da Sepultura (C5 e C6)); restaurantes (R1 e R2); mercados municipais (MM e MG) e depuradora (D).

Os resultados não indicaram a contaminação das amostras por *Salmonella* sp. e *S. aureus*, mas, infelizmente, 100% dos pontos de coleta apresentaram níveis elevados de CT e 45% deles apresentaram contaminação por *E. coli* (Figura 16). Segundo a legislação internacional, amostras apresentando resultados positivos para *E. coli* são consideradas impróprias ao consumo.

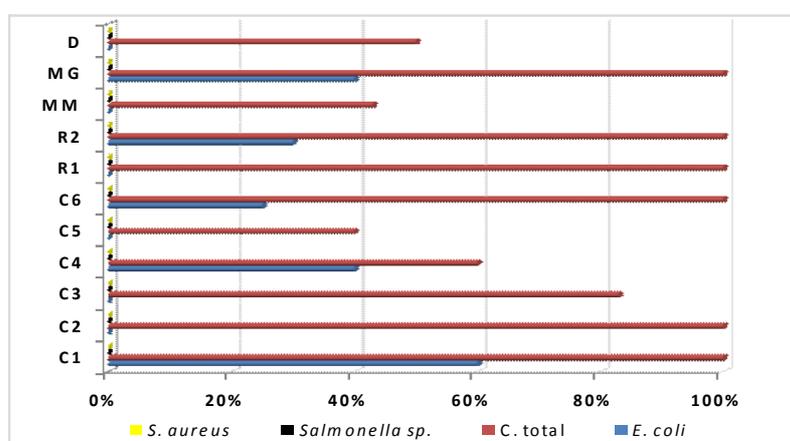
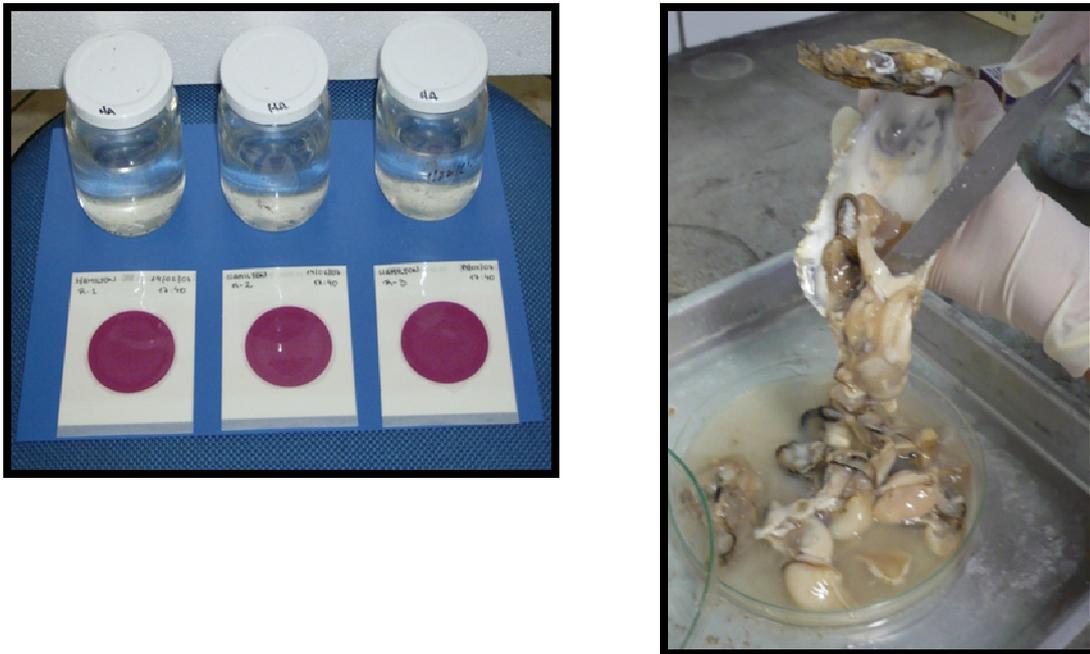


Figura 16. Percentual de contaminação por *E. coli*, *Salmonella* sp., *S. aureus* e C. totais, em amostras de ostras coletadas na Baía de Guaratuba, em janeiro de 2007.

É sabido que os municípios de Guaratuba e Matinhos apresentam elevada taxa de residências sem coleta de esgotos e, somado a isto, há um grande fluxo de turistas que visitam esses municípios no período de verão. Com base nisso, decidiu-se realizar uma nova pesquisa, desta vez feita no mês de fevereiro de 2007.

O objetivo foi verificar se existe correlação entre os níveis de contaminação microbiológica por CT e por *E. coli* presentes na água dos locais de cultivo e nas ostras coletadas, em seis pontos da Baía de Guaratuba (Figura 17).



*Figura 17. Amostras de água (A) e ostras (B), utilizadas nos experimentos realizados nos meses de verão de 2007, analisadas no laboratório do GIA/UFPR.*

Os resultados desta pesquisa mostraram valores de contaminação bastante superiores na água de cultivo em relação aos valores identificados nas ostras (Tabela 7). Não se observou correlação estatística entre os resultados, fato que já era esperado, pois a análise da ostra reflete uma interação do animal com a água durante várias horas ou dias de filtração. Já a análise da água, caracteriza a condição única do momento da coleta. Por isso, sugere-se que a qualidade das ostras deva ser

comprovada pela análise do próprio produto e não somente da água do local de cultivo.

*Tabela 7. Valores de contaminação por Escherichia coli e coliformes totais nas amostras de água e ostra coletadas na Baía de Guaratuba, em de fevereiro de 2007.*

<b>Material analisado</b>	<b>Microorganismo pesquisado</b>	<b>Percentual de amostras positivas</b>
<b>Água</b>	Coliformes totais	95%
	<i>Escherichia coli</i>	72%
<b>Ostras</b>	Coliformes totais	83%
	<i>Escherichia coli</i>	17%

### **Como melhorar a qualidade do pescado ofertado à população?**

O GIA, através do Projeto Cultimar, iniciou um programa de melhoria higiênico-sanitária dos mercados de pescado. O trabalho teve início no Mercado Municipal de Matinhos, que é um importante pólo de comercialização de pescados no litoral do Paraná.

Os pescadores e suas famílias possuem bancas para comercialização do pescado. A grande maioria deles possui baixo nível de escolaridade e pouca ou nenhuma qualificação para a atuação na área de alimentos.

No decorrer de três meses, foram realizadas várias atividades no Mercado. Dentre elas, um *checklist* (processo de avaliação técnica) para identificação de erros no sistema de Boas Práticas de Fabricação (Brasil,2004) e a capacitação de 60 funcionários manipuladores de pescado.

A seguir, foram realizados cursos de Boas Práticas de Manipulação de Pescado, oferecidos dentro das instalações do Mercado, com uso de apostila e aulas práticas e teóricas direcionadas aos problemas encontrados no local.

Terminado a fase de capacitação, um novo processo de avaliação técnica foi realizado. Apesar do número de itens que precisa ser melhorado ainda ser grande,

pode-se observar que o trabalho de capacitação e de conscientização dos proprietários e funcionários das bancas surtiu efeitos. Houve uma redução de 30% dos problemas identificados antes dos cursos, o que mostra que a educação e a capacitação técnica são caminhos importantes a serem seguidos na busca de qualidade na cadeia produtiva de pescados.

O que pretendíamos com as pesquisas realizadas foi diagnosticar a qualidade dos produtos derivados da pesca e da aquicultura que são comercializados e consumidos no litoral do Paraná. E percebemos que apesar de existir uma gama de situações institucionais, sanitárias e comerciais a melhorar, o consumidor final possui importante papel dentro da cadeia produtiva. Ele deve ser mais bem informado para que possa identificar um produto de qualidade e, ao mesmo tempo, deve ser estimulado a exercer seu poder de comprador, exigindo que a legislação sanitária seja implantada e seguida a risca.

## **Bibliografia**

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216/04 de 15 de outubro de 2004. *Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação*. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.

CRUZ-ROMERO, M., KERRY, J.P., KELLY, A.L. Changes in the microbiological and physicochemical quality of high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*) during chilled storage. *Food Control*, v. 19, n. 12, p. 1139-1147, 2008.

PREFEITURA DE GUARATUBA, *Portal Oficial do Município de Guaratuba* - Departamento de Comunicação Social, 2007. Disponível em: <[http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com\\_content&task=view&id=296&Itemid=2](http://www.guaratuba.pr.gov.br/site/index.php?option=com_content&task=view&id=296&Itemid=2)>. Acessado em: jun. 2007.

WHEATON, F. Review of the properties of Eastern oysters, *Crassostrea virginica*: Part I- Physical properties. *Aquacultural Engineering*, v. 37, p. 3–13, 2007.

## ANEXO

### RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005.

Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

#### CAPÍTULO III

#### DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

##### Seção I

##### Das Disposições Gerais

Art. 7º Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Parágrafo único. Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos, ressalvado o disposto no § 3º do art. 34, desta Resolução.

Art. 8º O conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Público.

§ 1º Também deverão ser monitorados os parâmetros para os quais haja suspeita da sua presença ou não conformidade.

§ 2º Os resultados do monitoramento deverão ser analisados estatisticamente e as incertezas de medição consideradas.

§ 3º A qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas.

§ 4º As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

§ 5º Na hipótese dos estudos referidos no parágrafo anterior tornarem-se necessários em decorrência da atuação de empreendedores identificados, as despesas da investigação correrão as suas expensas.

§ 6º Para corpos de água salobras continentais, onde a salinidade não se dê por influência direta marinha, os valores dos grupos químicos de nitrogênio e fósforo serão os estabelecidos nas classes correspondentes de água doce.

Art. 9º A análise e avaliação dos valores dos parâmetros de qualidade de água de que trata esta Resolução serão realizadas pelo Poder Público, podendo ser utilizado laboratório próprio, conveniado ou contratado, que deverá adotar os procedimentos de controle de qualidade analítica necessários ao atendimento das condições exigíveis.

1º Os laboratórios dos órgãos competentes deverão estruturar-se para atenderem ao disposto nesta Resolução.

§ 2º Nos casos onde a metodologia analítica disponível for insuficiente para quantificar as concentrações dessas substâncias nas águas, os sedimentos e/ou biota aquática poderão ser investigados quanto à presença eventual dessas substâncias.

Art. 10. Os valores máximos estabelecidos para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento deverão ser obedecidos nas condições de vazão de referência.

§ 1º Os limites de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estabelecidos para as águas doces de classes 2 e 3, poderão ser elevados, caso o estudo da capacidade de autodepuração do corpo receptor demonstre que as concentrações mínimas de oxigênio dissolvido (OD) previstas não serão desobedecidas, nas condições de vazão de referência, com exceção da zona de mistura.

§ 2º Os valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas de nitrogênio e fósforo, nas condições de vazão de referência, poderão ser alterados em decorrência de condições naturais, ou quando estudos ambientais específicos, que considerem também a poluição difusa, comprovem que esses novos limites não acarretarão prejuízos para os usos previstos no enquadramento do corpo de água.

§ 3º Para águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg/L para ambientes lênticos e 2,18 mg/L para ambientes lóticos, na vazão de referência.

§ 4º O disposto nos §§ 2º e 3º não se aplica às baías de águas salinas ou salobras, ou outros corpos de água em que não seja aplicável a vazão de referência, para os quais deverão ser elaborados estudos específicos sobre a dispersão e assimilação de poluentes no meio hídrico.

Art. 11. O Poder Público poderá, a qualquer momento, acrescentar outras condições e padrões de qualidade, para um determinado corpo de água, ou torná-los mais restritivos, tendo em vista as condições locais, mediante fundamentação técnica.

Art. 12. O Poder Público poderá estabelecer restrições e medidas adicionais, de caráter excepcional e temporário, quando a vazão do corpo de água estiver abaixo da vazão de referência.

Art. 13. Nas águas de classe especial deverão ser mantidas as condições naturais do corpo de água.

## **Seção II**

### **Das Águas Doces**

Art. 14. As águas doces de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.

b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;

d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;

e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;

f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;

g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverão ser obedecidos os padrões de qualidade de balneabilidade, previstos na Resolução CONAMA no 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais, de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

h) DBO 5 dias a 20 °C até 3 mg/L O<sub>2</sub>;

i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>;

j) turbidez até 40 unidades nefelométrica de turbidez (UNT);

l) cor verdadeira: nível de cor natural do corpo de água em mg Pt/L; e

m) pH: 6,0 a 9,0.

II - Padrões de qualidade de água:

Art 15. Aplicam-se às águas doces de classe 2 as condições e padrões da classe 1 previstos no artigo anterior, à exceção do seguinte:

I - não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais;

II - coliformes termotolerantes: para uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida

a Resolução CONAMA no 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 (seis) amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

III - cor verdadeira: até 75 mg Pt/L;

IV - turbidez: até 100 UNT;

V - DBO 5 dias a 20 °C até 5 mg/L O<sub>2</sub>;

VI - OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/L O<sub>2</sub>;

VII - clorofila a: até 30 µg/L;

VIII - densidade de cianobactérias: até 50000 cel/mL ou 5 mm<sup>3</sup>/L; e,

IX - fósforo total:

a) até 0,030 mg/L, em ambientes lênticos; e,

b) até 0,050 mg/L, em ambientes intermediários, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lêntico.

Art. 16. As águas doces de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;

d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;

e) não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais;

f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;

g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedido um limite de 2500 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para dessedentação de animais criados confinados não deverá ser excedido o limite de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 4000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

h) cianobactérias para dessedentação de animais: os valores de densidade de cianobactérias não deverão exceder 50.000 cel/ml, ou 5mm<sup>3</sup>/L;

i) DBO 5 dias a 20 °C até 10 mg/L O<sub>2</sub>;

j) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>;

l) turbidez até 100 UNT;

m) cor verdadeira: até 75 mg Pt/L; e,

n) pH: 6,0 a 9,0.

II - Padrões de qualidade de água:

Art. 17. As águas doces de classe 4 observarão as seguintes condições e padrões:

I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

II - odor e aspecto: não objetáveis;

III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;

IV - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;

V - fenóis totais (substâncias que reagem com 4 - aminoantipirina) até 1,0 mg/L de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH;

VI - OD, superior a 2,0 mg/L O<sub>2</sub> em qualquer amostra; e, VII - pH: 6,0 a 9,0.

### **Seção III**

#### **Das Águas Salinas**

Art. 18. As águas salinas de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) materiais flutuantes virtualmente ausentes;
- c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- d) substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
- f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- h) carbono orgânico total até 3 mg/L, como C;
- i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>; e
- j) pH: 6,5 a 8,5, não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidade.

Art 19. Aplicam-se às águas salinas de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos no artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- c) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C; e
- d) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5,0 mg/L O<sub>2</sub>.

II - Padrões de qualidade de água: Art. 20. As águas salinas de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;

II - óleos e graxas: toleram-se iridescências;

III - substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;

IV - corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;

V - resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;

VI - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em

substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;

VII - carbono orgânico total: até 10 mg/L, como C;

VIII - OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/ L O<sub>2</sub>; e

IX - pH: 6,5 a 8,5 não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidades.

#### **Seção IV**

##### **Das Águas Salobras**

Art. 21. As águas salobras de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

b) carbono orgânico total: até 3 mg/L, como C;

c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/ L O<sub>2</sub>;

d) pH: 6,5 a 8,5;

e) óleos e graxas: virtualmente ausentes;

f) materiais flutuantes: virtualmente ausentes;

g) substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;

h) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes; e

i) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para a irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, bem como para a irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, não deverá ser excedido o valor de 200 coliformes termotolerantes por 100mL. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

II - Padrões de qualidade de água: Art. 22. Aplicam-se às águas salobras de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos no artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

b) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C;

c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>; e

d) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Art. 23. s águas salobras de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

I - pH: 5 a 9;

II - OD, em qualquer amostra, não inferior a 3 mg/L O<sub>2</sub>;

- III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- IV - materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
- V - substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- VI - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;
- VII - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A E. Coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente; e
- VIII - carbono orgânico total até 10,0 mg/L, como C.

## **RESOLUÇÃO - RDC Nº 12, DE 2 DE JANEIRO DE 2001.**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 20 de dezembro de 2000,

considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos;

considerando a definição de critérios e padrões microbiológicos para alimentos, indispensáveis para a avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, da aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC/HACCP) e da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo a elucidação de Doença Transmitida por Alimentos(DTA);

considerando a importância de compatibilizar a legislação nacional com regulamentos harmonizados no Mercosul, relacionados aos critérios e padrões microbiológicos para alimentos - Resoluções Mercosul GMC nº 59/93, 69/93, 70/93, 71/93, 82/93, 15/94, 16/94, 43/94, 63/94, 78/94, 79/94, 29/96, 30/96, 31/96, 32/96, 42/96, 78/96, 81/96, 82/96, 83/96, 134/96, 136/96, 137/96, 138/96, 145/96, 01/97 e 47/97) adotou a seguinte Resolução e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

### **Aprovar o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.**

REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE OS PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS:

#### 1. ALCANCE

##### 1.1 OBJETIVO :

Estabelecer os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos especificados no Anexo I e determinar os critérios para a Conclusão e Interpretação dos Resultados das Análises Microbiológicas de Alimentos Destinados ao Consumo Humano especificados no Anexo II.

##### 1.2 ÂMBITO DE APLICAÇÃO

Este Regulamento se aplica aos alimentos destinados ao consumo humano.

Excluem-se deste Regulamento os produtos alimentícios e as toxinas de origem microbiana, como as micotoxinas, para os quais existem padrões definidos em legislação específica.

Excluem-se também matérias-primas alimentares e os produtos semi-elaborados, destinados ao processamento industrial desde que identificados com os seguintes dizeres: "inadequados para o consumo humano na forma como se apresentam" ou "não destinados para o consumo humano na forma como se apresentam".

#### 2. CRITÉRIOS PARA O ESTABELECIMENTO DE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS SANITÁRIOS EM ALIMENTOS.

Os critérios para estabelecimento de padrão microbiológico podem ser considerados isoladamente ou em conjunto conforme a seguir:

2.1. Caracterização dos microrganismos e ou suas toxinas considerados de interesse sanitário.

2.2. Classificação dos alimentos segundo o risco epidemiológico.

2.3. Métodos de análise que permitam a determinação dos microrganismos

2.4. Plano de Amostragem para a determinação do número e tamanho de unidades de amostras a serem analisadas.

2.5. Normas e padrões de organismos internacionalmente reconhecidos, Codex Alimentarius e outros organismos. Outros critérios, quando evidências científicas o justifiquem.

### 3. DEFINIÇÕES

Para efeito deste regulamento adota-se as seguintes definições:

- 3.1. DTA: Doença Transmitida por Alimento causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico.
- 3.2. Amostra indicativa: é a amostra composta por um número de unidades amostrais inferior ao estabelecido em plano amostral constante na legislação específica.
- 3.3. Amostra representativa: é a amostra constituída por um determinado número de unidades amostrais estabelecido de acordo com o plano de amostragem.
- 3.4. Matéria-prima alimentar: toda substância de origem vegetal ou animal, em estado bruto, que para ser utilizada como alimento precise sofrer tratamento e/ou transformação de natureza física, química ou biológica.
- 3.5. Produto semi-elaborado: são aqueles produtos que serão submetidos a outras etapas de processamento industrial que não impliquem em transformação de sua natureza.
- 3.6. Alimentos comercialmente estéreis: alimentos processados em embalagens herméticas, estáveis à temperatura ambiente.
- 3.7. Unidade amostral: porção ou embalagem individual que se analisará, tomado de forma totalmente aleatória de uma partida como parte da amostra geral.

### 4. REFERÊNCIAS

- 4.1. BRASIL. Decreto-Lei nº 986, de 12/10/69. Institui Normas Básicas sobre Alimentos.
- 4.2. BRASIL. Lei nº 6437, de 24 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá providências.
- 4.3. BRASIL. Portaria nº1428, de 26/11/93. Aprova Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos, Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos e Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade para Serviços e Produtos na Área de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de dezembro de 1993. Seção 1, pt.1.
- 4.4. BRASIL. Portaria SVS/MS no 326, de 30/07/1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de agosto de 1997. Seção 1, pt.1.
- 4.5. Codex Alimentarius Commission - Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods CAC/GL 21 -1997.

### 5. PROCEDIMENTOS E INSTRUÇÕES GERAIS

- 5.1. As metodologias para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e para análise microbiológica de amostras de produtos alimentícios devem obedecer ao disposto pelo Codex Alimentarius; "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (I.C.M.S.F.); "Compendium o Methods for the Microbiological Examination of Foods" e "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" da American Public Health Association (APHA); "Bacteriological Analytical Manual" da Food and Drug Administration , editado por Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC), em suas últimas edições e ou revisões, assim como outras metodologias internacionalmente reconhecidas.
  - 5.1.1. Caso sejam utilizados outros métodos laboratoriais, ou suas modificações, que não estejam referendados nos dispostos indicados no item 5.1., os mesmos devem ser validados por estudos comparativos intra e inter laboratoriais que certifiquem que os resultados obtidos por seu uso sejam equivalentes aos das metodologias citadas. Os registros dos processos de validação das metodologias também devem estar disponíveis sempre que necessário e devem cumprir com os expostos em 5.1.
- 5.2. Deve-se proceder a colheita de amostras dos alimentos em suas embalagens originais não violadas, observando a quantidade mínima de 200g ou 200mL por unidade amostral. Quando se tratar de produtos a granel, ou de porções não embaladas na origem, deve-se cumprir as

Boas Práticas de Colheita constantes nas referências do item 5.1., respeitando-se a quantidade mínima necessária. Aceitam-se exceções para os casos relacionados a elucidação de DTA, e de rastreamento de microrganismos patogênicos. No caso de investigação de DTA devem ser colhidas as sobras dos alimentos efetivamente consumidos pelo(s) afetado(s).

5.2.1. No caso de alimentos comercialmente estéreis, cada unidade da amostra indicativa deve ser composta de no mínimo 3 (três) unidades do mesmo lote, para fins analíticos. Da mesma forma, quando se tratar da aplicação do plano de amostragem estatística, deve-se efetuar a colheita de, no mínimo, 3 conjuntos de unidades amostrais.

5.3. Dispensa-se a colheita da amostra sempre que o produto estiver alterado e ou deteriorado. Entende-se por produto alterado ou deteriorado o que apresenta alteração(ões) e ou deterioração(ões) físicas, químicas e ou organolépticas, em decorrência da ação de microrganismo e ou por reações químicas e ou físicas.

5.3.1. Nestes casos, as intervenções legais e penalidades cabíveis não dependem das análises e de laudos laboratoriais. Excetua-se os casos em que a amostra estiver implicada em casos de DTA para rastreamento de microrganismos patogênicos ou toxinas.

5.4. As amostras colhidas para fins de análise de controle e fiscal devem atender aos procedimentos administrativos estabelecidos em legislação específica.

5.5. A amostra deve ser enviada ao laboratório devidamente identificada e em condições adequadas para análise, especificando as seguintes informações: a data, a hora da colheita, a temperatura (quando pertinente) no momento da colheita e transporte, o motivo da colheita, a finalidade e o tipo de análise, as condições da mesma no ponto da colheita e outros dados que possam auxiliar as atividades analíticas.

5.5.1. Na emissão do laudo analítico, a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas devem seguir o disposto no Anexo II.

5.6. No laboratório, a amostra é submetida à inspeção para avaliar se apresenta condições para a realização da análise microbiológica. Nas seguintes situações, a análise não deve ser realizada, expedindo-se laudo referente à condição da amostra:

- a) quando os dados que acompanham a amostra revelarem que a mesma, no ponto de colheita, se encontrava em condições inadequadas de conservação ou acondicionamento;
- b) quando a amostra embalada apresentar sinais de violação;
- c) quando a amostra não embalada na origem tiver sido colhida e ou acondicionada e ou transportada em condições inadequadas;
- d) quando a amostra apresentar alterações ou deterioração visível;
- e) quando a identificação da amostra não cumprir com o disposto no item 5.5. destes Procedimentos e Instruções Gerais.

5.6.1. Exceções são aceitas quando a amostra estiver implicada em casos de DTA para rastreamento de microrganismos patogênicos ou toxina. A amostra deve vir acompanhada de relatório adicional com informações que permitam direcionar a determinação analítica pertinente.

5.7. Para fins analíticos, os padrões microbiológicos descritos no Anexo I deste Regulamento referem-se aos resultados de análise de alíquotas obtidas da amostra, de acordo com as referências que constam do item 5.1 deste Regulamento.

5.8. Planos de amostragem

5.8.1. Para fins de aplicação de plano de amostragem entende-se:

- a) m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável.
- b) M: é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis
- c) n: é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Nos casos nos quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* e outros patógenos, é possível a mistura das alíquotas

retiradas de cada unidade amostral, respeitando-se a proporção p/v (uma parte em peso da amostra, para 10 partes em volume do meio de cultura em caldo).

d) c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes.

#### 5.8.2. Tipos de plano

a) Duas classes: quando a unidade amostral a ser analisada pode ser classificada como aceitável ou inaceitável, em função do limite designado por M, aplicável para limites qualitativos.

b) Três classes: quando a unidade amostral a ser analisada pode ser classificada como aceitável, qualidade intermediária aceitável ou inaceitável, em função dos limites m e M. Além de um número máximo aceitável de unidades de amostra com contagem entre os limites m e M, designado por c. As demais unidades, n menos c, devem apresentar valores menores ou iguais a m. Nenhuma das unidades n pode apresentar valores superiores ao M.

#### 5.8.3. Situações de aplicação dos planos de amostragem:

5.8.3.1. Para os produtos relacionados no Anexo I do presente Regulamento no caso de avaliação de lotes e ou partidas, adotam-se os planos estatísticos mínimos (planos de três classes), conforme constam no referido Anexo.

5.8.3.2. Nos casos onde o plano estatístico mencionado no item anterior não conferir a proteção desejada, devidamente justificada, pode-se recorrer a complementação de amostra, conforme as referências indicadas no item 5.1. destes Procedimentos.

5.8.3.3. Quando nos pontos de venda ou de qualquer forma de exposição ao consumo, o lote ou partida do produto alimentício estiver fracionado ou de alguma forma não disponível na sua totalidade ou quando o número total de unidades do lote for igual ou inferior a 100 (cem) unidades, ou ainda, o produto estiver a granel, pode-se dispensar a amostragem estatística e proceder a colheita de uma amostra indicativa, aplicando-se o plano de duas classes.

5.8.3.4. Quando da existência do plano de duas classes onde o c igual a zero, o resultado positivo de uma amostra indicativa é interpretado para todo o lote ou partida. O mesmo se aplica quando for detectada a presença de toxinas em quantidades suficientes para causar doença no consumidor.

#### 5.9. Considerações sobre os grupos de microrganismos pesquisados

5.9.1. A denominação de "coliformes a 45°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes". Caso seja determinada a presença de *Escherichia coli*, deve constar no laudo analítico.

5.9.2. A determinação de clostrídio sulfito redutor a 460C tem por objetivo a indicação de *Clostridium perfringens*. Caso seja determinada a presença de *C.perfringens*, deve constar o resultado no laudo analítico. Este critério consta como "C.sulfito redutor a 460C" no Anexo I do presente Regulamento.

Nota: No que se refere à metodologia para clostrídios sulfito redutores a 460C, adotam-se os meios de cultura para isolamento de *Clostridium perfringens* dos textos constantes no item 3.1. destes Procedimentos. São caracterizados por bactérias do grupo clostrídio sulfito redutor as que apresentarem desenvolvimento de colônias sulfito redutoras a 460C por 24 horas; anaeróbios; bastonetes Gram positivos.

5.9.3. A enumeração de estafilococos coagulase positiva tem por objetivo substituir a determinação de *Staphylococcus aureus*. A determinação da capacidade de produção de termonuclease e quando necessário, a de toxina estafilocócica das cepas isoladas podem ser realizadas a fim de se obter de dados de interesse à saúde pública. Este critério consta como "Estaf.coag.positiva" no Anexo I do presente Regulamento.

5.9.4. A determinação de *Pseudomonas aeruginosa* consta como *P.aeruginosa* nos padrões específicos constantes no Anexo I.

5.9.5. A determinação de *Vibrio parahaemolyticus* consta como *V. parahaemolyticus* nos padrões específicos constantes no Anexo I.

5.9.6. Quando os resultados forem obtidos por contagem em placa, estes devem ser expressos em UFC/ g ou mL (Unidades Formadoras de Colônias por grama ou mililitro). Da mesma forma, devem indicar NMP/ g ou mL (Número Mais Provável por grama ou mililitro), quando forem obtidos por esta metodologia.

5.9.7. Nos padrões constantes no Anexo I, a abreviatura "aus" significa "ausência". A abreviatura "pres" significa "presença". O símbolo "<" significa "menor que".

5.9.8. O resultado da determinação de Salmonella sp, Listeria monocytogenes deve ser expresso como Presença ou Ausência na alíquota analisada. No Anexo I, estes microrganismos constam, respectivamente, como Salmonella sp e L. monocytogenes.

5.9.9. Quando da elucidação de DTA, os resultados devem especificar o número de células viáveis do microrganismo agente da doença, conforme informações e metodologias constantes nas referências citadas no item 5.1. destes Procedimentos. Os valores estabelecidos para os padrões microbiológicos de cada grupo de alimento constantes no Anexo I não se aplicam para o diagnóstico de caso/surto de DTA.

5.9.10. Em situações de risco epidemiológico que justifique um ALERTA SANITÁRIO, podem ser realizadas outras determinações não incluídas nos padrões estabelecidos, em função do problema ou aplicado plano de amostragem mais rígido conforme I.C.M.S.F.

## ANEXO I

### Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos.

1. A tolerância é máxima e os padrões são mínimos para os diferentes grupos de produtos alimentícios, constantes no presente anexo, para fins de registro e fiscalização de produtos alimentícios. Estes limites e critérios podem ser complementados quando do estabelecimento de programas de vigilância e rastreamento de microrganismos patogênicos e de qualidade higiênica e sanitária de produtos (consultar Princípios e Procedimentos Gerais e os Anexos II).
2. No caso de análise de produtos não caracterizados nas tabelas especificadas neste Anexo, considera-se a similaridade da natureza e do processamento do produto, como base para seu enquadramento nos padrões estabelecidos para um produto similar, constante no referido Anexo I deste Regulamento, que se encontra disponível na página abaixo.

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
<b>7. PESCADOS E PRODUTOS DE PESCA</b>						
a) pescado, ovas de peixes, crustáceos e moluscos cefalópodes "in natura", resfriados ou congelados não consumido cru; moluscos bivalves "in natura", resfriados ou congelados, não consumido cru; carne de rãs "in natura", refrigerada ou congelada	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
b) moluscos bivalves, carne de siri e similares cozidos, temperados e não, industrializados resfriados ou congelados	Coliformes a 45°C/g	5x10	5	2	10	5x10
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
c) pescados, moluscos e crustáceos secos e ou salgados; semi conservas de pescados, moluscos e crustáceos, mantidas sob refrigeração (marinados, anchovados ou temperados)	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	3	10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
d) pescado defumado, moluscos e crustáceos, refrigerados ou congelados; produtos derivados de pescado (surimi e similares), refrigerados ou congelados	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
e) produtos à base de pescado refrigerados ou congelados (hamburgueres e similares)	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>3</sup>	5	3	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
f) ovas de pescados processadas, refrigeradas ou congeladas	Coliformes a 45 °C /g	10 <sup>2</sup>	5	3	10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
g) pescados pré cozidos, empanados ou não, refrigerados ou congelados	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
<b>20. ALIMENTOS EMBALADOS E CONGELADOS, EXCEÇÃO DE SOBREMESAS</b>						
a) alimentos parcialmente preparados (massas alimentícias cruas com ou sem recheio, pratos crus à base de carnes, vegetais, pescados, cereais, etc.)	Coliformes a 45°C/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	B.cereus/g (específico para produtos à base de cereais ou amidos)	5x10 <sup>3</sup>	5	2	2x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	C.sulf.redutor a 46°C/g (específico para produtos à base de carnes)	3x10 <sup>2</sup>	5	2	2x10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
b) pães, pizzas e outras massas parcialmente preparadas, condimentadas ou não, adicionada de outros ingredientes ou não e similares, incluindo os pães de queijo	Coliformes a 45°C/g	5x10 <sup>2</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	B.cereus/g	5x10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
c) alimentos preparados, que necessitam de descongelamento e aquecimento, mas não de cocção, segundo instruções da rotulagem	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	2	5x10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	B.cereus/g (específico para produtos à base de cereais ou amidos)	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	C.sulf.redutor a 46°C/g (específico para produtos à base de carnes)	5x10 <sup>2</sup>	5	2	2x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
<b>22. PRATOS PRONTOS PARA O CONSUMO (ALIMENTOS PRONTOS DE COZINHAS, RESTAURANTES E SIMILARES)</b>						
a) a base de carnes, pescados, ovos e similares cozidos	Coliformes a 45°C/g	2x10	5	2	10	2x10
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	B.cereus/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	C.sulf.redutor a 46°C/g (específico para produtos à base de carnes)	10 <sup>3</sup>	5	2	2x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
b) a base de carnes, pescados e similares crus (quibe cru, carpaccio, sushi, sashimi, etc.)	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	5x10 <sup>3</sup>	5	3	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	V.parahaemolyticus(específico para produtos à base de pescados)	10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
c) sopas, caldos e molhos cozidos	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
	Coliformes a 45°C/g	10	5	2	1	10
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	B.cereus/g	10 <sup>3</sup>	5	2	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	C.sulf.redutor a 46°C/g (específico para produtos à base de carnes)	10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-	