

LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO UNIVERSITÁRIO DO RIO GRANDE DO NORTE

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS CRUAS COMERCIALIZADAS
NA PRAIA DE PONTA NEGRA NATAL - RN**

KÊNIA LORENA OLIVEIRA

NATA/RN

2012

KÊNIA LORENA OLIVEIRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS CRUAS COMERCIALIZADAS
NA PRAIA DE PONTA NEGRA NATAL-RN**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Nutrição do Centro Universitário do Rio Grande do Norte, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

**Orientadora: Prof^a. Ms.
Monique Silveira Rosa**

NATAL/RN

2012

Catálogo na Publicação – Biblioteca do UNI-RN
Setor de Processos Técnicos

Oliveira, Kênia Lorena.

Análise microbiológica de ostras cruas comercializadas na praia de ponta
negra Natal-RN / Kênia Lorena Oliveira. – Natal, 2012.
xxf.

Orientador: Profª Monique Silveira Rosa (Titulação)

Monografia (Graduação em Nutrição) – Centro Universitário do Rio
Grande do Norte.

1. Ostras – Monografia. 2. Comercialização – Monografia. 3.
Contaminação – Monografia. I. Rosa, Monique Silveira. II. Título.

RN/UNI-RN/BC

CDU 612.39

UNI-RN
BIBLIOTECA
RE: 36.272
Cod de Barra: MD01984
Data: 23 04 13

612.39

048a

2012

66.01

AVALIAÇÃO BANCA EXAMINADORA

KÊNIA LORENA OLIVEIRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS CRUAS COMERCIALIZADAS
NA PRAIA DE PONTA NEGRA NATAL-RN**

Monografia apresentada ao curso de Nutrição do Centro Universitário do Rio Grande do Norte, apresentada em 3 de Dezembro de 2012, pela banca examinadora composto pelos seguintes membros:

Prof. Ms. Monique Silveira Rosa
Orientadora

Prof. Ms. Juliana Padilha Ramos Neves

Prof. Célia Regina Barbosa de Araújo

AGRADECIMENTOS

A Deus, criador de todas as coisas, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, que me deu forças para enfrentar obstáculos e concluir esse curso tão desejado.

À minha mãe que com toda sua dedicação e amor esteve sempre presente em minha vida.

Ao meu pai que com sua simplicidade me ensinou os primeiros passos para uma caminhada com respeito e dignidade.

As minhas irmãs, Kívia Oliveira e Lívia Oliveira, minhas melhores amigas, minhas companheiras, colunas que dão suporte a minha jornada.

Ao meu noivo e amigo Deyvison Suassuna, que com todo seu carinho e fidelidade esteve sempre presente nos caminhos percorridos para realização desse sonho.

Aos meus colegas de faculdade, em especial, Raiane Maciel amiga fiel que tanto me ajudou em momentos de dificuldades.

Aos funcionários da UNI-RN, aos professores e coordenadores do curso de Nutrição pela ajuda e compreensão em momentos de dificuldades.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse sonho.

RESUMO

Os moluscos bivalves habitam ecossistemas aquáticos, refletindo diretamente as condições do ambiente em que vivem. Devido à contaminação de seu habitat natural, estes organismos atuam como bioindicadores de contaminação fecal provenientes de seres humanos e animais. As ostras são consideradas um alimento de grande valor nutricional, principalmente por ser uma rica fonte protéica e pelo seu alto teor de micronutrientes. O entendimento da fisiologia destes animais explica porque os seres humanos podem contrair diversas doenças ao ingeri-los crus ou parcialmente cozidos: muitas das espécies de bivalves alimentam-se mediante o processo de filtração. Quando microrganismos patogênicos como bactérias, vírus e protozoários estão presentes nos locais de coleta e produção destes animais, são filtrados e ficam retidos podendo, posteriormente, também serem encontrados nas glândulas digestivas, em altas concentrações. Para que um alimento seguro possa ser ofertado à população medidas de controle higiênico-sanitário devem ser implantadas por produtores e comerciantes de ostras. O estudo realizado teve como objetivo analisar microbiologicamente as ostras comercializadas na praia de Ponta Negra e identificando os seus fatores de contaminação. Avaliando os procedimentos realizados pelos manipuladores durante o ato de comercialização, bem como as condições higiênico-sanitárias. Através da análise microbiológica determinar o número mais provável de Coliformes a 45°C e realizar a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo. Os materiais utilizados foram ostras cruas comercializadas na praia de Ponta Negra Natal – RN, além de meios de cultura, vidrarias e equipamentos disponibilizados no laboratório de Microbiologia de Alimentos do UNI-RN. Foram analisadas 20 amostras de ostras cruas de 4 ambulantes, com 5 amostra de cada na praia de Ponta Negra Natal – RN. A coleta da amostra foi feita de forma aleatória e adquirida na qualidade de consumidor. As amostras foram armazenadas em recipientes estéreis, imerso em gelo e levadas ao laboratório de microbiologia de alimentos da UNIRN para análise imediata. De acordo com as análises feitas nas amostras de ostras cruas comercializadas por ambulantes na praia de Ponta Negra Natal-RN, os resultados de Coliformes a 45°C e *Staphylococcus* Coagulase positiva, apresentaram resultados negativos. Porém todas as amostras obtiveram proliferação de outras bactérias não identificadas. Sendo importante ressaltar que as ostras coletadas não são provenientes de Natal e sim de cidades vizinhas, onde as condições da água são próprias para o cultivo e consumo desses moluscos bivalves. Os resultados encontrados indicam que as amostras de ostras estão próprias para consumo, por não apresentarem contaminação. Vale ressaltar, que 100% das amostras apresentaram contaminação por outros microrganismos não identificados. Desta forma, ressalta-se a necessidade da adoção de boas práticas de manipulação destes alimentos, visando a melhoria da qualidade dos mesmos e, conseqüentemente, da saúde da população.

Palavras-chaves: Ostras, comercialização, contaminação.

ABSTRACT

Bivalve molluscs inhabit aquatic ecosystems, directly reflecting the environmental conditions in which they live. Due to contamination of their natural habitat, these organisms act as bioindicators of fecal contamination from humans and animals. Oysters are considered a food of high nutritional value, mainly because it is a rich source of protein and its high content of micronutrients. The understanding of the physiology of these animals explains why humans can contract various diseases to eat them raw or partially cooked: many species of shellfish feed by filtering process. When pathogenic microorganisms such as bacteria, viruses and protozoa are present in the collection sites and production of these animals are filtered and are retained and can subsequently also be found in the digestive glands in high concentrations. For a safe food can be offered to the population control measures hygienic-sanitary should be implemented by producers and traders of oysters. The study aimed to analyze microbiologically oysters marketed in the Ponta Negra beach and identifying factors of contamination. Assessing procedures performed by handlers during the act of marketing as well as the sanitary conditions. Using microbiological analysis to determine the most probable number of coliforms at 45 ° C and perform the counting *Staphylococcus* coagulase positive. The materials used were raw oysters marketed in the Ponta Negra Beach Natal - RN, as well as culture media, glassware and equipment available in the laboratory of Food Microbiology UNI-RN. analyzed 20 samples of raw oysters from four vendors, with 5 of each sample on the beach of black tip Natal - RN. Sample collection was done randomly and adquirida as a consumer. The samples were stored in sterile containers, immersed in ice and taken to the microbiology laboratory of food UNIRN for immediate analysis. According to the analyzes in samples of raw oysters sold by hawkers on the beach of black tip Natal-RN, the results of Coliforms at 45 ° C and *Staphylococcus* Coagulase positive, negative results. However all samples obtained proliferation of other bacteria not identified. Is important to note that oysters are not collected from Christmas but from neighboring towns, where water conditions are suitable for the cultivation and consumption of bivalve molluscs. The results indicate that the samples of oysters are fit for consumption, for not having contamination. It is noteworthy that 100% of the samples were contaminated by other microorganisms unidentified. Thus, it emphasizes the need for adoption of good handling practices of these foods in order to improve its quality and consequently the health of the population.

Keywords: Oysters, marketing contamination.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivo específicos	10
3 REFERÊNCIAL TEORICO	11
3.1 Ostras	11
3.2 Qualidade da Água	12
3.3 Fisiologia das Ostras	13
3.4 Contaminação Ambiental	15
3.5 Principais Microrganismos Encontrados em Ostras	16
3.6 Programa Nacional de Controle Higiênico-sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB)	17
3.7 Medidas de Controle Microbiológica das Ostras	19
4 METODOLOGIA	20
4.1 Tipo de pesquisa	20
4.2 Meterial	20
4.2.1 Amostragem	20
4.3 Métodos	20
4.3.1 Diagnóstico da comercialização de ostras	20
4.3.2 Preparação da amostragem	21
4.3.3 Determinação de coliformes a 45°C	21

4.3.4 Contagem de Staphylococcus coagulase positiva.....	22
--	----

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
-------------------------------	----

6 CONCLUSÃO.....	26
------------------	----

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
-----------------------------------	----

APÊNDICE

1 INTRODUÇÃO

A água é extremamente importante para a sobrevivência e homeostase do corpo humano, e essencial para as atividades relacionadas ao ser humano, como os processos industriais e a produção de alimentos (LEAL, 2008).

Moluscos bivalves são organismos filtradores que possuem a capacidade de absorver toxinas, poluentes químicos e biológicos, inclusive metais pesados e microrganismos presentes na água. Muitos surtos associados ao consumo de moluscos bivalves têm sido reportados no mundo todo, especialmente relacionados com a ingestão de alimentos crus, como as ostras (CORTES et al, 2009).

O ambiente marinho é reconhecido como uma importante fonte de recursos naturais, o que favorece particularmente o cultivo de moluscos cujas exigências são plenamente satisfeitas. O incremento da cultura de ostra tem favorecido seu hábito de consumo *in natura*, principalmente, nas regiões litorâneas brasileiras. Contudo, esses animais se alimentam de partículas e plâncton durante o processo de filtração da água e podem reter em seus organismos diferentes patógenos, em especial quando oriundos de ambientes poluídos ou contaminados. No nordeste brasileiro é uma das principais espécies de bivalves consumidos na sua forma *innatura*. A microbiota presente na carne desses organismos está diretamente relacionada ao ambiente do qual eles se originam sendo o seu consumo, freqüentemente, relacionado a doenças infecciosas de origem alimentar (PEREIRA, et al, 2007).

Setores alimentícios como a aquicultura, também precisam de uma água de boa qualidade para que seus subprodutos possam ser exportados ou ofertados à população. Desta forma, a exploração de outros recursos alimentícios, como os que provêm do ambiente marinho cresce rapidamente no mundo e no Brasil (FAO, 2005).

As áreas costeiras hospedam muitas espécies de animais e vegetais, que são muito importante para a alimentação e para humanidade. Estas áreas são utilizadas como áreas de lazer, recreação e fonte de renda para as comunidades costeiras (LEAL, 2008).

Como consequência, as doenças transmitidas pela água tornaram-se muito frequentes, principalmente aquelas que são causadas por protozoários intestinais emergentes e re-emergentes, como espécies de *Cryptosporidium* e *Giardia*, que foram responsáveis pela maioria dos surtos de veiculação hídrica nos últimos 25 anos (SMITH et al, 2008).

Os moluscos bivalves habitam ambientes marinhos ou de água doce, refletindo diretamente as condições do ambiente em que vivem. Devido à contaminação de seu habitat natural, estes organismos atuam como bioindicadores de contaminação fecal provenientes de seres humanos e animais (GÓMEZ-COUSO et al.; MILLER et al. apud LEAL, 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 apud FARIAS, 2008).

A motivação para realização desta pesquisa surgiu devido ao aumento da poluição da água não só no Brasil, mas em todo o mundo, tendo como consequência o aumento da contaminação alimentar através dos moluscos bivalves principalmente as ostras. Assim sendo, a problemática abordada neste trabalho pretende contribuir na ampliação dos conhecimentos, mostrando os meios de contaminação para

conscientização da população do perigo que o consumo desses alimentos em beira de praia pode apresentar.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analizar microbiologicamente as ostras cruas comercializadas na praia de Ponta Negra e identificar os seus fatores de contaminação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os procedimentos realizados pelos manipuladores durante o ato de comercialização, bem como as condições higiênico-sanitárias;
- Determinar o número mais provável de Coliformes a 45°C;
- Realizar a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 OSTRAS

A aquicultura mostra o cultivo de animais ou de vegetais que precisam do ambiente aquático para o crescimento de parte ou da totalidade do seu ciclo vital, que tem como cultivo de peixes, camarões, ostras, mexilhões, vieiras, rãs, algas, entre outros (REBOUÇAS et al. apud LEAL, 2008).

Os moluscos bivalves encontrados no Brasil estão distribuídos em 44 famílias, com 379 espécies descritas (SANTOS, 1982). As principais espécies de moluscos bivalves cultivados no Brasil são o mexilhão *Perna perna*, duas espécies de ostras, a nativa *Crassostrearhizophorae* e a ostra do pacífico (*Crassostrea gigas*) e uma espécie de vieira, *Nodipectenodosus* (BORGHETTI; OSTRENSKY, 2000). As espécies de ostras *Crassostrearhizophorae*, são tropicais e conhecida popularmente como ostra do mangue, cultivadas no Brasil com mais alto valor comercial, sendo facilmente encontradas em estuários, mangues, e na orla das praias (BOFFI; GOSLING apud LEAL, 2008).

A produção de ostras, seja através da sua extração em bancos naturais ou da implantação de estruturas de cultivo, é extremamente importante para as comunidades pesqueiras localizadas na costa brasileira, pois são fonte de renda importante para a economia da mesma (OSTRENSKAY et al. apud FARIAS, 2008).

A ostra é considerada um alimento de grande valor nutricional, principalmente por ser uma rica fonte protéica e pelo seu alto teor de micronutrientes, em especial o zinco. É um importante constituinte da dieta das populações litorâneas em todo o mundo, sendo seu consumo um hábito alimentar diário em muitas comunidades de pescadores (CAVALCANTI, 2008).

Esses moluscos bivalves se diferenciam através da sua composição química tanto dos crustáceos, por terem um nível bastante considerável de carboidratos e uma pequena quantidade total de nitrogênio em sua carne. A flora microbiana de moluscos varia muito, dependendo da qualidade da água de onde foram retirados, da lavagem e de outros fatores (JAY, 2005).

3.2. QUALIDADE DA ÁGUA

No território brasileiro estão localizadas as mais extensas bacias hidrográficas do planeta, destacando-se no cenário mundial pela elevada produção de água doce de seus rios, comportando 53,0 % da produção de água doce do continente sul-americano e 12,0 % do total mundial (LEAL, 2008).

O Brasil possui um litoral de 8.000 km, possibilitando um enorme potencial para a maricultura, embora ainda possa melhorar sua posição mundial, pois encontra-se atrás de países com menores condições naturais ou extensões territoriais como a França e o Egito (FAO, 2005). Apesar do aumento emergente da maricultura no país, há dificuldades para estabilizar a sua posição como produtor e exportador mundial, uma vez que existe um déficit no controle higiênico-sanitário destes animais e das áreas em que são cultivados (MELO apud LEAL, 2008).

A qualidade sanitária da água de onde os animais são retirados é o ponto-chave para obtenção de um produto final com uma boa qualidade microbiológica. Além da água, os microrganismos são adquiridos nas várias etapas do processamento, como o descasque, a descamação, a evisceração, o empanamento e outros (JAY, 2005).

A análise da água onde os moluscos são cultivados (como as fazendas de maricultura) e da água de seu ambiente natural, onde os mesmos estão disponíveis para a catação exploratória, também é extremamente importante, visto que existe um risco de acontecimento de surtos ligados ao consumo destes animais, que podem

retirar e aglomerar patógenos presentes nestes locais (LEAL, 2008).

A matéria orgânica procedente principalmente dos efluentes domésticos, e do poluentes, é naturalmente depurada pelos ambientes aquáticos, entretanto, a capacidade de autodepuração desses corpos receptores está sendo gradativamente superada pela carga poluidora dos efluentes, devido à aceleração do crescimento populacional (PHILIPPI JUNIOR, 2005 apud LEAL, 2008).

Doenças veiculadas pela água tornaram-se muito freqüentes, especialmente aquelas causadas por protozoários intestinais emergentes e re-emergentes (SMITH et al., KARANIS et al., apud LEAL, 2008).

3.2 FISIOLOGIA DAS OSTRAS

As ostras são organismos que pertencem 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 apud FARIAS, 2008).

Uma característica estrutural desta classe é o grande desenvolvimento das brânquias, que são responsáveis pela respiração e filtração do alimento, onde grandes volumes de água passam através dessas estruturas por ação ciliar. 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. 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 apud FARIAS, 2008).

Desta forma, os moluscos bivalves obtêm seu alimento da corrente de água pela filtração de pequenas partículas materiais, devido a essa filtração elas se acumulam no

trato digestório com contaminantes bióticos e abióticos presentes no meio. Os alimentos provenientes da água 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 deste moluscos(BARNABÉ, 1996). Assim, bactérias patogênicas, que estejam eventualmente presentes na água de cultivo, após serem filtradas poderão permanecer viáveis no trato digestivo das ostras (MORAIS et al. apud FARIAS, 2008).

O problema se agrava quando há aumento da temperatura ambiental, pois ocorre um aumento da taxa de filtração e de crescimento das ostras nessas condições, ocasionando um aumento da possibilidade de ingestão de bactérias patogênicas nas mesmas. No caso do Paraná no 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 aumento do número de turistas que se dirigem ao litoral, potencializando o consumo de ostras e aumentando os riscos de contaminação humana por agentes microbiológicos veiculados por este molusco(FARIAS, 2008).

As ostras, igualmente 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 frequentemente abrigarem bactérias psicotróficas - com habilidade de crescer em ambiente de refrigeração, acarreta a presença de enzimas autolíticas, responsáveis pelo aparecimento de odores e sabores desagradáveis no produto, contribuindo para sua rápida deterioração (CODEX ALIMENTARIUS apud FARIAS, 2008).

3.3 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; GERMANO et al.; FELDHUSE apud FARIAS, 2008).

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 apud FARIAS, 2008).

O principal grupo de microrganismos utilizados como indicadores de contaminação são as bactérias, e dentre elas destaca-se a coliformes fecais, *Salmonella* sp., como indicadores de contaminação do ambiente de cultivo e o *S.aureus*, como indicador de contaminação pós-manipulação humana. (BRASIL apud FARIAS, 2008).

A transmissão para os seres humanos ocorre por meio do contato direto de hospedeiro para hospedeiro, ou de maneira indireta, via água ou alimentos contaminados, superfícies contaminadas e mecanicamente por artrópodes e, já se evidenciou a transmissão de oocistos de *Cryptosporidium* pela via aérea (FARIAS, 2008).

As ostras comercializadas em beira de praia, além de terem um grande risco de serem contaminadas pela água onde são colhidas, a forma como são comercializadas apresentam um grande risco, pois o local de armazenamento onde elas são comercializadas tem que estar em temperatura adequada e os utensílios do manipulador devem estar higienizados corretamente.

3.5 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS ENCONTRADOS EM OSTRAS

O pescado é uma das principais fontes de proteína do ser humano. É também um dos alimentos mais suscetíveis a deterioração devido a atividade de água elevado, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidável e, principalmente, ao pH próximo da neutralidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O problema, no entanto, não são as bactérias presentes no cultivo das ostras, mas as que surgem depois: a temperatura em que são conservadas proporciona sua reprodução. O controle da temperatura durante o transporte, na estocagem e no local de consumo é fundamental para reduzir os riscos e não permitir que as bactérias nativas se multipliquem (LOPES, 2007).

Microrganismos que são muito encontrado, é o grupo de coliformes termotolerantes, comumente chamados de coliformes fecais. É um grupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás (SILVA et al., 2007). O Ministério da Saúde, através da Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) adotou a denominação coliformes a 45°C, considerando os padrões "coliformes de origem fecal" e "coliformes termotolerantes" como equivalentes a coliformes a 45°C (SILVA; CAVALLI, OLIVEIRA, 2006). Os coliformes são indicadores de falha de processo ou de contaminação pós processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico (SILVA et al., 2007).

O *Estafilococos aureus* multiplicam em concentrações de até 15% de cloreto de sódio e em baixa atividade de água (0,85), se as outras condições de desenvolvimento estiverem ótimas. Multiplicam-se em uma ampla faixa de pH (4,2 a 9,3) e em temperaturas de 7 a 48°C. O microrganismo é resistente à dessecação, ao congelamento e sobrevive a temperaturas iguais ou menores que - 20°C, porém é

prontamente destruído pela pasteurização e cocção normais. Suas toxinas permanecem estáveis ao congelamento e são extremamente resistentes ao calor, não sendo inativadas em processos de esterilização de alguns alimentos enlatados e em radiação ionizante e não ionizante (HALPINDOHNLEK; MARTH apud MANPRIN, 2006).

3.6 PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE MOLUSCULOS BIVALVES (PNCMB)

Por serem organismos filtradores, os moluscos bivalves podem eventualmente acumular organismos patogênicos e toxinas em seu trato digestivo e tecidos, e esses consequentemente transferidos para o consumidor, causando intoxicações alimentares que podem levar até mesmo a morte. Frente à tarefa de melhorar a maricultura brasileira, a SEAP/PR se deparou com uma lacuna institucional e legal referente ao controle de qualidade dos moluscos cultivados ou coletados no Brasil (SUPLCY, 2007).

Após um trabalho iniciado em 2003, foi publicado no Diário Oficial da União em 19 de outubro de 2005, o Decreto 5.564 que institui o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (CNCMB), formado pela SEAP/PR, pelo Serviço de Inspeção de Pescado e Derivados do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SEPES/DIPOA/MAPA), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS) e pelo Departamento de Defesa Animal - DDA/MAPA, com a finalidade de estabelecer e avaliar os requisitos necessários para garantia da qualidade higiênico-sanitária dos moluscos bivalves visando à proteção da saúde da população e a criação de mecanismos seguros para o comércio nacional e internacional (SUPLICY, 2007).

No PNCMB que está em fase de elaboração, a SEAP/PR, juntamente com os órgãos estaduais, realizará levantamentos sanitários da orla, classificará as áreas de cultivo e extração de moluscos de acordo com seu grau de contaminação e manterá um

programa de monitoramento da qualidade da água nestas áreas, quanto ao nível de contaminação por coliformes fecais e ficotoxinas (algas tóxicas) (SUPLICY, 2007).

O SEPES/DIPOA, juntamente com órgão estaduais, credenciará as unidades e plantas de beneficiamento e depuração e promoverá a implementação de programas de certificação e Análise de Pontos Críticos de Controle (APCC) durante o transporte e manuseio destes produtos. A ANVISA, juntamente com órgãos estaduais, implementará um programa de identificação e controle de surtos de infecção alimentar, rastreando, recolhendo e destruindo lotes contaminados, além de moluscos colhidos de áreas não monitoradas. A ANVISA cuidará ainda das etapas de transporte, distribuição e comercialização. (SUPLICY, 2007).

No caso de alguma intoxicação alimentar, o consumidor poderá acionar o CNCMB através da Internet ou por um telefone de atendimento ao consumidor, informando o lote que consumiu e os sintomas que está sentindo. A ANVISA realizará então uma investigação para identificar se a contaminação ocorreu na etapa de cultivo, processamento ou comercialização e notificará o CNCMB para que tome as medidas necessárias como o fechamento de uma área de cultivo ou o recolhimento e destruição do lote contaminado (SUPLICY, 2007).

O PNCMB será implantado gradativamente, começando pelo estado de Santa Catarina por esse concentrar 97% da produção nacional de moluscos. Nos anos seguintes, o PNCMB será expandido para os demais estados. Trata-se de uma meta ambiciosa, porém estritamente necessária, que será acompanhada de programas de capacitação e conscientização de maricultores, pescadores, processadores, comerciantes e consumidores de moluscos bivalves, além de uma série de investimentos substanciais dos governos federal e estadual na implementação do PNCMB, como na aquisição de embarcações, automóveis, equipamentos e pessoal, além da realização de uma campanha de esclarecimento público sobre os riscos de consumo de moluscos não certificados pelo programa. A interação da SEAP/PR com o

Ministério das Cidades e com os governos estaduais também será extremamente importante para aumentar os investimentos em saneamento básico e em estações de tratamento de esgotos (SUPLICY, 2007).

A idéia do programa é muito boa, pois irá contribuir para a diminuição da contaminação e terá um controle da qualidade do produto no momento da coleta, exportação e comercialização. Porém até esta data o programa ainda não foi posto em prática.

3.4 MEDIDAS DE CONTROLE MICROBIOLÓGICO DAS OSTRAS

Dentre os vários microrganismos 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 (FARIAS, 2008).

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 (FARIAS, 2008).

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 (FARIAS, 2008).

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 (FARIAS, 2008).

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 (FARIAS, 2008).

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 (FARIAS, 2008).

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. (VIEIRA apud FARIAS, 2008).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

É uma pesquisa descritiva laboratorial tendo em vista que ocorreu uma verificação da qualidade microbiológica das amostras de ostras.

4.2 MATERIAL

Os materiais utilizados foram ostras cruas comercializadas na praia de ponta negra Natal – RN, além de meios de cultura, vidrarias e equipamentos disponibilizados no laboratório de Microbiologia de Alimentos da UNI-RN.

4.2.1 Amostragem

Forão analisadas 20 amostras de ostras cruas de 4 ambulantes, com 5 amostra de cada na praia de Ponta Negra Natal – RN. A coleta da amostra foi feita no periodo de 6 a 10 de agosto de 2012 e adquirida de forma aleatória na qualidade de consumidor. As amostras foram armazenadas em recipientes estéreis, imerso em gelo e levadas ao laboratório de microbiologia de alimentos da UNIRN para análise imediata.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Diagnóstico da comercialização de ostra

No momento da coleta da amostra, foi observado a higiene do ambulante, o utensílio utilizado pelo mesmo, o depósito onde o alimento estava acondicionado e se o alimento estava imerso em gelo (Apêndice 1).

4.3.2 Preparação da Amostragem

As amostras foram preparadas de acordo com as normas do International Commission on Microbiological Specification (ICMSF, 1978). Cada amostra com 10g foram pesadas e triturada assepticamente. A porção foi colocada em um Erlenmeyer estéril com 90mL de água peptonada 0,1% e homogeneizada por 2 minutos, para se ter a diluição inicial 10^{-1} . Partindo-se desta diluição, foram feitas mais duas diluições decimais (10^{-2} e 10^{-3}) utilizando o mesmo diluente.

4.3.3 Determinação de coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)

4.3.3.1 Prova presuntiva

De cada diluição decimal da amostra, foram tomadas três porções de 1,0 mL e transferidas para tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril com tubos de Durham invertidos. Após completa homogeneização, foi colocado os tubos na estufa à 35°C por 24 a 48 horas. Passado esse tempo, foi realizada a leitura. Os tubos que apresentaram turvação com produção de gás (positivos) foi submetidos à prova confirmatória.

4.3.3.2 Prova confirmatória

A partir dos tubos positivos da prova presuntiva, foi semeada uma alíquota de cada cultura, com uma alça de platina, para tubos contendo 10 mL de Caldo E.C. com tubos de Durham invertidos e incubados em banho-maria à 45°C por 24 horas. Os tubos que obtiveram turvação e produção de gás, após a incubação foram tidos como positivos, caso os mesmos obtiveram apenas turvação foram tidos como negativo. Para cada diluição foram anotado o número de porções positivas e negativa, através da tabela de Hoskins (APHA, 1975).

4.3.4 Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva (ICMSF, 1978)

4.3.4.1 Semeadura Inicial

Inicialmente, foi semeado, em placas de Agar Baird – Parker 1ml de cada diluição da amostra, na superfície do meio que foram espalhadas com uma alça de Drigalski estéril. Em seguida, as placas foram levadas à estufa e incubadas à 35°C por 24 á 48 horas.

4.3.4.2 Contagem e isolamento de colônias típicas

Após o período de incubação, iriam ser realizadas as contagens das colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, caracterizadas pela cor negra brilhante, com zona de precipitação branca roseada por um halo claro transparente. Após a contagem, seriam isoladas e semeadas no Caldo infusão de Cérebro e Coração(BHI) e levadas para a estufa à 35°C por 24 horas.

4.3.4.3 Identificação das cepas isoladas

Para a identificação das cepas será realizada a Prova da Coagulase (CMSF, 1978).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as análises feitas nas amostras de ostras cruas comercializadas por ambulantes na praia de Ponta Negra Nata-RN, não houve contaminação de Coliformes a 45°C e nem proliferação de colônias típicas de *Staphylococcus* coagulase positiva, ambos apresentaram resultados negativos. Porém todas as amostras obtiveram proliferação de outras bactérias não identificadas.

A legislação brasileira através da portaria nº 12, de 2 de janeiro de 2001, estabelece um regulamento técnico: os princípios gerais, critérios e padrões microbiológicos para alimentos (ANVISA, 2001). Onde os moluscos que não apresentam contaminação por essas bactérias específicas (coliformes fecais e *Staphylococcus* coagulase positiva) estão próprios para consumo, independente delas apresentares contaminação por outras bactérias.

Os comerciantes relataram que as ostras coletadas não são provenientes de Natal e sim de cidades vizinhas, devidos as ostras de Ponta Negra não ter nenhuma condição para consumo, por serem estragas e ou apresentarem um tempo de vida muito curto devido a poluição do local.. As outras bactérias encontradas nas amostras podem ser da água do mar, já que as ostras são bioindicadores e microrganismos filtradores ou da própria manipulação dos ambulantes, ou das condições inadequada de manipulação e cuidados higiênico-sanitário.

Muitos estudos mostram que os locais onde há um maior índice de contaminação da água, conseqüentemente irá ter uma maior transmissão de doenças pelo consumo desses alimentos. PEREIRA *et al.* (2003) estudaram a qualidade da ostra *Crassostrea gigas* cultivada e comercializada na região de Florianópolis (SC), a presença de *E. coli* foi detectada em 9% das amostras da área de cultivo e em 35,5% das obtidas no comércio. Os resultados indicaram a necessidade de monitoramento da qualidade das

ostras e da água onde eram cultivadas, incluindo a implantação de programas de boa manipulação e boas práticas no manejo de moluscos.

No período de aquisição das amostras foi possível observar as condições dos ambulantes, que possibilitou observar algumas condições higiênico – sanitário irregulares dos mesmos. Veja no gráfico abaixo:

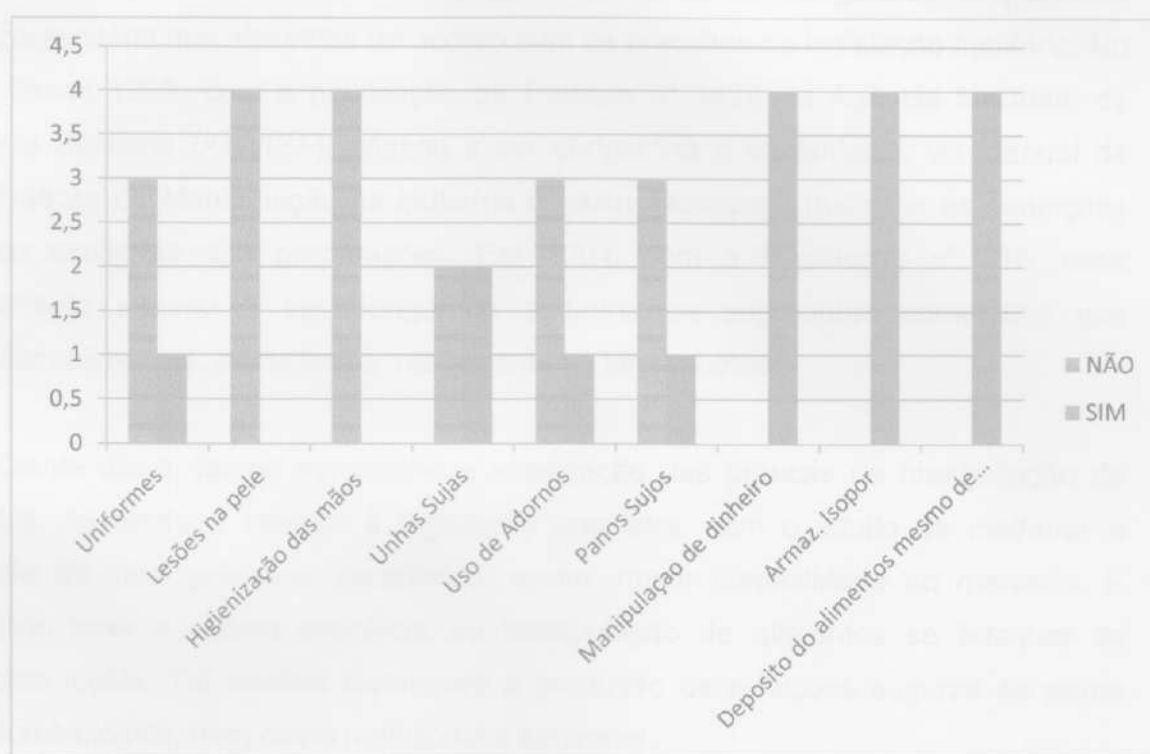


Tabela 1: Condições dos ambulantes no momento da coleta das amostras.

Sabe-se que o número e a gravidade de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), em todo o mundo, têm aumentado consideravelmente o interesse do público em relação à segurança alimentar (FORSYTHE, 2002).

Uma alternativa para a redução desses números e conseqüente a garantia da oferta de alimentos seguros ao consumidor, é a adoção de artifícios que visem a prevenção e redução a um nível aceitável ou ainda a eliminação de quaisquer agentes

físicos, químicos ou biológicos que possam danificar a integridade dos gêneros alimentícios (RDC 216).

A Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004 institui as Boas Práticas, que consistem em métodos a serem seguidos pelos serviços que se dedicam ao fracionamento, armazenagem, distribuição, transporte, exposição à venda e entrega de alimentos destinados ao consumo humano, com o intuito de garantir a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos de acordo com os preceitos da legislação sanitária. No Brasil, desde 1993, com a publicação da Portaria nº 1428 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), passou a ser obrigatória a implantação do Manual de Boas Práticas de Manipulação na indústria de alimentos, para melhorar as condições higiênico sanitárias das preparações. Em 2004, com a Resolução nº 216, esse procedimento passou a ser obrigatório a todos os segmentos comerciais que manipulam alimentos, como bares, restaurantes e lanchonetes.

Diante disso, faz-se necessário a adequação das práticas de manipulação de alimentos, de modo a atender a legislação brasileira, com o intuito de melhorar a qualidade de seus produtos, garantindo, assim, maior credibilidade no mercado. É necessário toda a cadeia envolvida na manipulação de alimentos se adequar às exigências legais. Tal medida favorecerá a produção de refeições seguras do ponto vista microbiológico, bem como nutricional e sensorial.

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados indicam que as amostras de ostras estão próprias para consumo, por não apresentarem contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva nem por coliformes a 45°C. Vale ressaltar, que 100% das amostras apresentaram contaminação por outros microrganismos não identificados, o que indica que apenas os parâmetros considerados para a qualidade higiênico-sanitária podem não ser suficientes para garantir a qualidade de um alimento.

Os dados obtidos sugerem que condições inadequadas de manipulação e higiene por parte dos manipuladores podem ter contribuído para a contaminação dos produtos. A vantagem desse produto é o consumo na hora, apesar dos ambulantes não terem uma boa condição higiênica, esse fator pode evitar uma maior proliferação de bactérias. Desta forma, ressalta-se a necessidade da adoção de boas práticas de manipulação destes alimentos, visando a melhoria da qualidade dos mesmos e, conseqüentemente, da saúde da população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETTO, TIAGO LUIS; STURION, GILMA LUCAZECHI. Perfil Epidemiológico dos Surtos de Toxinfecções Alimentares em um Município do Estado de São Paulo. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo. vol. 24, nº 180/181, janeiro/fevereiro, 2010.

BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

ASSUNÇÃO, I. B. et al. Seminário de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos. Disponível em: <http://www1.pucminas.br/proex/arquivos/manipulacao_alimentos.pdf>. Acesso em: 20 de novembro de 2012.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/alimentos>>. Acesso em: 29 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Pesca e Agricultura. Diretoria de Desenvolvimento da Aquicultura – DIDAQ. Disponível em: <[http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/didaq/htm2/prog_nac_controle_higienico\(MoluscosBivalves\).html](http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/didaq/htm2/prog_nac_controle_higienico(MoluscosBivalves).html)>. Acesso em: 25 de setembro de 2011.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RCD nº12, de 2 de Janeiro de 2001** - Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 11 de agosto de 2012.

BRASIL - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 set. 2004.

CAVALCANTI, A. Monitoramento da contaminação por elementos traço em ostras comercializadas em Recife, Pernambuco, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.5. Set./Out. 2003.

CORTES, M.B.V.; WASSERMAN, J.C; AVELAR, J.C.L. **Gestão da Qualidade de Moluscos Bivalves de Cultivos da Baía Da Ilha Grande** (Paraty, Angra Dos Reis e

Mangaratiba). *Anais do V Congresso Nacional de Excelência em Gestão*, Niterói, RJ. 1-12 (2009).

FARIAS, H. **Qualidade higiênico-sanitária na cadeia produtiva de ostras, crassostreaso., cultivadas na Baía de Guaratuba, PR, Brasil.** 2008. 94 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinária) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2008.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002 424p. (Biblioteca Artmed. Nutrição e tecnologia de alimentos).

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, B. D. G. M. ; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2008.

GIL, A. C. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa.** 3° ed. São Paulo, 1996.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos.** 6° ed. São Paulo: artimed, 2005.

LEAL, D. A. G. **Avaliação da contaminação de ostras (*Crassostrearhizophorae*) por espécies de *Cryptosporidium* e *Giardia* em um ambiente de estuário do litoral de São Paulo.** 2008. 188 f. Dissertação (Mestre em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2008.

LOPES, L. **Quando a Ostra Deixa de Ser Iguaria e Passa a Vilã da Alimentação.** Disponível em: <<http://www.usp.br/agen/?p=6235>>. Acesso em: 4 out. 2011.

MANPRIN, A. F. **Pesquisa de Genes Responsáveis pela Produção de Enterotoxinas a Partir de Cepas de *Staphylococcus* Coagulasse Positiva e Negativa Isoladas das Fossas Nasais e Mãos de Manipuladores de Alimentos.** 2006. 66f. Dissertação (Mestre em Medicina veterinária) – Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2006.

PEREIRA, C.S.; POSSAS, C.A.; VIANA, C.M.; RODRIGUES, D.P. *Vibrio* spp. isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) *in natura* e pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27: 387-390 (2007).

RABELO, M. F. Aspectos fisiológicos e moleculares da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) como sentinela da contaminação por Zn e Cd na baía de Sepetiba, RJ. 2001. 80f. Doutorado em ciências-Instituto de biofísica carlos chagas filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, São Paulo, 2001.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3° ed. São Paulo: livraria varela, 2007.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2002.

SILVA, M.P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. **Avaliação do Padrão Coliformes a 45°C e Comparação da Eficiência das Técnicas dos Tubos Múltiplos e Petrifilmec na Detecção de Coliformes Totais e Escherichia Coli em Alimentos**. Ciência Tecnológicas de Alimentos. Campinas, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30183.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2011.

SUPLICY, F. M. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca - SEAP/PR. **Ações do MAPA e da SEAP/PR no Controle de Qualidade dos Moluscos**. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/lisimcope/palestra_rui_donizete.pdf> Acesso em: 04 de out. 2011>. Acesso em: 04 out. 2011.

SIQUEIRA, K. L. F. **AVALIAÇÃO DO SISTEMA DE CULTIVO DE OSTRAS DO GÊNERO *Crassostrea* (SACCO, 1897) NO ESTUÁRIO DO RIO VAZAS-BARRIS (SERGIPE)**. 2008. 77f. Dissertação (mestre em saúde e ambiente). Universidade Tiradentes – UNIT. ARACAJU. 2008.

APÊNDICE 1 : FIXA DE AVALIAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO DE COMERCIALIZAÇÃO

Local: _____

Data: _____ Hora: _____

Ambulante: _____ N° de Amostra: _____

- Uso de Uniformes? ()sim ()não
- Uso de Adornos? ()sim ()não
- Unhas limpas e aparadas? ()sim ()não
- Usa luvas para o preparo no momento da venda? ()sim ()não
- O Ambulante que manipula os alimentos é a mesma que manipula o dinheiro?
()sim ()não
- Com qual produto é feita a limpeza das mãos e do utensílio utilizado?
() pano de prato () outros () não foi observada a limpeza
- Recipiente de armazenamento: () isopor () outro
- A ostra estava imersa no gelo no momento da compra? ()sim ()não
- As ostras comercializadas pelos ambulantes são adquiridas na praia de ponta negra? ()sim ()não