

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E QUÍMICA DE *Mytella guyanensis*
COLETADO EM ESTOQUES NATURAIS E COMERCIALIZADO
NO MUNICÍPIO DE CACHOEIRA, BAHIA**

ALLANA DE OLIVEIRA SANTOS

**CRUZ DAS ALMAS – BA
JULHO-2016**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E QUÍMICA DE *Mytella guyanensis*
COLETADO EM ESTOQUES NATURAIS E COMERCIALIZADO
NO MUNICÍPIO DE CACHOEIRA, BAHIA**

ALLANA DE OLIVEIRA SANTOS

FARMACÊUTICA

Faculdade Maria Milza, 2014

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Dr^a Isabella de Matos Mendes da Silva

Co-orientadora: Msc. Valéria Macedo Almeida Camilo.

CRUZ DAS ALMAS – BA

JULHO-2016

FICHA CATALOGRÁFICA

S237a

Santos, Allana de Oliveira.

Análise microbiológica e química de *Mytella guyanensis* coletado em estoques naturais e comercializado no município de Cachoeira, Bahia / Allana de Oliveira Santos._ Cruz das Almas, BA, 2016. 87f.; il.

Orientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva.
Coorientadora: Valéria Macedo Almeida Camilo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Bivalve (Molusco) – Contaminação. 2.Bivalve – Qualidade microbiológica. 3.Comercialização – Higiene alimentar – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 594.1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ALLANA DE OLIVEIRA SANTOS

Isabella de Matos Mendes da Silva

Dr^a Isabella de Matos Mendes da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
(Orientadora)

Tatiana Pacheco Rodrigues

Dr^a Tatiana Pacheco Rodrigues
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Helio Mitoshi Kamida

Dr. Helio Mitoshi Kamida
Universidade Estadual de Feira de Santana– UEFS

Tudo que faço é para vocês, meus
exemplos de vida, meus pais!
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me apoiaram nessa etapa nada fácil, porém de bastante aprendizado e experiências.

A Deus, por ter permitido a realização de mais uma etapa e por ter me dado forças durante todo o curso.

Aos meus pais Alfredo e Ana, por colaborarem desde o princípio, sempre me incentivando a correr atrás de meus objetivos, ajudando em tudo que foi preciso.

Aos meus irmãos Adilon e Júnior, pelos momentos que necessitei de sua presença.

A Thiadson Alan, obrigada meu amor pelo carinho, dedicação e colaboração durante as coletas das amostras, sempre disposto a me ajudar.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Isabella de Matos Mendes da Silva, pelo apoio, confiança, paciência e orientação. Um exemplo de profissional a ser seguido.

A minha co-orientadora Prof^a Msc. Valéria Macedo Almeida Camilo, pela orientação, disponibilidade e colaboração na execução da pesquisa, sempre disposta a me ajudar.

A todos professores pelos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Fábio Santos Oliveira, pela ajuda, esclarecimentos e ensinamentos com relação à análise química de metais, pelo auxílio na leitura das amostras no Laboratório de química do IFBA e na execução da análise estatística relacionada à PCA.

À Jerusa Mota pela disponibilidade e ajuda na estatística.

À Fernanda Freitas, pela disponibilidade em esclarecer minhas dúvidas sempre quando precisei.

À minha amiga Barbara Velame, por nunca ter negado uma opinião sincera e objetiva, compartilhando boas dicas acadêmicas.

À comunidade quilombola da RESEX Baía do Iguape, pelo apoio e ajuda durante a coleta das amostras.

MUITO OBRIGADA!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Capítulo 2	Parâmetros instrumentais de operação do ICP OES	44
Tabela 2 - Capítulo 2	Média de concentração microbiana (Log UFC.g ⁻¹) por ponto em <i>Mytella guyanensis</i> coletado na RESEX Marinha Baía do Iguape em período sazonal	47
Tabela 3 - Capítulo 2	Concentração média (mg.kg ⁻¹) dos metais chumbo e cádmio de <i>Mytella guyanensis</i> coletado na RESEX Baía do Iguape em período sazonal	48
Tabela 4 - Capítulo 2	Média da concentração microbiana (Log UFC.g ⁻¹) e de metais tóxicos (mg.kg ⁻¹) em <i>Mytella guyanensis</i> da Baía do Iguape em relação a sazonalidade.	49
Tabela 1 - Capítulo 3	Média da análise microbiológica (Log/UFC/g) e desvio padrão de <i>Mytella guyanensis</i> comercializado em Cachoeira (Bahia, Brasil), 2015-2016.	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Capítulo 1	Espécie em estudo: <i>Mytella guyanensis</i>	20
Figura 1 - Capítulo 2	Localização dos pontos de coleta	43
Figura 2 - Capítulo 2	Valores médios de temperatura (°C), salinidade da água (‰) e pH no período da coleta na RESEX Marinha Baía do Iguape (Bahia, Brasil)	45
Figura 3 - Capítulo 2	Pluviosidade (mm) acumulada nos meses do estudo	46
Figura 4 - Capítulo 2	Análise de Componentes Principais (PC1 e PC2) com a quantificação de microrganismos e metais tóxicos em <i>Mytella guyanensis</i> da Baía do Iguape (Bahia, Brasil) com os fatores ambientais	51
Figura 5 - Capítulo 2	Análise de Componentes Principais (PC1 e PC2) de amostras de <i>Mytella guyanensis</i> da Baía do Iguape (Bahia, Brasil) em dois períodos de coleta.	52
Figura 1 - Capítulo 3	Percentual de adequação dos itens avaliados em estabelecimentos comerciais de Cachoeira, Bahia, Brasil.	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
BPM	Boas Práticas de Manipulação
BTS	Baía de Todos Santos
Cd	Cádmio
DTA	Doença Transmitida por Alimentos
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorágica
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasora
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
EUSQUAP	European Union Shellfish Quality Assurance Programme
FABESB	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ICP OES	Espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado
IFBA	Instituto Federal da Bahia
INEP	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
kg	Quilograma
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
mg	Miligrama
mL	Mililitro
MPA	Ministério de Pesca e Aquicultura
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
Pb	Chumbo
PCA	Análise de Componentes Principais
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNCMB	Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves
RESEX	Reserva Extrativista

SPSS Statistical Package for the Social Sciences
UFC Unidade Formadora de Colônia

ÍNDICE

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	14
CAPÍTULO 1	
Revisão de literatura: Microrganismos e metais tóxicos como fonte de contaminação em sururus (<i>Mytella guyanensis</i>).....	16
Resumo.....	17
Abstract.....	17
Moluscos bivalves.....	18
Sururu (<i>Mytella guyanensis</i>)	19
Extrativismo de sururu na Baía do Iguape.....	21
Sururu como veículo de transmissão microbiana.....	21
Coliformes Toais, Termotolerantes e <i>Escherichia coli</i>	22
<i>Staphylococcus aureus</i>	24
Padrões microbiológicos.....	25
Boas práticas de manipulação como alternativa para inocuidade dos alimentos.....	25
Substâncias inorgânicas com poluentes químicos.....	26
Chumbo.....	28
Cádmio.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2	
Qualidade microbiológica e química de sururu (<i>Mytella guyanensis</i>) em períodos estacionais na Resex marinha Baía do Iguape.....	39
Resumo.....	40
Abstract.....	41
Introdução.....	41
Metodologia.....	42

Resultados e discussão.....	45
Conclusões.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO 3	
Condições higiênico-sanitárias e análise microbiológica de <i>Mytella guyanensis</i> comercializado em Cachoeira, Bahia, Brasil.....	56
Resumo.....	57
Abstract.....	58
Introdução.....	58
Material e métodos.....	59
Resultados e discussão.....	61
Conclusão.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
APÊNDICES.....	69
ANEXOS.....	73

RESUMO

SANTOS, A. O. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E QUÍMICA DE *Mytella guyanensis* COLETADO EM ESTOQUES NATURAIS E COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE CACHOEIRA, BAHIA

O trabalho objetivou determinar a qualidade microbiológica e química de *M. guyanensis* coletados em estoques naturais, assim como verificar as condições higiênico-sanitárias dos pontos de venda que comercializavam esse bivalve processado. Foram coletadas 30 amostras in natura e 48 processadas no período de junho de 2014 a fevereiro de 2016. As populações de Coliformes totais e *Escherichia coli* foram estimadas pelo método de contagem rápida Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 991.14), e as de *Staphylococcus aureus* utilizando placas STX (AOAC 955.15). A quantificação de chumbo e cádmio foi realizada pela técnica ICP-OES e os aspectos higiênico-sanitários foram avaliados por meio da aplicação de uma lista de verificação (*check list*). Para as amostras in natura, a quantificação dos microrganismos estava dentro do limite permitido pela legislação. Já a análise química demonstrou que todas as amostras analisadas apresentaram concentrações de chumbo duas vezes e cádmio quatro vezes acima do permitido pela legislação, logo sob o ponto de vista sanitário as amostras in natura encontram-se impróprias ao consumo. As amostras processadas apresentaram alto índice de contaminação para todos os microrganismos pesquisados e os pontos de venda apresentaram inadequações com relação à conduta do manipulador, higienização do ambiente e condições de comercialização, destacando a comercialização a temperatura inadequada. Desta forma, ao analisar as amostras de *M. guyanensis* in natura e processadas, conclui-se que houve falhas no processamento do molusco e inadequações na comercialização, sendo necessário o monitoramento para o controle da poluição e realização de atividades educativas com os manipuladores para minimizar e combater os riscos de contaminação do bivalve, garantindo a saúde do consumidor.

Palavras chave: Bivalve. Processamento. Coliformes. Metais tóxicos.

ABSTRACT

SANTOS, A. O. ANALYSIS MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL *Mytella guyanensis* COLLECTED IN STOCKS NATURAL AND MARKETED IN MUNICIPALITY CACHEIRA, BAHIA

The study aimed to determine the microbiological and chemical quality of *M. guyanensis* collected in natural stocks, as well as check the sanitary conditions of the selling points that traded this bivalve processed. 30 samples were collected in natura and processed in the period 48 June 2014 to February 2016. The populations of total coliforms and *Escherichia coli* were estimated by Petrifilm™ quick count method (3M Company) using EC cards (AOAC 991.14) and *Staphylococcus aureus* using STX cards (AOAC 955.15). Quantification of lead and cadmium was carried out by ICP-OES technique and hygienic-health aspects were evaluated by applying a checklist (checklist). For fresh samples, quantification of microorganisms was within the limit allowed by law. Already the chemical analysis showed that all the samples analyzed had concentrations of lead and cadmium twice four times higher than allowed by law, then from the health point of view the fresh samples are unsuitable for consumption. The processed samples showed high contamination rate for all organisms studied and outlets showed inadequacies with respect to the conduct of the handler, environmental hygiene and marketing conditions, highlighting the marketing inadequate temperature. Thus, when analyzing samples *M. guyanensis* in natura and processed, it is concluded that there were errors in shellfish processing and inadequacies in marketing, requiring monitoring for pollution control and implementation of educational activities with the handlers to minimize and combat bivalve contamination risk by ensuring the health of consumers.

Keywords: Bivalve. Processing. Coliforms. toxic metals.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, a cada ano, mais de um milhão e meio de pessoas morrem por infecções diarreicas, muitas das quais foram adquiridas por Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (BRASIL, 2014). Uma das causas das DTA é o consumo de moluscos bivalves crus ou coccionados de maneira incorreta, coletados de águas contaminadas, visto que essas doenças podem ser desencadeadas, tanto por um agente infeccioso contaminante do alimento ingerido, quanto pela toxina por ele produzida (BRASIL, 2001).

O consumo de pescados¹ contaminados é visto como uma prática que oferece risco a segurança alimentar do consumidor. Dentre os pescados destaca-se o bivalve *M. guyanensis* (Lamarck, 1819), conhecido popularmente como “sururu” ou “marisco-do-mangue”, o qual é um importante recurso pesqueiro para populações litorâneas do Brasil, sendo considerado fonte de subsistência e renda (NISHIDA; NORDI; ALVES, 2008).

Mytella guyanensis, assim como os outros bivalves, além de ser considerada fonte de proteína para alimentação, são indicadores ambientais, visto que apresentam morfologia de animal filtrador, possuindo a capacidade de absorver substâncias químicas e microrganismos presentes no ambiente, os quais são considerados potencialmente prejudiciais à saúde humana (NASCIMENTO, 2011).

Alguns microrganismos associados aos moluscos bivalves podem causar surtos de toxinfecções alimentares em humanos por meio da ingestão desse molusco contaminado. Sua microbiota envolve *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., Estafilococos coagulase positiva e *Vibrio* spp. (PEREIRA et al., 2006; SANDE et al., 2010). A contaminação microbiana pode ser resultante do ambiente, ou pode ser adquirido por meio da manipulação inadequada, no armazenamento e durante o processo de comercialização (SILVA JUNIOR, 2014).

A presença da bactéria *Staphylococcus aureus* em alimentos, por exemplo, é indicativo de falhas higiênico-sanitárias e os estabelecimentos

¹ Pescado- todos os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana (BRASIL, 2015).

comerciais que desconhecem as boas práticas de manipulação podem favorecer o aumento da população microbiana, e conseqüentemente o surgimento de DTA (REALON; SILVA, 2009).

Além dos perigos biológicos, águas contaminadas por poluentes químicos representam riscos à saúde ambiental e pública, uma vez que podem ter efeitos tóxicos tanto para os seres humanos quanto para os animais (SANTOS, 2009). O contato com esses tipos de poluentes nos animais causam alterações que começam no nível celular/molecular estendendo-se para tecidos e órgãos, desencadeando efeitos secundários, os quais levam a anomalias ou mortalidade (SANDERS,1990). Já para humanos, estudos demonstram que pode ocasionar distúrbios no sistema nervoso central, podendo ocasionar óbito (FERREIRA et al., 2007).

Sendo assim, o sururu (*M. guyanensis*) pode estar relacionado à contaminação ambiental causado por impactos antrópicos e pode ser veiculador de vários microrganismos patogênicos ao ser humano (BARROS; BARBIERI, 2012; DOI et al., 2012). Face ao exposto, estudos avaliando as condições in natura e o processamento de moluscos são de suma importância para o meio ambiente e para a saúde pública, prevenindo ou ajudando a elucidar riscos.

CAPÍTULO 1

Revisão de Literatura: Microrganismos e metais tóxicos como fonte de contaminação em sururus (*Mytella guyanensis*)

RESUMO - Uma das causas de DTA está associada com o consumo de bivalves contaminados, os quais normalmente são ingeridos crus ou ligeiramente cozidos. Dentre esses moluscos, destacam-se o sururu (*M. guyanensis*), que além de ser utilizado na alimentação como fonte de proteína, é considerado indicador ambiental. Devido à morfologia de animal filtrador, este possui a capacidade de acumular substâncias químicas e microrganismos presente na água. Na contaminação química, o chumbo e o cádmio são uma das principais substâncias inorgânicas com elevado potencial de risco à contaminação, causando efeitos toxicológicos tanto para os seres humanos quanto para os animais, fator este que pode ser agravado por meio de lançamentos de efluentes domésticos e industriais não tratados, que afetam diretamente a qualidade do ecossistema. A contaminação microbiana pode ser resultante do próprio ambiente onde são capturados, ou através da manipulação inadequada, no armazenamento e durante o processo de comercialização. A manipulação inadequada compromete a qualidade sanitária do alimento, portanto o manipulador é considerado um importante veículo de transmissão de microrganismos.

Palavras chaves: Bivalve. Segurança alimentar. Toxicidade.

ABSTRACT - One of the causes DTA is associated with the consumption of contaminated molluscs, which are usually eaten raw or slightly boiled. Among these mollusks, they highlight the mussels (*M. guyanensis*), which in addition to be used in feed as a protein source, is considered environmental indicator. Due to the morphology of animal filtrador, this has the ability to accumulate chemicals and micro-organisms present in the water. In chemical contamination, lead and cadmium are one of the main inorganic substances with a high potential risk for contamination, causing toxicological effects both for humans and for animals, a factor that can be aggravated by domestic effluent discharges and industrial untreated, which directly affect the quality of the ecosystem. Microbial contamination may be the result of their own environment where they are captured, or through improper handling, storage and during the marketing process. Improper handling compromises the health quality of food, so the handler is considered an important microorganisms transmission vehicle.

Keywords: Bivalve. Food security. Toxicity.

MOLUSCOS BIVALVES

É denominado molusco bivalve animais que possuem um corpo mole protegido por uma concha de duas valvas, as quais, por sua vez, mantêm-se unidas devido à presença dos músculos adutores. Apresenta músculos em cada uma das suas extremidades e sua retração faz com que as válvulas fechem (IPIMAR, 2008).

Dentre os bivalves comestíveis comercializados no Brasil, destacam-se, *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819), *Mytella falcata* (Orbigny, 1842), *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818), *Tagelus plebeius* (Linnæus, 1758), *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), *Perna perna* (Linnaeus, 1758) e *Anomalocardia brasiliensis* (Gmelin, 1791) (MONTELES et al., 2009).

Devido ao seu alto valor nutricional, os mesmos desempenham elevada importância na dieta humana por ser fonte de nutrientes essenciais (FAO, 2012), como proteína, vitaminas (A e D), minerais como zinco, ferro e cobre, ácidos graxos poliinsaturados ômega-3, carboidratos e apresentam baixo valor calórico (FAUCONNEAU, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2008; HUI et al., 2006; AVEIRO, 2007).

Sua composição e qualidade podem ser influenciadas por diversos fatores, dependendo da espécie. Entre indivíduos da mesma espécie, a composição depende de fatores genéticos, fisiológicos, grau de maturação sexual, idade, sexo, zona geográfica, época do ano, dieta e disponibilidade alimentar, fatores ambientais (temperatura da água, salinidade, oxigênio dissolvido), sistema de cultivo, manuseio e condições de conservação (HAARD, 1992; NUNES et al., 2008).

Apesar dos benefícios, existem riscos associados ao consumo desses bivalves, pois os mesmos possuem a fisiologia de animais filtradores, podendo incorporar e bioacumular em seus tecidos diversos patógenos humanos eventualmente presentes nas águas estuarinas, tais como, bactérias e protozoários, assim como contaminantes químicos (NASCIMENTO, 2011; MORESCO et al, 2012). Os estuários são ambientes aquáticos de transição onde os rios deságuam no mar, havendo interação de águas marinhas e continentais (LEAL; FRANCO, 2008).

Esse ambiente é favorável a diferentes tipos de contaminação resultantes de ações antrópicas através de lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados que afetam diretamente a qualidade da água, podendo causar riscos à saúde humana e às espécies presentes no habitat (MIRANDA; CASTRO; KJERFVE, 2002; HENRIQUES et al., 2003; BARBIERI; DOI, 2011; BARROS; BARBIERI, 2012; DOI et al., 2012).

A condição do ambiente estuarino não é o único fator determinante para a qualidade higiênico-sanitária do bivalve, há também outros fatores relacionados com as etapas posteriores a captura, como é o caso da manipulação, transporte e armazenamento (PEREIRA, 2003; VIEIRA et al., 2006).

O manipulador de alimentos é considerado um importante veículo de contaminação dos alimentos por microrganismos (SANTOS; SOUZA, 2013). Várias atitudes favorecem a veiculação, como tossir, espirrar, higienizar as mãos incorretamente, usar adornos, não usar toucas, aventais e não realizar exames médicos laboratoriais frequentemente, constituindo-se fatores de risco para a contaminação do alimento (SILVA JÚNIOR, 2014).

Estudos como o de Freitas et al. (2015) ratificam essas afirmações, o qual teve como objetivo avaliar as condições higiênico-sanitárias do processamento de sururu em quatro comunidades da Baía do Iguape, concluindo que a maior fonte de contaminação do bivalve foi proveniente das mãos das marisqueiras, as quais apresentaram elevada população de *Staphylococcus aureus*. De acordo com Silva Junior (2012) isso indica falha higiênico-sanitária no processo de desconchamento do molusco.

As DTA estão diretamente relacionadas com a carência de controle higiênico-sanitário e pela falta de conhecimento sobre a segurança sanitária dos manipuladores de alimentos (BEZERRA; MANCUSO; HEITZ, 2014).

SURURU (*Mytella guyanensis*)

A espécie *M. guyanensis* (Figura 1), é um molusco comestível que pertence ao Filo Mollusca, Classe Bivalvia, Ordem Mytiloidea, Família Mytilidae, Gênero *Mytella* (RIOS, 1994), conhecida popularmente como sururu ou

marisco-do-mangue e encontrada do México ao Peru, no Oceano Pacífico, e da Venezuela ao Brasil, no Atlântico (RIOS, 2009).

Encontra-se em bosques de mangue, situados na zona entremarés de ambientes estuarinos, vive enterrado no substrato lodoso, numa profundidade máxima de 1,0 cm, onde utiliza o bisso para se fixar nas raízes subterrâneas (NISHIDA; LEONEL, 1995; MARQUES, 1998). A sua visualização e captura é facilitada graças à posição perpendicular, que forma uma pequena marca retilínea deixada pela borda das valvas na superfície do substrato (ADORNO, 2003).



Figura 1. Espécie em estudo: *Mytella guyanensis*

Fonte: Acervo do projeto

Apresenta uma concha grande (BOFFI, 1979) e pode apresentar comprimento máximo de 80 mm (CRUZ; VILLALOBOS, 1993). É um bivalve dióico com proporção sexual de 1:1, sendo que foi encontrado na Costa Rica (CRUZ-VILLA_LOBOS,1993) e no Brasil (CAMILO et al, 2016) fêmeas com tecido gonádico apresentando coloração que varia de alaranjado a vermelho-pardo e nos machos de branco-leitoso a marrom-claro.

EXTRATIVISMO DE SURURU NA BAÍA DO IGUAPE

A RESEX Marinha Baía do Iguape foi criada em 11 de agosto de 2000 sobre uma área de 10.082.45 hectares. É uma Unidade de Conservação de uso sustentável, que consubstanciam uma territorialidade, dada pelo uso e manejo dos recursos naturais pelas populações tradicionais (BRASIL, 2009).

Nela existem 20 comunidades, formadas por remanescente de quilombos que têm sua subsistência e renda baseada na exploração de *M. guyanensis*, proveniente do manguezal (PROST,2010).

Geograficamente, a Baía de Iguape tem uma área total de 76,1 km², sendo composta por três setores: Norte, Central e Sul. Os setores Norte e Sul têm canais de maré com largura média de 200 m e profundidades entre 5 e 10 m, se estendendo por cerca de 11 km e 7 km, respectivamente. O setor Central é raso, com grandes bancos de areia alongados e paralelos a corrente de maré, em exposição na maré baixa de sizígia, correspondendo ao delta fluvial do Rio Paraguaçu (CARVALHO, 2000; GENZ, 2006).

Apresenta extensa área entremarés vegetada (28,1 km²) e não vegetada (~16 km²). A área vegetada é composta por mangues, onde predominam bosques de mangue branco *Laguncularia racemosa* (L.) A área de manguezais corresponde a 36,9% da Baía de Iguape e 80,7% da área de mangue de todo o estuário do Rio Paraguaçu (CARVALHO, 2000; GENZ, 2006).

Nesta região a mariscagem² tem sido considerada uma atividade econômica, juntamente com a agricultura familiar e atividades de turismo.

SURURU COMO VEÍCULO DE TRANSMISSÃO MICROBIANA

Dados epidemiológicos do Ministério da Saúde apontam que dos 426 casos de surtos causado por DTA no Brasil em 2015, 0,9% dos casos corresponde ao consumo de pescado, sendo aparentemente inexpressivos devido à subnotificação dos mesmos (BRASIL, 2015). Atualmente as DTA são uma das preocupações mundiais, pois representa um grande problema de saúde pública, sendo responsáveis por grandes custos sociais e econômicos (WELKER et al., 2010).

Toxinas, bactérias, metais tóxicos e produtos químicos são os principais causadores das DTA (FRANCO; LANGRAF, 2008), sendo que os microrganismos são os mais importantes agentes etiológicos (WELKER et al.

² Mariscagem refere-se à atividade praticada nos mangues, de forma manual, com o intuito de capturar moluscos bivalves durante os períodos de marés baixas (FADIGAS; GARCIA; HERNANDEZ, 2008).

2010), tendo a ingestão de água e alimentos contaminados como veículo destes para o organismo humano.

A microbiota do pescado e da maioria dos bivalves é bastante variada, dependendo muito da qualidade da água de onde são retirados, podendo abranger vírus, como o da Hepatite A e bactérias, como o *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Clostridium* sp., *Bacillus* spp, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (COELHO et al., 2003; JAY, 2005; KITTIGUL, et al., 2008; LEE, et al., 2008; VIEIRA et al., 2004). Durante o processo de ingestão do molusco, esses microrganismos podem ser veiculados ao ser humano (CRUZ-ROMERO et al., 2008).

Surtos de doenças relacionadas ao consumo de bivalves foram relatados no mundo, especialmente na América do Norte, Ásia e Europa (POTASMAN; ODEH, 2002; LEAL, 2008). De todos os casos de doenças alimentares ocorridas nos Estados Unidos da América, o consumo de moluscos foi responsável por 10-19% dos casos, sendo que 9% ocasionaram óbito. Em Nova Iorque, os moluscos bivalves responderam por 64% das DTA (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004). Este fato pode estar associado às condições ambientais e a capacidade de bioacumulação dos moluscos (CASTILHO, 2010), assim como as condições de processamento (VIEIRA, 2006; SILVA JÚNIOR, 2014).

Coliformes Totais, Termotolerantes e *Escherichia coli*

As bactérias do grupo coliforme totais pertencem à família Enterobacteriaceae, compreendendo bacilos gram-negativos, e não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados à temperatura de 35-37°C, por 48 horas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Este grupo inclui cerca de 20 espécies, incluindo tanto bactérias de origem gastrointestinal de humanos e de outros animais de sangue quente. Além de presentes nas fezes, os coliformes encontram-se presentes também em vegetais e no solo. Assim, a presença de Coliformes Totais no alimento pode não indicar contaminação fecal (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Coliformes termotolerantes possuem definições semelhantes a coliformes totais, porém este grupo corresponde às bactérias que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás a 44-45,5°C por 24 horas. Existem quatro gêneros, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* que são coliformes oriundos do trato gastrointestinal. Cerca de 90% deste grupo são *E. coli* (SILVA et al., 2007).

Desde 1991 que *Escherichia coli* é reconhecida como um patógeno de origem alimentar. Atualmente esta bactéria está relacionada à contaminação fecal. Esse microrganismo é capaz de reduzir nitrato a nitrito, de fermentar a glicose com produção de ácido e gás, oxidase negativa e catalase positiva. Geralmente móvel com flagelos peritríquios, metaboliza uma ampla variedade de substâncias como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos e ácidos orgânicos (JAY, 2005).

A colonização do trato gastrointestinal humano por *E. coli* ocorre logo após o nascimento e, após a colonização, persistem como membros da microbiota normal do intestino por toda a vida (GUARNER; MELAGELADA, 2003). A detecção da *E. coli* pode indicar possível ocorrência de outros microrganismos com patogenicidade ainda maior para o ser humano e animais, uma vez que essa bactéria é um componente natural da microbiota fecal (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Entretanto, apesar de fazer parte da microbiota humana e/ou animal, algumas cepas de *E. coli* podem causar doenças, devido a obtenção de fatores de virulência por transferência horizontal de material genético (NATARO; KAPER, 1998).

De maneira geral, *E. coli* patogênicas são classificadas em dois grupos: *E. coli* diarreiogênicas, sendo o intestino o seu mecanismo de patogenicidade; e *E. coli* patogênicas extraintestinais, que apresentam capacidade de colonização em outros sítios orgânicos, como sangue, sistema nervoso central e trato urinário (JOHNSON; RUSSO, 2005).

Trata-se de um microrganismo que pode provocar grande variedade de doenças devido a diversos fatores de virulência que apresenta. Sua caracterização antigênica baseia-se de acordo com a presença dos antígenos O (somático), encontrado na parede celular, H (flagelares) e K (capsulares)

(SILVA et al., 2007). Segundo Trabulsi e Alterthum (2008), nem todas as cepas de *E.coli* apresentam simultaneamente os três tipos de antígenos.

De acordo com as características de virulência, a bactéria *Escherichia coli* é classificada em patótipos, como EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), EHEC (*E. coli* enterohemorágica), EAEC (*E. coli* enteroagregativa) e UPEC (*E. coli* uropatogênica) (CROXEN; FINLAY, 2010).

Staphylococcus aureus

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, pertencentes à família Micrococcaceae, são pequenas, imóveis e com formato esférico (cocos). São anaeróbicas facultativas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, quando então, produzem catalase. São microrganismos mesófilos que se desenvolvem entre 7° C e 47,8° C, idealmente entre 30° C e 37° C, enquanto suas enterotoxinas são produzidas entre 10° C e 46° C (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Atualmente 32 espécies incluem este gênero de bactéria, sendo que cinco destas são capazes de produzir uma enzima extracelular, a coagulase, e três espécies produzem enterotoxinas. Em surtos de intoxicação estafilocócica, *Staphylococcus aureus* é a espécie mais prevalente, entretanto *S. intermedius* e *S. hyicus* também podem produzir enterotoxinas (SILVA; GRANDRA, 2004).

A intoxicação alimentar estafilocócica é atribuída a ingestão de toxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento, representando um risco para a saúde pública. Essa toxina, por sua vez é termoestável, podendo permanecer no alimento mesmo após o cozimento, favorecendo a ocorrência da intoxicação (ALCARÃS et al., 1997).

Em média de quatro horas após a ingestão do alimento contaminado, os sintomas da intoxicação estafilocócica começam a aparecer, como vômito, cólica abdominal, diarreia, sudorese e cefaléia (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A presença desse microrganismo em alimentos indica falhas no processamento e condições inadequadas de manipulação (SANTOS et al., 2008).

Padrões microbiológicos

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por atuar na fiscalização das condições higiênico-sanitárias, especificando os padrões microbiológicos dos moluscos bivalves para o consumo humano, por meio da Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Esta resolução é a legislação brasileira utilizada para avaliar a qualidade da carne do pescado para o consumo, a qual estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos referentes a moluscos bivalves cozidos, temperados ou não, industrializados, resfriados ou congelados, porém não apresenta padrões para moluscos in natura. O limite para coliformes termotolerantes é de 5x10³ quando estocado em 45°C e para *Estafilococos coagulase* positiva com limites de 10³ e ausência de *Salmonella* (BRASIL, 2001).

Em 2012 foi criado Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), o qual atua no Brasil de forma semelhante à legislação europeia *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme* (EUSQAP), monitorando os microrganismos contaminantes e estabelecendo critérios para retirada de moluscos destinados ao consumo humano em três níveis, I liberada (*E.coli* <230 NMP/100g), II liberada sob condição (*E.coli* 230 a 46.000 NMP/100g) e III suspensa (>46.000 NMP/100g) (BRASIL, 2012).

BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA INOCUIDADE DOS ALIMENTOS

Apesar dos avanços tecnológicos nas áreas de produção alimentícia, a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos tem sido bastante discutida em virtude da elevada incidência de DTA. A produção de alimentos com qualidade assegurada representa um importante desafio para o setor de serviços de alimentação e esta realidade tem como fator principal os manipuladores de alimentos que, às vezes, desconhecem os hábitos higiênicos adequados (SILVA, 2010; FERREIRA, 2011).

Para a obtenção de um alimento inócuo, que não ofereça risco a saúde do consumidor, é imprescindível que o seu processamento obedeça as Boas Práticas de Manipulação (BPM) (EBONE; CAVALLI; LOPES, 2011). Com isso,

fica evidente, que as ações educativas realizadas com os manipuladores são essenciais para assegurar a qualidade da alimentação oferecida (SOUSA et al., 2009).

Com o intuito de melhorar as condições higiênico-sanitárias na produção dos alimentos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 15 de setembro de 2004, publicou a RDC nº 216, que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, tendo como objetivo primordial o constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, e a proteção à saúde da população (BRASIL, 2004).

As BPM constituem-se em um conjunto de normas e procedimentos corretos para o manuseio dos alimentos, a fim de assegurar a qualidade sanitária, de forma a garantir a segurança e integridade do consumidor. As normas estabelecidas pelas BPM têm uma abordagem ampla e incluem aspectos referentes às instalações, higiene pessoal e ambiental, além dos procedimentos envolvidos no processamento dos alimentos (NASCIMENTO; BARBOSA, 2007).

Diante disso, é necessário realizar inspeções nos estabelecimentos comerciais para verificar as condições higiênico-sanitárias e a aplicação de uma lista de verificação (*check list*), a qual é uma ferramenta muito utilizada (GUEDES et al., 2012).

SUBSTÂNCIAS INORGÂNICAS COMO POLUENTES QUÍMICOS

Além dos microrganismos patogênicos, o sururu pode apresentar outras fontes de contaminação, como as substâncias inorgânicas. Dentre as substâncias inorgânicas destacam-se os metais tóxicos que são considerados perigosos, devido à sua toxicidade, bioacumulação e persistência no ambiente (BAIRD; CANN, 2011).

Por meio do processo de filtração, estes contaminantes podem ser acumulados nos animais aquáticos, sendo, transferidos para cadeia heterotrófica, até o ser humano, processo denominado de biomagnificação (PAN; WANG, 2011). Desta forma os bivalves encontram-se mais suscetíveis à contaminação por metais tóxicos do que os peixes, visto que são organismos filtradores (SILVA; BATISTA, 2008; SANTOS et al., 2013).

Dentre os contaminantes inorgânicos, destaca-se o chumbo e o cádmio por apresentar efeitos deletérios ao ser humano, sendo contaminantes capazes de interferir em reações enzimáticas, bloquear os grupos funcionais de biomolécula, substituir íons metálicos essenciais, modificar a conformação ativa da biomolécula, além de apresentarem efeito acumulativo (JOIRIS et al., 2000; PEREIRA et al., 2002).

Por não serem sintetizados e destruídos pelo organismo humano, os metais chumbo e cádmio diferem de outros compostos tóxicos, sendo considerados não essenciais devido à sua alta toxicidade uma vez que até os dias atuais não se conhece nenhuma função metabólica (SILVA; BATISTA, 2008; VEIGA et al., 2009).

Considerando a capacidade dos bivalves de bioacumulação, são largamente utilizados em ambientes aquáticos como bioindicadores ou biomonitores para o monitoramento da poluição por metais tóxicos em águas costeiras. De uma forma geral, a qualidade para consumo dos bivalves está intimamente ligada à qualidade do ambiente onde estes habitam (BIGAS; DURFORT; POQUET, 2006; MAANAN, 2007; GÖKOGLU; YERLIKAYA; GÖKOGLU, 2008; PAN; WANG, 2011).

Santos et al. (2013), quantificando os metais chumbo e cádmio em amostras de peixes (*Centropomus undecimalis* e *Mugil brasiliensis*), molusco (*M. guyanensis*) e camarão (*Penaeus brasiliensis*) no município de São Francisco do Conde, Bahia, observaram que os níveis de cádmio na maioria das amostras estavam dentro do limite estabelecido pela legislação, entretanto os níveis de chumbo nas amostras de molusco e camarão estavam acima do permitido.

Estudo realizado por Emerenciano et al. (2008), encontraram valores de $4,9 \mu\text{g g}^{-1}$ para o teor de chumbo em amostras de mexilhões (*Anomalocardia brasiliensis*) coletadas no Estuário Potengi/Jundiaí-RN, valor este acima do nível estabelecido pela Anvisa. Em análise de elementos tóxicos em siris azuis (*Callinectes* sp.) do município de Cubatão-SP, Virga, Geraldo e Santos (2007), obtiveram teor máximo de $12,7 \mu\text{g g}^{-1}$ para o chumbo.

Reis (1995), no município de Santo Amaro, Bahia, realizou estudos ainda na época em que efluentes líquidos da antiga usina de chumbo eram

emitidos diretamente no rio Subaé, sinalizando a contaminação nas águas fluviais e verificou que os valores encontrados para chumbo (0,04 a 6,18 mgL⁻¹).

Chumbo

O chumbo é um metal cinza azulado, inodoro, maleável, sensível ao ar, em concentrações elevadas é considerado um contaminante ambiental tóxico para a maioria dos seres vivos e encontrado com relativa abundância na crosta terrestre, quase sempre como sulfato de chumbo (PbSO₄), porém pode também ser encontrado na forma de carbonato de chumbo (PbCO₃) e clorofosfato de chumbo (Pb₅Cl(PO₄)₃) (AZEVEDO; CHASIN, 2003; OLIVEIRA, 2007). É um dos contaminantes mais comuns no ambiente, causa efeitos tóxicos tanto para homens quanto para animais (SANTOS, 2009).

Estima-se que o tempo de meia-vida do chumbo no sangue é entre 28 e 36 dias e nos tecidos macios de aproximadamente 46 dias (BOECKX, 1986). Segundo Piotrowsky; O'brien (1980) e Boeckx (1986), o tempo de meia vida biológico do chumbo no osso humano varia entre 10 a 20 anos, em condições normais, sendo a urina considerada a principal via de excreção do chumbo pelo organismo (76%), seguida das fezes (16%) e, em menor proporção pelo suor, cabelos e unhas (TSALEV; ZAPRIANOV, 1985).

Destaca-se que a concentração desse elemento tóxico depende de vários fatores ambientais, como salinidade e temperatura da água, conteúdo de matéria orgânica, níveis de oxigênio dissolvido, fluxo da água e o estágio de desenvolvimento do organismo, assim como o impacto antropogênico e a forma química do contaminante são fatores de grande relevância (FRANCHI et al., 2011).

Os países participantes do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) em 29 de agosto de 2013 publicou a resolução n° 42 que dispõe sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, a qual estabelece o limite máximo para o chumbo de 1,50 mg/kg em amostras de moluscos bivalves (BRASIL, 2013).

Cádmio

A presença de cádmio em ambientes aquáticos ocorre devido a vários fatores, como erosão do solo, descargas atmosféricas devido a operações industriais, vazamentos de aterros e locais contaminados e pelo o uso de pesticidas agrícolas. Os efluentes industriais que apresentam cádmio contaminam as águas, que por sua vez podem também contaminar solos que utilizam essas águas como fonte de irrigação para atividades agrícolas (QUINÁGLIA, 2006).

Tanto no ambiente quanto nos alimentos, o cádmio encontra-se em níveis baixos e geralmente a alimentação é a principal fonte de contaminação. Os bivalves são a maior fonte alimentar de cádmio, uma vez que esse metal se liga a uma proteína (metalotionina) e, portanto, acumula-se nestes organismos (GOYER; CLARKSON, 2001; SILVA; BATISTA, 2008).

A concentração deste contaminante aumenta ao longo do tempo, proporcionando o processo de bioacumulação, pois a taxa de ingestão geralmente é superior a taxa de eliminação (SILVA; BATISTA, 2008). Esse metal pode bioacumular em plantas aquáticas, invertebrados, peixes e mamíferos, sendo sua concentração proporcional ao o nível trófico do organismo (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

São várias as manifestações causadas pela ingestão de cádmio, como toxicidade crônica, doenças de obstrução pulmonar e enfisema e doenças crônicas do sistema renal, além dos efeitos nefrotóxicos. Verificam-se ainda ocorrência de osteoporose e dor óssea, formação de cálculos no sistema ósseo, dor abdominal, vômitos e diarreia (GOYER; CLARKSON, 2001; KLEIN, 2005).

O limite máximo para cádmio estabelecido por Brasil (2013) é de 2,00 mg/kg . Entretanto no estudo realizado por Marengoni et al. (2013) para avaliar a bioacumulação de macronutrientes e metais no mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), encontraram níveis elevados de Cd, Pb e Cr, acima do estabelecido pela legislação.

REFERÊNCIAS

- ADORNO, E. V. **Estudo populacional de *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia – Mytilidae) em manguezais do Recôncavo Baiano – Uma análise comparativa**. 2003. 127f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento) - Instituto de biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2003.
- ALCARÃS, L. E. et al. Detección de *Staphylococcus aureus* spp. em manipuladores de alimentos. **La Alimentación Latino Americana**, v. 219, p. 44-47, 1997.
- AVEIRO, M. V. **Análise nutricional, microbiológica e histológica do berbigão *Anomalocardia brasiliiana* da Reserva extrativista marinha do Pirajubaé (Remapi) Florianópolis/SC**. 2007. 77 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: Gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. 554 p.
- BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**, 4 ed. Porto Alegre: Bookman. 2011.
- BARBIERI, E.; DOI, S. A. The effects of different temperature and salinity levels on the acute toxicity of zinc in the Pink Shrimp. **Marine and Freshwater Behavior and Physiology**, v. 44, p. 251-263, 2011.
- BARROS, D.; BARBIERI, E. Análise da ocorrência de metais: Ni, Zn, Cu, Pb e Cd em ostras (*Crassostrea brasiliiana*) e sedimentos coletados no Estuário de Cananéia, SP (Brasil). **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 635-642, 2012.
- BEZERRA, A. C. D.; MANCUSO, A. M. C.; HEITZ, S. J. J. Alimento de rua na agenda nacional de segurança alimentar e nutricional: um ensaio para a qualificação sanitária no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1489-1494, 2014.
- BIGAS, M., DURFORT, M., POQUET, M. Cytological response of hemocytes in the European flat oyster, *Ostrea edulis*, experimentally exposed to mercury. **Biometals**, v. 19, p. 659-673, 2006.
- BOECKX, R. L. Lead poisoning in children. **Analytical Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 274-287, 1986.
- BOFFI, A. V. **Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico**. São Paulo: Fapesp-Hucitec, 182p. 1979.

BRASIL. Lei nº 12.058 de 13 de outubro de 2009. Dispõem sobre as alterações da reserva extrativista marinha Baía do Iguape. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 out. 2009.

_____. Ministério da Agricultura Pesca e Abastecimento. RIISPOA: **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Decreto nº 120.691. Brasília: 2015.

_____. Ministério da Pesca e Aquicultura. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA INTERMINISTERIAL Nº 7, DE 8 DE MAIO DE 2012**. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. Acesso em: 25 julho de 2015.

_____. Ministério da Saúde. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. 2014. Brasília. Disponível em: www.portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional. Acesso em: 13 março de 2016.

_____. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos**, 2015.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216 de 15 de setembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 set. 2004.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 42 de 29 de agosto de. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 ago. 2013.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDERS, C. V. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. **Lancet Infectious Diseases**, v. 4, p. 201-212. 2004.

CAMILO, V. M. A. et al. Avaliação do índice de rendimento de *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) na Baía do Iguape, Bahia, Nordeste do Brasil. **Revista Thalassas**, v. in press, 2016.

CARPES-PATERNOSTER, S. **Ciclo reprodutivo do marisco-do-mangue *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) no manguezal do Rio Tavares-Ilha de Santa Catarina/SC**. 2003. 30f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

CARVALHO, J. B. **Caracterização morfoestratigráfica do preenchimento sedimentar da Baía de Iguape, Bahia – Influência das variações eustáticas**

do nível do mar e atividades tectônicas recentes. 2000. 119f. Dissertação. Salvador, 2000.

CASTILHO, F. Controle de Qualidade de Moluscos Bivalves Vivos. 2010. 32 f. Monografia, Matosinhos, 2010.

COELHO C. et al. Hepatitis A virus detection in oysters (*Crassostrea gigas*) in Santa Catarina State, Brazil, by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Journal of Food Protection**, v.66, n.3, p.507–511, 2003.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature**, v. 8, p. 20-38, 2010.

VILLALOBOS, C. R. Shell length at sexual maturity and spawning cycle of *Mytella guyanensis* (Bivalvia: Mytilidae) from Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical**, v. 41, n. 1, p. 89-92, 1993.

CRUZ-ROMERO, M. et al. 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.

DOI, S. A. et al. Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 594-601, 2012.

EMERENCIANO, D. P. et al. Análise da ocorrência de metais: bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo, estanho, níquel e zinco, em mexilhões (*Anomalocardia brasiliensis*) coletados no Estuário Potengi/Jundiaí – RN. **Revista Pública**, n. 4, p. 01-09, 2008.

EBONE, M. V.; CAVALLI, S. B.; LOPES, S. J. Segurança e qualidade higiênico-sanitária em unidades produtoras de refeições comerciais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.24, n. 5, p. 725-734, set./out., 2011.

FADIGAS, A. B. M.; GARCIA, L. G.; HERNÁNDEZ, M. I. M. As contribuições das marisqueiras para uma gestão sócio-ambiental em reservas extrativistas. **Revista de Estudos Feministas (UFSC)**, Florianópolis, v. 8, p. 1-7, 2008.

FAUCONNEAU, B. Health value and safety quality of aquaculture products. **Journal Veterinary Medicine**, v. 153, n. 5, p. 331-336, 2002.

FERREIRA, M. A.; SÃO JOSÉ, J. F. B.; TOMAZINI, A. P. B.; MARTINI, H. S. D.; MILAGRES, R. C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Avaliação da adequação às boas práticas em unidades de alimentação e nutrição. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 70, n. 2, p. 230-235, abr.-jun., 2011.

FERREIRA, J. M. et al. Estudo do equilíbrio e cinética da biossorção do Pb^{2+} por *saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATION (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma, FAO, 2012. 209 p.

FRANCHI, M. et al. Bioconcentration of Cd and Pb by the River Crab *Trichodactylus fluviatilis* (Crustacea: Decapoda), **Journal Braz. Chem.** v. 22, p. 230-238, 2011.

FRANCO, D. D. G. M.; LANDGRAF. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008 182 p.

FREITAS, F. et al. Qualidade sanitária de sururu (*Mytella guyanensis*) beneficiado por comunidade quilombola. **B.ceppa**, Curitiba, v. 33, n. 2, p.9-18, 2015.

GENZ, F. **Avaliação dos efeitos da Barragem Pedra do Cavalo sobre a circulação estuarina do rio Paraguaçu e Baía de Iguape**. 2006. 266f. Tese, Salvador, 2006.

GÖKOGLU, N., YERLIKAYA, P., GÖKOGLU, M. Trace elements in edible tissues of three shrimps species (*Penaeus semisulcatus*, *Parapenaeus longirostris* and *Palaemon serratus*). **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 88, p. 175-178, 2008.

GOYER, R. A., CLARKSON, T. W. Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology: **The basic science of poisons**, C. D. Klaassen (Ed.), McGraw-Hill, NY USA, pp. 811-867, 2001.

GUARNER, F.; MELAGELADA, J. R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v. 361, p. 512-519, 2003.

GUEDES, A. C. V.; RESENDE, E. A.; GAMA, J. C. S.; SILVA, J. R. P.; ARAÚJO, J. B.; ALMEIDA, K. N.; MIRANDA, L. B.; SANTOS, M. M. S.; SILVA, P. P. A.; ISHIZAWA, T. A.; COELHO, A. F. S. Aplicação das Boas Práticas por manipuladores de alimentos em lanchonetes da Universidade Federal do Tocantins. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 26, n. 206-207, p. 37-42, 2012.

HAARD, N. F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. **Food Research International**, v. 25, p. 289-307, 1992.

HENRIQUES, M. B. et al. Influência da contaminação bacteriológica sobre a resistência do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) à exposição ao ar. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 36, p. 95-99, 2003.

HUI, Y. H. et al. Biochemistry of Seafood Processing. In: Hui, Y. H. et al. (Ed.). **Food Biochemistry and Food Processing**. Blackwell Publishing: Iowa, p. 351-378, 2006.

IPIMAR. Produção, salubridade e comercialização dos moluscos bivalves em Portugal. Ed. SILVA, H. A., BATISTA, I. **Publicações Avulsas do IPIMAR**, v. 20, 171p, 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JOHNSON, R. J.; RUSSO, A. T. Molecular epidemiology of gastrointestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 295, p. 383-404, 2005.

JOIRIS C. R. et al. Mercury in the bivalves *Crassostrea tulipa* and *Perna perna* from Ghana. **Mar Pollut Bull.** V. 38, n. 7, p. 618-622, 2000.

KITTIGUL, L. et al. Development of a method for concentrating and detecting rotavirus in oysters, **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, n. 1-2, p. 204-210, 2008.

KLEIN, G. L. Heavy Metals. In: Encyclopedia of Human Nutrition. 2nd Ed. Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (Eds.) **Elsevier Academic Press**, Oxford, pp. 344-350, 2005.

LEAL, D. A. G. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle, Campinas, SP, Brasil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 10, p. 48-57, 2008.

LEAL, D. A. G, FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: metodologias de detecção e normas de controle. **Rev Panamericana de Infectologia**, v. 10, n. 4, p. 48-57, 2008.

LEE, R., LOVATELLI, A.; ABABOUC, L. Bivalve depuration: fundamental and practical aspects. FAO **Fisheries Technical Paper**. Rome, 2008.

MAANAN, M. Biomonitoring of heavy metals using *Mytilus galloprovincialis* in Sati Coastal Waters. **Environmental Toxicology**, Morocco, v. 22, p. 525-531, 2007.

MARENGONI, N. G. et al. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu binacional. Pernambuco: **Química Nova**, v. 36, n. 3, 2013.

MARQUES, H. L. A. **Criação comercial de mexilhões**. Nobel, São Paulo, 111p. 1998.

MIRANDA, L. B.; CASTRO, B. M.; KJERFVE, B. **Princípios de Oceanografia Física de Estuários**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 411 p., 2002.

MONTELES, J. S. et al. Percepção socioambiental das marisqueiras no município de Raposa, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, Maranhão, v. 4, n. 2, p. 34-45, 2009.

NASCIMENTO, G. A.; BARBOSA, J. S. BPF- Boas Práticas de fabricação: uma revisão. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 148, p. 24-30, 2007.

NASCIMENTO, V. A. et al. Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, v. 7, n. 4, 2011.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NISHIDA, A. K.; LEONEOL, R. M. V. Occurrence, population dynamics and habitat characterization of *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Mollusca, Bivalvia) in the Paraíba do Norte river estuary. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 43, n., p. 41-43, 1995.

NISHIDA, A. K.; NORDI, N.; ALVES, R. R. N. Aspectos Socioeconômicos dos Catadores de Moluscos do Litoral Paraibano, Nordeste do Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 207-215, 2008.

NUNES, M. L. et al. Produtos da pesca: valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores. **IPIMAR**, v. 18, 77 p., 2008.

OLIVEIRA, M. R. **Investigação da contaminação por metais pesados da água e do sedimento de corrente nas margens do Rio São Francisco e tributários, a jusante da Represa da CEMING, no município de Três Marias, Minas Gerais**. 2007. 172 f. Tese (Dourado em Geologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

PAN, K.; WANG, W. X. Mercury accumulation in marine bivalves: Influences of biodynamics and feeding niche. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2500-2506, 2011.

PEREIRA, N. C. **Diagnóstico da Lagoa da Conceição utilizando o berbigão *Anomalocardis brasiliana* (GMELIN, 1791) como bioindicador de poluição aquática**. 2003. 93 f. Dissertação (Mestrado em engenharia ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PEREIRA, M. A. et al. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis - Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n.2, p. 159-163, 2006.

PEREIRA, O. M. et al. Determinação dos Teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em Moluscos (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 61, n. 1, p. 19-25, 2002.

PIOTROWSKY, J. K.; O'BRIEN, B. J. Analysis of the effects of lead in tissue upon human health using dose-response relationships. MARC Reports, London: **Monitoring and Assessment Research Center**, p.16-18, 1980.

POTASMAN, I. P. A; ODEH, M. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, p. 921-928, 2002.

PROST, C. Resex Marinha versus polo naval na Baía do Iguape. *Novos cadernos NAEA*, v. 13, n. 1, p. 47-70, 2010.

QUINÁGLIA, G. A. **Caracterização dos níveis basais de concentração e metais nos sedimentos do sistema estuarino da Baixada Santista**. 2006. 269 f. Tese. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

REALON, C. A.; SILVA, M. S. Condições Higiênico sanitária de restaurantes do município de Medianeira, PR. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23, n. 174 - 175, p. 52 - 57, 2009.

REIS, J. O. N. **Determinação polarográfica de Pb²⁺ e Cd²⁺ em águas do rio Subaé - Sto. Amaro - Bahia**. 1975. 81f. Tese (Doutorado em Química Geral e Inorgânica) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1995.

RIOS, E. C. **Compedium of Brazilian Sea Shells**. Rio Grande, Porto Alegre 668 p. 2009.

RIOS, E. C. **Seashells of Brazil**. Rio Grande, Porto Alegre, 492 P. 1994.

RIPPEY, S. R. Infectious disease associated with molluscan shellfish consumption. **Revista Clinical Microbiol**, v. 7, p. 419-425, 1994.

SANDE, D. et al. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. *Braz. J. Vet. Brazilian Journal of Veterinary and Research Animal Science*, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SANDERS, B. Environmental Protection Agency. **Stress proteins: Potential as multitiered biomarkers**. U.S.E.P.A. Washington, D. C. 1990.

SANTOS, G. L. **Determinação de Cádmio e Chumbo em Tecidos de Cetáceos por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

SANTOS, N. M.; SOUZA, K. M. C. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em escolas públicas de Pirenópolis - GO. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v. 4, n. 1, p. 35-40, 2013.

SANTOS, T. M.; MARTINS, R. T.; SANTOS, W. L. M.; MARTINS, N. E. Inspeção visual e avaliações bacteriológicas e físico – química da carne de

piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) congelada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 6, p. 1538-1545, 2008.

SANTOS, L. F. P. et al. Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. **Food Control**, v. 33, n. 1, p.193-199, set. 2013.

SILVA, G. P. **Avaliação das boas práticas em unidades produtoras de refeição dos hotéis do município de Caruaru-PE**. 2010. 45f. Monografia (Graduação em Nutrição). Sociedade de Educação Do Vale Do Ipojuca – SESVALI. Faculdade Do Vale Do Ipojuca –FAVIP. Caruaru, 2010.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n.122, p.32-40. 2004.

SILVA, H. A., BATISTA, I. Produção, salubridade e comercialização dos moluscos bivalves em Portugal. **IPIMAR**, v. 20, 171 p., 2008.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Serviços de Alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 693 p. 2014.

SILVA JUNIOR, E. A. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação. 6. ed. São Paulo: **Varela**, 2012.

SOUSA, C.L; NEVES, E. C. A; LOURENÇO, L. F. H; COSTA, E.B; MONTEIRO. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas de empresa fornecedora de comidas congeladas *light* na cidade de Belém/PA. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.20, n.3, p. 375-381, jul./set. 2009.

TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 760 p.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. Lead. In: **Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice**. Flórida: CRC Press, 1985. p.137-150.

VEIGA, A. et al. Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal. **Autoridade de Segurança Alimentar e Econômica**, 2009. 330 p.

VIEIRA D. M et al. Características microbiológicas de carne de siri beneficiada em Antonina (PR) antes e após a adoção de medidas de boas práticas. **Scientia Agrária**, v. 7, p. 41-48, 2006.

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

VIEIRA, R. H. S. F. et al. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in oyster *Crassostrea rhizophorae* collected from natural nursery in the Cocó River Estuary, Fortaleza, Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 59 -62, 2004.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, p.779-785, out.-dez. 2007.

WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.8, n.1, p.44-48, janeiro/março, 2010.

CAPÍTULO 2

**Qualidade microbiológica e química de sururu (*Mytella guyanensis*)
em períodos estacionais na Reserva Marinha Baía do Iguape**

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E QUÍMICA DE SURURU (*Mytella guyanensis*) EM PERÍODOS ESTACIONAIS NA RESERVA MARINHA BAÍA DO IGUAPE

MICROBIOLOGICAL QUALITY AND SURURU CHEMICAL (*Mytella guyanensis*) IN PERIODS SEASONAL IN RESEX MARINE BAY IGUAPE

Allana de Oliveira Santos⁽³⁾,

Fábio Santos de Oliveira⁽²⁾; Valéria Macedo Almeida Camilo⁽²⁾, Isabella de Matos
Mendes da Silva⁽²⁾

RESUMO

O consumo de moluscos bivalves crus ou ligeiramente cozidos é visto como uma prática que favorece o surgimento de Doenças Transmitidas por Alimentos. Objetivou-se determinar a qualidade microbiológica e química de *M. guyanensis* extraídos em estoques naturais da Reserva Baía do Iguape. Foram coletadas 30 amostras da espécie entre os meses de junho de 2014 a julho de 2015 e analisadas em laboratório. As populações de coliformes totais e *Escherichia coli* foram estimadas pelo método de contagem rápida Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 991.14), e as de *Staphylococcus aureus* com placas STX (AOAC 955.15). A quantificação de chumbo e cádmio foi realizada pela técnica ICP-OES. A análise microbiológica revelou que a quantificação dos microrganismos estava dentro do limite permitido pela legislação. Já a análise química demonstrou que todas as amostras analisadas apresentaram concentração acima dos limites permitidos pela legislação para os metais tóxicos chumbo e cádmio. Este estudo também evidenciou que a pluviosidade apresentou correlação positiva com a contaminação microbiana e química. Conclui-se

¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Rua Rui Barbosa, 710 - Campus Universitário CEP 44380-000, Cruz das Almas-BA. allana.santos@hotmail.com

² Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências da Saúde. Avenida Carlos Amaral, 1015 - Cajueiro, Santo Antônio de Jesus-BA, CEP 44.570-000. isbellamatos@ufrb.edu.br, vcamilo@ufrb.edu.br

que existe restrição para o consumo e comercialização do *M. guyanensis* devido à elevada concentração de chumbo e cádmio, podendo causar efeitos tóxicos para o ser humano. Os resultados obtidos sugerem a necessidade de implementação de um programa de monitoramento das concentrações de metais tóxicos em organismos dos ecossistemas marinhos da região.

Palavras Chave: Bivalve. Coliformes. Metal tóxico.

ABSTRACT

Consumption of raw or lightly cooked bivalve molluscs is seen as a practice that favors the emergence of Foodborne Diseases. This study aimed to determine the microbiological and chemical quality of *M. guyanensis* extracted in natural stocks Reserve Bay Iguape. We collected 30 samples of the species between the months of June 2014 to July 2015 and analyzed in the laboratory. Populations of total coliforms and *Escherichia coli* were estimated by Petrifilm™ quick count method (3M Company) using EC cards (AOAC 991.14), and *Staphylococcus aureus* with STX cards (AOAC 955.15). Quantification of lead and cadmium was performed by ICP-OES technique. Microbiological analysis showed that the quantification of microorganisms was within the limit allowed by law. Already the chemical analysis showed that all samples had concentrations above the limits allowed by law for the toxic metals lead and cadmium. This study also showed that rainfall was positively correlated with microbial and chemical contamination. It follows that there is restriction on consumption and marketing *M. guyanensis* due to high concentration of lead and cadmium, may cause toxic effects in humans. The results suggest the need to implement a monitoring program of toxic metal concentrations in marine ecosystems in the region.

Keywords: Bivalve. Coliforms. Toxic metal.

INTRODUÇÃO

Ao longo da costa brasileira há uma grande diversidade de ecossistemas costeiros, como baías e estuários, favorecendo a ocorrência de espécies de moluscos que apresentam valor socioeconômico para comunidades litorâneas (CASTELLO, 2010; LIMA-FILHO et al., 2015). Uma das espécies exploradas, é *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819), conhecido popularmente com “sururu” (NISHIDA, 2006) cujo

extrativismo atingiu cerca de 2,1 t, correspondendo a segunda espécie mais capturada entre os moluscos (BRASIL, 2011).

Importante fonte proteica para comunidades litorâneas *M. guyanensis* habita manguezais de regiões costeiras e estuarinas e apresenta morfologia de animal filtrador, possuindo a capacidade de acumular microrganismos e substâncias inorgânicas presentes no ambiente (NASCIMENTO et al., 2011).

Segundo BARROS; BARBIERI, 2012; DOI et al., 2012, os ambientes estuarinos estão propícios a diferentes tipos de contaminação, principalmente por microrganismos e substâncias químicas, provindos na grande maioria de lançamentos de efluentes domésticos e industriais não tratados, os quais afetam diretamente a qualidade da água e do ecossistema, podendo causar riscos tanto a saúde humana quanto as espécies presentes no habitat.

Além dos aspectos microbiológicos, os moluscos bioacumulam metais tóxicos presentes no ambiente, comprometendo sua qualidade sanitária e acarretando impactos socioeconômicos. Assim, são considerados alimentos de risco, estando associados a casos de Doenças de Transmissão Alimentar (DTA) em humanos (NASCIMENTO et al., 2011). Dessa forma, pesquisas em regiões costeiras e estuarinas torna-se importantes para verificar a qualidade sanitária dos mesmos.

A Reserva Extrativista (RESEX) Marinha Baía do Iguape é um sistema estuarino que faz parte da Baía de Todos os Santos, onde nos arredores são desenvolvidas atividades petroquímicas e no passado abrigou uma mineradora na cidade de Santo Amaro, além do fato de a maioria das comunidades no entorno da RESEX não tem saneamento básico e coleta de lixo, o que torna a consumo de bivalves um risco.

Considerando que a avaliação microbiológica e química parâmetros importantes para avaliar a segurança no consumo de bivalves, objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica e química de *M. guyanensis* em período estacional na RESEX Marinha Baía do Iguape gerando dados que possam subsidiar futuras pesquisas e estudos relacionados à qualidade sanitária dos mesmos na região.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado em estoques naturais da comunidade Engenho da Ponte na RESEX Marinha Baía do Iguape, localizada no estado da Bahia, Brasil, situado às margens da Baía de Todos os Santos (Figura 1). No período de junho de 2014 a julho de

2015 foram coletados amostras de *M. guyanensis* em cinco pontos de amostragem, designadas como M1 (12° 38' 50"S e 38° 51' 43"W), M2 (12° 38' 57"S e 38° 51' 45"W), M3 (12° 39' 04"S e 38° 51' 47"W), M4 (12° 39' 09"S e 38° 51' 53"W) e M5 (12° 39' 02"S e 38° 52' 00"W), em seis campanhas, três representando à estação chuvosa, e três a estação seca durante maré baixa de sizígia.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso etiquetadas e transportadas sob refrigeração para o Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Segurança Alimentar e Nutricional no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia para as análises.

Foram medidas, a cada coleta, temperatura, pH e salinidade de cada local, com o auxílio de um multiparâmetro Water Quality Meter AK88 (Akso®). Dados de pluviosidade de 30 dias antes de cada amostragem foram obtidos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais-INPE (INPE, 2014). A identificação do estágio da maré foi feita por consulta à Tábua de Marés da Diretoria de Hidrografia e Navegação da Marinha do Brasil (BRASIL, 2015).

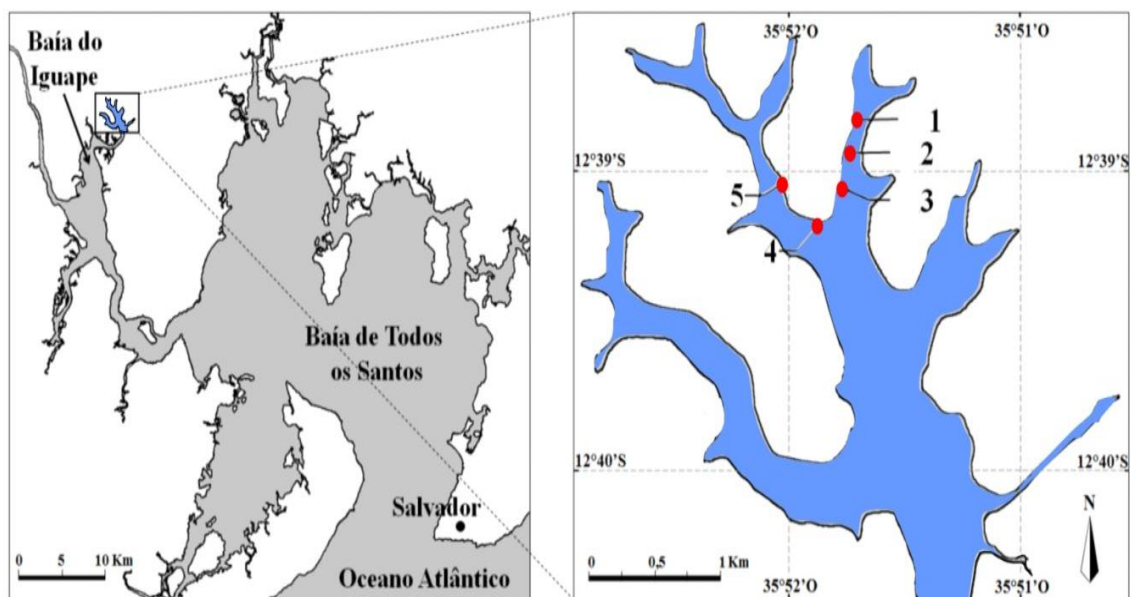


Figura 1. Localização dos pontos de coleta.

As populações de coliformes totais e *Escherichia coli* e de *Staphylococcus aureus* foram estimadas pelo método de contagem rápida Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 991.14) e placas STX (AOAC 955.15), respectivamente. A carne e o líquido intervalvar dos moluscos foram assepticamente acondicionados em sacos plásticos de primeiro uso e homogeneizados em stomacher por 30 segundos, 25 g

do homogeneizado foi adicionado em 225 mL de solução salina a 0,9% de NaCl e realizado diluições em série (10^{-2} e 10^{-3}). As amostras foram plaqueadas e incubadas a $35\pm 1^\circ$ C por 24 ± 2 h. A contagem das colônias foi realizada com o auxílio de um contador modelo CP600 Plus (Phoenix®), calculando-se o número de log UFC.g⁻¹ (SILVA et al., 2007).

Para determinação dos metais tóxicos, as amostras foram mantidas a -20° C e posteriormente foram liofilizadas (liofilizador Terroni®) por 12 horas. Após esse período, foram maceradas, peneiradas em malhas e pesadas em triplicata. Utilizou-se 0,1 g de amostra (em triplicata), a qual foi transferida para tubo digestores, procedendo-se a etapa de pré-digestão pela adição de 5,0 mL de ácido nítrico a 65 % e aquecendo a 50° C por 12 horas em bloco digestor. Após esse período, elevou-se a temperatura para 140° C, mantendo-a por 4 horas, seguido do resfriamento até a temperatura ambiente, posterior adição de 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30 %, aquecendo a 140° C por 3 horas. O material resultante foi filtrado e avolumado a 25,0 mL (EPA, 1991; FRANCHI et al., 2011). As soluções foram levadas para a leitura de metais por espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), por meio do equipamento modelo Perkin Elmer Optima 7300DV, para obtenção dos analitos. A Tabela 1 mostra as condições de operação do equipamento.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais de operação do ICP OES

Parâmetros	Condições
Comprimento de onda	Pb 220.353 nm
Comprimento de onda	Cd 214.440 nm
Potência do plasma	1450 W
Gás do plasma	15,0 L min
Gás auxiliar	0,20 L min
Gás de nebulização	0,80 L min
Nebulizador	Cross flow Gem Tip
Visão	Axial

Os resultados microbiológicos foram expressos em Log/UFC/100g. Para verificar a distribuição das variáveis, utilizou-se o teste *One-Sample Kolmogorov-Smirnov*. Na análise descritiva foram utilizadas médias e desvio padrão para as variáveis quantitativas. Foi calculado o tercil e estabelecido o 2º tercil como ponto de corte da pluviosidade para definir os períodos estacionais.

Empregou-se o teste T Student para avaliar o nível de contaminação por ponto de coleta em relação à sazonalidade e a correlação de Pearson e a Análise Multivariada

de Componentes Principais (PCA) para analisar se houve correlação entre os microrganismos, metais tóxicos e os fatores ambientais. Os dados foram analisados utilizando o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 20.0. A amostragem de todo material biológico deste estudo foi conduzida em conformidade com as leis vigentes (ICMBio- 42081-1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos fatores ambientais, a temperatura média da água foi de $29,5^{\circ}\text{C} \pm 1,4$, salinidade $24,6 \pm 2,0$ e pH $7,9 \pm 0,3$ (Figura 2). Valores mais baixos de salinidade ocorreram nos meses de agosto e julho, período em que ocorreram as mais altas taxas de precipitação pluviométrica (Figura 3).

Através do teste T observou-se que houve efeito significativo ($p < 0,05$) da pluviosidade, temperatura e pH para quantificação dos microrganismos pesquisados, enquanto que não houve efeito significativo da salinidade.

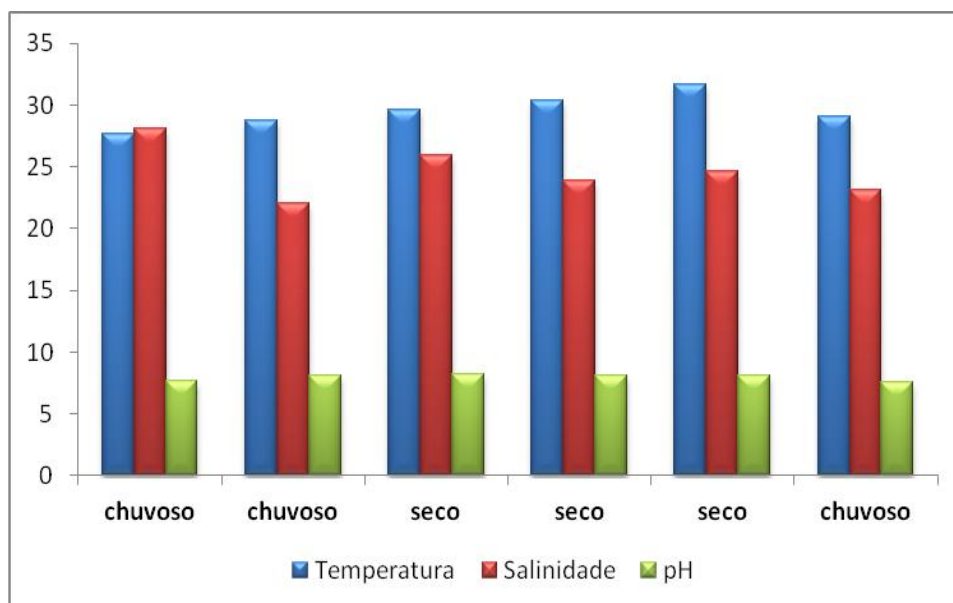


Figura 2. Valores médios de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), salinidade da água (‰) e pH no período da coleta na RESEX Marinha Baía do Iguape (Bahia, Brasil).

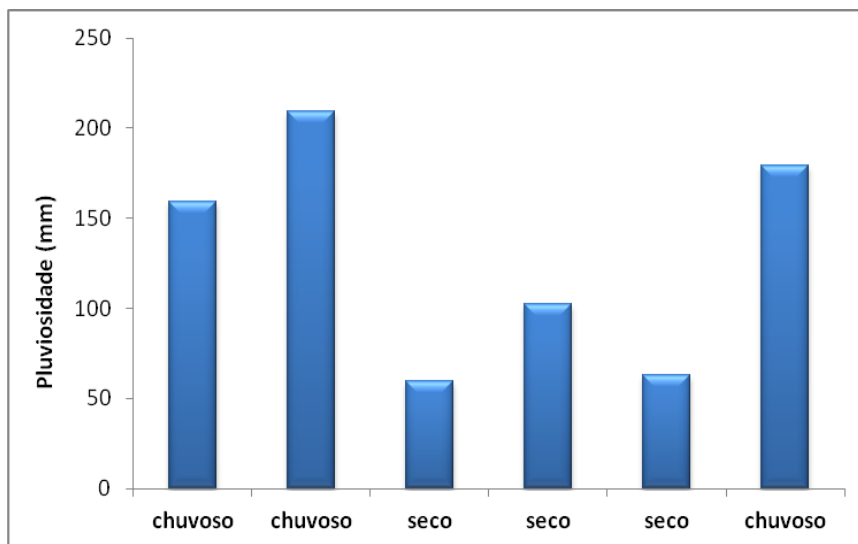


Figura 3. Pluviosidade (mm) acumulada nos períodos do estudo

A população de *Staphylococcus aureus* variou em média de <1 a 1,64 log UFC.g⁻¹ nos pontos estudados para os períodos estacionais, sendo que os valores médios por ponto no período seco foram de <1 a 1,03 log UFC.g⁻¹ e no período chuvoso foram de 0,93 a 1,64 log UFC.g⁻¹ (Tabela 2). Desta forma, os resultados encontrados em médias para todas as amostras analisadas apresentaram qualidade satisfatória, estando de acordo com a Resolução RDC n° 12/2001, que estabelece limite máximo de 3,0 log UFC.g⁻¹ para moluscos bivalves in natura (BRASIL, 2001).

Corroborando com os resultados encontrados, Ramos et al. (2012), em estudo realizado na Baía Sul, em Santa Catarina, constataram índices dentro do permitido, com valores variando entre <1 a 2,28 log UFC.g⁻¹ para este microrganismo pesquisado em ostras (*Crassostrea gigas*).

A população de coliformes totais variou em média de 0,93 a 3,09 log UFC.g⁻¹, sendo que os valores médios por ponto no período seco foram de 0,93 a 1,67 log UFC.g⁻¹ e no período chuvoso foram de 2,16 a 3,09 log UFC.g⁻¹ (Tabela 2). Salienta-se que esses microrganismos indicadores foram encontrados nas amostras de todos os pontos estudados tanto no período chuvoso quanto no seco. Apesar de não existir parâmetros na legislação brasileira para coliformes totais em bivalves é importante pesquisá-los, uma vez que esse indicador fornece informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto.

Evangelista-Barreto et al. (2014), avaliando a qualidade bacteriológica de bivalves provenientes da Baía do Iguape, no município de Maragogipe, encontraram

índices de coliformes totais e *E. coli* em *M. guyanensis* superiores aos constatados no presente estudo.

Tabela 2. Média de concentração microbiana (Log UFC.g⁻¹) por ponto em *Mytella guyanensis* coletado na RESEX Marinha Baía do Iguape em período estacional

Microrganismos	Legislação	Pontos de coletas									
		Período Chuvoso					Período Seco				
		M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,0*	1,38 (±0,7)	1,64 (±0,8)	1,42 (±0,8)	0,93 (±0,1)	1,03 (±0,2)	<1 (±0,0)	1,03 (±0,2)	<1 (±0,0)	<1 (±0,0)	0,93 (±0,1)
Coliformes totais	N.E	2,16 (±0,6)	2,42 (±0,9)	2,18 (±0,5)	2,60 (±2,0)	3,09 (±1,9)	1,67 (±0,7)	1,33 (±0,4)	1,37 (±0,5)	0,93 (±0,1)	1,17 (±0,2)
<i>E. coli</i>	<2,36**	1,50 (±0,5)	1,43 (±0,4)	1,28 (±0,3)	1,73 (±1,4)	1,82 (±1,4)	1,25 (±0,6)	<1 (±0,0)	<1 (±0,0)	<1 (±0,0)	0,93 (±0,1)

N.E. Não existe parâmetro na legislação

*Resolução n°12 de janeiro de 2001

**Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves

De acordo com Brasil (2001) o limite estabelecido de coliformes termotolerantes é de 1,70 log UFC.g⁻¹ para moluscos bivalves cozidos, industrializados resfriados ou congelados, não estabelecendo um limite para o consumo in natura. Ressalta-se que a bactéria *Escherichia coli* é o principal coliforme termotolerante. Dessa forma, a qualidade de bivalves extraídos no Brasil e a segurança do consumidor estão baseadas no Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (BRASIL, 2013), o qual estabelece limite de *E. coli* de 2,36 log UFC.g⁻¹ em 100 gramas da carne comestível dos moluscos bivalves in natura, (BRASIL, 2012).

No presente estudo a população de *E. coli* variou em média de <1 a 1,82 log UFC.g⁻¹, apresentando valores médios por ponto de <1 a 1,25 log UFC.g⁻¹ no período seco e de 1,28 a 1,82 log UFC.g⁻¹ no período chuvoso (Tabela 2). De acordo com os parâmetros do PNCMB (BRASIL, 2012), os resultados microbiológicos foram satisfatórios, tornando liberada a retirada do molusco para consumo e comercialização.

Corroborando com os resultados encontrados, Ramos et al. (2010), analisando amostras de ostras (*Crassostrea gigas*) da Baía Sul, em Santa Catarina, constataram índices dentro do permitido, com valor máximo de 1,41 log UFC.g⁻¹ para este microrganismo.

O consumo de moluscos bivalves com qualidade microbiológica insatisfatória pode representar um risco à saúde humana. A contaminação microbiana pode ser

resultante do próprio ambiente onde são capturados ou pode ser oriunda da manipulação, armazenamento e comercialização inadequados. Dessa forma, torna-se necessário o constante monitoramento de toda cadeia desde extração a comercialização como forma de evitar a contaminação.

A análise das concentrações de metais tóxicos revelou que o chumbo variou de 1,98 a 3,21 mg.kg⁻¹, apresentando variação de 1,98 a 2,61 mg.kg⁻¹ no período seco e 2,66 a 3,21 mg.kg⁻¹ no período chuvoso. O cádmio variou de 6,69 a 9,06 mg.kg⁻¹, ocorrendo variação de 6,69 a 8,20 mg.kg⁻¹ no período seco e 7,77 a 9,06 mg.kg⁻¹ no período chuvoso (Tabela 3). Por meio dos resultados, observou-se que tanto no período seco quanto no chuvoso os pontos amostrados apresentaram concentração de chumbo aproximadamente duas vezes e cádmio quatro vezes acima do permitido pela Resolução RDC n° 42/2013 (BRASIL, 2013), evidenciando que o consumo desse bivalve pode ser prejudicial à saúde do consumidor.

Tabela 3. Concentração média (mg.kg⁻¹) dos metais chumbo e cádmio em *Mytella guyanensis* coletado na RESEX Marinha Baía do Iguape em período estacional

Metais	Legislação RDC n° 42/2013	Pontos de coletas									
		Período Chuvoso					Período Seco				
		M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
Chumbo	1,50	3,21 (±0,9)	3,02 (±1,0)	2,77 (±1,4)	3,05 (±0,7)	2,66 (±0,2)	2,45 (±0,6)	2,14 (±0,7)	2,20 (±0,9)	1,98 (±0,4)	2,61 (±0,6)
Cádmio	2,00	8,51 (±1,1)	9,18 (±1,5)	7,77 (±2,2)	8,68 (±1,7)	9,06 (±2,5)	8,20 (±1,3)	6,72 (±1,5)	6,69 (±1,2)	7,24 (±2,2)	6,94 (±1,5)

As concentrações médias encontradas para esses metais tóxicos pesquisados nos períodos estudados podem ter a influência da proximidade desta baía com a Baía de Todos os Santos (BTS), baía que possui um histórico de contaminação química (SOUZA; WINDMÖLLER; HATJE, 2011). Santos et al. (2013), em estudo realizado no município de São Francisco do Conde, Bahia, região circunvizinha da BTS, com amostras de *M. guyanensis*, constataram que os níveis de chumbo estavam acima do permitido pela legislação.

Como já observado pelo teste T houve um efeito significativo ($p < 0,05$) da pluviosidade para todos os microrganismos pesquisados, sendo que a população de Coliformes totais e *E. coli* foram maiores no período chuvoso, fato também observado para a concentração de chumbo e cádmio (Tabela 4). Valores elevados de concentração microbiana encontrados nesse estudo pode estar sofrendo influência da proximidade das

moradias da comunidade, as quais despejam seus efluentes diretamente no estuário, sendo os mesmos considerados a principal causa de contaminação das águas, além de ser uma região que não permite uma circulação eficiente das águas, o que dificulta a diluição dos dejetos. Segundo Lima-Filho (2015), isto pode ser explicado porque as chuvas provocam suspensão de sedimentos e entrada de nutrientes na água.

Tabela 4. Média da concentração microbiana (Log UFC.g⁻¹) e de metais tóxicos (mg.kg⁻¹) em *Mytella guyanensis* da Baía do Iguape em relação a sazonalidade

	Período de coleta	
	Seco	Chuvoso
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,93 (±0,1)	1,29 (±0,6)
Coliformes totais	1,29 (±0,4)	2,50 (±1,1)
<i>E. coli</i>	0,98 (±0,2)	1,56 (±0,8)
Chumbo	2,27 (±0,6)	2,95 (±0,8)
Cádmio	7,16 (±1,4)	8,65 (±1,6)

Por meio da Correlação de Pearson, observou-se que houve uma correlação forte positiva entre a pluviosidade e os coliformes totais ($r=0,629$, $p<0,0001$) e *E. coli* ($r=0,678$, $p<0,0001$) e correlação moderada positiva para chumbo ($r=0,363$, $p=0,049$) e cádmio ($r=0,435$, $p=0,016$). Segundo Kolm e Miquelante (2011) a pluviosidade tem capacidade de interferir na carga microbiana, uma vez que pode arrastar materiais e resíduos sólidos para água. Houve correlação moderada positiva entre a salinidade e os coliformes totais ($r=0,453$, $p=0,012$) e *E. coli* ($r=0,438$, $p=0,015$), correlação moderada positiva para cádmio ($r=0,469$, $p=0,009$) e não houve correlação significativa para chumbo.

A salinidade está envolvida nos processos de absorção e distribuição de metais tóxicos nos tecidos, sendo que baixas salinidades tem mais influência no acúmulo de metais nos tecidos do que a temperatura (VOLETY, 2008). O aumento da disponibilidade dos metais, com o aumento da salinidade pode demonstrar um processo de disponibilização dos metais por processos físicos e químicos de dessorção incentivados pelo aumento da salinidade (BIANCHI, 2006).

Com relação à temperatura houve correlação moderada negativa para coliformes totais ($r=-0,531$, $p=0,003$) e *E. coli* ($r=-0,433$, $p=0,017$), correlação moderada negativa

para cádmio ($r=-0,558$, $p=0,001$) e não houve correlação significativa para chumbo. Para o pH não houve correlação significativa para os coliformes totais, *E. coli* e cádmio e correlação moderada negativa para chumbo ($r=-0,377$, $p=0,040$)

Doi, Barbieri e Marques (2014) analisaram a densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia, São Paulo, e concluíram que a concentração de coliformes totais e termotolerantes nos locais analisados demonstrou variabilidade temporal, quanto maior o índice de chuva, mais elevados os valores de coliformes encontrados.

Mignani et al. (2013) avaliaram as densidades de coliformes totais e termotolerantes em água de cultivo de ostra em Cananeia, São Paulo, correlacionaram estas densidades com variáveis ambientais, e concluíram que a temperatura e pH não apresentaram correlação com os coliformes.

A Análise de Componentes Principais (PCA) revelou a correlação linear entre os fatores ambientais (temperatura, pH, salinidade e pluviosidade), os coliformes totais e *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, chumbo e cádmio (Figura 4). Este modelo explica 59,71% da variação total dos dados, o primeiro componente foi responsável por 40,19% da variância, mostrou correlação positiva da pluviosidade com todos os microrganismos (*Staphylococcus aureus*, coliformes totais e *E. coli*) e os metais chumbo e cádmio e correlação negativa entre pH e chumbo, ou seja, pode observar que um aumento da pluviosidade corresponde um aumento na quantificação dos microrganismos e metais tóxicos e uma diminuição da temperatura e pH. O segundo componente explicou 19,52% da variabilidade, com correlação foi positiva entre a salinidade com os coliformes totais e termotolerantes e cádmio e correlação negativa entre a temperatura com coliformes totais e *E. coli* e cádmio.

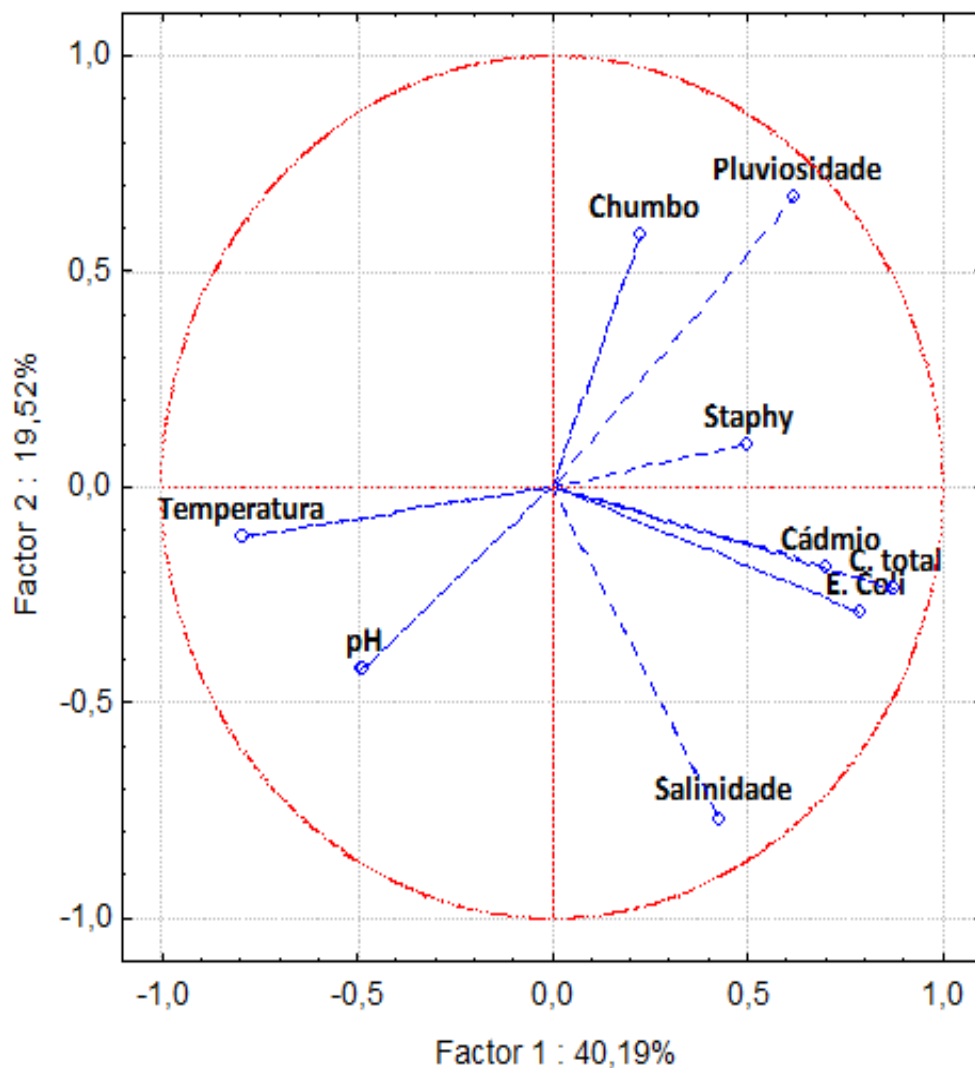


Figura 4. Análise de Componentes Principais (PC1 e PC2) com a quantificação de microrganismos e metais tóxicos em *Mytella guyanensis* da Baía do Iguape com os fatores ambientais.

Na figura 5 encontra-se representada a PCA das amostras em dois períodos de coleta (seco e chuvoso). O primeiro componente explicou 42,81% e o segundo componente 21,88% da variância dos dados, sendo que o primeiro componente explica melhor a distribuição geral das amostras nos períodos mostrando correlação positiva para as amostras no período chuvoso e correlação negativa no período seco. As amostras apresentam comportamento mais estável no período seco devido a pouca influência dos fatores ambientais.

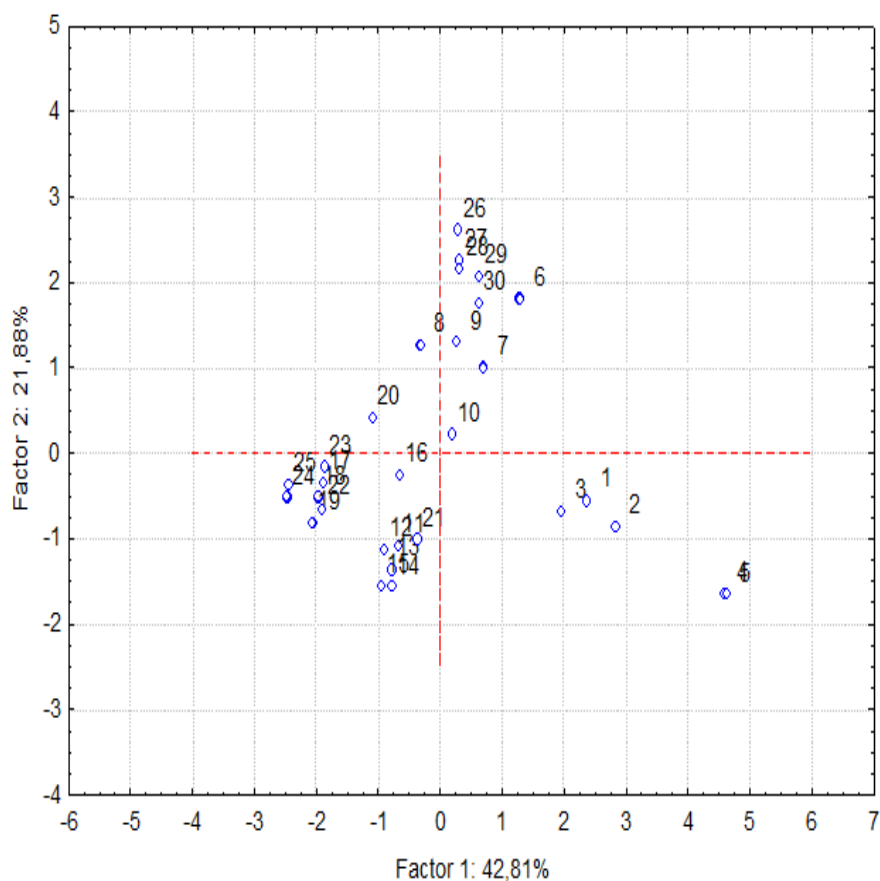


Figura 5. Análise de Componentes Principais (PC1 e PC2) de amostras de *Mytella guyanensis* da Baía do Iguape em dois períodos de coleta.

Ao analisar os dois gráficos em conjunto (Figura 4 e 5) é possível observar a influência das variáveis em determinadas amostras, ou seja, se estão no mesmo quadrante amostras e variáveis apresentam correlação entre si e quando as variáveis aumentam influência diretamente nesse conjunto de amostras.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados do presente estudo, foi possível concluir que os exemplares de *M. guyanensis* extraídos da comunidade Engenho da Ponte da Baía do Iguape estão adequados do ponto de vista microbiológico, porém existe restrição para seu consumo e comercialização devido a elevada concentração de chumbo e cádmio, podendo causar efeitos tóxicos para o ser humano.

Os resultados obtidos sugerem a necessidade de implementação de um programa de monitoramento das concentrações de metais tóxicos em organismos dos ecossistemas

marinhos da região para controle da poluição e evitar risco para a saúde dos consumidores.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento do projeto (TSC 2300/2012). Ao laboratório de química do IFBA pela análise de metais e a Comunidade quilombola Engenho da Ponte na coleta das amostras.

REFERÊNCIAS

BARROS, D.; BARBIERI, E. (2012) Análise da ocorrência de metais: Ni, Zn, Cu, Pb e Cd em ostras (*Crassostrea brasiliiana*) e sedimentos coletados no Estuário de Cananéia, SP (Brasil). *O Mundo da Saúde*, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 635-642.

BIANCHI, T. S. (2006) Biogeochemistry of Estuaries, *Oxford University Press*.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2001) Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2013) Resolução nº 42 de 29 de agosto de 2013. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). (2011) *Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura*. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/imprensa/noticias/300-boletim-estatistico-da-pesca-e-aquicultura>. Acesso em: 18 março de 2016.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA)- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2012) Instrução Normativa Interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012. Institui o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB). *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, DF.

CASTELLO, J. P. (2010). O futuro da pesca e da aquicultura marinha no Brasil: a pesca costeira. *Ciência e Cultura*. v. 62, p. 32-35,.

CRAIG, D. L.; FALLOWFIELD, H. J.; CROMAR, N. J. (2004) Use of microcosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with in situ measurements. *Journal of Applied Microbiology*, v.96, p.922-930.

DOI, S. A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. A. (2012) Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia, SP. *Engenharia Sanitária Ambiental*, vol.19, n.2, pp. 165-171.

DOI, S. A.; COLLAÇO, F. L.; STURARO, L. G. R.; BARBIERI, E. (2012) Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade. *O Mundo da Saúde*, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 594-601.

Environmental Protection Agency (EPA). (1991) Sample Preparation Procedure for Spectrochemical Determination of Total Recoverable Elements in Biological Tissue. In: *Method 200.3: U.S.* 1991.

FRANCHI, M. et al. (2011) Bioconcentration of Cd and Pb by the River Crab *Trichodactylus fluviatilis* (Crustacea: Decapoda), *Journal of the Brazilian Chemical Society*. v. 22, p. 230-238.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R.; FERREIRA, L. T. B. (2014) Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia). *Acadêmica Ciência Ambiental*, v. 12, n. 1, p. 25-34.

LIMA-FILHO, J. V. et al. (2015) Coliform risk assessment through use of the clam *Anomalocardia brasiliensis* as animal sentinel for shellfish harvesting areas in Brazil's northeast. *Journal Food Science and Technology*, v. 52, n. 8, p. 5364-5369.

KOLM, H. E.; MIQUELANTE, F. A. (2011) Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da Gamboa olho d'água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade no Brasil. *Publicações Biológicas*, v. 17, n. 1, p.21-35, 21.

MIGNANI, L. et al. (2013) Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 8, p.833-840.

NASCIMENTO, V. A. et al. (2011) Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. *Scientia Plena*, v. 7, n. 4.

RAMOS, R. J.; PEREIRA, M. A.; MIOTTO, L. A.; FARIA, R. D. A.; SILVEIRA JUNIOR, N.; VIEIRA, C. R. W. (2012) Ocorrência de *Vibrio* spp., *estafilococos* coagulase positivo e bactérias entéricas em ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas na baía sul da ilha de Santa Catarina, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 32, n. 3, p. 478-484.

RAMOS, R. J.; PEREIRA, M. A.; MIOTTO, L. A.; FARIA, R. D. A.; SILVEIRA JUNIOR, N.; VIEIRA, C. R. W. (2010) Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Instituto Adolfo Lutz*, v. 69, n. 1, p. 29-37.

SANTOS, L. F. P.; TRIGUEIRO, I. N. S.; LEMOS, V, A.; FURTUNATO, D. M. N.; CARDOZO, R, C, V. (2013) Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. *Food Control*, v. 33, p. 193-199.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. 3. Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SOUZA, M. M.; WINDMÖLLER, C. C.; HATJE, V. (2011) Shellfish from Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil: Treat or threat? *Marine Pollution Bulletin*, v. 62, n. 10, p.2254-2263.

VOLETY, A. K.. (2008) Effects of salinity, heavy metals and pesticides on health and physiology of oysters in the Colosahatchee Estuary, Florida. *Ecotoxicology*, p. 579-590.

CAPÍTULO 3

Condições higiênico-sanitárias e análise microbiológica de *Mytella guyanensis* comercializado em Cachoeira, Bahia, Brasil

Artigo a ser submetido à Revista Brazilian Journal of Microbiology

CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE *Mytella guyanensis* COMERCIALIZADO EM CACHOEIRA, BAHIA, BRASIL

SANITARY CONDITIONS AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS *Mytella guyanensis* MARKETED CACHOEIRA, BAHIA, BRAZIL

Allana de Oliveira Santos⁽¹⁾, Valéria Macedo Almeida Camilo⁽²⁾, Isabella de Matos Mendes da Silva⁽²⁾

¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Rua Rui Barbosa, 710 - Campus Universitário CEP 44380-000, Cruz das Almas-BA. allana.santos@hotmail.com

² Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- Centro de Ciências da Saúde. Avenida Carlos Amaral, 1015 - Cajueiro, Santo Antônio de Jesus-BA, CEP 44.570-000. isabellamatos@ufrb.edu.br, valeria_m@terra.com.br

RESUMO

Objetivou-se determinar a qualidade microbiológica de *M. guyanensis* comercializado em Cachoeira, Bahia, Brasil e avaliar as condições higiênico-sanitárias dos pontos de venda. As amostras foram adquiridas quinzenalmente de quatro comerciantes, dois da feira livre da cidade e dois de mercados do distrito de Santiago do Iguape, no período de junho de 2015 a fevereiro de 2016. As populações de coliformes totais e *Escherichia coli* foram estimadas pelo método de contagem rápida Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 991.14) e as de *Staphylococcus aureus* com placas STX (AOAC 955.15). Os aspectos higiênico-sanitários foram avaliados por meio da aplicação de uma lista de verificação (*check list*) conforme a RDC 275/2002 e 216/2004, ambas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. A média dos resultados microbiológicos revelou que as amostras comercializadas nos mercados estavam de acordo com limite permitido para *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Já as amostras comercializadas na feira livre apresentaram em média 100% de contaminação para os microrganismos pesquisados, sendo impróprias para o consumo. Verificou-se também que os pontos de venda apresentaram inadequações com relação à conduta do manipulador, condições de comercialização e higienização do ambiente. Sugere-se que o processamento das amostras encontra-se insatisfatório juntamente com as condições de comercialização, fazendo-se necessária a realização de atividades educativas com as marisqueiras, com objetivo de minimizar ou até mesmo elucidar os riscos de contaminação do molusco e possivelmente garantindo a saúde do consumidor.

Palavras Chave: Bivalve. Processamento. Coliformes.

ABSTRACT

This study aimed to determine the microbiological quality of *M. guyanensis* marketed in Cachoeira, Bahia, Brazil and evaluate the sanitary conditions of the selling points. The samples were obtained biweekly from four traders, two of the free market in the town and two of Iguape Santiago district markets in the period from June 2015 to February 2016. Populations of total coliforms and *Escherichia coli* were estimated by Petrifilm™ quick count method (3M Company) using cards EC (AOAC 991.14) and *Staphylococcus aureus* with STX cards (AOAC 955.15). The hygienic and sanitary aspects were evaluated by applying a checklist (checklist) as RDC 275/2002 and 216/2004, both the National Health Surveillance Agency. The average of microbiological results showed that the samples were sold in the markets according permitted limit for *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. However, the samples sold in the open market had on average 100% of contamination of the microorganisms examined, being unfit for consumption. It was also found that sales points present inadequacies in relation to the conduct of the manipulator, marketing conditions and hygiene of the environment. It is suggested that the sample processing is unsatisfactory with market conditions, making it necessary to carry out educational activities with seafood restaurants, in order to minimize or even clarify the mollusk contamination risks and possibly ensuring consumer health.

Keywords: Bivalve. Processing. Coliforms.

INTRODUÇÃO

A ingestão de moluscos bivalves crus ou levemente cozidos é uma prática comum em regiões litorâneas do Brasil, principalmente na região Nordeste, incluindo o bivalve *M. guyanensis* (PEREIRA et al., 2007). Conhecido popularmente como sururu ou marisco-do-mangue, *Mytella guyanensis* é um bivalve que apresenta morfologia de animal filtrador, possuindo a capacidade de absorver e acumular microrganismos e toxinas presentes na água (NASCIMENTO et al., 2011). É um importante recurso para as populações litorâneas, sob o ponto de vista socioeconômico (NISHIDA; NORDI; ALVES, 2008).

Apesar do seu elevado valor nutricional, existem riscos associados ao consumo desse bivalve devido à presença de contaminantes microbiológicos,

os quais podem causar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (LEAL, 2008).

Um dos fatores que contribui para a contaminação de *M. guyanensis* é a qualidade sanitária do ambiente aquático onde são capturados. Segundo Barros, Barbieri (2012) e Doi et al., (2012) os ambientes estuarinos estão propícios a contaminação microbiológica ocasionada através dos efluentes não tratados.

Outro fator determinante para qualidade higiênico-sanitária do molusco são as condições de processamento e comercialização. É fundamental o controle da higiene dos manipuladores, assim como a limpeza das conchas e dos utensílios para evitar que a carne desconchada seja contaminada (SILVA JÚNIOR, 2014). Bezerra, Mancuso e Heitz (2014) ressaltam que as DTA estão diretamente relacionadas com a carência de controle higiênico-sanitário e pela falta de conhecimento dos manipuladores acerca da segurança dos alimentos.

Considerando a importância da qualidade sanitária na comercialização dos bivalves, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de *M. guyanensis* comercializado em Cachoeira (Bahia, Brasil) por meio da quantificação de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, assim como as condições higiênico-sanitárias dos pontos de venda.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

O estudo foi realizado em Cachoeira, Bahia, Brasil, no período de junho de 2015 a fevereiro de 2016. As amostras de *M. guyanensis* foram adquiridas

de quatro comerciantes, dois pontos de venda da feira livre da cidade e dois de mercados situados no distrito de Santiago do Iguape. Foram comprados 1 Kg da amostra de cada comerciante, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso devidamente etiquetados e transportados sob refrigeração para o Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Segurança Alimentar e Nutricional no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Santo Antônio de Jesus, sendo imediatamente analisadas, durante a coleta das amostras foi mensurada a temperatura de comercialização.

Análise microbiológica

As populações de coliformes totais e *Escherichia coli* foram estimadas pelo método de contagem rápida Petrifilm™ (3M Company), utilizando placas EC (AOAC 991.14), e as populações de *Staphylococcus aureus* utilizando placas STX (AOAC 955.15). De cada amostra de sururu foi pesado 25 g e adicionado em 225 mL de solução salina a 0,9% de NaCl. Esta mistura foi homogeneizada em stomacher por 30 segundos e diluídas em série (10^{-2} e 10^{-5}). As amostras foram plaquedas e incubadas a $35\pm 1^{\circ}$ C por 24 ± 2 h. A contagem das colônias foi realizada com o auxílio de contador modelo CP600 Plus (Phoenix®), calculando-se o número de log UFC/g (SILVA et al., 2007).

Aplicação de lista de verificação

Os aspectos higiênico-sanitários dos estabelecimentos comerciais foram avaliados por meio da aplicação de uma lista de verificação (*check list*), elaborada com base na RDC n° 275, de 21 de outubro de 2002 e na RDC n°

216, de 15 de setembro de 2004, ambas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O *check list* foi constituído de 17 itens, divididos em três blocos englobando dados sobre as condições de comercialização, armazenamento e higiene dos manipuladores (BRASIL, 2002; BRASIL, 2004).

Para aplicação da lista de verificação, este estudo foi conduzido em conformidade, sendo aprovado pelo comitê de ética conforme protocolo de nº 09931612.6.0000.0056

Análise estatística

Os resultados microbiológicos foram expressos em Log/UFC/100g. Para verificar a distribuição das variáveis, utilizou-se o teste *One-Sample Kolmogorov-Smirnov*. Na análise descritiva foram utilizadas médias e desvio padrão para as variáveis quantitativas e porcentagem para as variáveis categóricas. Os dados foram analisados utilizando o Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 20.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise microbiológica

A população de *Staphylococcus aureus* variou de 1,3 a 8,0 log UFC/g, apresentando variação de 3,1 a 8,0 log UFC/g com média de $4,3 \pm 1,5$ log UFC/g nas amostras comercializadas na feira livre e 1,3 a 3,8 log UFC/g com média de $2,7 \pm 0,9$ log UFC/g nas amostras comercializadas nos mercados (Tabela 1). Conforme a Resolução RDC nº 12/2001, que estabelece limite máximo de 3,0 log UFC/g para moluscos bivalves (BRASIL, 2001), as amostras dos mercados em média estavam de acordo com limite permitido, enquanto

que 100% das amostras da feira livre em média estavam impróprias para o consumo humano, o que indica maior ineficácia higiênico-sanitária durante o processo de desconchamento e comercialização do molusco das amostras de feira livre.

Freitas et al. (2015) realizaram estudo em quatro comunidades da Baía do Iguape, avaliando as condições higiênico-sanitárias do processamento de *M. guyanensis* e concluíram que a contaminação do molusco por *Staphylococcus aureus* originou-se pelas mãos das manipuladoras durante o processamento, devido à não utilização de práticas de higiene adequadas e do desconhecimento da probabilidade de serem portadoras assintomáticas de microrganismos.

Tabela 1. Resultados da análise microbiológica (Log/UFC/g) de *Mytella guyanensis* comercializado em Cachoeira (Bahia, Brasil), 2015-2016

Microrganismos	Legislação	Amostras					
		Feira livre			Mercados		
		1	2	Média	1	2	Média
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,0	4,3	4,3	4,3 ($\pm 1,5$)	2,5	2,8	2,7 ($\pm 0,9$)
Coliformes totais	N.E	4,3	5,3	4,8 ($\pm 1,0$)	2,5	3,2	2,9 ($\pm 1,2$)
<i>E. coli</i>	1,7	3,1	4,1	3,6 ($\pm 1,1$)	1,3	2,1	1,7 ($\pm 0,7$)

N.E. Não existe parâmetro na legislação
Resolução nº12 de janeiro de 2001

A população de coliformes totais variou de 1,2 a 5,7 log UFC/g, ocorrendo variação de 2,7 a 5,7 log UFC/g com média de $4,8 \pm 1,0$ log UFC/g nas amostras comercializadas na feira e 1,2 a 4,5 log UFC/g com média de $2,9 \pm 1,2$ log UFC/g nos mercados (Tabela 1). Apesar da legislação brasileira não estabelecer valores de referência para estes microrganismos em moluscos bivalves, pesquisá-los é um importante indicativo da sua qualidade higiênico-

sanitária. Salienta-se que esses microrganismos indicadores foram encontrados em 100% das amostras analisadas, o que não deveria ocorrer em virtude da etapa de pré-cozimento em que o molusco passa para a abertura das valvas, haja vista que esse grupo é destruído a 60°C (FRANCO; LANDGRAF; 2008).

Nascimento et al. (2011) avaliando a qualidade microbiológica de *Mytella falcata* e *Crassostrea brasiliana* submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada, adquiridos do Mercado central de Aracaju, Sergipe, relataram altos níveis de contaminação microbiológica. Em estudo semelhante os mesmos autores, adquiriram *Mytella falcata* em conchas e realizaram o processo de pré-cozimento conforme as boas práticas de higiene, tendo como resultado uma baixa população bacteriana.

A população de *E. coli* variou de <1 a 4,9 log UFC/g, apresentando variação <1 a 3,0 log UFC/g com média de $1,7 \pm 0,7$ log UFC/g nas amostras comercializadas nos mercados e de <1 a 4,9 log UFC/g com média de $3,6 \pm 1,1$ log UFC/g nas amostras da feira livre (Tabela 1). De acordo com Brasil (2001), que estabelece o limite de 1,7 log UFC/g para este microrganismo em moluscos bivalves, as amostras dos mercados em média estavam de acordo com limite permitido, enquanto que todas as amostras comercializadas na feira livre estavam impróprias para o consumo, o que pode ser atribuído falha no aspecto higiênico do processamento com contaminação de origem fecal.

Resultados semelhantes foram observados em um estudo realizado em Maceió, Alagoas, analisando a qualidade microbiológica de moluscos (sururu e massunim) e revelaram que todas as amostras analisadas estavam

contaminadas por coliformes termotolerantes e em 86 % destas foi confirmada a presença de *Escherichia coli* (DELGADO et al., 2002).

Os resultados obtidos evidenciam que as amostras comercializadas na feira livre apresentaram maior população bacteriana do que as amostras dos mercados. Isto pode ser atribuído à temperatura de comercialização, pois no momento da coleta foi observado que nos pontos de venda da feira livre as amostras de *M. guyanensis* eram expostas à temperatura ambiente, apresentando variação de 26 a 37°C, o que contribui para proliferação desses microrganismos.

Avaliação da lista de verificação

De acordo com a Brasil (2002) o pontos de venda A (Mercado 1 - Santiago do Iguape) pertence ao Grupo 2, atendendo de 51 a 75% dos itens analisados e os pontos B (Mercado 2 - Santiago do Iguape) e C (Feira livre - Cachoeira) são classificados como Grupo 3, haja vista que apresentam menos de 50% de conformidade dos itens.

Com relação à higiene do ambiente, os estabelecimentos A, B e C apresentaram 85,1%, 14,3% e 14,3% de adequação, respectivamente (Figura 1). Dentre as inadequações do ambiente 66,6% correspondeu a presença de objetos em desuso e higienização inadequada do local de venda e 33,3% à presença de animais domésticos.

Analisando os itens acerca da conduta do manipulador observou-se que os pontos de venda A, B e C apresentaram adequações 50,0%, 33,4% e 16,7% respectivamente (Figura 1). O manipulador foi o que apresentou maior inadequação para todos os pontos de venda, sendo 100,0% de inadequação

referente ao manuseio do dinheiro durante a venda do alimento e 66,6% relacionado ao uso de adornos, unhas pintadas, compridas e comportamentos inadequados, como tossir e conversar durante a manipulação.

Ao avaliar as condições de comercialização, foi possível observar que os estabelecimentos A, B e C apresentaram 100,0%, 75,0% e 25,0% de adequação respectivamente (Figura 1), sendo 33,3% relacionado à comercialização do sururu *M. guyanensis* em temperatura ambiente.

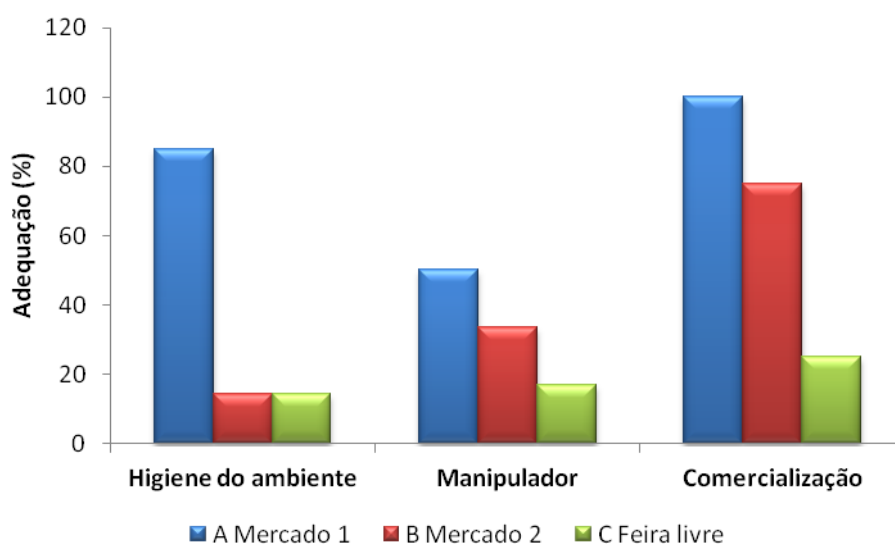


Figura 1. Percentual de adequação dos itens avaliados em estabelecimentos comerciais de Cachoeira, Bahia, Brasil, 2015-2016.

Os resultados obtidos demonstram percentuais elevados de inadequações da qualidade higiênico-sanitária na comercialização de alimentos que podem favorecer o aumento da população microbiana no produto, porém as inadequações observadas nos mercados não comprometeram a contaminação das amostras, devido à temperatura adequada de comercialização, haja vista que as amostras estavam congelada no momento da coleta.

CONCLUSÃO

As amostras de *M. guyanensis* comercializadas em Cachoeira apresentaram elevada carga microbiana, comprometendo a qualidade microbiológica do bivalve podendo causar surtos de DTA. Além disso, a carga microbiana é influenciada pela falta de Boas Práticas de Manipulação no processamento e comercialização do molusco, representando um risco a saúde, sendo necessária a realização de ações educativas com as marisqueiras, com objetivo de minimizar os riscos de contaminação do molusco, garantindo a segurança alimentar do consumidor.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

- BARROS, D.; BARBIERI, E. (2012) Análise da ocorrência de metais: Ni, Zn, Cu, Pb e Cd em ostras (*Crassostrea brasiliiana*) e sedimentos coletados no Estuário de Cananéia, SP (Brasil). *O Mundo da Saúde*, 36: 4: 635-642.
- BEZERRA, A. C. D.; MANCUSO, A. M. C.; HEITZ, S. J. J. (2014) Alimento de rua na agenda nacional de segurança alimentar e nutricional: um ensaio para a qualificação sanitária no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 19: 5: 1489-1494.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2004) Resolução nº 216 de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, DF.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2002) Resolução nº 275 de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, DF.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2001) Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil, Brasília, DF.

DELGADO, S. M. C.; NORMANDE, A. C. L.; FERREIRA, M. V.; RAMALHO, L. S. (2002) Avaliação da Qualidade Microbiológica de Pescado Comercializado em Maceió- AL. Higiene Alimentar, 16: 9: 61-64.

DOI, S. A.; COLLAÇO, F. L.; STURARO, L. G. R.; BARBIERI, E. (2012) Efeito do chumbo em nível de oxigênio e amônia no camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) em relação à salinidade. **O Mundo da Saúde**, 36: 4: 594-601.

FRANCO, D. D. G. M.; LANDGRAF. (2008) Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu.

FREITAS, F. et al. (2015) Qualidade sanitária de sururu (*Mytella guyanensis*) beneficiado por comunidade quilombola. B. ceppa, 33: 2:10-20.

LEAL, D. A. G. (2008) Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle, Campinas-SP, Brasil. Revista Panamericana de Infectologia, 10:. 4: 48-57.

NASCIMENTO, V. A. et al. (2011) Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. Revista Scientia Plena, 7: 4: 1-5.

NISHIDA, A. K.; NORDI, N.; ALVES, R. R. N. (2008) Aspectos Socioeconômicos dos Catadores de Moluscos do Litoral Paraibano, Nordeste do Brasil. Revista de Biologia e Ciências da Terra,. 8: 1: 207-215.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. N.; NUERNBERG, L.; DENYS SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. (2006) Microbiological quality of oysters (*Crassostrea Gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis – Brazil. Journal of Microbiology, 37: 2:. 159-163.

PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. A.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. (2007) *Vibrio* spp. isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro, Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27:.2: 387-390.

SILVA JUNIOR, E. A. (2014) Manual de Controle Higiênico-sanitário em Serviços de Alimentação. São Paulo: Varela.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. (2007) Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade microbiológica e química dos moluscos bivalves são fatores importantes para a prevenção de Doenças Transmitidas por alimentos, considerando que eles apresentam morfologia de animal filtrador. Portanto, o consumo de bivalves com qualidade microbiológica insatisfatória pode representar um risco à saúde humana.

A contaminação microbiana pode ser resultante do próprio ambiente onde são capturados ou pode ser oriunda da manipulação, armazenamento e comercialização inadequados. Isso mostra a importância da realização da análise microbiológica nos moluscos tanto extraídos no ambiente quanto nos comercializados processados.

No presente estudo ficou evidenciado um alto índice de contaminação microbiológica nas amostras de moluscos processados, isso sugere que houve falhas higiênico-sanitárias no processamento das amostras, bem como inadequações durante a comercialização. Faz-se necessário a qualificação contínua dos manipuladores, com a realização de atividades educativas, assim como ações fiscalizatórias dos órgãos competentes, com objetivo de minimizar os riscos de contaminação do molusco e garantir a saúde do consumidor.

Além da contaminação microbiana verificou também elevada concentração de chumbo e cádmio, podendo causar efeitos tóxicos para o ser humano. Os resultados mostram a necessidade de implementação de um programa de monitoramento das concentrações de metais tóxicos em organismos dos ecossistemas marinhos da região para controle da poluição e evitar risco para a saúde dos consumidores.

Apêndices

Apêndice A: Lista de verificação aplicada nos pontos de comercialização.

CHECK LIST			
Local: _____			
Endereço: _____			
Horário de avaliação: _____			
ESTABELECIMENTO	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
Livre de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente			
Presença de lixeira com pedal e saco de lixo			
Ausência de circulação de pessoas dentro do estabelecimento			
Livre de animais, insetos e roedores			
Higienização adequada do estabelecimento			
Presença de pia com água corrente			
Presença de poeira			
COMERCIANTE	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
Utilizavam toucas ou outro protetor capilar			
Utilizavam aventais			
Ausência de adornos (anéis, relógios, brincos)			
Ausência de barba			
As unhas estavam cortadas, limpas e sem esmalte ou base			
Evitam comportamentos, atitudes e gestos incorretos durante a manipulação (fumar, tossir sobre os alimentos, cuspir, manipular dinheiro durante a venda do produto)			
SURURU	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
Estavam armazenados de forma a evitar riscos de contaminação			
Exposição em temperatura de congelamento			
Estavam devidamente embalados			
Os equipamentos para armazenamento sob temperatura se encontram em condições adequadas de higiene			

Apêndice B: Atividade devolutiva

HIGIENIZAÇÃO DO AMBIENTE

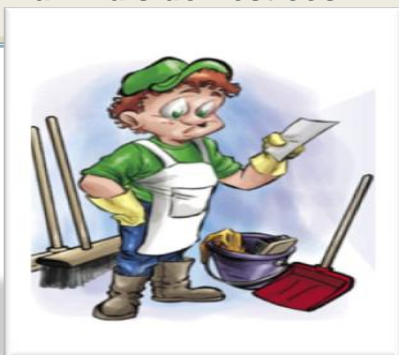
O local de trabalho deve estar limpo e organizado

Limpe o ambiente diariamente e sempre que necessário

As bancadas devem estar em bom estado de conservação

A limpeza é importante para prevenir e controlar baratas, ratos e outras pragas

O local de trabalho deve está livre de animais domésticos



www.anvisa.gov.br

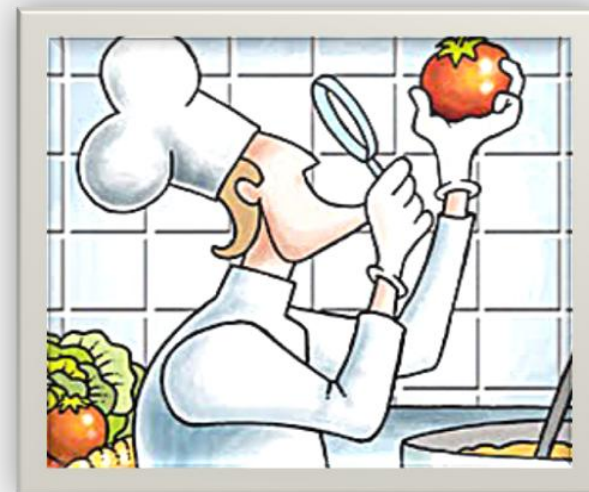
Organizadores:

Allana de Oliveira Santos
Isabella de Matos Mendes da Silva
Valéria Macedo Almeida Camilo

Realização



BOAS PRÁTICAS NA COMERCIALIZAÇÃO DE ALIMENTOS



O QUE SÃO BOAS PRÁTICAS?

São práticas de higiene que devem ser obedecidas pelos manipuladores, desde o preparo do alimento até a venda do consumidor.

O objetivo das Boas Práticas é evitar a ocorrência de doenças provocadas pelo consumo de alimentos contaminados



www.ebah.com.br

As doenças provocadas pelo consumo de alimentos ocorrem quando microrganismos prejudiciais à saúde, parasitas ou substâncias tóxicas são transmitidos ao homem por meio do alimento.



www.anvisa.gov.br

Os sintomas mais frequentes são diarreia, vômito, cólica, náusea e febre.

MANIPULADOR DE ALIMENTOS

Todas as pessoas que trabalham com alimentação são consideradas “manipuladores de alimentos”, ou seja, quem produz, coleta, transporta, recebe, prepara e distribui.

Use os cabelos presos e cobertos com toucas

Use avental

Não use barba

Retire brincos, pulseiras, anéis, aliança, colares, relógio e maquiagem

Lave as mãos

Use unhas cortadas, limpas e sem esmalte ou base



www.anvisa.gov.br



www.anvisa.gov.br

MANIPULAÇÃO DO MARISCO

O manipulador deve armazenar rápida e corretamente os alimentos para conservar sua qualidade o maior tempo possível, evitando que estraguem.



www.baianoreparos.com.br

Vender sobre refrigeração

Armazenar em freezers ou caixa térmica com gelo em condições adequadas de higiene

O sururu precisa está separado em embalagem individual para ser vendido

Anexos

Anexo A: Normas revista Engenharia Sanitária e Ambiental

Regulamento para apresentação de contribuições

1. Objetivo

O presente regulamento objetiva uniformizar a apresentação das contribuições a serem encaminhadas para publicação na Revista Engenharia Sanitária e Ambiental.

2. Formas de contribuição

2.1. As formas de contribuição são:

- Artigo Técnico
- Nota Técnica
- Revisão da Literatura
- Discussão de Nota Técnica, Artigo Técnico ou Revisão da Literatura

2.2. Artigo Técnico é uma exposição completa e original, totalmente documentada e interpretada, de um trabalho de relevância.

2.3. Nota Técnica é um trabalho sumário podendo corresponder a:

- artigo com resultados ainda parciais
- considerações sobre aspectos pouco abrangentes da área
- desenvolvimento de considerações técnicas relativas a algum aspecto

da Engenharia Sanitária e Ambiental

- alguma outra abordagem sumária pertinente, a juízo dos Editores.

2.4. Revisão da Literatura corresponde a um artigo, no qual é levantado o estado da arte de algum tema relevante e inovador, na área de Engenharia Sanitária e Ambiental, cuja abordagem deve ser suficientemente crítica e capaz de identificar avanços, lacunas e desafios científicos, à luz da literatura nacional e internacional. Trabalhos de revisão sistemática e meta-análise podem ser incluídos nessa categoria de artigo.

2.5. Discussão é uma avaliação crítica ou ampliação do conteúdo de uma Nota Técnica, Artigo Técnico ou Revisão da Literatura publicado na Revista. As discussões serão publicadas, sempre que possível, conjuntamente com a resposta do(s) autor(es). A Revista tem como linha editorial o incentivo à publicação de artigos de discussão.

2.6. Não serão aceitos relatórios, traduções e nem artigos já publicados ou submetidos à publicação em outros veículos, ou que impliquem em promoção comercial de determinada marca, produto ou empresa.

3. Encaminhamento das contribuições

3.1. A inscrição das contribuições será feita pelo sistema da Scielo, através do link <http://submission.scielo.br/index.php/esa/index>. Não serão aceitas inscrições de artigos por fax, e-mail ou correio.

3.2. O primeiro passo para o acesso ao sistema é o Cadastro, bastando clicar em “Cadastrar-se” no link no canto superior direito. A partir daí, clicar em “Engenharia Sanitária e Ambiental”, que fará a vinculação do cadastro junto à Revista.

3.3. Feito isso, o próprio sistema mostrará, passo a passo, como submeter a sua contribuição.

3.4. Realizada a submissão, o autor receberá um e-mail acusando o recebimento da mesma. E a partir do código dado pelo próprio sistema que o autor poderá acompanhar o processo de avaliação do seu trabalho.

3.5. A Revista Engenharia Sanitária e Ambiental cobra taxa de submissão no valor de: R\$ 100,00. A taxa destina-se a não sócios da ABES. Caso o autor principal seja sócio, enviar e-mail para esa@abes-dn.org.br informando número de matrícula ABES para isentar-se da taxa. Observação: A taxa de submissão não será restituída caso o manuscrito seja recusado, e o pagamento da taxa não garante o aceite do artigo, que passará normalmente pelo processo de avaliação. Associe-se à ABES: <http://socio.abes-dn.org.br/>

3.6. Qualquer dúvida, favor enviar e-mail para esa@abes-dn.org.br.

4. Formato das contribuições

4.1. As contribuições devem ser preparadas pelos autores no formato “.doc” aberto para edição usando o recurso de numeração de linhas do Microsoft Word (Arquivo – Configurar página – Layout – Números de linha – Numerar linhas – Contínua – OK – OK).

4.2. As contribuições devem ser enviadas no formato “.doc” pelo Sistema de Envio de Artigos. Todos os demais formatos de arquivos, inclusive os compactados, serão bloqueados.

4.3. Após o processo avaliativo, as contribuições aprovadas para publicação deverão sofrer correções e ser enviadas em sua versão final para diagramação.

4.4. Os trabalhos submetidos devem estar de acordo com as normas da ABNT/NBR 14724:2011– Trabalhos Acadêmicos

4.5. Poderão ser incluídos figuras, gráficos e ilustrações, desde que o tamanho do arquivo não ultrapasse 10MB.

4.6. O texto integral do artigo não poderá exceder 20 (vinte) páginas para Artigo Técnico e Revisão da Literatura e 8 (oito) páginas para Nota Técnica e Discussão, atendendo ao formato estabelecido nos itens a seguir.

4.7. O Artigo Técnico e a Nota Técnica deverão seguir a seguinte sequência de apresentação:

Título do artigo em português (até 200 caracteres) e em inglês

- Resumo em português e em inglês, de 100 a 250 palavras (conforme NBR 14724).

- Palavras-chave em português e em inglês

- Título resumido do artigo em português (até 60 caracteres) para o cabeçalho

- Texto do artigo (sem divisão em colunas)

- Referências

- Anexos (se houver)

i. Agradecimentos, se houver, deverão ser incluídos somente na versão final do artigo aprovado para publicação.

ii. O Nome do(s) autor(es), Currículo resumido(s) do(s) autor(es), endereço para correspondência (profissional) devem constar somente nos metadados do Sistema Scielo, preenchidos no momento de cadastro. **IMPORTANTE:** não colocar estas informações no envio da contribuição original.

4.8. O texto deverá ser formatado para um tamanho de página A-4, margens 3 cm para esquerda e superior, e 2 cm inferior e direita (conforme NBR 14724). As páginas deverão ser devidamente numeradas. Deve ser empregada fonte Times New Roman, corpo 12, exceto no título que deverá ter corpo 16. O espaçamento entre as linhas deverá ser 1,5.

4.9. O corpo do artigo deve ser organizado segundo um encadeamento lógico, contendo subtítulos “Introdução”, “Metodologia”, “Resultados”, “Discussão”, (ou

“Resultados e Discussão”), “Conclusões” e “Referências”. Na redação não deve ser empregada a primeira pessoa e o estilo a ser adotado deve ser objetivo e sóbrio, compatível com o recomendável para um texto científico.

4.10. Deverá ser evitada a subdivisão do texto em um grande número de subtítulos ou itens, admitindo-se um máximo de cabeçalhos de terceira ordem.

4.11. O conteúdo do trabalho deve ser submetido a criteriosa revisão ortográfica.

4.12. Termos grafados em itálico ou negrito poderão ser utilizados no corpo do artigo.

4.13. As discussões deverão ser submetidas no máximo até 6 (seis) meses após a publicação do Artigo, Nota Técnica ou Revisão da Literatura.

4.14. Somente serão aceitos trabalhos em português Brasil.

5. Figuras e ilustrações

As figuras e ilustrações devem observar os seguintes critérios:

5.1. Os arquivos das figuras e ilustrações, sem bordas ao redor, devem ser inseridas no arquivo do texto, de maneira que possam ser editados por meio do MS Word for Windows.

5.2. Os textos e legendas não devem ficar muito pequenos ou muito grandes em relação à figura.

5.3. As figuras devem ser intercaladas nos locais apropriados e apresentar um título.

5.4. A inclusão de fotografias não é aconselhável; porém, se os autores julgarem que são importantes para esclarecer aspectos relevantes do artigo, deverão ser inseridas em resolução mínima de 300 dpi.

5.5. Todos os gráficos, desenhos, figuras e fotografias devem ser denominados “Figura”, e numerados sequencialmente em algarismos arábicos. Toda figura deve ser mencionada no texto.

5.6 O número e título da Figura devem ser colocados centralizados, imediatamente abaixo da figura. O título deve ser claro e autoexplicativo.

5.7. As páginas internas da Revista são impressas em uma só cor, não sendo permitida, portanto, a adoção de cores na diferenciação das variáveis nos gráficos e diagramas.

6. Quadros e tabelas

Os quadros e tabelas deverão atender os seguintes critérios:

- 6.1. Os quadros e tabelas devem ser claros e objetivos, sem linhas de grade. As unidades correspondentes a todos os termos usados devem ser claramente identificadas.
- 6.2. Todos os quadros ou tabelas devem ser denominados “Quadro” ou “Tabela”, numerados sequencialmente em algarismos arábicos e mencionados no texto.
- 6.3. Cada quadro e tabela, além da numeração, deve possuir um título. O número e o título devem ser colocados centralizados, imediatamente acima do quadro ou tabela. O título deve ser claro e autoexplicativo.
- 6.4. Um quadro e uma tabela não poderão ser maiores do que uma folha A-4.
- 6.5. Quadros e tabelas devem aparecer, preferencialmente, intercalados nos locais apropriados do texto, a critério do autor.
- 6.6. As páginas internas da Revista são impressas em uma só cor, não sendo permitida, portanto, a adoção de cores na diferenciação das variáveis nos quadros e tabelas.

7. Equações

As equações podem ser editadas pela equipe responsável pela diagramação. Portanto, os seguintes critérios devem ser satisfeitos:

- 7.1. As equações devem ser claras e legíveis, e escritas com a mesma fonte do corpo do texto, sem a utilização de itálico ou negrito.
- 7.2. As equações e fórmulas devem ser denominadas “Equação” e numeradas sequencialmente em algarismos arábicos. A numeração à direita da equação deve ser entre parênteses. Todas as equações devem ser mencionadas no texto.
- 7.3. Todos os símbolos usados devem ser definidos imediatamente após a equação (caso não tenham sido definidos anteriormente), incluindo as suas unidades ou dimensões.

8. Unidades

- 8.1. Todas as unidades mencionadas no texto, tabelas, quadros e figuras devem ser expressas de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI).

8.2. Deve-se evitar o uso da barra de fração na expressão das unidades. Exemplo: Ao invés de mg/L ou m³/s, deve-se utilizar mg.L⁻¹ e m³.s⁻¹ .

9. Referências

As referências citadas no texto e listadas ao final do artigo deverão estar de acordo com a norma NBR 6023/2002. A título de esclarecimento são apresentadas algumas diretrizes:

9.1. As referências citadas no texto devem conter o sobrenome do(s) autor(es), em caixa alta, seguidos pelo ano da publicação, observando-se os seguintes critérios:

9.1.1. Quando houver mais de um trabalho, as citações devem ser em ordem alfabética.

9.1.2. Trabalhos com mais de três autores devem ser referenciados ao primeiro autor, seguido por “*et al.*” (em itálico e com ponto).

9.1.3. Quando houver mais de uma publicação do mesmo autor, no mesmo ano, o ano da publicação deve ser seguido dos componentes “a, b, c...”, em ordem alfabética.

Exemplos: ... estudos efetuados por Silva (1994a, 1994b) e por Machado *et al.* (1995a) revelaram...; ... estudos recentes (SOUZA,1993; SILVA, WILSON e OLIVEIRA, 1994; MACHADO *et al.*, 1995b) revelaram...

9.2. Ao final do trabalho deverá ser apresentada uma lista de todas as referências citadas no texto, de acordo com os seguintes critérios, entre outros:

9.2.1. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, de acordo com o sobrenome do primeiro autor.

9.2.2. Devem ser referenciados todos os autores (independentemente do número de autores) pelo sobrenome seguido pelas iniciais de cada autor, separados por vírgulas.

Exemplo: SMITH, P.J.; WATSON, L.R.M.; GREEN, C.M...

9.2.3. O título do periódico referenciado deverá ser apresentado em itálico. As indicações de volume, número e página deverão ser identificados pela letra inicial (“v”, “n” ou “p”), seguida de ponto. Não devem ser utilizadas aspas antes e depois do título do trabalho.

Exemplo: JEWELL, W.J.; NELSON, Y.M.; WILSON, M.S. Methanotrophic bacteria for nutrient removal from wastewater: attached film systems. *Water Environment Research*, v. 64, n. 6, 1992, p. 756-65.

9.2.4. O título do livro deve ser apresentado em itálico. Devem ser incluídos a edição, o local, a editora, o número de páginas e a data.

Exemplo: FRANÇA, J.L.; VASCONCELOS A.C. *Manual para Normalização de Publicações Técnico-Científicas*. 8 ed. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2007, 255 p.

9.2.5. Em capítulos de livros e trabalhos de congressos, a obra principal (título do livro ou denominação do congresso) é referenciada em itálico e vem precedida da expressão "In".

Exemplos: Anais - CAIXINHAS, R.D. Avaliação do impacto ambiental de empreendimentos hidro-agrícolas. In: *Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 5 Anais...* Lisboa: APRH, 1992, p. 203-11.

Capítulo de Livro - KUKOR, J.J.; OLSEN, R.H.; IVES, K. Diversity of toluene degradation following exposure to BTEX in situ. In: KAMELY, D.; CHAKABARTY, A.; OLSEN, R.H. (Eds.) *Biotechnology and Biodegradation*. Portfolio Publishing Company, The Woodlands, E.U.A., 1989, p. 405-421.

10. Julgamento

10.1. Após avaliação prévia realizada pelos Editores da Revista, se considerado pertinente, cópias da contribuição, sem identificação dos autores, serão enviadas a pelo menos dois avaliadores, especialistas da área, indicados pelos Editores.

10.2. Em qualquer etapa de julgamento do trabalho, serão levados em consideração a obediência às disposições regulamentares, o relacionamento do tema à Engenharia Sanitária e Ambiental, adequação do título, do resumo e das palavras-chave, existência de encadeamento lógico, ineditismo e qualidade da contribuição.

10.3. Na análise dos editores e dos avaliadores a contribuição será classificada segundo uma das seguintes categorias:

- Aceito
- Revisões requeridas
- Rejeitar

11. Comunicação aos autores

O autor principal será comunicado do resultado da avaliação e no caso de artigos recusados, receberão as devidas justificativas.

12. Número de autores

O número de autores permitido para cada submissão é de até cinco. Casos excepcionais enviar email para esa@abes-dn.org.br para consulta.

13. Responsabilidades e direitos

O conteúdo dos artigos é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es), que declaram se responsabilizar por qualquer reclamação de terceiros quanto a conflitos envolvendo direitos autorais, assumindo e isentando a ESA/ABES de qualquer pendência envolvendo suas publicações. Os autores que encaminharem seus artigos cedem à ESA/ABES os respectivos direitos de reprodução e/ou publicação. Os casos omissos serão resolvidos pelos editores do periódico.

Anexo B: Normas Revista Brazilian Journal of Microbiology

A revista *Brazilian Journal of Microbiology*, editada pela Sociedade Brasileira de Microbiologia, publica artigos originais, e trabalhos de revisão que cobrem todos os aspectos da Microbiologia. Não são cobradas taxas para publicação de artigos.

As seguintes categorias de artigos são aceitas para publicação no *Brazilian Journal of Microbiology*:

Artigos Originais: reportam resultados científicos originais que ainda não tenham sido publicados em outro periódico;

Artigos de Revisão: abordam temas ligados à microbiologia em geral e de amplo interesse da área.

Seu manuscrito deve ser escrito em inglês claro e compreensível.

Instruções ao autores

O Artigo deverá ser submetido como um único arquivo em WORD. Este arquivo deve conter texto, figuras, tabelas, etc. Serão aceitas apenas submissões de artigos redigidos em inglês.

Para artigos originais, o arquivo em WORD deve conter:

- Título
- Autores de afiliações
- Resumo (200 a 250 palavras)
- 3 a 5 palavras-chave
- Introdução
- Material e Métodos
- Resultados e Discussões
- Agradecimentos (opcional)
- Referências

Os artigos devem ser digitados com espaço duplo, margens de 3 cm e numerados sequencialmente. As linhas das páginas do artigo devem ser numeradas. Os editores recomendam que antes da submissão o artigo seja lido de forma crítica por alguém fluente em língua inglesa. Os artigos escritos com inglês de baixa qualidade não serão aceitos.

Artigos Originais e Artigos de revisão deverão conter até, no máximo, 20 páginas, incluindo referências, tabelas e figuras.

Abreviaturas e símbolos devem seguir as recomendações da IUPAC-IUB *Commission on Biochemical Nomenclature, Amendments and Corrections*. As unidades de medida devem seguir o Sistema Internacional de Unidades.

Organização

O Título deve ser conciso, não conter abreviações e indicar claramente o tema do artigo.

Expressões como "Effects of", "Influence of", "Study on", etc, devem ser evitadas. Os cuidados na escolha das palavras do título são importantes, pois são usadas em sistemas eletrônicos de busca.

O Resumo deve resumir o conteúdo básico do artigo. Ele deve ser representativo do texto. Não deve conter referências, tabelas nem abreviações pouco usuais. São de grande importância, pois serão lidos por muitas pessoas que não têm acesso ao artigo completo.

A Introdução deve oferecer informações que possibilitem ao leitor avaliar adequadamente os resultados apresentados no artigo sem que obrigatoriamente tenha que recorrer à literatura corrente. No entanto, a introdução não deve ser uma extensa revisão de literatura. Deve informar claramente as justificativas e os objetivos do artigo.

Os Materiais e Métodos devem proporcionar informações suficientes para que outros pesquisadores possam reproduzir o trabalho. A repetição de detalhes de procedimentos que já tenham sido publicados em outros artigos deve ser evitada. Se um método publicado for modificado, tais modificações devem estar claras no artigo. Fontes de reagentes, meios de cultura e equipamentos (empresa, cidade, estado e País) devem ser mencionadas no texto. Nomes que são marcas registradas devem ser claramente indicados. Subtítulos podem deixar este tópico mais fácil de ler e entender.

Os Resultados devem, por meio de texto, tabela e/ou figuras dar os resultados dos experimentos. Se o item Discussão for incluído, evite interpretações extensas dos resultados, pois isto deverá ser feito na discussão.

Se os Resultados e Discussões forem redigidos concomitantemente, então os resultados devem ser discutidos no local mais apropriado do texto.

Tabelas e figuras devem ser numeradas em algarismos arábicos. Todas as tabelas e figuras devem ser mencionadas no texto.

O local aproximado das tabelas e figuras no texto deve ser indicado.

As Referências devem ser redigidas em ordem alfabética e começar pelo último nome do primeiro autor. Todos os autores devem ser citados. As citações no texto devem ser escritas pelo último nome do primeiro autor, seguido pelo ano de publicação. Como exemplo, tem-se: "... *while Silva and Pereira (1987) observed that resistance depended on soil density*" ou "*It was observed that resistance depended on soil density (Silva and Pereira, 1987).*" Para a citação de dois ou mais artigos do mesmo autor, liste em ordem cronológica sendo que os anos devem ser separados por vírgula (exemplo: Freire-Maia et al., 1966a, 1966b, 2000; Hene 2010; Padonou et al., 2012). Os nomes dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *BIOSIS*. Todas as referências incluídas na lista final devem ter sido citadas no texto e todas as referências mencionadas no texto devem aparecer na lista final.

Exemplos:

a. Artigos de Periódicos

Brito DVD, Oliveira EJ, Darini ALC, Abdalla VOS, Gontijo-Filho PP (2006) Outbreaks associated to bloodstream infections with *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp in premature neonates in a university hospital from Brazil. *Braz J Microbiol*37:101-107.

b. Artigos ou Capítulos de Livro

Franco BDGM, Landgraf M, Destro MT, Gelli DS, (2003) Foodborne diseases in Southern South America. *In: Miliotis, M.D., Bier, J.W.*(eds). *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcel Dekker, New York, USA, 733-743.

- c. Livros
Montville TJ, Matthews KR (2005) Food Microbiology - an introduction. ASM Press, Washington, D.C.
- d. Patentes
Hussong RV, Marth EH, Vakaleris DG. January 1964. Manufacture of cottage cheese. U.S. Pat. 3, 117, 870.
- e. Teses e Dissertações
Santos MVB (2005) O papel dos anticorpos contra os componentes da parede celular de *Paracoccidioides brasiliensis* na evolução da doença experimental. São Paulo, Brasil, 110p. (M.Sc. Dissertation. Instituto de Ciências Biomédicas. USP).
- f. Comunicações em Eventos (Simpósios, Conferências, etc)
Silveira TS, Martins JL, Abreu FA, Rosado AS, Lins UGC (2005) Ecology of magnetotactic multicellular organisms in microcosms. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, SP, p. 272.
- g. Publicações na Web
Abdullah MAF, Valaitis AP, Dean DH (2006) Identification of a *Bacillus thuringiensis* Cry11 Ba toxin-binding aminopeptidase from the mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. *BMC Biochemistry*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2091/7/16>
- h. Webpage
U.S. Food and Drug Administration. 2006. Enjoying Homemade Ice Cream without the Risk of *Salmonella* Infection. Available at:<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fs-eggs5.html>. Accessed 26 May 2006.

Agradecimentos: Esta seção é opcional. Ela reconhece a assistência financeira e pessoal recebida para execução do trabalho.

Tabelas: devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas sequencialmente por algarismos arábicos. O título deve ser colocado acima da tabela e deve ser curto, porém representativo, com descrição completa da informação contida na tabela. Cabeçalhos e rodapés

devem ser concisos, com colunas e linhas cuidadosamente centralizadas. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)

Figuras: devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas sequencialmente por algarismos arábicos. Os dados que foram apresentados em tabelas não devem ser repetidos na forma de figuras. As legendas devem ser colocadas abaixo das figuras. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)

Fotografias: Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)