

Ana Lúcia Moreno Amor
Fábio Santos de Oliveira
Isabella de Matos Mendes da Silva
Marcilio Delan Baliza Fernandes
Ricardo Mendes da Sliva
Sibele de Oliveira Tozetto Klein

SAÚDE, ALIMENTOS E MEIO AMBIENTE NO RECÔNCAVO DA BAHIA

Ana Lúcia Moreno Amor
Fábio Santos de Oliveira
Isabella de Matos Mendes da Silva
Marcilio Delan Baliza Fernandes
Ricardo Mendes da Silva
Sibele de Oliveira Tozetto Klein
(Organizadores)

Saúde, Alimentos e Meio Ambiente no Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas - BA
2018

Este livro faz parte do Edital Interno SEAD/EDUFRB Nº 04/2016.

FICHA CATALOGRÁFICA

A524s Saúde, alimentos e meio ambiente no Recôncavo da Bahia / Organizadores: Ana Lúcia Moreno Amor [Et. al.]_ Cruz das Almas, BA: UFRB, 2018. 161p.; il.

ISBN: 978-85-5971-048-9

Vários Autores / Organizadores.

1.Segurança alimentar e nutricional – Alimentos.
2.Alimentos – Controle de qualidade – Microbiologia.
3.Recôncavo Baiano – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Superintendência de Educação Aberta e a Distância. II.Amor, Ana Lúcia Moreno. III.Oliveira, Fábio Santos de. IV.Silva, Isabella de Matos Mendes da. V.Fernandes, Marcilio Delan Baliza. VI.Silva, Ricardo Mendes da. VII.Klein, Sibeles de Oliveira Tozetto. VIII.Título.

CDD: 613.2

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA - UFRB

Silvio Luiz de Oliveira Soglia
Reitor

Georgina Gonçalves dos Santos
Vice-Reitora



SUPERINTENDÊNCIA DE EDUCAÇÃO ABERTA E A DISTÂNCIA-SEAD

Ariston de Lima Cardoso
Superintendente – Coordenador UAB

Adilson Gomes dos Santos
Coordenador Adjunto UAB



SUPERINTENDENTE DA EDITORA UFRB

Sérgio Augusto Soares Mattos

CONSELHO EDITORIAL

Alexandre Américo Almassy Júnior
Celso Luiz Borges de Oliveira
Geovana da Paz Monteiro
Jeanne Saskya Campos Tavares
Léa Araujo de Carvalho

Nadja Vladi Cardoso Gumes
Sérgio Augusto Soares Mattos
(presidente)
Silvana Lúcia da Silva Lima
Wilson Rogério Penteado Júnior

SUPLENTEs
Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Robério Marcelo Ribeiro
Rosineide Pereira Mubarak Garcia



EQUIPE DE PRODUÇÃO DA SEAD

Agessandro Azevedo Carvalho
Técnico em Assuntos Educacionais

Sabrina Carvalho Machado
Assistente em Administração

Dayane Sousa Alves
Assistente em Administração

Jônatas de Freitas Santos
Técnico em Informática
Karina Zanoti Fonseca
Chefe do Núcleo de Mídias

Carlos André Lima de Matos
Diagramador - Estagiário

Luiz Artur
Assistente em Administração

Raimar Ramos de Macedo Filho
Diagramador - Estagiário

SEAD - UFRB

Casa N°1 - Campus Universitário. Telefone: (75) 3621-6922.

EDITORA - UFRB

Biblioteca do Campus de Cruz das Almas. Telefone: (75) 3621-7672. Rua Rui Barbosa, 710 - Centro. Cruz das Almas-BA.

Sumário

Apresentação	9
Contaminação de alimentos por metais tóxicos: evidências a partir de estudos realizados em um município do Recôncavo da Bahia <i>Fábio Santos de Oliveira, Isabella de Matos Mendes da Silva, Marcilio Delan Baliza Fernandes, Sibeles do Oliveira Tozetto Klein</i>	11
Qualidade microbiológica de alimentos comercializados em Santo Antônio de Jesus-Bahia <i>Isabella de Matos Mendes da Silva, Fernanda Freitas, Ana Lúcia Moreno Amor, Ricardo Mendes da Silva, Roberval de Jesus Assunção</i>	31
Encontro de formas parasitárias no solo: manutenção de um ambiente contaminante propício a infecções e reinfecções <i>Ana Lúcia Moreno Amor, Carlos Henrique Araújo Fonseca, Edna Moura de Santana Brito, Gabriela Ferraz Libório Trzan, Raoni dos Santos Andrade, Wesley Araújo de Albuquerque, Leonardo Bispo Reis, Felipe Silva de Miranda, Glauber Andrade dos Santos</i>	41
Histologia: uma ferramenta em estudos ambientais e de Saúde Pública <i>Sibeles do Oliveira Tozetto Klein, Ricardo Mendes da Silva, Fernanda Freitas, Valéria Macedo Almeida Camilo</i>	53
Análise histológica de alimentos como avaliação dos impactos ambientais por metais tóxicos em Santo Amaro (BA) <i>Sibeles do Oliveira Tozetto Klein, Felipe Silva de Miranda, Elen Maiana Lima Conceição da Silveira, Juliane Pinto dos Santos, Vaneiza dos Santos Oliveira, Fábio Santos de Oliveira, Marcilio Delan Baliza Fernandes</i>	73

Caracterização de cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas de frangos de corte no Recôncavo da Bahia <i>Isabella de Matos Mendes da Silva, Ricardo Mendes da Silva, Marcilio Delan Baliza Fernandes, Sibeles do Oliveira Tozetto Klein, Fábio de Oliveira Santos, Maykson Costa de Jesus, Vaneza Leal Cardoso, Taiana de Araújo Conceição</i>	95
Identificação de marcadores moleculares que permitam caracterizar a associação entre polimorfismo genético e doenças cardiovasculares. <i>Marcilio Delan Baliza Fernandes, Sibeles do Oliveira Tozetto Klein, Djanilson Barbosa dos Santos, Fábio de Oliveira Santos, Domingos Claudison de Freitas, Arthur Gonzalez, Taiana de Araújo Conceição</i>	111
Ludicidade e educação em saúde na prevenção de enteroparasitos no Recôncavo da Bahia <i>Ana Lúcia Moreno Amor, Viviane de Souza Oliveira, Raíssa da Silva Santos, Ligia Maffei Carnevalli, Rebeca Correa Rossi, Bruno Carvalho Marques, Luiz Henrique Silva Mota, Edemilton Ribeiro Santos Junior, Isabella de Matos Mendes da Silva</i>	123
Ciência e saber popular: experiências com comunidades quilombolas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia <i>Isabella de Matos Mendes da Silva, Valéria Macedo Almeida Camilo, Fernanda Freitas, Gabrielly Sobral Neiva, Edileide Santana da Cruz, Larissa Janusic, Monique Lima dos Santos, Tarcísio da Silva Costa</i>	135
Mini currículo dos Organizadores	157

Apresentação

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) foi criada em 2005, no governo do presidente Luiz Inácio Lula da Silva, no Projeto de Expansão das Universidades Federais. Apesar de recém-criada, o diálogo multiprofissional e multi e interdisciplinar dos docentes-pesquisadores integrantes do quadro efetivo permanente desta IES possibilitou a agregação de pesquisadores inseridos em distintos grupos de pesquisa do Diretório de Grupos de Pesquisa do CNPq, em diferentes áreas do conhecimento e formação acadêmico-científica que permeiam a fronteira da área da Saúde. Além dos docentes-pesquisadores, servidores técnicos e estudantes dos cursos de graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRB, bem como, estudantes de pós-graduação dela e de outras IES parceiras fazem parte deste capital humano destinado ao desenvolvimento de pesquisa científica, extensão e ensino de pós-graduação com foco na resolução de problemas de saúde humana. A aprovação, de dois projetos de pesquisa da UFRB vinculados ao CCS, junto à agência Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), viabilizou a construção de duas edificações destinadas a pesquisas interdisciplinares - Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) (2009) e Unidade Multidisciplinar de Estudos e Pesquisas em Saúde (UMEPS) (2015), dando apoio ao desenvolvimento de pesquisas e atividades extensionistas, a formação de recursos humanos na graduação e pós-graduação, bem como, a transferência de conhecimento gerado. Os trabalhos desenvolvidos pelo grupo participante deste livro têm como principais focos de atuação o desenvolvimento de estudos na área de saúde, alimentos e ambiente, com foco no Recôncavo da Bahia. No primeiro capítulo será abordado o histórico de pesquisas envolvendo

metais tóxicos em alimentos do município de Santo Amaro (Bahia), no contexto da Segurança Alimentar e Nutricional (SAN). O segundo capítulo abordará a compilação de pesquisas envolvendo análises microbiológicas de diversos alimentos comercializados em Santo Antônio de Jesus (Bahia) para verificar a qualidade dos alimentos produzidos nessa localidade. O terceiro capítulo trará resultados de estudos parasitológicos em ambientes. Os capítulos quatro e cinco abordarão a importância da realização das análises histológicas pela técnica de rotina em amostras da biota comestível para verificar o estado sanitário dos alimentos e as características biológicas que vão subsidiar pesquisas preservacionistas e de exploração sustentável. A caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli* em amostras de frango será discutida no capítulo seis, para subsidiar a produção segura nessa cadeia produtiva. O capítulo sete avaliará o potencial de determinados marcadores moleculares como indicadores de susceptibilidade ao adoecimento por problemas cardiovasculares em grupos populacionais do Recôncavo da Bahia. O relato de experiência envolvendo atividades lúdicas de educação em saúde, objetivando a prevenção de doenças e promoção da saúde será descrito no capítulo oito. Por fim, enquanto capítulo de encerramento dessa obra, serão descritas algumas vivências extensionistas realizadas com comunidades quilombolas de uma Reserva Extrativista Marinha do Recôncavo da Bahia envolvendo as temáticas SAN e sustentabilidade socioambiental no capítulo 9. Assim, o objetivo deste livro é trazer uma síntese dos trabalhos desenvolvidos na primeira década do SANUTRI e executados pelas equipes de trabalho nas quais os autores estão inseridos.

Os Autores

Contaminação de alimentos por metais tóxicos: evidências a partir de estudos realizados em um município do Recôncavo da Bahia

Fábio Santos de Oliveira

Marcilio Delan Baliza Fernandes

Isabella de Matos Mendes da Silva

Sibele do Oliveira Tozetto Klein

As grandes mudanças que vem ocorrendo nas últimas décadas nos campos socioeconômico, científico, tecnológico, político e cultural favoreceram a realização de profundos debates sobre direitos fundamentais, destacando-se os alimentos. Neste cenário, surge o conceito de Segurança Alimentar e Nutricional, que se caracteriza como o direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos seguros e de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, pautando-se na sustentabilidade ecológica, cultural, econômica e social (BELIK, 2003; KEPPLER; SEGALL-CORREA, 2011).

Alimentos seguros não podem representar riscos de natureza física, química ou biológica, apresentando níveis de contaminantes dentro de limites toleráveis para que não causem efeitos deletérios à saúde. Neste contexto, a Comissão do *Codex Alimentarius* introduziu o conceito de perigo em alimentos, sendo qualquer propriedade biológica, física ou química que torne um alimento prejudicial para o consumo (FAO, 1998).

Incluem-se na categoria de perigos biológicos as bactérias, fungos, vírus, parasitos patogênicos e toxinas microbianas. Os perigos físicos em alimentos envolvem objetos e fragmentos de origem diversa que podem estar presentes nas matérias-primas ou nos pro-

duto alimentares, incluindo vidro, madeira, pedras, metal, ossos, plástico e objetos de uso pessoal. Por fim, os perigos químicos em alimentos estão inseridos em um vasto conjunto de substâncias, envolvendo tanto contaminantes químicos como substâncias normalmente presentes nos alimentos e matérias-primas que se encontram em concentrações indevidas, destacando-se:

- Substâncias químicas introduzidas no processo (e.g. produtos de limpeza e desinfecção, lubrificantes, etc);
- Medicamentos veterinários;
- Toxinas (e.g. toxinas associadas a mariscos, cogumelos, etc);
- Alérgenos (e.g. glúten, lactose, etc);
- Substâncias naturais vegetais (e.g. cianogênicos em mandioca e caroços de frutas, fitoalexinas em batata doce e aipo, salicina em batata, hemaglutinina e inibidores de protease em feijão vermelho e ervilhas, etc);
- Pesticidas (e.g. inseticidas, rodenticidas, larvicidas, fungicidas, herbicidas, reguladores de plantas, desfoliantes, etc);
- Metais tóxicos (e.g. cádmio, chumbo, mercúrio, cobre, etc).

No que se refere aos metais, diferente dos contaminantes orgânicos e biológicos, estas espécies químicas não são degradáveis e apresentam razoável estabilidade no meio em que se encontram, mesmo que apresentem certa mobilidade (FOWLER; NORDBERG; NORDBERG, 2015; TCHOUNWOU et al., 2012; JÄRUP, 2003; MAGNA et al., 2013). Os metais e metalóides presentes nos alimentos podem ser classificados como macronutrientes (Ca, Mg, Fe, K, Na), micronutrientes (Ni, Cu, Mo, Se, Cr), potenciais micronutrientes essenciais (B, V), metais não essenciais e atóxicos (Al, Sn) e metais tóxicos (Pb, Cd, Hg, Be) (REILLY, 2008; TCHOUNWOU et al., 2012).

Recentemente, a terminologia empregada para designar metais que causam efeitos deletérios à saúde humana e biota tem sido alvo de discussões (DUFFUS, 2002), principalmente devido a tendência generalizada de assumir que “metais pesados” apresentam propriedades altamente tóxicas ou ecotóxicas. A palavra “metal” convencionalmente refere-se

a elementos puros, íons ou ligas metálicas, enquanto convencionase que o termo “pesado” implica em elevada densidade (DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007).

Todavia, não há qualquer base físico-química ou dados toxicológicos que sustentem qualquer relação entre densidade e as propriedades tóxicas dos elementos, não havendo também definição clara que indique qual a densidade mínima para uma espécie química ser considerada “pesada” (DUFFUS, 2002). Na verdade, a compreensão de biodisponibilidade realmente é essencial para avaliação da toxicidade potencial dos elementos metálicos.

Ao avaliar as possibilidades de classificação dos elementos metálicos com rigor conceitual químico como base para avaliação da toxicidade, sem qualquer referência ao conceito de “pesado”, Duffis et al. (2002) propuseram a seguinte forma de agrupamento, em ordem crescente de toxicidade: i) classe A – metais duros (ácidos de Lewis – receptores de elétrons - de pequeno tamanho e baixa polarizabilidade); ii) metais intermediários; iii) classe B – metais moles (ácidos de Lewis – receptores de elétrons - de grande tamanho e alta polarizabilidade). Verifica-se então a necessidade de incorporação de terminologia mais adequada no vocabulário científico para designar esses metais, sendo este um processo gradativo e lento.

No presente capítulo, buscando suprimir a expressão “metais pesados”, o termo “metais tóxicos” foi adotado, por ser facilmente compreendido e classificar de forma sintética o grupo de elementos químicos que causam maiores impactos ecológicos e à saúde. Ainda assim, se reconhece certa imprecisão desta terminologia, uma vez que qualquer substância pode ser tóxica, desde que a dose seja suficientemente elevada.

Os metais tóxicos podem ser inseridos nos alimentos nas etapas de produção, processamento, armazenamento, manipulação, sejam estas realizadas em larga escala ou mesmo em ambientes domésticos (REILLY, 2006). A presença desses contaminantes em alimentos pode ser influenciada pela proximidade a zonas industriais, locais de mineração, pontos de descarte de lixo, uso de fertilizantes e/ou praguicidas, natureza do solo, variações sazonais, propriedades físico-químicas desses elementos e processos fisiológicos de absorção, metabolização, distribuição, fixação e excreção por organismos de origem vegetal ou animal empregado enquanto alimentos, podendo ser bioacumulados e/ou biomagnificados (JUWARKAR; YADAV, 2010; HAPKE, 1996).

O estudo da contaminação de alimentos por metais tóxicos tem merecido atenção dos

órgãos mundiais, sendo que programas para monitoramento deste tipo de contaminação foram sugeridos pela FAO/WHO (JECFA, 1993), determinando contaminantes, assim como a sua contribuição para contaminação humana (VULCANO, 2008). Considerando que os riscos de contaminação por metais tóxicos são ainda mais preocupantes em regiões industriais, verifica-se a relevância da investigação de riscos alimentares nessas regiões potencialmente contaminadas.

Em Santo Amaro, município do Recôncavo da Bahia, manteve-se em atividade por 33 anos (1960 – 1993), uma indústria de minério de chumbo (Companhia Brasileira de Chumbo – COBRAC), que, por não prever o controle seguro de seus efluentes, provocou significativa contaminação do território por metais tóxicos, produzindo cerca de 491 mil ton de escória com Pb e Cd neste período. O consumo de pescado, especialmente invertebrados, como moluscos bivalves e crustáceos, é uma das principais fontes de proteína para as comunidades ribeirinhas de Santo Amaro. Além disso, as atividades de coleta de mariscos e a pesca artesanal são importantes fontes de renda para diversas famílias da localidade. Destaca-se também o relevante consumo de alimentos locais de origem vegetal (folhosos, tubérculos, frutas, etc) fornecidos por pequenos produtores locais. Assim, os impactos sociais, econômicos e à saúde dos santoamarenses decorrentes desta contaminação também compõem este passivo ambiental.

Por ser um elemento não essencial e pouco excretado pelo organismo humano, o Pb é capaz de interagir com a matéria viva e promover mecanismos de toxicidade que perpassam por processos bioquímicos básicos, abrangendo a capacidade de inibir a ação do cálcio e de sua interação com proteínas (MOREIRA; MOREIRA, 2004a; MOREIRA; MOREIRA, 2004b). A toxicidade do Pb está associada à sua alta afinidade com agrupamentos amins e aminoácidos simples e, sobretudo, na formação de complexos estáveis com ligantes contendo enxofre, nitrogênio e oxigênio (-SH, -H₂PO₃, -NH₂, -OH). A interação com grupamentos de enxofre é de grande importância para a toxicologia do Pb, dado que, se tal interação ocorrer em enzimas, teremos a inativação dessa última. A estabilidade dos complexos de chumbo varia conforme o número de sítios ativos adequados (SKERFVING, 1993; TSALEV; ZAPRIANOV, 1985; SARYAN; ZENZ, 1994).

O chumbo promove diversos efeitos adversos no organismo humano, dentre os quais

afetam o sistema cardiovascular, neurológico, gastrointestinal, hematológico, renal e reprodutor (NOGUEIRA, 2003). Também pode estar associado às alterações na pressão arterial e na variação dos níveis séricos de vitamina D (LEE et al., 2001), além de promover processos mutagênicos e carcinogênicos (LIU et al., 2008; RAJARAMAM et al., 2005).

A presença de Cd leva à síntese da proteína metalotioneína, que sequestra e inativa o metal, sendo que esta proteína representa um importante fator de acumulação do Cd (CINIER et al., 1998). O Cd, quando em concentrações que excedem a capacidade de produção da metalotioneína, se liga a outras proteínas, como nos músculos, expressando sua toxicidade com anomalias como anemia, anorexia e distúrbios respiratórios. De uma forma geral, cádmio tende a se acumular principalmente no fígado e rins, sendo que os rins são os órgãos mais criticamente afetados exposição a longo termo, causando disfunção renal, caracterizada por proteinúria tubular (DURUIBE; OGWUEGBU; EGWURUGWU, 2007), e impactando irreversivelmente na reabsorção de proteínas, açúcares e aminoácidos (MCLAUGHLIN et al., 1999), o que é evidenciado pelo aumento da excreção de proteínas de baixas massas molares, tais como β_2 -microglobulina e α_1 -microglobulina, ou enzimas como a N-Acetil- β -D-glucosaminidase (NAG) (JÄRUP, 2003).

Considerando que os processos de absorção de cádmio ocorrem em maior extensão que os de excreção, este metal tóxico tende a se bioacumular continuamente, especialmente nos rins e fígado (HAPKE, 1996). Em casos extremos de intoxicação crônica por cádmio pode acarretar em osteomalacia e fraturas ósseas, com casos registrados em Itai itai, Japão (JÄRUP; KESSIB, 2009). Afeta de forma mais acentuadas principalmente as mulheres na pós-menopausa e os sintomas estão diretamente ligados a deficiências dietéticas de Ca, Fe, Zn, proteínas, lipídios e vitamina D durante o período de exposição (MCLAUGHLIN et al., 1999). Destaca-se que, para não fumantes e indivíduos não ocupacionalmente expostos, a ingestão de alimentos contaminados com Cd é a mais importante fonte de contaminação (CARDOSO et al., 2001).

No contexto do município de Santo Amaro, as primeiras evidências dos impactos da contaminação por chumbo e cádmio surgiram cerca de um ano após o início das atividades da fábrica, envolvendo a ocorrência de grande mortandade do gado e suínos da região (ANJOS, 2003). Quanto às pesquisas envolvendo a análise de metais tóxicos em alimentos,

o primeiro trabalho foi realizado em 1977 (DONNIER et al., 1977 apud CARVALHO et al., 1982) envolvendo produtos da pesca (ostra, sururu e siri) coletados no estuário do Reio Subaé. Os autores reportaram teores de cádmio em base seca variando de 80 a 135 mg/kg em amostras de ostra, de 13 a 40 mg/kg em amostras de siri e de 40 a 60 mg/kg em amostras de sururu. Considerando dados sobre composição centesimal de alguns moluscos e crustáceos para converter as concentrações de base seca para base úmida, bem como realizando a comparação com os limites preconizados pela legislação (BRASIL, 2013), estima-se que as concentrações relatadas por Donnier et al. (1977 apud CARVALHO et al., 1982) ultrapassavam os padrões aceitáveis em até 4,7 vezes para o siri, 13,7 vezes para ostras e 12,2 vezes para o sururu.

Tavares e Carvalho (1992) relataram que o segundo estudo, abrangendo alimentos de Santo Amaro, enquanto instrumentos para avaliação de riscos exposição ambiental da população local, foi realizado em 1980, no qual verduras e frutas produzidas em um raio de 1 km da fábrica, apresentaram concentrações de chumbo em base seca de até 215 mg/kg e de cádmio de até 11,8 mg/kg. As maiores concentrações foram encontradas nas verduras folhosas e, as menores, nas frutas locais (banana e laranja). Evidenciou-se uma diminuição nos níveis dos dois metais com a distância da fábrica, mas nenhuma influência foi observada no que concerne à posição em relação aos ventos predominantes. Os autores assinalaram a preocupação quanto ao consumo constante de alguns vegetais, principalmente quiabo, batata doce e aipim que, poderiam ultrapassar os limites máximos de ingestão diária recomendada pela WHO/FAO (JECFA, 1993).

Ainda na década de 1980, ao investigar a presença de chumbo e cádmio em alimentos de origem vegetal cultivados nas proximidades de COBRAC, Petersen (1982) concluiu que elevadas concentrações de chumbo foram encontradas nas amostras de hortelã e alface, sendo identificadas evidências de uma relação inversa entre distância da fábrica e concentrações de chumbo, sendo que os índices encontrados em Santo Amaro eram maiores do que aqueles recomendados pela WHO/FAO (JECFA, 1993).

No ano de 1996 os resultados de pesquisas realizadas na Universidade Federal da Bahia, por meio do Programa de Monitoramento dos Ecossistemas ao Norte da Baía de Todos os Santos (UFBA, 1996 apud FUNASA, 2003), revelaram que as concentrações médias de metais

tóxicos em base seca nas amostras de sururu coletadas em São Brás (Pb = 1,36 mg/kg e Cd = 0,86 mg/kg). Portanto, verifica-se uma importante redução dos níveis de cádmio em sururu quando comparados aos valores obtidos por Donnier et al. (1977 apud CARVALHO et al., 1982), ainda que não fique claro se as coletas foram realizadas em período anterior ou posterior à desativação da fábrica de chumbo.

Estudos posteriores avaliaram a concentração de chumbo e cádmio em amostras de espécimes da biota aquática do rio Subaé empregados como alimentos (CUNHA; ARAÚJO, 2001). O laudo pericial de amostras de peixe, crustáceo (espécies não identificadas) e sururu evidenciou concentrações de chumbo de 1,03 mg/kg, não detectada e 1,15 mg/kg, respectivamente. Para cádmio, os teores determinados foram 0,19 mg/kg, 0,23 mg/kg e 1,06 mg/kg em amostras de peixe, crustáceo e sururu, respectivamente.

A partir dessa investigação verificou-se que apenas a amostra de peixe apresentou níveis de chumbo acima do limite preconizado pela legislação brasileira para este alimento (BRASIL, 2013), ultrapassando-o em 3,43 vezes. Os demais resultados não evidenciaram níveis de chumbo ou cádmio acima dos padrões estabelecidos, com resultados para cádmio em sururu expressivamente inferiores aos encontrados em experimentos realizados em 1977 (DONNIER et al., 1977 apud CARVALHO et al., 1982). Destaca-se que, diferente dos trabalhos desenvolvidos por Donnier et al. (1977 apud CARVALHO et al., 1982), as amostras presentes na pesquisa de Cunha e Araújo (2001) foram coletadas após a desativação da fábrica beneficiadora de chumbo, sendo que a interrupção das emissões continuadas de chumbo pode explicar tais diferenças.

Ainda no trabalho de Cunha e Araújo (2001) foram realizadas as análises chumbo e cádmio em amostras de banana, acerola e cana de açúcar coletadas na periferia da PLUMBUM. Somente em uma amostra de banana foi detectada a concentração de 11,0 mg/kg de chumbo, sem detecção dos metais nas demais amostras, o que representa níveis de chumbo estimados em base úmida 30,91 vezes mais elevados que o limite aceitável pela legislação brasileira (BRASIL, 2013).

Em trabalho posterior, Pontes (2009) mediu as concentrações de chumbo em amostras de acerola, alface, aipim, banana, couve, hortelã, lima, mamão, ovos de galinha (casca e gema), pimentão e quiabo coletadas nas porções Norte, Leste, Sul, bem como em frente à antiga

instalação da COBRAC/Plumbum e em uma horta localizada em uma rua que dá acesso direto às ruínas da metalúrgica e em amostras de água. As concentrações de chumbo nas amostras de alface, hortelã e mostarda encontravam-se acima padrão estabelecido (BRASIL, 2013).

O mais amplo e recente trabalho de investigação sobre os níveis de chumbo e cádmio em alimentos de origem vegetal e ervas produzidos em Santo Amaro foi realizado por Magna et al. (2013), incluindo uma diversidade de frutas (banana, acerola, manga, goiaba, limão, laranja), de ervas (aroeira, cidreira, capim santo, alumã), além da cana e do tubérculo mandioca. Os resultados das análises de frutos obtidos nesse trabalho relevaram elevadas concentrações de chumbo e cádmio, cujas faixas de concentração foram 0,18-118,2 mg/kg e 0,04-7,39 mg/kg, respectivamente. As médias para chumbo e cádmio em todos frutos avaliados superavam o valor limite preconizado pelo *Codex Alimentarius* (1998) para estes contaminantes em alimentos vegetais (0,1 mg/kg para Pb e 0,05 mg/kg para Cd), sendo que os valores para chumbo também encontravam-se acima das faixas de concentração encontradas por Cunha (2012) para diversos vegetais (11,9 – 15,2 mg/kg). Os frutos com maiores e menores concentrações médias de chumbo foram laranja e banana, respectivamente, enquanto para cádmio foram banana e limão, respectivamente.

As análises de ervas realizadas por Magna et al. (2013) também apontaram elevados teores de chumbo e cádmio, cujas faixas de concentração foram 1,26 – 51,7 mg/kg e 0,1 – 7,39 mg/kg, respectivamente. De forma semelhante ao que foi encontrado para frutas, todas amostras de ervas apresentaram teores médios de chumbo e cádmio acima dos limites preconizados *Codex Alimentarius* para esses elementos (0,3 mg/kg para Pb e 0,1 mg/kg para Cd). A aroeira foi a erva que apresentou maiores concentrações médias de chumbo e cádmio, enquanto os menores teores desses metais tóxicos foram obtidos na aroeira e boldo do Chile, respectivamente.

Os trabalhos desenvolvidos por nosso grupo abrangem as mais recentes investigações sobre contaminação dos alimentos em Santo Amaro por chumbo e cádmio. Macedo et al. (2017) realizaram a primeira pesquisa científica sobre chumbo e cádmio em alimentos que considerou a necessidade de levantamento dos hábitos alimentares desta população para selecionar os alimentos mais consumidos nas determinações de metais tóxicos, sendo empregado um questionário de frequência alimentar desenvolvido para esta população (DA

MOTA et al., 2016; CAMILO et al., 2016). A partir da aplicação desse instrumento, os alimentos produzidos no município e mais freqüentemente consumidos pela neste território foram frango, peixe, ovos, coentro, aipim e quiabo.

Nas amostras de vegetais, os níveis médios de contaminação por chumbo variaram entre valores abaixo do limite de quantificação (LOQ) e 3,08 mg/kg e entre 0,39 a 0,62 mg/kg para cádmio. O aipim foi o alimento de origem vegetal com maiores níveis médios de contaminação por esses metais, sendo que todas essas amostras excederam o limite estabelecido, atingindo valores de até 67 e 9 vezes acima do permitido para Pb e Cd, respectivamente. As concentrações de metais em aipim, comparado com os demais vegetais, é consistente com os resultados de Kabata-Pendias e Mukherjee (2007) que verificaram que os teores de metais nos vegetais são mais altos nas raízes e decrescem de acordo com a seguinte ordem: raízes > folhas > sementes.

Estudos anteriores realizados em Santo Amaro, mostraram níveis de contaminação por chumbo e cádmio ainda maiores no aipim, com concentrações médias de 16,8 e 0,93 mg/kg, respectivamente (MAGNA et al., 2013). Embora os níveis encontrados em aipim no presente estudo sejam inferiores aos níveis encontrados em trabalhos anteriores, fica clara a persistência da contaminação por metais tóxicos nesse vegetal.

O coentro apresentou as maiores proporções de chumbo em relação ao cádmio, com médias de 1,54 e 0,40 mg/kg, respectivamente. As concentrações de Pb em todas as amostras desse alimento estavam acima do limite estabelecido pela Resolução RDC 42/2013 (BRASIL, 2013), atingindo valores 15 vezes acima do nível máximo aceito. De forma similar, 80% das amostras de coentro também apresentaram contaminação excessiva por Cd quando comparado aos limites legais.

Um estudo recente demonstrou o potencial biossorvente do coentro para a remoção de chumbo e outros metais tóxicos potencialmente tóxicos da água contaminada, que se deve a estrutura das paredes exteriores das células microscópicas que compõem a planta, apresentando uma arquitetura ideal para absorção de metais tóxicos (BERNSTEIN; WOODS, 2013).

O quiabo foi o vegetal que apresentou menor contaminação por Pb e Cd, com concentrações médias de 0,69 e 0,39 mg/kg, respectivamente. Contudo, os níveis encontrados

ainda excedem os limites preconizados pela legislação. Estudos pioneiros já demonstravam altos níveis de contaminação em vegetais produzidos em Santo Amaro, nas proximidades da COBRAC. Os resultados alarmantes apresentaram concentrações de chumbo de até 215 mg/kg (base seca) e de cádmio de até 11,8 mg/kg (base seca) e chamavam atenção ao perigo no consumo de quiabo e aipim (TAVARES; CARVALHO, 1992).

O presente estudo demonstra que a contaminação dos vegetais não está restrita apenas às proximidades da fábrica, sendo observada a contaminação por metais no ponto de coleta de vegetal mais distante, que fica a 15,1 Km da fábrica. Magna et al. (2013) ao analisarem os vegetais cultivados em Santo Amaro verificaram a capacidade dos mesmos em absorver e translocar os metais presentes no solo para as raízes e posteriormente para a parte aérea, consistindo em potencial risco para o consumo alimentar.

Os metais tóxicos afetam os valores nutritivos dos vegetais e expressam efeito deletério sobre os seres humanos que usam esses itens alimentares. Alta contaminação encontrada nos vegetais pode ser estreitamente relacionada com as contaminações na água de irrigação (OYMAK et al., 2009) e no solo agrícola (MAGNA et al., 2013).

A média da contaminação nos alimentos de origem animal variou de 1,6 a 5,79 mg/kg para o chumbo e 0,49 a 0,8 mg/kg para o cádmio. O músculo do frango e o ovo foram os itens que apresentaram maiores níveis de contaminação por chumbo e o cádmio, respectivamente. Todas as amostras de músculo de frango e 60% das amostras de fígado de frango apresentaram contaminação acima do limite preconizado pela legislação. As amostras com maiores concentrações de Pb e Cd em músculo de frango atingiram 57 e 13 vezes acima dos limites seguros, respectivamente.

Os níveis de chumbo observados no músculo de frango corroboram com o trabalho de Lopes et al. (2007). Os autores detectaram elevadas massas de chumbo e cádmio retidas em músculo bovino fresco e deteriorado e advertiram sobre os riscos potenciais associados ao consumo de carne contaminada por íons Cd^{2+} e Pb^{2+} . Os autores também associaram a maior retenção de íons chumbo e cádmio no tecido muscular devido a presença de grupos químicos nas proteínas, tais como sulfidril, carbonila, hidroxila e amina, que apresentam grande afinidade por estes íons metálicos.

A afinidade do chumbo e cádmio pelos grupos sulfidril merece destaque, uma vez que

esta reatividade está fortemente relacionada com do efeito da inativação da enzima ALAD citoplasmática e da ferroquelatase pelo chumbo, bem como à reatividade do cádmio pela enzima metalotioneína (MOLIN; PAOLIELLO; CAPITANI, 2006; YOKEL; LASLEY; DORMAN, 2006).

Apesar do frango ser a fonte de proteína mais consumida pela população de Santo Amaro, não foram encontrados estudos anteriores sobre a contaminação química de frangos neste município. Um estudo realizado na Turquia avaliou os níveis chumbo e cádmio em carne de frangos e os valores encontrados foram $44,0 \pm 2,9 \text{ mg/kg}$ e $2,82 \pm 0,78 \text{ mg/kg}$, respectivamente. Como foram coletadas de forma aleatória no mercado da cidade de Kayseri, as amostras não representam a qualidade do alimento na Turquia (OYMAK et al., 2009). Os hábitos alimentares do frango consistem em ciscar e bicar o chão, com ingestão ocasional de solo, o que pode ser um sério fator adicional de exposição desses animais aos metais tóxicos presentes no solo.

Entre as amostras de peixe, 40% delas foram identificadas enquanto contaminadas Pb, apresentando nível médio de 1,9 mg/kg, o que representam cerca de 6 vezes acima do máximo permitido pela legislação. Em relação ao Cd, todas apresentaram níveis elevados, com concentração média de 0,67 mg/kg, e estavam acima do limite permitido. Em oposição aos resultados obtidos no presente estudo, pesquisas realizadas com peixes oriundos em região próxima ao território estudado (São Francisco do Conde) evidenciaram que esses metais apresentaram níveis em peixes aceitáveis segundo a legislação (CRA, 2005; SANTOS et al., 2013).

Segundo Rocha et al. (2012), a contaminação por metais tóxicos em peixes do rio Subaé foi demonstrada e os autores alertaram sobre os impactos sociais, econômicos e de saúde à população ribeirinha, em que esse item alimentar é a sua principal fonte proteica. A contaminação do peixe nessa região possivelmente está relacionada com efluentes de metais tóxicos lançado no rio Subaé pela COBRAC, o que gerou concentrações de Cd e Pb nas águas deste rio excedentes aos limites estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde.

A bioacumulação de metais tóxicos no peixe depende, entre outros fatores, dos hábitos alimentares e estilo de vida das espécies. É proposto que, espécies carnívoras, por estarem em níveis tróficos maiores, apresentam-se mais contaminados que outros indivíduos devido

ao processo de biomagnificação ao longo da cadeia alimentar, as concentrações refletem a biodisponibilidade de cada um dos metais. A elevada toxicidade desses elementos desperta à importância de estudo de biomonitoramento, tendo em vista a utilização desses organismos como fonte alimentícia (SANCHES FILHO; FONSECA; HOLBIG, 2013).

O valor médio para Pb nas amostras de ovos foi 1,6 mg/kg, sendo que 60% das amostras apresentaram valores muito além do limite máximo aceitável, atingindo concentrações de até 29 vezes acima do permitido. O nível médio de Cd foi de 0,8 mg/kg, este elemento estava presente em todas as amostras, na legislação brasileira não há limites estabelecidos para a contaminação por esse elemento em ovos. As concentrações de chumbo em ovos são baseadas aos níveis correspondentes a fração bioacessível desse elemento no solo e em diferentes tipos de alimentos para animais, os frangos que são criados em ambiente contaminados podem acumular os poluentes em seus ovos (WAEGENEERS et al., 2009).

Ainda que não existam valores de referência para cádmio em ovos nas regulamentações nacionais, após extensa pesquisa sobre os níveis máximos aceitos de contaminantes inorgânicos em alimentos em diferentes países e organizações internacionais, foi encontrado apenas padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde da China (United States Department of Agriculture, 2010) que estabeleceu 0,05 mg/kg como limite máximo para Cd em ovos. Considerando estas recomendações, todas as amostras de ovos analisadas apresentaram concentrações de Cd acima dos valores máximos permitidos.

O conhecimento de elevados índices de chumbo e cádmio nos alimentos pesquisados é preocupante, haja vista o alto percentual de consumo dos itens pela população de Santo Amaro e os efeitos deletérios que esses elementos causam aos seres humanos. Adicionalmente, considerando a contaminação química como um risco à saúde humana e que a Resolução - RDC 42/2013 contempla uma pequena variedade de alimentos, sugere-se a inclusão de itens alimentares com elevada frequência de consumo, como o ovo, e estabelecer níveis máximos seguros para diferentes contaminantes inorgânicos.

Em relação à contaminação química, o chumbo apresentou níveis médios maiores do que o cádmio em ambos os períodos, os índices mais elevados de contaminação foram observados no solo. Em geral, o período chuvoso apresentou concentração mais elevada desses metais do que o período seco.

No período chuvoso a contaminação por Pb e Cd nos alimentos variou entre valores inferiores limite de quantificação (LQ) a 11,58 mg/kg e 0,18 a 1,11 mg/kg de peso úmido, respectivamente. Na água a concentração variou entre <LQ a 0,07 mg/L para Pb e 0,0053 a 0,0065 mg/L para Cd, e no solo variou entre 12,72 a 119,853 mg/kg e de 0,23 a 3,493 mg/kg de peso seco, respectivamente. No período seco, a grande maioria dos alimentos apresentou contaminação por chumbo abaixo dos limites de quantificação, apenas uma amostra de aipim expressou nível de 1,19 mg/kg. A contaminação por cádmio não foi observada nas amostras de aipim, ovo e peixe, nos demais alimentos esse contaminante não estava presente em todas as amostras, o nível de contaminação variou entre 0,15 a 9,07 mg/kg. A contaminação por Pb e Cd nas amostras de água variou entre 0,023 a 0,23 mg/L e 0,0037 a 0,026, respectivamente e nas amostras de solo entre 16,21 a 130,98 mg/kg e 0,23 a 3,79 mg/kg de peso seco, respectivamente. Contaminação do solo, aipim, coentro e quiabo foi maior nos pontos mais próximos da fábrica e foi reduzindo à medida que se afastava da mineradora. Três amostras de solo apresentaram contaminação por cádmio acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, ao que se refere ao chumbo, limites máximos não foram observados. Para solos agrícolas os limites máximos permitidos para chumbo e cádmio são 180 e 3 mg/kg de peso seco, respectivamente e para as águas são 10 e 5 $\mu\text{g/L}$ para Pb e Cd, respectivamente (BRASIL, 2005; BRASIL, 2009).

Não foi observado relação entre níveis de concentração presentes no solo com aqueles encontrados nos alimentos. Conforme Islam et al. (2007) em solos contaminados, as interações entre microrganismos-raízes e solo-planta desempenham importantes funções na regulação da mobilidade dos metais do solo para planta. Segundo Magna et al. (2013) a parte do contaminante disponível pode ser transferido e absorvido pelas espécies vegetais, podendo se acumular nas raízes e partes aéreas.

Os estudos até aqui apresentados evidenciam um sério risco de intoxicação crônica por metais tóxicos dos grupos populacionais na qual os alimentos locais são as principais fontes de nutrientes, tais como pequenos agricultores e populações ribeirinhas. Dessa forma, a proteção à saúde da população deste município certamente está atrelada a necessidade de adoção de ações que contribuam com a segurança alimentar e nutricional.

Por fim, o conjunto de informações descritas neste capítulo e que foram produzidas a

partir de pesquisas científicas evidenciam a relevância da análise de riscos químicos enquanto essencial para o controle robusto e inequívoco de qualidade dos alimentos.

Referências

ANJOS, J.A.S.A. **Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (wetland) no controle da poluição por metais pesados: o caso da Plumbum em Santo Amaro da Purificação - BA.** 227 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mineral) – Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, São Paulo, 2003.

BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. **Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos.** Guimarães: Forvisão, 2003.

BELIK, W. Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil. **Saude Soc.**, v.12, n.1, p.12-20, 2003.

BERNSTEIN, M.; WOODS, M. Cilantro, that favorite salsa ingredient, purifies drinking water. **American Chemical Society News**, 2013. URL: <http://www.acs.org/content/acs/en/pressroom/newsreleases/2013/september/cilantro-that-favorite-salsa-ingredient-purifies-drinking-water.html>. Accessed: 474 10.02.15

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n° 42, de 29 de agosto de 2013.** Aprova regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, 2013.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n. 357, de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n. 420, de 28 de dezembro de 2009.** Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. 2009, p. 81-84.

CAMILO, V.M.A.; SANTANA, J.D.M.; FREITAS, F.D.; SILVA, I.M.M.; OLIVEIRA, F.S.; CAMPIOLO,

S. Padrões de consumo alimentar em uma cidade do Recôncavo da Bahia: um enfoque na segurança alimentar e nutricional. **Mundo Saúde**, v.40, p.51, 2016.

CARDOSO, L.M.N.; CHASIN, A.M. Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos. **Cadernos de Referência Ambiental**, v.6, 122p, Salvador, 2001.

CARVALHO, F.M; TAVARES, T.M; SANDRA P. SOUZA, S.P.; LINHARES, P. Absorção e intoxicação por chumbo e cádmio em pescadores da região do Rio Subaé. **Ciência e Cultura**, v.35, p.360 - 366, 1982.

CINIER, C.C.; PETIT-RAMEL, R.; FAURE, R.; BORTOLATO, M. Cadmium accumulation and metallothionein biosynthesis in *Cyprinus carpio* tissues. **Bulletin of Environment Contamination and Toxicology**, v.61, p.793-799, 1998.

CODEX ALIMENTARIUS. **General standard for contaminants and toxins in foods**. Annex IVB, Wanningen, The Netherlands, 1998.

CRA - Centro de Recurso Ambientais (2005). **Relatório síntese da análise preliminar de risco à saúde humana**.

CUNHA, P.S.P.; ARAÚJO, P.S.P. **Laudo pericial de avaliação e quantificação da contaminação ambiental por chumbo e cádmio no município de Santo Amaro da Purificação – Estado da Bahia**. 167p, 2001.

SILVA, I.M.M.; OLIVEIRA, F.S.; CASTRO, J.T.; DOS SANTOS, D.C.M.; FREITAS, F.; COSTA, M.C.J. Toxic elements and microbiological content of food: evidence from a case study in a Brazilian city heavily contaminated by lead and cadmium. **Braz. Chem. Soc.**, *in press*, 2017. <<http://jbcns.sbq.org.br/imagebank/pdf/160636AR.pdf>>. Acesso em 24/10/2016.

DUFFUS, J.H. “ Heavy metals” —a meaningless term? **Pure Appl. Chem.**, v.74, n.5, p.793-807, 2002.

DURUIBE, J.O.; OGWUEGBU, M.O.C.; EGWURUGWU, J.N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. **International Journal of Physical Sciences**, v.2, n.5, p.112-118, 2007.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food Quality and Safety Systems - A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System**, Rome, 1998.

FOWLER, B.A.; NORDBERG, G.F.; NORDBERG, M. (Ed.). **Handbook on the Toxicology of Metals**. Academic Press, 2015.

FUNASA (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE). **Avaliação de risco à saúde por exposição a metais pesados em Santo Amaro da Purificação - BA**. 2003. Disponível em: <http://www.acpo.org.br/saudeambiental/CGVAM/02_Avaliacao_de_Risco/05_santo_amaro_ba/>. Acesso em: 19 de janeiro de 2017.

HAPKE, H.J. Heavy metal transfer in the food chain to humans. In: **Fertilizers and Environment**. Springer Netherlands, p.431-436, 1996.

HARGIN, K.D.; SHEARS, G.J.; ROSE, M.; FERNANDES, A. Regulatory control and monitoring of heavy metals and trace elements in foods. In: ROSE, M.; FERNANDES, A. (Ed.). **Persistent organic pollutants and toxic metals in foods**. Elsevier, p. 20-46, 2013.

ISLAM, E.; XIAO-E, Y.; ZHEN-LI, H.; QAISAR, M. Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. **Journal of Zhejiang University Science B**, v.8, n.1, p.1-13, 2007.

JÄRUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin**, v.68, n.1, p.167-182, 2003.

JÄRUP, L.; KESSIB, A. Current status of cadmium as an environmental health problem. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.238, p.201-208, 2009.

JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Evaluation of certain food additives and contaminants**. Geneva, 1993.

JUWARKAR, A.A.; YADAV, S.K. Bioaccumulation and biotransformation of heavy metals. **Bioremediation Technology**. Springer Netherlands, p.266-284, 2010.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, B.A. **Trace elements from soil to human**. Springer, New York, 2007.

KEPPLE, A.W.; SEGALL-CORREA, A.M. Conceituando e medindo segurança alimentar e nutricional. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v.16, n.1, p.187-199, 2011.

LEE, B.K.; LEE, G.S.; STEWART, W.F.; AHN, K.D.; SIMON, D.; KELSEY, K.T.; TODD, A.C., SCHWARTZ, B.S. Associations of blood pressure and hypertension with lead dose measures

and polymorphisms in the vitamin D receptor and δ -aminolevulinic acid dehydratase genes.

Environ Health Perspect, v.109, n.4, p.383-389, 2001.

LIU, J. et al. **Toxic Effects of Metals**. In: KLAASSEN, C.D. (Ed). Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 7^a ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 2008. p.931-979.

LOPES, M.V.; KORN, M.; PEREIRA, M.G.; SANTANA, E.P.; OLIVEIRA, F.S.; LORENZON, C.S.; GATTI JUNIOR, P.; NUNES, A.P.; PINTO, F.R.; SCHOLTEN, C.; HONDA, S.N.; AMARAL, L.A. Microbiological profile of fish and pond water in fee-fishing located in the northeast region of São Paulo state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, p.617-624, 2010.

MAGNA, G.A.M.; MACHADO, S.L.; PORTELLA, R.B.; CARVALHO, M.F. Chumbo e cádmio detectados em alimentos vegetais e gramíneas no município de Santo Amaro-Bahia. **Química Nova**, v.36, n.7, p.989-997, 2013.

MCLAUGHLIN, M.J.; PARKERB, D.R.; CLARKEC, J.M. Metals and micronutrients - food safety issues. **Field Crops Research**, v.60, p.143-163, 1999.

MOLIN, F.D.; PAOLIELLO, M.M.B.; CAPITANI, E.M. Zinc-protoporphyrin As Biological Biomarker For Lead Exposure: A Review. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.19, n.2, p.71-80, 2006.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. A cinética do chumbo sobre o organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.9, n.1, p.167-181, 2004.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**, v.15, p.119-29, 2004.

NOGUEIRA, S.N. **Padronização e aplicação de uma metodologia para determinação do polimorfismo da enzima ácido δ -aminolevulinico desidratas na avaliação da exposição ao chumbo**. Dissertação (Mestrado em Ciências - Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP), Rio de Janeiro, 50f, 2003.

OYMAK, T.; TOKALIOGLU, S.; YILMAZ, V.; KARTAL, S.; AYDIN, D. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. **Food Chemistry**, v.113, p.1314-1317, 2009.

PEDROSA, L.F.C.; COZZOLINO, S.M.F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos da cidade de Natal/RN. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.21, n.2, p.154-157, 2001.

PETERSEN, M.N.M.B. **Chumbo e cádmio em alimentos de origem vegetal do município de Santo Amaro-BA**. Dissertação de mestrado em Ciências Naturais. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 138f, 1982.

PONTES, E.M. **Monitoração de chumbo em amostras ambientais e estudos de retenção de cádmio, chumbo, cobre e zinco nos solos luvisolo crômico e neossolo regolítico**. Dissertação de mestrado em Química Aplicada. Universidade do Estado da Bahia, Salvador, 85f, 2009.

RAJARAMAN, P.; SCHWARTZ, B.S.; ROTHMAN, N.; YEAGER, M.; FINE, H.A.; SHAPIRO, W.R.; SELKER, R.G.; BLACK, P.M.; INSKIP, P.D. δ -aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and risk of brain tumors in adults. **Environmental Health Perspectives**, v.113, n.9, p.1209-1211, 2005.

REILLY, C. **Metal contamination of food: its significance for food quality and human health**. John Wiley & Sons, 2008.

ROCHA, G.O.; GUARIEIRO, A.L.N.; ANDRADE, J.B.; EÇA, G.F.; ARAGÃO, N.M.; AGUIAR, R.M.; KORN, M.G.A.; BRITO, G.B.; MOURA, C.W.N.; HATJE, V. Contaminação na Baía de Todos os Santos. **Revista Virtual de Química**, v.4, n.5, p.583-610, 2012.

SANCHES FILHO, P.J.; FONSECA, V.K; HOLBIG, L. Evaluation of metals in fish from the region of Pontal of Bar, Patos Lagoon, Pelotas-RS Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v.8, n.1, p.105-111, 2013.

SANTANA, J.M.; CAMILO, V.M.A.; FREITAS, F.V.N.; SILVA, I.M.M., DA SILVA, D.F.; OLIVEIRA, F.S. Desenvolvimento de questionário de frequência alimentar para população adulta residentes em Santo Amaro, Bahia, Brasil. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v.11, n.1, p.195-209, 2016.

SANTOS, B.S.; LUZ, E. (2013). **Análise microbiológica da casca e da gema de ovos de galinha caipira produzidos e comercializados na microrregião de Picos-PI**. URL: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/resumos/1695.htm>. Accessed 2012.02.15 <http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/resumos/1695.htm>. Accessed 12.02.15

SARYAN, L.A., ZENZ, C. **Lead and its compounds**. In: ZENZ, O.C., DICKERSON, B., HORVATH, E.P., eds. Occupational medicine. 3^a ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1994. p.

506–541

SKERFVING, S. **Inorganic lead**. In: BEIJE, B.; LUNDBERG., P. eds. Criteria documents from the Nordic Expert Group 1992. Stockholm: Arbete och Hälsa, 1993. p.125-238.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. Avaliação de exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, v.15, n.2, p.147-154, 1992.

TCHOUNWOU, P.B.; YEDJOU, C.G.; PATLOLLA, A.K.; SUTTON, D.J. **Heavy metal toxicity and the environment**. In: Molecular, clinical and environmental toxicology. Springer Basel, 2012. p. 133-164.

TSALEV, D.L.; ZAPRIANOV, Z.K. **Lead**. In: Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. 2^a ed. Florida: CRC Press; 1985. p.137–150.

VULCANO, I.R.C.; SILVEIRA, J.N.; ALVAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.44, n.3, 2008.

YOKEL, R.A.; LASLEY, S.M.; DORMAN, D.C. The speciation of metals in mammals influences their toxicokinetics and toxicodynamics and therefore human health risk assessment. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.9, p.63–85, 2006.

Qualidade microbiológica de alimentos comercializados em Santo Antônio de Jesus-Bahia

Isabella de Matos Mendes da Silva

Ricardo Mendes da Silva

Fernanda Freitas

Roberval de Jesus Assunção

Ana Lúcia Moreno Amor

Nas sociedades modernas, as dificuldades impostas pelos longos deslocamentos e a extensa jornada de trabalho impedem que um grande número de pessoas realize suas refeições regulares em família (CARDOSO; SOUZA; SANTOS, 2005).

Atualmente observa-se que a maioria dos consumidores se preocupa com a qualidade nutricional do alimento, mas nem sempre está atenta à higiene, desconhecendo os requisitos necessários para a correta manipulação e armazenamento, dificultando a identificação de alimentos em qualidades higiênico-sanitárias inadequadas, podendo ser facilmente contaminados com patógenos, o que pode ocasionar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), constituindo-se um risco à saúde da população (FURLANETO; CORRÊA, 2006; BORGES, 2008; NOBREGA, 2008).

Os surtos geralmente se desenvolvem por falhas múltiplas, incluindo refrigeração inadequada, preparo do alimento com amplo intervalo antes do consumo (acima de doze horas), manipuladores infectados/contaminados, processamento térmico insuficiente (cozimento ou reaquecimento), conservação a quente imprópria, alimentos contaminados, contaminação

cruzada, higienização incorreta, utilização de sobras e uso de alimentos não inspecionados (CARDOSO; SOUZA; SANTOS, 2005). Com isso, a eliminação dessas falhas e, conseqüentemente, redução dos perigos se torna relevante para controle da qualidade dos alimentos.

Os perigos microbiológicos são os que mais representam risco à inocuidade dos alimentos, sendo mais graves do ponto de vista de saúde pública. Nesta categoria incluem-se bactérias, fungos, vírus e parasitos patogênicos. Estes microrganismos estão freqüentemente associados à manipulação dos alimentos por parte dos operadores e aos produtos crus contaminados que sejam utilizadas como matéria-prima nos serviços de alimentação (PEREIRA et al., 2006).

Dentre os microrganismos indicadores, destacam-se o grupo dos coliformes totais, composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35 – 37°C, por 48 horas. São bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos e inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente. No grupo dos coliformes totais, estão inseridos os coliformes termotolerantes que são definidos como microrganismos capazes de fermentar a lactose a 44 – 45°C, sendo representados principalmente pela *Escherichia coli* (*E. coli*) e, também por algumas bactérias dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter* (ALONSO et al., 1999).

A bactéria *E. coli* faz parte da microbiota intestinal e consiste em um bastonete Gram-negativo, não esporulado, oxidase negativa, móvel por flagelos peritríquios ou imóvel, anaeróbio facultativo capaz de fermentar a glicose e a lactose produzindo ácido e gases. Dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, *E. coli* é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não fecais (FORTUNA et al., 2007; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Outro aspecto relevante é que diversas linhagens de *Escherichia coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e animais, apresentam dose infectiva baixa e podem provocar infecções graves, podendo levando os pacientes a óbito (LEITE; FRANCO, 2006).

Dentre as bactérias gram-positivas destaca-se *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), a qual é considerada a mais resistente de todas as bactérias patogênicas não esporogênicas. Caracteriza-se como cocos coagulase positiva, catalase-positiva, oxidase-negativa e anaeróbio facultativo. Multiplica-se entre 7°C e 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima para o seu desenvolvimento. São toxigênicos e a enterotoxina é produzida entre 10°C e 48°C, contudo

a faixa de 40°C a 45°C é considerada ótima para a sua produção (GERMANO; GERMANO, 2001).

Os surtos de intoxicação estafilocócica são provocados por alimentos que permaneceram nesse intervalo de temperatura por tempo variável, de acordo com nível de inóculo e temperatura de incubação. Em condições ótimas, a enterotoxina torna-se evidente em quatro a seis horas. A ingestão desta toxina causa grave quadro de intoxicação alimentar, cujos sintomas mais frequentes são vômitos, cólicas abdominais e diarreia aquosa, podendo ocorrer sudorese e cefaléia (FRANCO; LANDGRAF, 2008; TRANTER et al., 1990).

Além das bactérias, os fungos são organismos que podem comprometer a qualidade dos alimentos, especialmente os bolores e leveduras, haja vista serem considerados indicadores das condições higiênicas do processamento. Esses microrganismos estão disseminados no solo, ar e água, podem fazer parte da microbiota normal de frutos dos vegetais (PINTO, 2007), sendo frequentemente associados à deterioração de vegetais *in natura* e a surtos de DTA, especialmente associadas a fungos filamentosos toxigênicos (SCHLIMME, 1995).

Desta forma, considerando a importância da realização das análises microbiológicas como ferramenta para verificação do controle de qualidade dos alimentos comercializados em Santo Antônio de Jesus (Bahia) foram analisados diversos alimentos, incluindo amostras de polpa de frutas, água de coco, lanches, açaí na tigela, salada de maionese e cachorro quente durante o período de 2013 a 2016.

As amostras foram colhidas de forma asséptica em sacos de coleta de primeiro uso, identificadas, transportadas sob refrigeração em caixa térmica contendo gelo químico para o laboratório de Microbiologia do Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde foram imediatamente executadas as análises de contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras e Estafilococos coagulase positiva, por meio do método rápido de contagem em placas Petrifilm™ (3M Company) e metodologia tradicional, conforme Silva et al. (2007).

Os resultados das análises microbiológicas de alimentos realizadas estão descritos na Tabela 1. Observou-se que três amostras (42,85%) de polpas de frutas não se enquadraram nos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000, a qual preconiza um máximo de $5 \times 10^3 UFC/g$ de bolores e leveduras (BRASIL, 2000).

Esses dados sugerem a possibilidade de biodeterioração e perda da qualidade sensorial, comprometimento da aparência, sabor, além da possibilidade de proliferação de fungos patogênicos toxigênicos (ALCÂNTARA, 2009).

Dentre as amostras de água de coco coletadas constatou-se que 20% estavam em desacordo com o preconizado pela Resolução RDC 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina um limite máximo de 10 coliformes termotolerantes/mL da amostra.

Tabela 1: Análises microbiológicas de alimentos comercializados em Santo Antônio de Jesus-Bahia (2013-2016).

Alimento	N	Coliformes totais	CTE	BL	Estafilococos CP
Polpa de frutas	25	NR	< 10	< 10 até $2,5 \times 10^5$	NR
Água de coco	10	< 10 a $5,4 \times 10^3$	< 10 a 2×10^2	NR	NR
Lanches	10	NR	< 10 a $1,1 \times 10^3$	NR	2×10^3 a $> 3 \times 10^6$
Açaí na tigela	15	$1,5 \times 10$ a $1,1 \times 10^3$	< 10	NR	NR
Salada de maionese	10	NR	< 10 a $1,1 \times 10^3$	NR	4×10^3 a $3,2 \times 10^5$
Cachorro quente	10	NR	< 10 a $4,6 \times 10$	NR	NR

Resultados expressos em UFC/g/NMP/g, NR não realizado, n= número de amostras, CTE= coliformes termotolerantes, BL= bolores e leveduras, Estafilococos CP= estafilococos coagulase positiva.

A pesquisa de bactérias nos lanches coletados indicou contaminação por Estafilococos coagulase positiva em seis amostras (60%), com contagens variando de 2×10^3 UFC/g a $> 3 \times 10^6$ UFC/g, (Tabela 1), portanto acima do permitido pela legislação vigente 1×10^3 UFC/g (BRASIL, 2001).

Embora não exista na legislação um padrão para coliformes totais, a população desse grupo nas amostras de açaí na tigela variou entre $1,5 \times 10$ a $1,1 \times 10^3$ UFC/g, sendo que 66,7% das amostras analisadas apresentaram população acima de 102 UFC/g, evidenciando possíveis falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto. Todas as amostras avaliadas apresentaram populações abaixo de 10 UFC/g de coliformes termotolerantes.

Das amostras de saladas de maionese coletadas, todas apresentaram populações de *Estafilococos coagulase positiva* acima de 10^3 UFC/g, valor este estabelecido como sendo o limite máximo permitido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), o que classifica esses produtos como impróprios para o consumo humano. Na contagem de coliformes termotolerantes 30% das amostras estavam contaminadas, excedendo a 10^2 UFC/g, limite máximo permitido pela Resolução - RDC 12/2001.

A contagem de coliformes termotolerantes encontradas nas amostras de cachorro quente variou de 0,3 a $4,6 \times 10$ UFC/g, estando 100% em conformidade com a Resolução RDC 12/2001 da ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece o padrão máximo de 10^2 UFC/g para o alimento pesquisado, estando próprias para o consumo humano.

A partir dos resultados das análises microbiológicas realizadas em diferentes amostras foi constatado que os lanches, especialmente os sanduíches, foram os alimentos com mais população microbiana. Sugere-se que houve falhas de manipulação e armazenamento, tendo em vista a natureza perecível da maioria dos alimentos, além do fato de estarem prontos para o consumo, sem que seja utilizado qualquer tratamento que reduza os níveis de contaminação (CLARKE, 2000).

Os resultados do presente estudo são preocupantes, haja vista que, de acordo com estudos da OMS (2013), mais de 60% dos casos de DTA decorrem do descuido higiênico-sanitário de manipuladores seguido de técnicas inadequadas de processamento dos alimentos e deficiência higiênica da estrutura física, utensílios e equipamentos.

A produção de preparações em condições higiênicas satisfatórias e a educação dos manipuladores de alimentos envolvidos no processamento são limites cruciais para a prevenção da maioria dos patógenos veiculadas por alimentos (AKUTSU, et al., 2005).

Desta forma, torna-se necessária uma aplicação mais efetiva dos princípios de higiene e sanitização na produção dos alimentos, a fim de garantir a inocuidade do produto, oferecendo ao consumidor alimentos de qualidade microbiológica aceitável. Além disso, os dados dos estudos realizados no Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional apontam para a necessidade de implantação de um programa de educação sanitária voltado para o comerciante, o manipulador e o consumidor.

A oferta de educação permanente para os comerciantes e manipuladores de alimentos propiciam melhorias das condições higiênico-sanitárias nas edificações e instalações, equipamentos, móveis e utensílios, manipuladores e produção (PEREIRA-SANTOS et al., 2012). É possível observar que a falta de higiene na manipulação de alimentos não é um problema regional, mas de preocupação nacional (BERBICZ et al., 2010). Salienta-se que os comerciantes necessitam de formação na área de produção segura dos alimentos para que possam compreender as necessidades estruturais, de fluxo de produção e da formação permanente dos manipuladores.

Além disso, a elaboração de políticas públicas na área de produção de alimentos é imprescindível para a garantia da segurança alimentar, incluindo a revisão da legislação sanitária vigente e a intensificação de ações fiscalizatórias por parte da vigilância sanitária. Observa-se que o número de inspetores e técnicos da vigilância sanitária é insuficiente, além das condições precárias de trabalho, como falta de transporte para a realização das inspeções e pressão política para liberação de alvarás.

Para a melhoria da qualidade dos alimentos é necessária também a educação sanitária dos consumidores. O papel mais atuante do consumidor, ao reconhecer o seu direito de adquirir um alimento seguro, fará com que o mesmo exija os seus direitos e, conseqüentemente, os vendedores tenderão a cumprir as normas sanitárias (SANTOS et al., 2012). Por conseguinte, a apropriação do conhecimento dos consumidores acerca da qualidade sanitária dos alimentos transformá-los-á em coautores no cumprimento da legislação sanitária vigente.

As Instituições de Ensino Superior que atuam na cadeia produtiva dos alimentos geram conhecimento que auxilia a tomada de decisões dos diversos atores envolvidos. Os resultados das pesquisas desenvolvidas na área de ciência dos alimentos poderão ser utilizados no aperfeiçoamento de produtos e processos, bem como subsidiam as ações extensionistas voltadas a produtores, comerciantes, manipuladores, consumidores e autoridades sanitárias.

Por fim, a realização de análises microbiológicas é uma importante ferramenta que auxilia o controle de qualidade dos alimentos, devendo ser realizadas ao longo do processamento, visando à produção segura dos alimentos.

Referências

- AKUTSU, R.C.C.A.; BOTELHO, R.C.C.A.; CAMARGO, E.B.; OLIVEIRA, K.E.S.; ARAÚJO, W.M.C. Adequação das Boas Práticas de Fabricação em Serviços de Alimentação. **Revista de Nutrição**, v.18, p.419-427, 2005.
- ALCÂNTARA, E.M. **Caracterização física, química e microbiológica de morango, alface e cenoura orgânicos**. Lavras: UFLA, 2009.
- ALONSO J.L.; SORIANO, A.; CARBAJO, O.; AMOROS, I.; GARELICK, H. Comparison and recovery of Escherichia coli and thermotolerant coliforms in water with a chromogenic medium incubated at 41 and 44,5°C. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.8, p.3746-49, 1999.
- BERBICZ, F.; GENTA, T.M.S.; MANGOLIN, C.S.; FIDELIS, J.C.F.; FERREIRA, L.R.; RODELLA, J.R.T.; PORTILHO, M.; MATIOLI, G. Melhoria das condições de higiene em pontos de venda de cachorro-quente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.1, p.99-105, 2010.
- BORGES, L.J.; AMORIM, L.J.M.; DANTAS, M.C.; ANDRÉ, P.B.; CAMPOS, M.R.H.; SERAFINI, A.B. Qualidade microbiológica de empadão goiano comercializado em uma feira de lazer de Goiânia/GO e teste de susceptibilidade antimicrobiana de cepas isoladas. **Revista de Patologia Tropical**, v.37, p.131-142, 2008.
- BRASIL, 2001. Resolução – RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01r dc.htm. Acesso em: 03 nov. 2016.
- BRASIL. Instrução Normativa Nº1 de janeiro de 2000, **Diário Oficial da União** Nº6. Brasília, 10 de janeiro de 2000. Seção 1., p. 54-58. Regulamento técnico geral para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta.
- CARDOSO, R.C.V.; SOUZA, E.V.A.; SANTOS, P.Q. Unidades de alimentação e nutrição nos campi da Universidade Federal da Bahia: um estudo sob a perspectiva do alimento seguro. **Revista de Nutrição**, v.18, n.5, 2005.
- CLARKE, R. Street foods in Asia: food safety and nutritional aspects. 2000. Disponível

em:http://www.fao.org/ag/ags/agsm/sada/asia/DOCS/DOC/WP_B5.doc. Acesso em: 12 jun. 2016.

FORTUNA, J.L.; RODRIGUES, M.T.; SOUZA, S.L.; SOUZA, L. Análise microbiológica da água dos bebedouros do campus da Universidade Federal de Juiz de Fora: coliformes totais e termotolerantes. **Revista Higiene Alimentar**, v.21, n.154, p.103-105, 2007.

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

FURLANETO, L.; CORRÊA, D.S. Avaliação microbiológica de componentes de pratos árabes. **Revista Ciências Biológicas e da Saúde**, v.12, n.4, p.417-22, 2006.

GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L. Comida de rua: prós e contras. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.77, p.27-33, out. 2000.

LEITE, A.M.O.; FRANCO, R.M. Coliformes totais e *Escherichia coli* em coxas de frango comercializados no Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.3, n.13, p.80-83, 2006.

PEREIRA, J.M.A.T.K.; OLIVEIRA, K.A.M.; SOARES, N.F.F.; GONÇALVES, M.P.J.C.; PINTO, C.L.O.; FONTES, E.A.F. Avaliação da qualidade físico-química, microbiológica e microscópica de polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Viçosa-MG. **Revista Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.17, n.4, p.437-442, 2006.

PEREIRA-SANTOS, M.; FREITAS, F.; SILVA, R.M.; SANTOS, V.A.; LÔBO, L.N.; MATOS, V.S.R.; SILVA, I.M.M. Características higiênico-sanitárias da comida de rua e proposta de intervenção educativa. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.36, n.4, p.885-989, 2012.

PINTO, D.M. Qualidade de produtos minimamente processados comercializados em diferentes épocas do ano. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 116p., 2007.

SANTOS, V.A.; SANTOS, M.P.; MATOS, V.S.R.; LÔBO, L.N.; FREITAS, F.; SILVA, I.M.M. Perfil dos consumidores de alimentos de rua. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.36, n.3, p.777-791, 2012.

SCHLIMME, D.V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria,

v.30, n.1, p.15-17, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, S.M.H.; SANTOS, F.S.; ROMEIRO, R.A.; OKAZAKI, M.M. **Manual de Métodos de Análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

TRANter, H. S. Foodborne staphylococcal illness. **Lancet**, v.336, p.1044-1046, 1990.

Encontro de formas parasitárias no solo: manutenção de um ambiente contaminante propício a infecções e reinfecções

Ana Lúcia Moreno Amor

Wesley Araújo de Albuquerque

Carlos Henrique Araújo Fonseca

Leonardo Bispo Reis

Edna Moura de Santana Brito

Felipe Silva de Miranda

Gabriela Ferraz Libório Trzan

Glauber Andrade dos Santos

Raoni dos Santos Andrade

A contaminação de solos de praças e outros locais públicos tem um papel epidemiológico importante na disseminação de agentes de doenças infecciosas e/ou parasitárias. Este capítulo tem como finalidade o estudo da ocorrência de parasitos em cinco praças municipais, no *campus* de saúde de uma Instituição de Ensino Superior e em ambiente peridomiciliar de residências localizadas na zona rural de um município do Recôncavo da Bahia.

Manutenção de um ambiente contaminante propício a infecções e reinfecções

As parasitoses intestinais são doenças cujos agentes etiológicos (helmintos ou protozoários) podem provocar infecção humana através da água, solo ou alimentos contaminados (REY, 2001). Tanto as helmintoses quanto as protozooses causam sintomas variados, porém muitas

vezes inespecíficos e similares entre si, dificultando um diagnóstico correto. A sintomatologia é, geralmente, por diarreia, edema de tecidos, anemia, lesões oculares e obstrução intestinal (PEDROSA, 2014).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os helmintos transmitidos pelo solo relacionam-se com algumas doenças tropicais negligenciadas, afetando principalmente as classes mais baixas e em países mais pobres (OMS, 2011). Essas doenças são decorrentes de várias mudanças ambientais, e possuem associação íntima com o comportamento humano, podendo este atuar como preventivo ou transmissor. Os parasitos são encontrados, de forma persistente, onde se reúnam condições favoráveis para que feche o seu ciclo biológico e sua transmissão.

Nesse sentido, a composição química do solo bem como suas características físicas como, por exemplo, a sua umidade e calor, contribuem para o desenvolvimento de helmintos (nematodas) e protozoários, se comportando como se fosse um hospedeiro intermediário destes parasitos, uma vez que lhes oferece condições para o desenvolvimento dos seus ciclos parasitários (como no caso dos geohelmintos), protegendo-os durante certo tempo na fase infectante para, posteriormente, transmiti-los ao homem (GEISSLER et al., 1998; MELLO; MUCCI; CUTOLO, 2011; VINHA 1965). Estes, junto com outros seres vivos, de tamanho microscópico, formam a microfauna do solo e são importantes para a manutenção da biota do solo e de seu ecossistema (LOPES ASSAD et al., 1997).

Contudo, a presença de parasitos patogênicos causa uma preocupação epidemiológica no que diz respeito a saúde do homem e de animais. Pela falta de saneamento básico no peridomicílio, o chão / solo mantém-se rico em ovos e larvas de helmintos (MELLO; MUCCI; CUTOLO, 2011) e cistos/trofozoítos de protozoários de vida livre (BARBOSA et al., 2013; SIQUARA; GALDINO, 2011). A importância destes depende, fundamentalmente, da presença de indivíduos infectados, da contaminação fecal do solo, das condições favoráveis ao desenvolvimento dos estágios infectantes, ovos e larvas, e do contato entre indivíduos sadios e o solo contaminado (SILVA; MARZOCHI; SANTOS, 1991).

A contaminação do solo por parasitos depende do destino dado aos dejetos humanos, à contaminação da água que esse solo recebe e a ao destino dado aos dejetos de animais contaminados. Essa contaminação também está relacionada às condições higiênicas individ-

uais e de saneamento da comunidade assim como a fatores ambientais e fortemente ligada a grande fecundidade dos helmintos fêmeas destes parasitos somada a elevada tolerância dos ovos às diferentes condições ambientais (KATAGIRI; OLIVEIRA-SIQUEIRA, 2007; LANGOSKI, 2014). É importante salientar que as condições do solo são muito propícias para o desenvolvimento de algumas espécies de helmintos, em especial os nematelmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Toxocara* spp., *Trichuris* spp., *Strongyloides stercoralis* e ancilostomídeos), uma vez que esses locais recebem fezes ou água contaminada por parasitos em estágios não-infectantes, oferecendo-lhes condições para o desenvolvimento, e que acabam por proteger os parasitos em estágios infectantes durante certo tempo para, posteriormente, transmiti-los ao homem (SILVA; MARZOCHI; SANTOS, 1991).

Santarém, Sartor e Bergamo (2004) afirmam que o solo de praças e parques públicos constitui via de transmissão para zoonoses parasitárias, especialmente a larva *migrans* visceral (LMV) e a larva *migrans* cutânea (LMC). Almeida et al. (2004), em estudo realizado em quinze praças públicas do município de Santa Maria-RS observou que 73,3% do solo das praças examinadas estavam contaminadas por ovos de *Ancylostoma* spp. e 86,6% por ovos de *Toxocara* spp. (ANDREIS; SCHUH; TAVARES, 2008).

Larvas de ancilostomídeos são detentores das maiores prevalências e, portanto, maior importância para saúde pública, tendo em vista também que, segundo alguns estudos, os ancilostomídeos são também os mais encontrados em amostras de solo por muitas vezes serem transportados por outro hospedeiro como cães e gatos que disseminam estes parasitos em locais públicos. A natureza do solo contribui consideravelmente para a sobrevivência destes parasitos oferecendo calor e umidade para evoluírem para seu estágio infectante.

Além disso, mesmo sendo possível a existência de protozoários nos solos, em muitos estudos a sua pesquisa não é descrita, uma vez que, dentre os que são encontrados, alguns são patogênicos (amebas de vida livre - gêneros *Naegleria* e *Acanthamoeba*). O que não desqualifica as pesquisas, já que protozoários de vida livre não-patogênicos podem levantar suspeitas sobre as condições sanitárias daquele solo.

A partir do contextualizado, será apresentado dados de uma pesquisa que objetivou avaliar a contaminação por formas parasitárias nos solos: de uma Instituição de Ensino Superior (IES); de praças municipais e de ambiente peridomiciliar de residências – todos os ambientes

localizados no município de Santo Antônio de Jesus (Bahia, Brasil).

Encontro de formas parasitárias em solos: dados de uma pesquisa

O estudo foi realizado em zona urbana a partir da coleta de material em seis pontos distintos do *campus* Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CCS-UFRB), em dois pontos para cada praça (Renato Machado, Salgadeira, Zilda Arns, São Benedito e Andaiá), no período de fevereiro a março de 2015. E, na zona rural, as análises foram realizadas em 33 residências, com coleta de amostras de solos de 04 pontos de cada casa (frente, fundo, lado esquerdo e lado direito), no período de março a abril de 2016. Em cada ponto, foram colhidos aproximadamente 100 g de areia/terra pesados em balança portátil. A coleta deu-se por diferentes profundidades do solo: na superfície, a 10 centímetros e a 20 centímetros. A coleta aos 20 centímetros não foi possível ser realizada nas praças devido à elevada resistência de penetração do solo. Somando-se 18 amostras obtidas na coleta da IES, 20 amostras na coleta das praças e 396 amostras das residências da zona rural, resultou em um total de 434 amostras processadas e analisadas no estudo.

As medidas de profundidade foram feitas com auxílio de régua, sendo que os materiais coletados foram armazenados em sacos plásticos de primeiro uso, identificados e imediatamente transportados para o Laboratório de Parasitologia do Núcleo de Segurança Alimentar (SANUTRI) - CCS/UFRB. Todas as coletas foram realizadas durante o período da manhã, entre 8h e 11h horas, em dias ensolarados.

Para análises laboratoriais foram utilizados os métodos modificados de Rugai (apropriado para pesquisa de larvas de helmintos) e da Sedimentação Espontânea (apropriado para a pesquisa de demais formas parasitárias). O método modificado de Rugai (RUGAI, 1954) consiste em colocar 30 g de solo em trouxas de gaze dobradas em quatro, mergulhadas em cálice de sedimentação, com capacidade para 125 ml, em água a 45°C. Após 1h, a gaze é retirada e o material sedimenta por mais 1h. Findo este tempo, se necessário, o material é lavado tantas vezes for conveniente, a depender da coloração do líquido sobrenadante. Essa lavagem consiste em desprezar este último, tendo o cuidado de não ressuspender ou perder o sedimento. Acrescenta-se mais água (q.s.p. 125 mL), deixando sedimentar por mais duas horas. Quando límpido, a amostra esta pronta para ser analisada. O sedimento é colocado em

lâmina, corado com o Lugol, recoberto por lamínula e analisada em objetivas de 10× e 40×. O método modificado da sedimentação espontânea (HOFFMAN, 1934), consiste em misturar num copo plástico estéril uma quantidade de amostra de solo (10 a 20 g) com 100 ml de água e homogeneizar com um bastão. Transferir a suspensão para o cálice de sedimentação, filtrando-a com uma peneira coberta por uma trouxa de gaze dobrada em quatro. O material presente na peneira/gaze é desprezado, e em seguida adiciona-se água até preencher $\frac{3}{4}$ do cálice, onde deve-se deixar sedimentar por 1 – 2 horas para que ocorra a sedimentação espontânea dos ovos, larvas e protozoários. Findo este tempo, se necessário, o material é lavado tantas vezes for conveniente, a depender da coloração do líquido sobrenadante. Essa lavagem consiste em desprezar este último, tendo o cuidado de não ressuspender ou perder o sedimento. Acrescenta-se mais água (q.s.p. 100 ml), deixando sedimentar por mais duas horas. Quando límpido, a amostra está pronta para ser analisada. O sedimento é colocado em lâmina, corado com o lugol, recoberto por lamínula e analisada em objetivas de 110× e 40×.

Quanto aos resultados obtidos, das 18 amostras analisadas, pontos 1 a 6 da IES, 10 (55,6%) foram positivas para alguma espécie de parasito. Sendo que, em todas as amostras positivas, encontrou-se alguma forma evolutiva de uma espécie de helminto. Os achados foram: ovos de *Trichuris* spp. (27,8%); ovos (27,8%), larvas rabditoides (33,3%) e filarioides (11,1%) de nematelmintos não identificados; ovo de *Toxocara* spp. (5,6%). Além disso, o único protozoário encontrado foi o *Endolimax nana* (11,1%) em sua forma de cisto. Observou-se ainda, a ocorrência de contaminação do solo por mais de uma espécie de parasito (22,2%) e por ácaro não identificado. Das 20 amostras, pontos 7 a 16, analisadas das praças, 55% foram positivas para, pelo menos, uma espécie de parasito. Os achados foram: larvas rabditoides de nematelminto (35%), cistos de *Balantidium coli* (15%), ovo de cestoda (5%) e larva filarioide de *Strongyloides* spp. (5%).

Os locais com maior ocorrência de parasitos na IES foram: a entrada do pavilhão de aulas e a frente aos laboratórios de aulas práticas, sendo que este último apresentou larvas infectantes. No caso das praças, a maior ocorrência de parasitos ocorreu na Praça Renato Machado. A presença de parasitos nesses locais (IES e praças) configura um risco à saúde da comunidade acadêmica e demais populações que frequentam estes espaços.

Quanto aos dados das residências pesquisadas em zona rural, em relação às profundi-

dades pesquisadas, todas as casas apresentaram positividade para algum parasito ou forma parasitária: cistos de protozoários (78,70%), protozoários ciliados (72,73%), protozoários flagelados (3,03%), cistos de *Endolimax nana* (6,06%), adultos de nematodas (48,48%), larvas de nematodas (75,76%), ovos de ancilostomídeos (3,03%), ovos de *Trichostrongylus* spp. (3,03%) e larvas rabsitóides de *Strongyloides* spp. (3,03%).

Algumas espécies de parasitos encontrados não foram identificadas em decorrência da não presença de uma chave classificatória destes agentes no laboratório onde as amostras foram analisadas, no período da pesquisa.

O estudo da presença de parasitos em solos fornece dados que permitem inferir sobre o grau de insalubridade do meio, nível e extensão do saneamento básico, bem como hábitos de higiene da população em estudo (PATZ et al., 2002). Além disso, as formas parasitárias que podem ser encontradas desenvolvem patogenias que são quase sempre negligenciadas e esquecidas, uma vez que os sintomas clínicos são inespecíficos ou confundidos com os de outras doenças, ficando os indivíduos parasitados por longos anos de forma silenciosa e inaparente, muitas vezes disseminando o parasito no ambiente, podendo contribuir para a contaminação do solo local e a água (NEVES, 2004).

Os resultados apresentados comprovam a contaminação do solo em todas as praças analisadas (Renato Machado, Salgadeira, Andaiá, Zilda Arns e São Benedito) assim como em diversos pontos do CCS-UFRB e nos solos das residências, o que demonstra a grande possibilidade de ocorrência de infecções humanas por enteroparasitos através do solo desses locais, uma vez que formas infectantes de nematodas foram encontradas.

Estudos relacionam a frequência e a presença de animais, principalmente cães e gatos, nos locais de coleta, com a incidência de parasitos no solo, onde se mostrou haver maiores achados de parasitos no solo de locais no qual são abertos e constantemente passam animais (CASSENTE et al., 2008). Dos agentes zoonóticos parasitários que acometem estes animais, os gêneros mais prevalentes são *Ancylostoma* e *Toxocara* (PEGORARO; AGOSTINI; LEONARDO, 2011) causando nestes a ancilostomose e a toxocarose. Nesse sentido, tanto as praças analisadas quanto o campus da IES e o ambiente peridomiciliar das residências, se apresentam como locais de livre circulação de animais principalmente cães e gatos, fato que pode ser um fator influenciador do resultado obtido, pois estes animais, muitas vezes sem

donos, se utilizam do solo das praças e ambientes abertos, principalmente onde há terra, para eliminar seus dejetos que podem estar contaminados (CDC, 2011; NUNES, 2000; SCHÜLLER, 2004).

No presente estudo, foi observado resultado positivo em 55% das amostras relativas às praças, um número elevado que não foi encontrado nos estudos realizados por Oliveira, Silva e Monteiro (2007) e Andreis, Schuh e Tavares (2008), que encontrou positividade em 30% e 33% das amostras respectivamente. Este resultado discordante do presente estudo também foi observado por Cassenote et al. (2008). Contudo, um estudo realizado em praias do município de Balneário Cassino (RS) feito por Scaini et al. (2003) e o estudo feito por Almeida et al. (2004), em Santa Maria-RS, encontraram resultados também elevados, corroborando ao deste estudo, apresentando positividade em 86,1% e 86,6% , respectivamente.

Muitos autores têm procurado avaliar o grau de contaminação de solos de ambientes públicos. Os achados mais relevantes são ovos de *Toxocara* spp. e larvas de ancilostomídeos (CASTRO; SANTOS; MONTEIRO, 2005; CORRÊA; MOREIRA, 1996; NUNES et al., 2000; OLIVEIRA; SILVA; MONTEIRO, 2007; SANTARÉM; SARTOR; BERGAMO, 1998). As larvas rabditoides e filarioides de nematodas diversos tiveram frequência elevada no encontro dos solos analisados na região do Recôncavo da Bahia. Formas larvais já foram reportadas em solos de praças públicas e areia de Botucatu-SP (SANTARÉM; SARTOR; BERGAMO, 1998).

Globalmente falando, os helmintos nematodas estão presentes em diversas regiões, principalmente na América do Sul, África e Ásia, nas regiões consideradas subdesenvolvidas. Minvielle et al. (1993) determinaram o nível de contaminação com ovos de helmintos em diferentes setores da cidade de La Plata, na Argentina, examinando 351 amostras fecais ("*pools*" de amostras) coletadas das ruas, parques e logradouros públicos. Foram achados ovos de *T. canis* em 10,0% delas. Shimizu (1993), no Japão, examinando caixas de areia constatou que, em 46 amostras um total de 29 continham ovos de *Toxocara* spp. (63,3%) e que, amostras coletadas em parques públicos e "*play-grounds*" de áreas residenciais apresentavam maior grau de contaminação (87,5%) com ovos, em relação àquelas em jardins de infância, escolas e centros infantis (36,4%).

No Brasil, um estudo realizado em praias movimentadas, localizadas na cidade de Fortaleza (CE), por Silva, Marzochi e Santos (1991), mostrou influência da profundidade do solo de onde

foi retirada a amostra, com a incidência de helmintos, tendo em vista que estes apresentam termo-hidrotropismo (afinidade com umidade e calor), que faz com que as larvas dos helmintos migrem buscando locais mais úmidos e quentes, sendo a profundidade de 10 *cm* a que obteve maior positividade. Neste estudo, não foram observadas relações entre maior positividade e a profundidade das amostras, o que pode ter ocorrido devido às diferenças geológicas existentes entre a areia da praia e a terra a qual este estudo analisou, como, por exemplo, a diferença de umidade, diferença de incidência solar, diferenças de composição. Nesse sentido, estudos mais específicos são necessários para avaliar melhor a situação.

Os achados apontam para o grande potencial contaminante que o solo possui, podendo causar, por contato direto, a infecção de moradores e visitantes desta localidade. Destaca-se a presença de alguns parasitos patogênicos no solo que podem ter impacto expressivo na saúde da população infantil e de idosos bem como em indivíduos imunocomprometidos, evidenciando a importância da realização de medidas de cunho profilático voltadas aos cuidados com o solo. A partir dos resultados obtidos, destaca-se a necessidade de outros estudos, a fim de concluir qual(is) fator(es) está(ão) contribuindo para a contaminação do local e, conseqüentemente, trabalhar com medidas profiláticas / corretivas específicas.

O solo funciona como um tipo de reservatório, hospedeiro e/ou vetor de agentes infecciosos e/ou parasitários, proporcionando um ambiente favorável ao desenvolvimento de certas espécies patogênicas como os geohelmintos, e dessa forma, contribuem para a manutenção da tríade epidemiológica da infecção. Nesse sentido, a contaminação do solo com material fecal humano, animal ou água contaminada se torna uma questão de saúde pública, principalmente quando ocorre no ambiente residencial, onde o contato direto com o solo tende a ser maior, em especial na sua superfície, onde até um caminhar descalço pode gerar o contato indesejável.

As praças apresentaram alta frequência no encontro de parasitos, constituindo-se em risco à comunidade do município, por se apresentarem como locais de intenso fluxo de pessoas, sobretudo crianças que utilizam o local para recreação e, por isso, acabam tendo um contato maior com o solo destes locais.

Por fim, tendo em vista o fator "erradicável" das parasitoses causadas pelos parasitos encontrados, destaca-se a importância do diagnóstico e subsequente tratamento dos infectados, bem como a higiene pessoal e saneamento básico do local de moradia dos habitantes do

município.

Os estudos para buscar a qualidade do solo e seus fatores de contaminação são importantes para indicar agentes que possam influenciar diretamente na saúde da população, salientando o descarte adequado de dejetos de humanos e animais, a fim de evitar tanto a contaminação do solo quanto a infecção dos circulantes no local. Medidas de educação em saúde devem ser adotadas, incluindo a população em seu próprio cuidado e atenção à saúde.

Referências

- ALMEIDA, G.L.; MOLENTO, M.B.; JARDIM FILHO, J.O.; DE ALMEIDA, M.; DEPNER, R.A. Contaminação do solo por ovos de *Ancylostoma* spp. E *Toxocara* spp. em praças públicas de recreação infantil de Santa Maria, RS, Brasil. **XIX Jornada Acadêmica Integrada**, Santa Maria, 2004.
- ANDREIS, A.; SCHUH, G.M.; TAVARES, R.G. Contaminação do solo por parasitas e ocorrência de doenças intestinais. **Estudos**, Goiânia, v.35, n.11/12, p.1169-1177, nov./dez. 2008.
- BARBOSA, A.S.; UCHÔA, C.M.A.; SILVA, V.L.; DUARTE, A.N.; CONCEIÇÃO, N.F.; VIANNA, M.B. Avaliação parasitológica da água de abastecimento e do solo peridomiciliar de Aldeias Guarani. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, v.72, n.1, p.72-80, 2013.
- CASSENOTE, A.J.F.; PINTO NETO, J.M.; LIMA-CATELANI, A.R.A.; FERREIRA, A.W. Contaminação do solo por ovos de geo-helminthos com potencial zoonótico na municipalidade de Fernandópolis, Estado de São Paulo, entre 2007 e 2008. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.44, n.3, Uberaba May/June 2011.
- CASTRO, J.M.; SANTOS, S.V.; MONTEIRO, N.A. Contaminação de canteiros da orla marítima do Município de Praia Grande, São Paulo, por ovos de *Ancylostoma* e *Toxocara* em fezes de cães. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.38, n.2, p.199-201, 2005.
- CDC 2011. **Neglected Tropical Diseases. Soil-transmitted Helminths (STH)** http://www.cdc.gov/globalhealth/ntd/diseases/sth_burden.html. Acesso em 26/07/2011.
- CORRÊA, G.L.B.; MOREIRA, W.S. Contaminação do solo por ovos de *Ancylostoma* spp em praças públicas, na cidade de Santa Maria, RS, Brasil. **Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia de Uruguaiana**, v.2, n.3, p.15-17, 1995/1996.

GEISLER, P.W.; MWANIKI, D.; THIONG, F.; FRIIS, H. Geophagy as risk factor for geohelminth infections: a longitudinal study of Kenyan primary schoolchildren. **Trans R Soc Trop Med Hyg.**, v.92, p.7-11, 1998.

HOFFMANN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The Sedimentation Concentration Method in Schistosomiasis mansoni. Puerto Rico. **J Pub Health Trop Med**, v.9, p.283-298, 1934.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SIQUEIRA, T.C.G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arq. Inst. Biol.**, v.74, n.2, p.175-184, 2007.

LANGOSKI G.A.; HENNEBERG, F.C.; MINÉ, J.C.; MACIEL, M.A.S.; SIMIONATO, M. Investigação de parasitos de solo com potencial zoonótico em uma instituição educacional na cidade de Ponta Grossa – PR. **12º CONEX**, 2014 – apresentação oral. Disponível em: <http://sites.uepg.br/conex/anais/artigos/418-1448-1-DR-mod.pdf>.

LOPES ASSAD, M.L.; BROSSARDE, M.; DIAS, V.S. et al. Atividades biológicas em solos da região dos Cerrados. In: Importância do solo na globalização do conhecimento sobre o uso da terra. Resumos expandidos. **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA E UFRRJ; Campinas: SBCS. 26, 1997.

MELLO, C.S.M.; MUCCI, J.L.N.; CUTOLO, S.A. Contaminação parasitária de solo em praças públicas da zona leste de São Paulo, SP – Brasil e a associação com variáveis meteorológicas. **Rev. Patologia Tropical**, v.40, n.3, p.253-262, jul.-set. 2011.

MINVIELLE, M.C.; PEZZANI, B.C.; BESUALDO, FARJAT, J.A. Frequency of finding helminth eggs in stool samples collected in public places in the La Plata City, Argentina. **Bol. Chil. Parasitol.**, v. 48, p.63-5, 1993.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

NUNES, C.M.; PENA, F.C.; NEGRELLI, G.B.; ANJO, C.G.S.; NAKATO, M.M.; STOBBE, N.S. Ocorrência de larva *migrans* na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.34, p.656-658, 2000.

OLIVEIRA, C.B.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Occurrence of parasites in soils of childish squares in day care centers municipality of Santa Maria (RS), Brazil. **Revista da FZVA. Uruguaiana**, v.14, n.1, p. 174-179, 2007.

OMS 2011. **Helminthiasis: soil-transmitted helminths** http://www.who.int/intestinal_worms/en/. Acesso em 08/10/2015.

PATZ, J.A.; GRACZYK, T.K.; GELLER, N.; VITTOR, A.Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal of Parasitology**, v.30, n.30, p.1395-1405, 2002.

PEDROSA, E.F.N.C.; CABRAL, B.L.; ALMEIDA, P.R.S.F.; MADEIRA, M.P.; CARVALHO, B.D.; BASTOS, K.M.S.; VALE, J.M. Contaminação ambiental de areia de praias de Fortaleza – Ceará. **J Health Biol Sci.**, v.2, n.1, p.28-35, 2014.

PEGORARO, J.; AGOSTINI, C.; LEONARDO, J.M.L.O. Incidência de parasitas intestinais de caráter zoonótico em cães e gatos na região de Maringá. **VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar** – Centro Universitário de Maringá. Editora CESUMAR Maringá – Paraná – Brasil, 2011. Disponível: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/jaqueline_pegoraro1.pdf.

REY, L. **Parasitologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RUGAI, E.; MATTOS, T.; BRISOLA, A.P. A new technic for the isolation of nematode larvae from feces: modification of Baermann's Method. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.14, p.5-8, 1954.

SANTARÉM, V.A.; SARTOR, I.F.; BERGAMO, F.M.M. Contaminação por ovos de *Toxocara* spp. de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.31, p.529-532, 1998.

SCAINI, C.J.; TOLEDO, R.N.; LOVATEL, R.M.; DIONELLO, M.A.; GATTI, F.A.A.; SUSI, L.R.O.; SIGNORINI, V.R.M. Contaminação ambiental por ovos e larvas de helmintos em fezes de cães na área central do Balneário Cassino, Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** [online], v.36, n.5, p.617-619, 2003.

SCHÜLLER M. **Pesquisa de protozoários e helmintos de interesse médico presentes nos excretas do pombo doméstico *Columba livia domestica***. São Paulo [Dissertação de Mestrado em Saúde Pública FSP/USP], 2004.

SHIMIZU, T. Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. **J. Vet. Med. Scy.**, Japão, v.55, n.5, p.807-11, 1993.

SILVA, J.P.; MARZOCHI, M.C.A.; SANTOS, E.C.L. Avaliação da contaminação experimental de areias de praias por enteroparasitas. Pesquisa de ovos de Helmintos. **Cad. Saúde Pública**, v.7, n.1, p.90-99. 1991.

SQUARA, JFD. GALDINO ML. **Pesquisa de parasitos contaminantes em areia da praia de Ponta da Fruta - Vila Velha/ES**. Trabalho de conclusão de curso do curso de Bacharelado em Farmácia. Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo. Vitória, Espírito Santo. 2011.

VINHA C. Fundamentos e importância das campanhas contra os geohelmintos no Brasil. **Rev Bras Malariol Doenças Trop.**, v.17, p.379-406, 1965.

Histologia: uma ferramenta em estudos ambientais e de Saúde Pública

Sibele do Oliveira Tozetto Klein Ricardo
Mendes da Silva

Fernanda Freitas

Valéria Macedo Almeida Camilo

Estudos na área da morfologia microscópica ou histologia nasceram com os primeiros estudiosos que se utilizaram do microscópio como Robert Hook (1665), Marcelo Malpighi (1669) e Anton Van Leewenhoek (1674) que em 1700 foi consagrado como o “pai” da histologia (AARESTRUP, 2012). Já no século XVIII, Rudolf Virchow observou que as estruturas teciduais se modificavam quando havia doença, e tornou a análise histopatológica ferramenta essencial para elaborar as bases da patologia celular (AARESTRUP, 2012; CAPUTO, 2010).

A histologia é o estudo dos tecidos e células do corpo e seus constituintes. As técnicas histológicas proporcionam diferentes, porém complementares, visões das células e, assim uma útil base morfológica na qual pode auxiliar na compreensão da célula na saúde e na doença. (OVALLE, 2014). Logo, a observação e análise da morfologia microscópica permite identificar e distinguir células e tecidos em estado fisiológico ou patológico, bem como sua composição química e seu funcionamento. Pode indicar também as respostas específicas dos órgãos, sistemas e tecidos especializados a estímulos definidos e confere atenção especial às alterações estruturais (lesões macro e microscópicas). Conhecimentos histológicos, principalmente da anatomia microscópica, são também importantes para o entendimento da embriologia. Sem estes não se pode entender os processos patológicos ou fisiopatológicos, desta forma também

é pré-requisito para o entendimento da patogenia auxiliando no diagnóstico clínico.

A observação de tecidos ao microscópio óptico é realizada por transparência e para tal o material em análise deve ser, após fixação para não se deteriorar, submetido a cortes finíssimos, previamente incluídos em blocos de parafina, para ser cortado num micrótomo. Depois de cortado, é colocado em lâmina histológica, onde deve ser fixado e processado de acordo com a coloração específica que se deseja realizar, para então ser finalmente observado ao microscópio óptico.

A melhor estratégia para uma análise histológica ou histopatológica de excelente qualidade é a utilização de um processamento preciso do material a ser analisado. Desta forma, procuramos em nosso laboratório e trabalhos utilizar um processamento histológico, montagem da lâmina e coloração de qualidade e com baixos custos, ou seja, uma técnica de fácil de manipulação. A maioria de nossas análises microscópicas é realizada através da técnica histológica denominada “de rotina”.

Processamento dos tecidos

Fixação

Após coleta, o material é imerso em líquido fixador (em volume de cinco a dez vezes maiores que o da amostra), para a manutenção de sua morfologia ou a sua não deterioração. Neste ponto utilizamos como fixadores basicamente o formaldeído (10%), descoberto em 1867 pelo alemão August Wilhelm von Hofmann e utilizado primeiramente em 1897 por Ferdinand Blum e o *Bouin*, descoberto por André Poul Bouin em 1897 (ORTIZ-HIDALGO, 1992), normalmente utilizado para animais marinhos invertebrados. O tempo de fixação, à temperatura ambiente, varia entre 12 e 24 horas, de acordo com o tamanho da peça a ser fixada que deve ter entre, para garantir uma boa fixação. O material fixado é mantido à 4°C em etanol (70% GL) até o momento do processamento histológico.

Processamento

O processamento propriamente dito ocorre com as etapas de desidratação, clarificação ou diafanização e a impregnação ou infiltração em parafina. Após acondicionamento em cassetes, as amostras são previamente identificadas e processadas no histotécnico (ANCAP MOD 808),

seguindo o seguinte padrão: desidratação em material crescente de álcool etílico (CH_3CH_2OH), com imersão a concentrações de 70% por duas vezes; 90% por 3 vezes e absoluto P.A. por duas vezes, cada um por aproximadamente 50 minutos. Posteriormente as amostras são diafanizadas, através da imersão em xileno P.A. ($C_6H_4(CH_3)_2$), por três vezes, com o tempo de uma hora cada. Finalizando, as amostras passam por processo de impregnação, por imersão em parafina histológica a $60^\circ C$, por duas vezes, uma hora cada. Nestas etapas, a duração em cada solução pode variar, de acordo com o material que se está processando e a coloração a ser utilizada.

Inclusão

A inclusão é realizada em uma central de inclusão (YIDI YD – 6L), sendo os tecidos embebidos em parafina histológica a $60^\circ C$ e resfriados em placa refrigerada.

Microtomia

Nesta etapa, os blocos rígidos são levados ao um micrótomo rotativo semi-automático (KEDEE KD-3358) e seccionados a $5 \mu m$. Após os cortes, a fita formada é transportada para o banho-maria com água destilada à temperatura de $45^\circ C$ até a distensão sobre a superfície da água. Posteriormente os cortes são coletados com lâmina histológica, previamente limpa e identificada, e transferidos para estufa a $60^\circ C$ por duas horas, para fixação do material na lâmina.

Coloração e montagem

A coloração dos tecidos, que consiste na ligação das estruturas celulares específicas de acordo com sua afinidade química, pode ser feita através de corantes naturais ou artificiais, de reações químicas especiais (histoquímica) ou de deposições metálicas (MICHALANY, 1990; SOUZA JUNIOR, 2010). Utilizamos normalmente para tecidos animais a combinação bicrômica considerada coloração universal em histologia e histopatologia que é a hematoxilina e eosina (HE) (SOUZA JUNIOR, 2010; AARESTRUP, 2012). Esta coloração de rotina foi pela primeira vez utilizada em 1863 por Wilhelm von Waldeyer e destacam núcleos das células em azul arroxeadado e o citoplasma em vermelho-róseo, respectivamente (MUSUMECI, 2014; TITFORD, 2009). Como a solução de HE é dissolvida em água, antes da coloração é necessária à retirada da parafina dos cortes das lâminas com xilol e hidratação em álcool em sequência decrescente

de graduação, até que o meio esteja apto a receber os corantes. Durante a coloração, os cortes são imersos em hematoxilina de Harris por 10 minutos e lavados em água corrente por 10 minutos, em seguida são colocados em eosina por 2 minutos e novamente lavados em água corrente até a total retirada do corante.

A montagem da lâmina consiste em cobrir o tecido corado com uma lamínula de vidro, com o auxílio de uma resina natural, como o bálsamo do Canadá, ou em meio sintético, como o Entellan (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2010).

Análise em microscópio óptico

Para análise dos resultados, os cortes são analisados em microscopia de luz com aumento de 40× a 1000×, e os resultados registrados por fotomicrografias, utilizando o microscópio óptico Olympus BX51 e a câmera Olympus E330.

Análise em histologia

Dentre alguns trabalhos realizados neste laboratório destaca-se, o uso da Histologia como ferramenta de análises em estudos de Saúde Pública e ambientais “Caracterização dos aspectos histopatológicos de fígados de frangos, relacionando aos achados à presença ou ausência de *Escherichia coli*”, “Ciclo reprodutivo de *Mytella guyanensis* na RESEX Baía do Iguape” e “Análise histológica de ostras cultivadas em cativeiro”.

Caracterização dos aspectos histopatológicos de fígados de frangos, relacionando aos achados à presença ou ausência de *Escherichia coli*

Em função da produção em larga escala, do tipo de criação e do manejo de frangos de corte, as lesões cutâneas, como a celulite aviária, vêm se tornando cada vez mais frequente e são consideradas como uma das maiores causas de condenações totais e parciais em todo o mundo (VIEIRA et al., 2014). Dentre as causas da celulite aviária estão o manejo e a nutrição inadequados e a presença de agentes infecciosos, como a bactéria *Escherichia coli*, que pode penetrar no organismo a partir de uma solução de continuidade na pele (VIEIRA et al., 2006).

O critério de condenação por lesões de celulite, segundo Brasil (1998), indica que estas, como qualquer órgão ou outra parte da carcaça que estiver afetada por um processo inflamatório, deverá ser condenada e, se existir evidência de caráter sistêmico do problema, a

carcaça e as vísceras na sua totalidade também deverão ser condenadas. Sendo assim, os critérios de condenação parcial e total são baseados especialmente nas verificações visual, tátil e olfativa, sendo que, especialmente para os fígados, consideram-se majoritariamente os aspectos visuais, que são cor, forma e tamanho do órgão.

Gomis et al. (1997; 2000) demonstraram que aves condenadas por celulite apresentaram uma combinação com outras lesões em coração, sacos aéreos, ossos, articulações e/ou fígado. Segundo Hoerr (1996) e Calnek (1997) no fígado são observadas alterações macroscópicas que são caracterizadas por pequenas lesões focais brancas, granulomas no fígado e microscopicamente por degenerações geradas por infiltrações contendo células mononucleares. São inúmeras as alterações fisiológicas que o fígado de frango pode apresentar, como distúrbios circulatórios, degenerativos, inflamatórios e neoplásicos. Muitas lesões hepáticas não são específicas quanto à etiologia, mas fornecem informações importantes sobre a ocorrência de doenças sistêmicas.

São escassos estudos que correlacionem às lesões macroscópicas de causa infecciosa observadas em frangos de corte com a caracterização histológica e o isolamento do patógeno nos órgãos lesionados. Casagrande (2013) cita que essa correlação é de extrema importância para que se estime o real impacto dos agentes infecciosos como causa da condenação de carcaças. Assim, considerando a necessidade de aprofundar o conhecimento acerca das características anátomo-histopatológicas do processo infeccioso causado pela bactéria *Escherichia coli* em fígados de frango oriundos de carcaças com lesões de celulite, objetivou-se caracterizar os aspectos anátomo-histopatológicos de fígados de frangos, relacionando os achados à presença ou ausência de *Escherichia coli*.

Foram coletadas 100 amostras de fígados de frangos (*Gallus gallus*) que apresentavam lesões de celulite, em matadouro avícola do Recôncavo Sul baiano, sob fiscalização da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB). Além das amostras de fígados oriundas de carcaças com celulite, três amostras de fígados de frango sem alterações macroscópicas e provenientes de carcaças inalteradas também foram analisadas como controle. *Escherichia coli* foi isolada em 44% dos fígados coletados, corroborando com os resultados de Silva et al. (2012) que isolaram a bactéria *Escherichia coli* em 45,50% .

Na análise macroscópica, foram avaliados comprimento, largura, espessura, peso e col-

oração dos fígados, além de observações da conformação e consistência da cápsula, assim como cor e aspecto do parênquima.

Apesar de Brasil (1998) determinar que as alterações macroscópicas do fígado são critérios utilizados para descarte total das carcaças, é importante ressaltar que segundo Dey et al. (2003) a variação de coloração e peso dos fígados pode estar relacionada à alimentação, condições ambientais que podem oscilar durante o ano e entre as diferentes propriedades. Além disto, os estudos de Silva et al. (2012) concluíram que a ausência de alteração na coloração no fígado não é garantia de que este não possui alteração microscópica ou isenção de patógenos.

As amostras para a análise histopatológica foram removidas de um mesmo lóbulo e fixadas em solução de formol tamponado a 10%. Em seguida foram processadas e coradas com metodologia de rotina. Os resultados foram registrados em micrografias ópticas.

Segundo Silva et al. (2012) a coloração esperada para um fígado saudável é castanho escura, a qual foi descrita em 31,81% e 33,90% das amostras com presença e ausência de *Escherichia coli*, respectivamente. Entretanto nesta pesquisa os fígados com coloração acastanhada com áreas pardas foram encontrados em 38,63% em fígados com isolados de *Escherichia coli* e em 37,50% dos fígados onde não foram encontradas cepas de *Escherichia coli*. As alterações na consistência do parênquima foram observadas em apenas uma amostra deste estudo.

Os resultados das análises histológicas revelaram degeneração gordurosa (esteatose) em 22,73% das aves contaminadas com *Escherichia coli* e em 21,43% dos fígados não contaminados. Conforme observado por Thomson (1983), a esteatose pode ser derivada de lesão hepática tóxica ou de jejum prolongado, sugerindo assim, falhas no manejo sanitário e alimentar.

A pericolangite foi observada em 61,36% dos fígados com isolados de *Escherichia coli* e em 69,64% dos fígados associados à ausência desse microrganismo. Já a ocorrência de colângio-hepatite foi de 6,81% para os fígados contaminados por *Escherichia coli* e 5,36% em fígados não infectados.

Foram encontrados infiltrados mononucleares em 41,07% das amostras que não isolaram

Escherichia coli e em 45,45% das amostras infectadas com esta bactéria. Os monócitos são as principais células fagocíticas do sangue das aves e são as precursoras do sistema mononuclear podendo se fundir e formar células gigantes multinucleadas (SHIVAPRASAD, 2014).

Foi observada hiperplasia do ducto biliar em 72,73% dos fígados com isolados de *Escherichia coli* e em 78,57% dos órgãos isentos desta bactéria. A necrose celular foi evidenciada em 20,45% dos fígados que geraram isolados de *Escherichia coli* e em 21,43% dos órgãos que não estavam contaminados por este microrganismo. Os infiltrados inflamatórios com presença de heterófilos das amostras de fígados sem a presença de *Escherichia coli* foram notificados em 19,64% e em 34,09% dos fígados com a bactéria (Figura 1). Os heterófilos, as primeiras células a migrarem para o sítio inflamatório, atuam de forma semelhante aos neutrófilos dos mamíferos e apresentam núcleo segmentado (dois a três lóbulos), com heterocromatina formando massa densa e seus grânulos citoplasmáticos específicos são elípticos e esféricos de coloração acidófila e a presença deste tipo celular pode representar infecções bacterianas recentes (MACARI et al., 2002; CAMPBELL, 2012).

Através do teste estatístico *Mann-Whitney U* identificou-se diferenças significativas para $p \leq 0,05$ apenas para a contagem das células heterófilas e mistas ($U = 283,000$; $p \leq 0,043$).

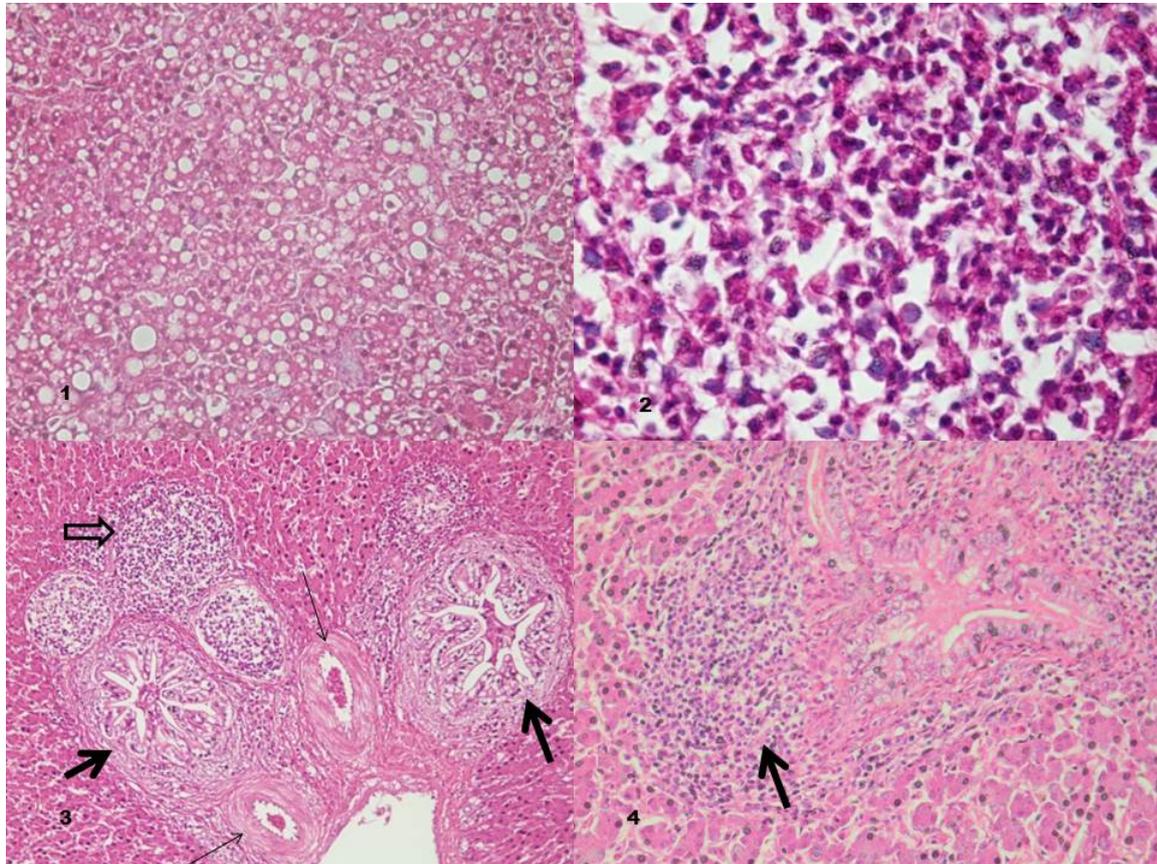
As amostras utilizadas como controle negativo, as quais foram originárias de fígados de frangos com ausência de celulite apresentaram infiltrados inflamatórios de grau leve, sendo os heterófilos o predominante tipo celular. Apesar destas alterações, percebeu-se que a intensidade das lesões era inferior quando comparadas às amostras de fígados de frangos com celulite.

Estes resultados sugerem que as análises microbiológicas e histopatológicas devam ser incluídas nas rotinas da inspeção sanitária da produção de carne de aves, oferecendo maior confiabilidade nos critérios de descarte de carcaças, permitindo o acompanhamento mais acurado das condições sanitárias em todo o processo produtivo, da criação ao abate, e, sobretudo, garantindo maior segurança na produção dos alimentos.

Ciclo reprodutivo de *Mytella guyanensis* na RESEX Marinha Baía do Iguape.

Os bivalves apresentam amplas formas de reprodução, desde o dioico até o hermafroditismo

Figura 1: (A, B, C, D). Coloração HE. Secção de fígado de frango. A-Degeneração gordurosa macro e microvesicular; Aumento 400×. B- Área de necrose; Aumento 1000×. C- Hiperplasia de Ducto (seta espessa); Hipertrofia dos músculos lisos das artérias (seta delgada); Infiltrado Mononuclear (seta espessa); Aumento 200×; D-Infiltrado Mononuclear (seta espessa); Aumento 400×.



funcional simultâneo ou sequencial (SASTRY, 1979). As gônadas nestes moluscos são originadas de um grupo de células próximas ao gânglio visceral e sobre o lado ventral do pericárdio formando uma massa que rodeia o intestino na região visceral (LUBET, 1996).

O sistema reprodutor é constituído por um par de gonodutos e numerosos canais secundários, que terminam na rede folicular ou alveolar. Na maioria das espécies, a gônada aumenta em volume antes da liberação dos gametas, ocupando uma grande parte da massa visceral e a reprodução é cíclica, podendo ser anual, semi-anual ou contínua (SASTRY, 1979). Boehs (2000) relata que em regiões tropicais, onde as estações do ano são bem definidas, os organismos tendem a apresentar reprodução contínua com picos de eliminação dos gametas.

Vários métodos têm sido utilizados para o estudo da reprodução dos bivalves, tais como: a observação da época de eliminação dos gametas; coleta de ovos, embriões e larvas no

plâncton; cálculo do índice gonadosomático (IG); observação de esfregaços do tecido das gônadas e análise de secções histológicas (GIESE; PEARSE, 1974).

Segundo Araújo (2001), no Brasil existe uma carência de pesquisas sobre aspectos biológicos, principalmente da reprodução, de espécies de areia. Estudos sobre a biologia reprodutiva são essenciais para a compreensão da vida das espécies (GARNER et al., 1999) e importantes em ações de manejo, pois fornecem informações sobre a época de liberação de gametas, proporção sexual e potencial reprodutivo subsidiando ações para a manutenção dos estoques naturais e a preservação das espécies (ARAÚJO, 2001). É um fator crucial no estudo da dinâmica populacional, e quando aliado ao conhecimento dos processos de recrutamento, tornam-se importantes como estratégia de gestão para a exploração comercial sustentável (MORGAN, 2008).

Mytella guyanensis (LAMARCK, 1819), conhecida popularmente por “bacucu”, “bico de ouro” e “sururu” (RIOS, 1994; PINTO e BOEHS, 2008), é um mitilídeo que tem distribuição do México ao Peru, no Oceano Pacífico, e da Venezuela ao Brasil, no Atlântico (RIOS, 2009), habitando as regiões entremarés de manguezais.

No Brasil, sua distribuição ocorre principalmente em ecossistemas costeiros do litoral. A biologia reprodutiva desta espécie foi descrita por alguns pesquisadores como: Grotta (1983) que descreveu reprodução das espécies no litoral da Paraíba, Christo e Absher (2001) das do Paraná, Carpes-Paternoster (2003) das de ocorrência em Santa Catarina, Adorno (2003) no Recôncavo da Bahia e Luz (2009) em Ilhéus, sul da Bahia.

A *Mytella guyanensis* é utilizada como recurso alimentar desde o Neolítico (MORTON, 1992), tendo importância ecológica, econômica (NISHIDA et al., 2006) e na preservação da cultura alimentar de determinados grupos sociais (CAMILO et al., 2016).

Considerando a importância socioeconômica e cultural desta espécie para comunidades que habitam a região do Recôncavo da Bahia foi feito a investigação do seu ciclo reprodutivo usando métodos histológicos visando à aplicação dos dados da biologia reprodutiva ao manejo sustentável da espécie.

Os exemplares de *M. guyanensis* foram coletados em um estoque natural de uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável - Reserva Extrativista (RESEX) Marinha Baía do Iguape,

Cachoeira, Bahia, com periodicidade mensal, constando de 30 animais adultos.

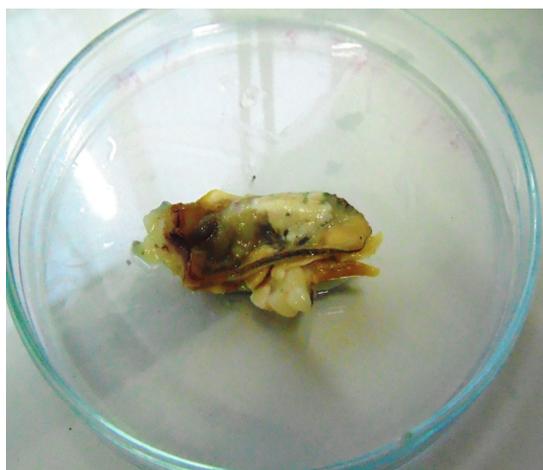
Após realização das análises morfométricas (comprimento da concha - eixo ântero-posterior), as amostras foram abertas e examinadas macroscopicamente quanto à cor e textura da gônada, assim como para a identificação de parasitos macroscópicos ou sinais de enfermidades. Em seguida foram submetidas ao processamento histológico de rotina. Os cortes obtidos foram examinados em microscopia de luz e os resultados foram registrados por fotomicrografias. Nestas análises foram realizadas sexagem e determinação do estágio de maturação da gônada, tomando-se como base estudos anteriores (ARAÚJO, 2001; CARPES-PATERNOSTER, 2003; GOMES et al., 2010; LUZ; BOEHS, 2011).

Macroscopicamente as gônadas dos machos apresentaram coloração branca leitosa e as das fêmeas alaranjada (Figura 2), como descrito por CRUZ e VILLALOBOS (1993) na região do Caribe. A análise microscópica denotou o predomínio de machos (47,93%) em relação às fêmeas (49,31%). Resultados similares foram encontrados em outros locais, como no estuário de Ochoa em Costa Rica (CRUZ; VILLALOBOS, 1993), no Rio Tavares, Ilha de Santa Catarina (CARPES-PATERNOSTER, 2003) e no estuário do Caeté, Bragança, Pará (GOMES et al., 2010).

Figura 2: Dimorfismo sexual em *Mytella guyanensis* na RESEX Marinha Baía do Iguape, 2015.



(a) Fêmea



(b) Macho

Os estudos histológicos demonstraram que o ciclo reprodutivo dos animais desta RESEX foi contínuo, ou seja, houve liberação de gametas durante quase todos os meses do ano. Carpes-Paternoster (2003) relatou ocorrência de sincronismo reprodutivo, o que também foi observado neste estudo.

Reprodução contínua a princípio promove uma renovação constante da população, permitindo a exploração desta espécie ao longo do ano. Porém é uma área de proteção ambiental, que tem em seus objetivos o uso sustentável dos recursos naturais por populações tradicionais. Portanto fazem-se necessárias medidas de manejo da espécie, permitindo dessa forma a sustentabilidade ecológica e socioeconômica do local.

A utilização da histologia como ferramenta de trabalho permitiu caracterizar os espécimes e definir seu ciclo reprodutivo. Salienta-se que novos estudos devem ainda ser realizados em outras RESEX utilizando-se desta ferramenta, para auxiliar na avaliação de seu potencial produtivo e conseqüentemente na conservação ambiental.

Análise histológica de ostras cultivadas em cativeiro

Segundo a FAO (2008), os moluscos, em especial os bivalves, são o terceiro maior grupo de organismos marinhos em termos de produção aquícola por serem economicamente e ecologicamente importantes componentes dos ecossistemas aquáticos e uma fonte relativamente barata de proteína animal em comparação com os peixes e crustáceos.

Entre os moluscos bivalves, as ostras destacam-se por seu valor nutricional e importância econômica, cujo cultivo feito em cativeiro surgiu a partir de um crescente aumento da demanda e da necessidade de preservação do meio ambiente, de forma que, ao longo dos anos, métodos de cultivo e tecnologias pós-colheitas foram aperfeiçoadas, com o objetivo de aumentar o volume e a qualidade da produção (PORTELLA, 2005).

Em todo mundo são relatadas enfermidades que afetam os moluscos bivalves comprometendo o extrativismo e a produção, gerando mortalidade em massa e impactos econômicos (BOEHS et al., 2012). As enfermidades citadas na literatura atingem várias espécies sendo relatados como patógenos, vírus, bactérias, fungos, protozoários, parasitos, além de neoplasias hemocíticas de origem desconhecida.

Diante deste desafio é de fundamental importância que as agências reguladoras e os

produtores possam desenvolver estratégias de intervenção e controle de patologias e de contaminantes ao longo das cadeias de produção e comercialização, proporcionando a melhoria da sanidade das ostras beneficiadas, tornando o alimento comercializado mais seguro.

Ostras são organismos bastante delicados e particularmente vulneráveis a doenças e à poluição industrial. Uma variedade de órgãos é afetada pelos agentes patogênicos e, em cada caso, o mecanismo de patogenicidade pode ser diferente, causando lesão e destruição de tecido, competição por nutrientes, metabólitos tóxicos, ou a interrupção de processos metabólicos e vias biossintéticas (FIGUERAS; FISHER, 1988), as quais podem ser detectadas, em sua maioria, pela análise histopatológica.

No Brasil, estudos sobre enfermidades em ostras e em outros organismos aquáticos cultiváveis ainda são escassos e não refletem a situação patológica atual, mas esta realidade tem se modificado nas últimas décadas em função do aumento e desenvolvimento de sistemas de cultivo e da exploração dos recursos naturais pesqueiros, principalmente nos estados de Santa Catarina, Ceará e Bahia (BOEHS et al., 2012; SABRY; GESTEIRA; BOEHS, 2007).

De acordo com Figueras e Fisher (1988), os principais patógenos de ostras que causam a mortalidade e epizootia são os parasitos internos, os quais entram ou corroem quimicamente a camada epitelial do hospedeiro, por meio de um local vulnerável, geralmente ao longo das brânquias, manto, boca ou sistema digestivo para ocasionar o parasitismo.

Apesar da maioria dos parasitos não apresentarem danos ao hospedeiro, diversos autores em todo mundo relataram deformações e erosões das brânquias, desencadeando o comprometimento das suas funções; reações inflamatórias; desorganização, hiperplasia e necrose de tecidos; ruptura de epitélio do tubo digestivo; inibição do desenvolvimento gonadal; castração parasitária; lesões na concha; e xenomas associados à infecção parasitária nas ostras (BOWER; MCGLADDERY; PRICE, 1994).

Em estudo realizado com ostras *Crassostrea rhizophorae* provenientes de sistema de cultivo em cativeiro da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape-BA utilizou a análise histopatológica como instrumento de avaliação da sanidade desses bivalves, bem como, a identificação de lesões nos espécimes da referida região. O processo histológico realizado foi o de rotina, com fixação dos espécimes em Bouin.

Quanto às infecções parasitárias, observou-se que em 56,7% das ostras havia a presença de organismos assemelhados a *Rickettsia*, *Nematopsis* sp. (Apicomplexa), *Urastoma* sp. (Turbellaria), além de uma metacercária e um metazoário sem identificações. No entanto, não houve presença de protozoários ou metazoários de notificação obrigatória e que com base na baixa intensidade de infecção parasitária e na integridade dos tecidos observados, levou-se a concluir que as ostras estavam aparentemente saudáveis.

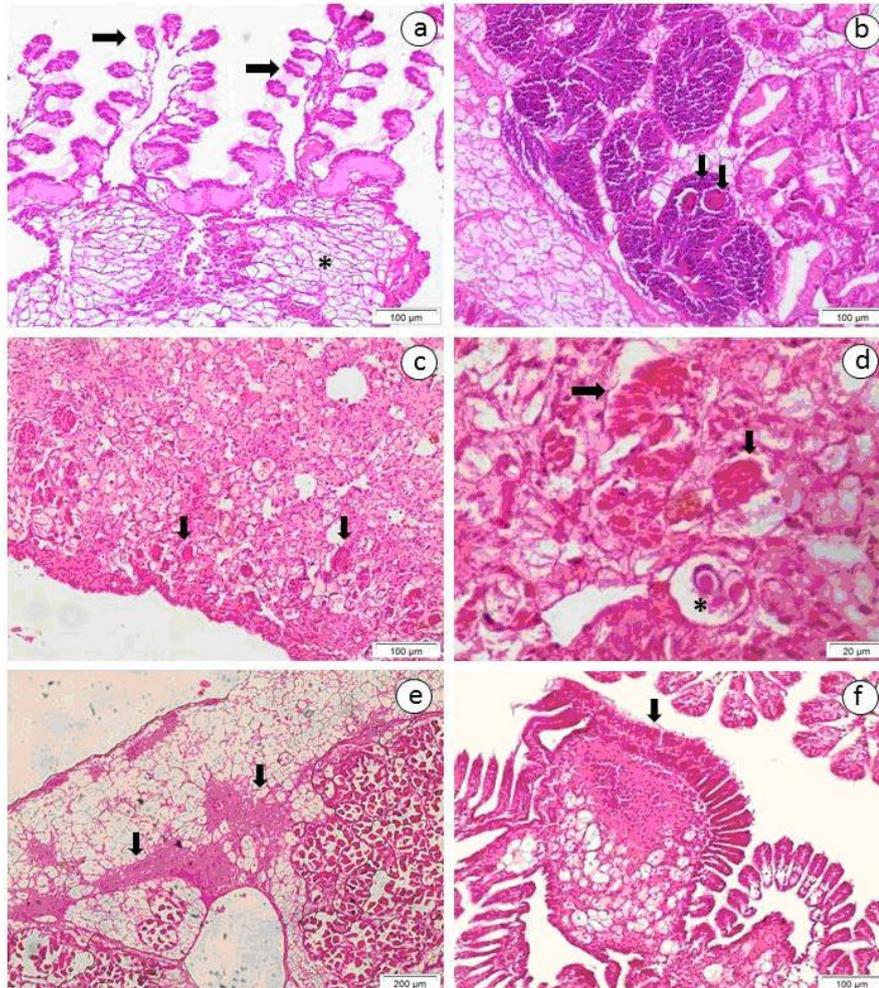
As alterações histopatológicas observadas nos espécimes foram desconfiguração de brânquias, hipertrofia de gameta masculino, hiperplasia de brânquias, infiltração de manto e hiperplasia de manto (Figura 3).

A hipertrofia do gameta masculino apresentou características semelhantes à hipertrofia gametocítica viral (VGH) descrita por BOWER; MCGLADDERY e PRICE (1994), o que sugere a presença de um vírus das famílias *Papillomaviridae* ou *Polyomaviridae*. As infiltrações no manto demonstraram que essa alteração provavelmente se relaciona à degradação de produtos (gametas) da reprodução. Da mesma forma, a presença pontual de algumas células hipertrofiadas na borda do manto, não foi interpretada como um processo patológico.

Dentre as lesões histopatológicas também identificadas nas brânquias de outros espécimes, encontra-se a hiperplasia das células epiteliais do epitélio respiratório, as quais em estágio avançado causam graves perturbações respiratórias e de osmorregulação, podendo ocasionar a morte do animal (SOUZA, 2015).

A desconfiguração das brânquias foi a alteração histopatológica de maior ocorrência, tendo sido observada em alguns animais em associação com o aumento dos septos interlamelares. Ressalta-se que as brânquias foram as mais afetadas pelas alterações histopatológicas, pois segundo JI et al. (2015) as brânquias dos bivalves são o primeiro órgão a sofrer efeitos da poluição por metais, incluindo chumbo e cádmio, devido à sua grande superfície constantemente exposta à água estuarina.

Figura 3: Fotomicrografia de alterações histopatológicas em *Crassostrea rhizophorae*: **(a)** desconfiguração de brânquias (seta) com septo interlamelar aumentado (*); **(b)** hiperplasia de gametas masculinos (seta); **(c-d)** hiperplasia de células do manto (seta) com presença de *Nematopsis* sp. (*); e) infiltração de manto (setas); f) hiperplasia de brânquias (seta). Coloração: HE. Aumento 100×.



Desta forma, conclui-se que as ostras cultivadas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape apresentam bom estado de saúde e qualidade parasitária satisfatória. Além disso, as alterações histopatológicas observadas não apresentam dimensões significativas para caracterização de lesões, confirmando assim a boa saúde das ostras.

Evidencia ainda que as análises microscópicas (ou histologia de luz) é uma boa ferramenta para a identificação de parasitos e lesões nas ostras de forma a permitir a caracterização da sanidade destas. Ressalta-se ainda que esta metodologia pode e deve ser empregada para outros bivalves.

Referências

- AARESTRUP, B.J. **Histologia: essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 457 p.
- ADORNO, E.V. **Estudo populacional de *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia – Mytilidae) em manguezais do Recôncavo Baiano – uma análise comparativa**. 2003. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento) Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2003.
- ARAÚJO, C.M. **Biologia Reprodutiva do berbigão *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Reserva Extrativista Marinha de Pirajuba**. 2001. 204 p. Tese de Doutorado em Aquicultura, São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2001.
- BOEHS, G.; MAGALHÃES, A.R.M.; SABRY, R.C.; CEUTA, L.O. Parasitos e patologias de bivalves marinhos de importância econômica da costa brasileira. In: SILVA-SOUZA, A. T.; LIZAMA, M. L.A., (Ed.). **Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos**. Maringá: ABRAPOA, 2012. p.165-194.
- BOWER, S.M.; MCGLADDERY, S.E.; PRICE, I.M. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. **Annual Review of Fish Diseases**, v.4, p.1-199, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. **Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiénico-Sanitária de Carne de Aves**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 de novembro de 1998.
- CALNEK, B.W. (Coord.). **Diseases of Poultry**. 10. ed. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1997. 929p.
- CAMILO, V.M.A.; FREITAS, F.; NEIVA, G.S; COSTA, T.S.; SILVA, I.M.M. Processamento artesanal de sururu (*Mytella guyanensis*) pelas marisqueiras da RESEX Baía do Iguape: avaliação da qualidade antes e após intervenção educativa. **Vigilância Sanitária em Debate**. n.6, v.4, p.34-42, 2016.
- CAMPBELL, T.W. Hematology of birds. In: THRALL, M. A. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Wiley-Blackwell, p.238-277, 2012.
- CAPUTO, L.F.G.; GITIRANA, L.B.; MANSO, P.P.A. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, E.;

CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. (Org.). **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: p.89-188, 2010.

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

CASAGRANDE, R.A. **Caracterização anatomopatológica, imuno-histoquímica e molecular de doenças infecciosas em aves de produção e ornamentais**. 2013. 86p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação, Porto Alegre, 2013.

CHRISTO, S.W.; ABSHER, T.M. Ciclo Reprodutivo de *Mytella guyanensis* e *Mytella charruana* (Bivalvia: Mitilidae) na Baía de Paranaguá, Paraná. IX **Congresso Latinoamericano sobre Ciências Del Mar**. San Andrés Isla, Colombia, (2001).

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

DEY, B.P.; CHEN, Y.R.; HSIEH, C.; CHAN, D.E. Detection of septicemia in chicken livers by spectroscopy. **Poultry Science**, v.82, p 199-206, 2003.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para y **actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad en América Latina**. Roma, 2008. p.377.

FIGUERAS, A.J.; FISHER, W.S. Ecology and evolution of bivalve parasites. **American Fisheries Society Special Publication**, v.18, p.130-137, 1988.

GARNER, J.T.; HAGGERTY, T.M.; MODLIN, R.F. Reproductive cycle of *Quadrula metanevra* (Bivalvia: Unionidae) in the Pickwick Dam Tailwater of the Tennessee River. **The American Midland Naturalist**. v.141, n.2, p.277-283, 1999.

GIESE, A.C.; PEARSE, J.S. (Org.). **Reproduction of marine invertebrates**. New York, Boston: Academic Press. p.113-292, v.5, 1979.

GOMES, P.C.; BEASLEY, C.R.; PEROTE, S.M.O.; FAVACHO, A.S.; SILVA, L.S.; TAGLIARO,

C.H.; FERREIRA, M.A.P.; ROCHA, R.M. Quantitative Evaluation of Gametogenesis in the Mangrove mussel *Mytella guyanensis*. **Ecotropica**, v.16, p.125-139, 2010.

GOMIS S.M.; GOODHOPE, R.; KUMOR, L; CADDY, N.; RIDDELL, C; POTTER, A. A.; ALLAN, B.J.; Isolation of *Escherichia coli* from cellulitis and other lesions of the same bird in broiler at slaughter. **Canadian Veterinary Journal**, v.3, n. 8, p.159-162, 1997.

GOMIS S.M., GOMIS, A.I.U.; HORADAGODA, N.U.; WIJEWARDENE, T.G.; ALLAN, B.J.; POTTER, A.A. Studies on cellulitis and other disease síndromes caused by *Escherichia coli* in broilers in Sri Lanka. **Tropical Animal Health Production**, n.32, p.341-351, 2000.

GROTTA, M Ciclo sexual de *Mytella guyanensis* (Lamark 1819) (Moluska Bivalvia), do estuário do Rio Paraíba do Norte. **Anais da Sociedade Nordestina Zoologia** n.1, v.1, p.70, 1983.

HOERR, F.J. Liver. In.: RIDDELL, C. **Avian Histopathology**. Pennsylvania: Library of Congress, p.143-166, 1996.

JI, C.; WANG, Q.; WU, H.; TAN, Q.; WANG, W.-X. A metabolomic investigation of the effects of metal pollution in oysters *Crassostrea hongkongensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v.90, p.317-322, 2015.

LUBET, P. Bases biológicas del cultivo de moluscos. In: Barnabé, G. (Org.). **Bases Biológicas y Ecológicas de la Acuicultura**. Acribia, Zaragoza, Spain, p.100–216, 1996.

LUZ, J.R.; BOEHS, G. Reproductive cycle of *Anomalocardia brasiliiana* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) in the estuary of the Cachoeira River, Ilhéus, Bahia. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.3, p.679-686, 2011.

MACARI, M.; FURLAN, R.R.; GONZALES, E. **Fisiologia Aviaria Aplicada a Frangos de Corte**. 2. ed. São Paulo: FUNEP, 2002.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. 2. ed. São Paulo: Michalany, 1990. 277p.

MOLINARO, E.M.; CAPUTO, G. L.F.; AMENDOEIRA, M.R.R.(Org.) **Conceitos e Métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 2**. Rio de Janeiro, EPSJV, IOC, 2013. 253 p.

MORGAN, M.J. Integrating reproductive biology into scientific advice for fisheries Management.

Journal Northwest Atlantic Fish Science, v.41, p.37–51, 2008.

MORTON, B. The Bivalvia: Future directions for research. **American Malacological Bulletin**, v.9, n.2, p.107-116, 1992.

MUSUMECI, G. **Past, present and future: overview on histology and histopathology**. *Journal of Histology and Histopathology*, v.1, n.5, 2014.

NISHIDA, A.K; NORDI, N; ALVES, R.R.N. Molluscs Production Associated to lunar-tide cycle: a case study in Paraíba State under ethnoecology viewpoint. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.2, n.28, p.1-6, 2006.

ORTIZ-HIDALGO C. Fixador de Bouin e outras contribuições à medicina. *Archives of Pathology Medicine Laboratory*. n.116, v.8, p.882-884, 1992.

OVALLE, W.K. **Netter: Histologia essencial / Willian K. Ovalle, Patrick C. Nahirney: tradução Marcelo Narciso**. – 2 ed. – Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

PINTO, T.R.; BOEHS, G. *Nematopsis* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida) em *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Mytilidae) da Região Estuarina do Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.45, n.2, p.95-100, 2008.

PORTELLA, C.D.G. **Avaliação da qualidade da ostra nativa *Crassostrea brasiliana* congelada em concha em função da composição química e análise sensorial**. 2005. . Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal – SP, 2005.

REIDY, J; DANCEY, C. **Estatística sem Matemática para Psicologia**. Rio de Janeiro: Penso-Artmed, 2013.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil**. 2 ed. Rio Grande: Fundação Universidade do Rio Grande, 1994, 330p.

RIOS, E.C. **Compendium of Brazilian Sea shells**. Rio Grande: Evangraf. 2009. 668 p.

SABRY, R.C.; GESTEIRA, T.C.V.; BOEHS, G. First record of parasitism in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) at Jaguaribe River estuary – Ceará, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v.67, n.4, p.755-758, 2007.

SASTRY, A.N. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In GIESE, A.C.; PEARSE, J.S. (Org.). **Reproduction of marine invertebrates**. New York, Boston: Academic Press. p.113-292, v.5, 1979.

SHIVAPRASAD, H.L. **Pathology of Birds – An Overview Proceedings**, California Animal Health and Food Safety Laboratory System, Tulare Branch School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, 2014. 57 p.

SILVA, I.M.M.; BALIZA, M.; SANTOS, M.P.; REBOUÇAS, L.T.; ROCHA, É.V.S.; SANTOS, V.A.; SILVA, R.M.; EVÊNCIO-NETO, J. Presença de *Escherichia coli* em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.3, p.694-700, jul./set., 2012.

SOUZA, N.A.D. **Resposta metabólica da ostra *Crassostrea gigas* na presença do parasita *Amyloodinium ocellatum***. 2015. . (Mestrado). Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Universidade do Algarve, Faro. 2015.

THOMSON, R.G. **Patologia Geral Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1 ed., 1983.

TITFORD, M. **Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology**. The Journal of Histotechnology, Alabama, v.32, n.1, p.9-19, mar. 2009.

VIEIRA, T.B.; FRANCO, R.M.; MAGALHÃES, H.; PRAXEDES, S.C.I.; TORTELLY, R. Celulite em frangos de corte abatidos sob inspeção sanitária: aspectos anatomopatológicos associados ao isolamento de *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.13, n.3, p.174-177, set.-dez. 2006.

VIEIRA, T.B.; PEREIRA, V.L.A.; FRANCO, R.M.; NASCIMENTO, E.R.; SILVA, R.C.F.; TORTELLY, R. Potencial patogênico e caráter séptico de *Escherichia coli* pela identificação dos fatores de virulência *iss* e *felA* em celulite e miúdos de frangos sob Inspeção Sanitária. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.36, n.2, p.144-152, abr.-jun., 2014.

Análise histológica de alimentos como avaliação dos impactos ambientais por metais tóxicos em Santo Amaro (BA)

Sibele do Oliveira Tozetto Klein

Vaneiza dos Santos Oliveira

Felipe Silva de Miranda

Fábio Santos de Oliveira

Elen Maiana Lima Conceição da Silveira

Marcilio Delan Baliza Fernandes

Juliane Pinto dos Santos

Entre 1963 e 1993, a Companhia Brasileira de Chumbo (COBRAC) realizou atividades no município de Santo Amaro (Bahia), relacionadas com a operação de uma usina para o beneficiamento de chumbo e produção de lingotes, a partir do minério trazido do município de Boquira (Bahia), e posteriormente importado do Peru. Esta indústria produziu durante 33 anos aproximadamente 490.000 toneladas de escória contaminada por vários metais pesados, inclusive chumbo e cádmio, afetando aleatoriamente o rio Subaé e todo ecossistema local (PORTELLA; ALCOFORADO; LEMOS, 2010).

Os moradores frequentemente empregavam escória da fundição para pavimentar as vias de acesso e os quintais de suas casas. Resíduos e filtros das chaminés foram indevidamente utilizados pela prefeitura do município e pela população para a pavimentação da cidade, jardins e pátios das escolas. Pelas recorrentes obras de pavimentação e manutenção da rede de abastecimento de água e de esgoto, acabaram por expor as escórias e gerar a exposição desses metais à população. Até hoje os resíduos são mantidos sob semi-encapsulamento de

forma inapropriada, nos pátios da empresa, de modo que a lixívia dos resíduos para o lençol freático, o escoamento superficial e a poeira dos resíduos ainda são fontes significativas de contaminação para o meio ambiente (RABELO, 2010).

O cádmio adsorvido à argila ou material orgânico pode entrar na cadeia alimentar, sendo o pH um fator determinante para a disponibilidade do metal em solos e sedimentos. Concentrações elevadas de 2 a 30 *mg/kg* de cádmio por peso úmido são encontradas em moluscos e crustáceos (SOUZA, 2012). No que se refere à exposição humana, esta pode resultar do consumo de alimentos e água, e exposição ao ar e solo. Apesar da diversidade de rotas de exposição, a ingestão de alimentos contaminados com cádmio é a mais importante fonte de contaminação. O cádmio circula na corrente sanguínea a partir do complexo cádmio-tioneína. Este, por sua vez, é filtrado pelo glomérulo e absorvido pelas células do túbulo proximal, no qual a tioneína é degradada e o cádmio, sem uma ligação, exerce seu efeito tóxico (SANTOS, 2011). Por outro lado, o chumbo é liberado ao ambiente por atividade antropogênica, principalmente através da atividade de indústrias extrativas, petrolíferas, de baterias, tintas e corantes, cerâmicas, cabos, tubulações e munições. A sua biodisponibilidade e toxicidade dependem de condições como pH, salinidade e teor de matéria orgânica, além de fatores intrínsecos como dieta, taxa metabólica e capacidade de depuração, que varia dependendo da espécie a ser contaminada.

O monitoramento ambiental biológico (ou biomonitoramento) utiliza organismos biológicos, sejam eles como um todo ou através de determinados tecidos ou órgãos para monitorar ambientes. A utilização de bioindicadores tem sido objeto de considerável interesse nos últimos anos, devido à preocupação de que os níveis elevados dos metais podem ter efeitos prejudiciais sobre vários organismos e também por criar problemas em relação à sua adequação como alimento para os seres humanos (REPULA, 2012).

Metais provenientes de fontes naturais e de efluentes contaminados podem ser absorvidos e acumulados nos tecidos de vegetais e animais de diferentes espécies, de acordo com suas características fisiológicas, de metabolismo, hábitos alimentares, tamanho e sexo. No ambiente aquático, bioindicadores, como crustáceos e peixes, podem absorver e acumular substâncias em concentrações várias vezes mais elevadas que as encontradas na água (HACON, 2003; OOST, BEYER; VERMEULEN, 2003).

Várias espécies utilizadas como bioindicadores mostraram alterações fisiológicas, de mortalidade em massa ou desaparecimento total, indicando prováveis mudanças e/ou contaminações do meio ambiente. Algumas espécies apresentaram alterações morfofuncionais nas brânquias, modificações na ultraestrutura das células e danos no tecido epitelial, após exposição a metais pesados e estresse osmótico, por variações na salinidade (FREITAS et al., 2013). Estudos anteriores demonstraram que as brânquias são os primeiros órgãos em contato com os poluentes nas águas representando um bom órgão para investigação da toxicidade aquática (RAMOS, 2012). Fígados de aves e peixes apresentaram aumento de volume nuclear e celular, degeneração citoplasmática e degeneração nuclear, devido à exposição a metais pesados. Similar às alterações hepáticas, o hepatopâncreas dos crustáceos pode intervir nos processos de inativação de inseticidas, na remoção de metais injetados e participar dos processos osmorregulatórios (SANTOS FILHO, 2014; LIMA et al., 2009; GARCIA-SANTOS et al., 2007).

Embora várias pesquisas tenham sido conduzidas para avaliar os passivos ambientais no município de Santo Amaro, a maior parte dos esforços foi direcionada para a avaliação dos níveis de contaminantes químicos no solo e sedimentos (HATJE; ANDRADE, 2009). Contudo, as análises químicas de contaminantes nos sedimentos não podem, isoladamente, definir os possíveis riscos ecológicos e a saúde humana relacionados com a contaminação. Para auxiliar na avaliação de riscos ao meio ambiente e à saúde humana, o levantamento de informações sobre a acumulação de metais nos componentes bióticos é de grande relevância.

Em 1998 demonstrou-se que 88% das crianças do município possuíam níveis de chumbo no sangue maior do que 10 $\mu\text{g/dL}$, o que evidencia uma exposição aguda ao metal e pode estar associada a efeitos no sistema nervoso, sanguíneo, endócrino e renal, além de distúrbios no crescimento (CARVALHO et al., 2003). A presença do cádmio no organismo está relacionada à deficiência de ferro e redução de proteínas e está associada ao desencadeamento de anemia e anorexia (GOBBI, 2007; LEMOS, 2012). Outras pesquisas também evidenciaram que a contaminação de seres humanos por chumbo e cádmio pode acarretar em efeitos hematológicos, renais, gastrointestinais, cardiovasculares, neurológicos e imunológicos (FAUSTO, 2009).

Considerando o vasto consumo de alimentos como pescado, moluscos, crustáceos, aves e vegetação pela população, verificou-se a relevância de avaliações destes espécimes en-

quanto bioindicadores ambientais e de risco alimentar, na determinação dos atuais impactos decorrentes da contaminação por metais pesados em Santo Amaro e entorno.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo caracterizar microscopicamente fígado, músculo, hepatopâncreas, brânquias e gônadas de animais utilizados como alimentos, assim como, de alguns vegetais, provenientes de áreas de uma extinta indústria de beneficiamento de chumbo (Santo Amaro - Bahia), ou seja, potencialmente contaminadas, para a verificação de possíveis alterações morfológicas devido à exposição a agentes tóxicos, como os metais pesados chumbo e cádmio, como forma de contribuição para o monitoramento da qualidade ambiental.

Espécimes do crustáceo *Ucides cordatus*, conhecido como caranguejo Uçá, e peixes da espécie *Bagre marinus* foram coletados no entorno de Santo Amaro, seguindo a bacia do rio Subaé, pelo método de braceamento por catadores nativos e com auxílio de redes por pescadores locais, respectivamente. As amostras de aves (*Gallus gallus domesticus*) e alimentos vegetais (coentro - *Coriandrum sativum* L., quiabo - *Abelmoschus esculentus* e aipim - *Manihot esculenta*), provindas da área de estudo, foram obtidas no comércio local de Santo Amaro.

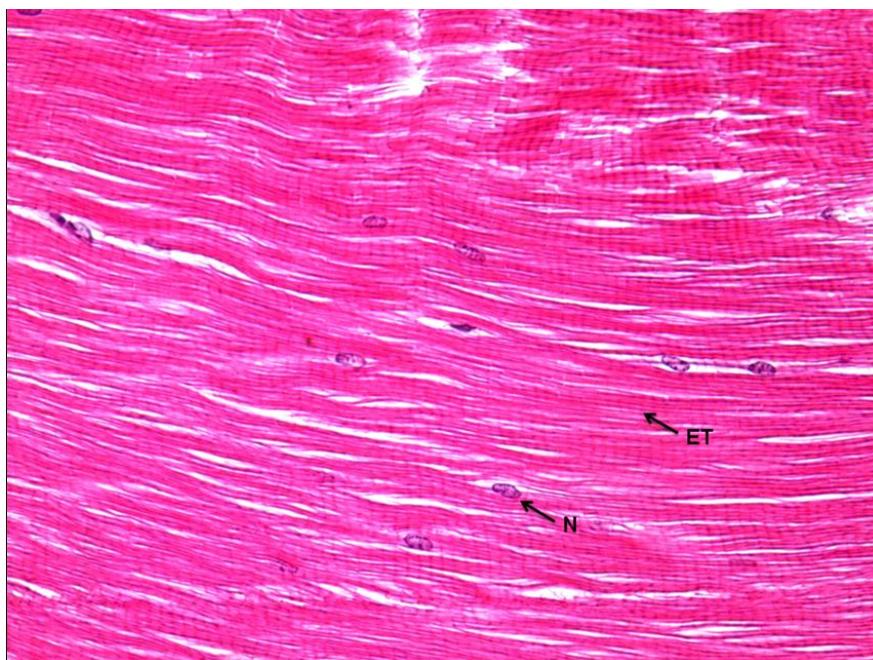
As amostras de músculos, gônadas, brânquias e hepatopâncreas de caranguejos foram dissecadas e fixadas em solução de Bouin aquoso por 12 horas. Enquanto fígado, brânquias e músculo de peixes foram fixados em solução de formol aquoso (10%) por aproximadamente 12 horas, assim como, as amostras de diferentes espécies vegetais. Após a fixação, todas as amostras foram mantidas em álcool 70% até o processamento histológico de rotina.

Neste processamento as amostras foram desidratadas em bateria de etanol (em água, v/v), diafanizadas em xilol e incluídas em parafina líquida a 60°C. Os cortes histológicos (5 – 7µm) de todas as amostras obtidas por microtomia foram coletados com lâmina e levados para estufa a 60°C por duas horas. A coloração das amostras animais foi a de rotina, em hematoxilina e eosina (HE) e a das amostras vegetais em solução de ácido tânico, cloreto férrico e safranina. Após montagem com auxílio de bálsamo do Canadá, os cortes foram analisados em microscopia de luz com aumento de 40× a 1000×, e os resultados foram registrados por fotomicrografias, utilizando o microscópio óptico Olympus BX51 e a câmera Olympus E330.

Ao longo do litoral brasileiro, os crustáceos são muito explorados. A pesca desses animais equivale a aproximadamente 30% das pescarias de alto valor no mundo, sendo importante fonte de renda das populações ribeirinhas e por muitas vezes a única fonte de proteínas dessas famílias (HATTORI, 2006; MENDONÇA; LUCENA 2009). Ramos (2012) identificou bioacumulação de zinco, cádmio e níquel na musculatura de *U. cordatus* provenientes da Baía de Todos os Santos, com níveis acima dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Estes animais foram provenientes de área contaminadas por metais pesados e são inapropriados para consumo humano.

Os cortes histológicos de músculos do própodo quelar do crustáceo caranguejo Uçá provenientes de manguezais do entorno de Santo Amaro (BA) não apresentaram alterações tissulares. As fotomicrografias demonstraram que este tecido é caracterizado por feixes de células com núcleos periféricos e estriações transversais, como descrito por Junqueira e Carneiro (2004), para a morfologia de musculatura estriada esquelética (Figura 1).

Figura 1: Corte longitudinal do própodo quelar de *Ucides cordatus*. Aumento 400×, HE. Núcleo (N), estriações transversais (ET).



Nas gônadas de *U. cordatus* foram observadas células germinativas em um ou mais estágios de diferenciação, sem alterações morfológicas. Foram dissecados o vaso deferente e ducto ejaculador do aparelho reprodutor masculino. Denotou-se que o vaso deferente anterior (VDA) é revestido por epitélio distendido, e em seu lúmen há a presença de espermatóforos

repletos de espermatozoides. O vaso deferente médio (VDM) é revestido por dois feixes de fibras musculares (transversais e longitudinais), além de epitélio cilíndrico. O lúmen é composto por espermatóforos em formato ovoide (Figura 2). O vaso deferente posterior (VDP) é a porção final do vaso deferente. É revestido por duas camadas de fibras musculares e epitélio cilíndrico. O lúmen é preenchido por secreção e em alguns casos, por espermatóforos. O ducto ejaculador inicia-se após o VDP e tem sua porção final ligada ao pênis. É revestido por fibras musculares transversais e epitélio pseudoestratificado. Seu lúmen é preenchido por secreção e espermatóforos (Figura 3).

Figura 2: Corte longitudinal de VDM de *Ucides cordatus*. Aumento 200×, HE. Fibras musculares (FM), epitélio (EC), espermatóforo (E).

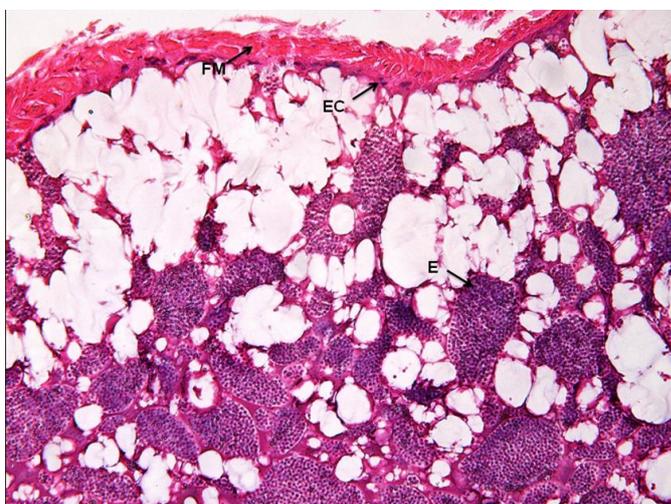
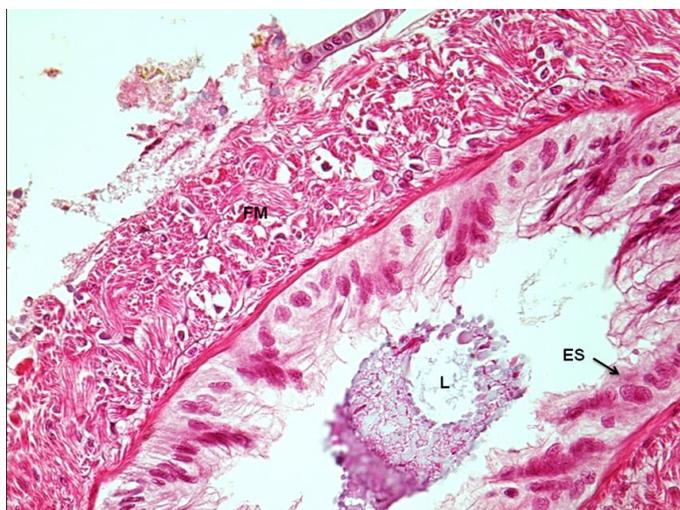


Figura 3: Corte transversal de ducto ejaculador de *Ucides cordatus*. Aumento 400×, HE. Lúmen (L), fibras musculares (FM), epitélio pseudo-estratificado (ES).

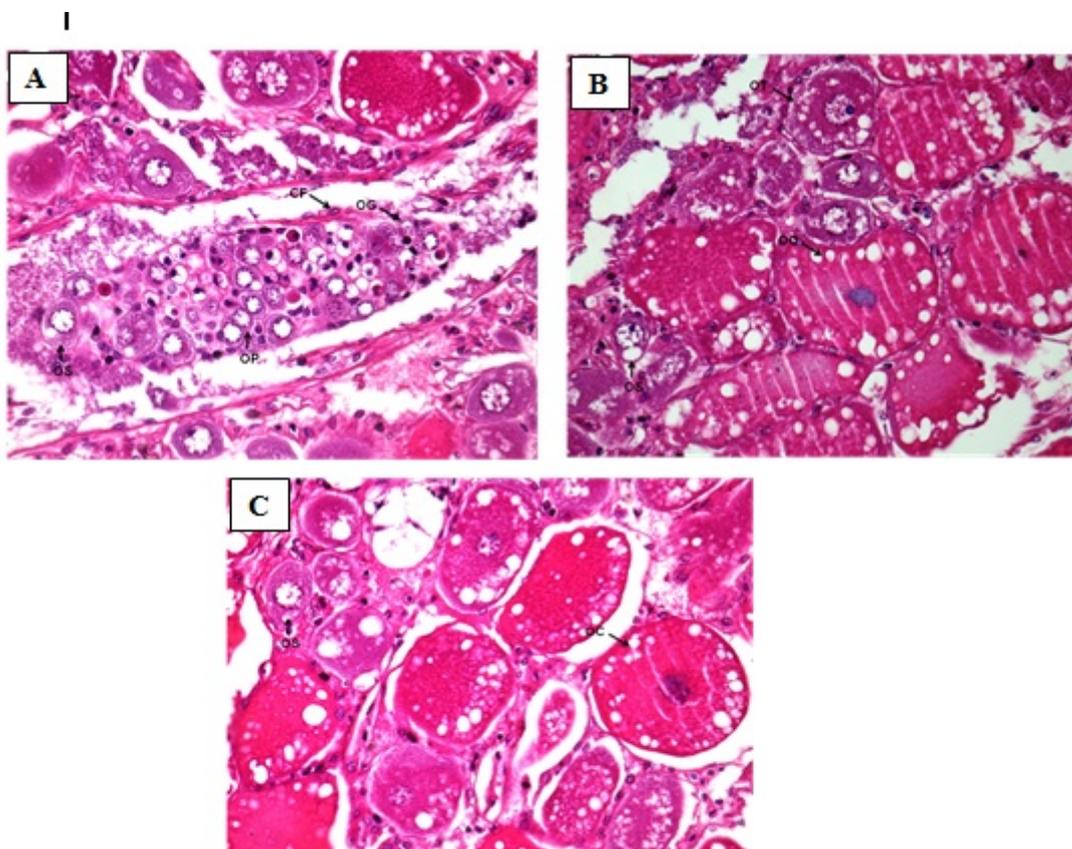


A morfologia do vaso deferente em suas três subdivisões e do ducto ejaculador são semelhantes aos descritos por Castilho (2006), e Rodrigues (2007). A análise do vaso deferente permite classificar o aparelho reprodutor masculino em três estágios de maturação: Estágio I com ausência de espermatozoides nos túbulos seminíferos e VDM; grande quantidade de espermatozoides no testículo e VDM, denominado de estágio II; e, poucos espermatozoides nos testículos e raros no VDM, denominado de estágio III (ALVES, 1975). Devido ao pequeno número de animais coletados o vaso deferente e pela não variação significativa na quantidade de espermatozoides observados nos cortes obtidos, não foi possível a realização desta classificação neste estudo.

Os ovários também não apresentaram alterações histológicas. A morfologia do ovário do *U. cordatus* se assemelha às descrições de Castilho (2006), Lima (2007) e Ribeiro (2006) apresentando ovócitos em mais de um estágio de maturação e um centro germinativo, ou zona de proliferação, envolto por celular foliculares. Estas células são as únicas não germinativas que estão presentes no ovário dos crustáceos. Elas permanecem aderidas à periferia dos ovócitos e possuem importante papel nos processos de vitelogênese nos decápodos (Figuras 4A, 4B, 4C). O ciclo reprodutivo envolve as atividades inerentes ao ovário e ao hepatopâncreas. Estes dois órgãos trabalham de forma sincronizada estabelecendo o período de cada ciclo. Animais maduros possuem a maior presença de células de reserva (R), atingindo o nível máximo de acúmulo energético, sendo que a partir desse estágio este material de reserva se mobiliza para os ovócitos em maturação (LIMA, 2007; RIBEIRO, 2006).

Em crustáceos, o hepatopâncreas é o análogo ao fígado dos vertebrados, desempenhando função importante na assimilação de nutrientes e a provisão de reserva energética utilizada para o crescimento e metabolismo dos animais, além de ser utilizada durante a maturação ovariana (PAPA, 2007; SOARES, 2010). É um órgão sensível aos danos causados por poluentes, sendo este um importante biomarcador da poluição ambiental. A partir da exposição a metais pesados, o hepatopâncreas pode apresentar uma série de alterações como necrose, hipertrofia celular, congestão e desta forma, prejudicando a atividade metabólica deste órgão (SANTOS, 2010). É o principal sítio de estocagem e secreção de metais, estando envolvido diretamente com os processos de desintoxicação nesses organismos (RAMOS, 2012).

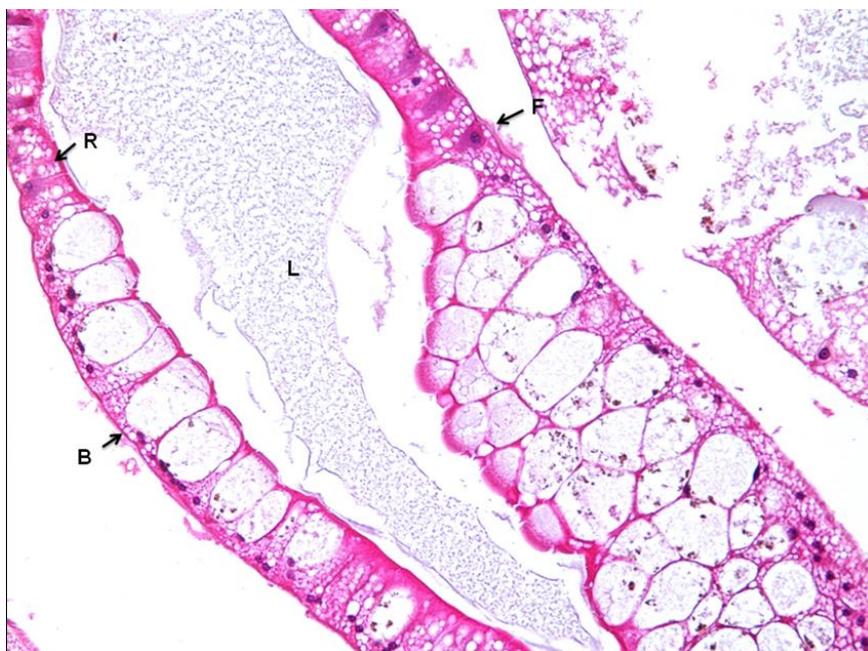
Figura 4: Corte longitudinal de ovário de *Ucides cordatus*. **(A)** Células foliculares (CF), ovogônia (OG), ovócito I (OP), ovócito II (OS); **(B)** Ovócito II (OS), ovócito III (OT), ovócito IV (OQ); **(C)** Ovócito secundário (OS), ovócito V (OC). Aumento 400 \times , HE.



As células embrionárias são caracterizadas por serem cúbicas, de menor tamanho se comparados aos outros tipos celulares, possuem núcleo central e esférico com elevada razão núcleo-citoplasma, sendo observada atividade mitótica. As células reabsortivas possuem formato colunar, núcleos em região central ou basal, vacúolos dispersos no citoplasma e são as mais abundantes nos túbulos hepatopancreáticos. As células fibrilares possuem formato colunar, núcleo grande e arredondado e citoplasma com intensa basofilia. As células vesiculares possuem grande vacúolo central e núcleo basal (Figura 5).

As características morfológicas das células epiteliais dos túbulos hepatopancreático destes animais foram idênticos aos descritos por Marcolin et al. (2008), Ribeiro (2006) e Papa (2007). Não foram observadas alterações provenientes de exposição a metais pesados ou qualquer outro poluente nas células hepatopancreáticas dos animais analisados, sendo sua morfologia típica de área sem exposição.

Figura 5: Corte longitudinal do túbulo hepatopancreático de *Ucides cordatus*. Aumento 200×, HE. Lúmen (L), células reabsortivas (R), células foliculares (F), células vesiculares (B).

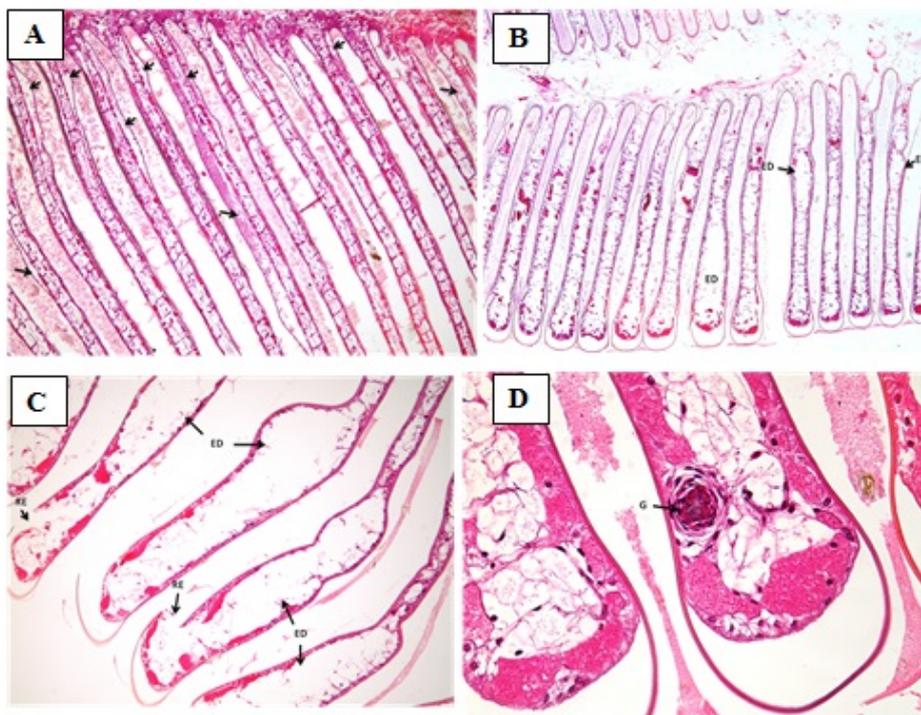


A histologia das brânquias de crustáceos é uma ferramenta eficiente na avaliação da qualidade água, sendo considerado um importante biomarcador. As vastas áreas de superfície que ocupam e a sua localização relativa ao meio externo fazem das brânquias um órgão chave para a ação dos poluentes existentes no meio aquático (LEONARDO et al., 2001; MACHADO, 1999). Este estudo demonstrou que as brânquias, sem alterações morfológicas, possuem a mesma conformação estrutural e celular como descrito por Ribeiro (2008). O autor também descreve que epitélio respiratório está apoiado sobre uma lâmina basal e esta, sobre um grupo de células chamadas células pilares. O arranjo destas células permite a formação de canais por onde circula a hemolinfa, facilitando os processos de trocas gasosas.

É um órgão envolvido nas trocas gasosas, no balanço ácido-base e no transporte e excreção de compostos azotados. A sua multifuncionalidade, a vasta área de superfície que ocupa e a sua localização relativamente ao meio externo faz das brânquias um órgão chave para a ação dos poluentes existentes no meio aquático (BARRETO, 2006; GARCIA-SANTOS et al., 2007). Dentre esses poluentes destacam-se os metais pesados, pesticidas orgânicos, detergentes, ácidos, despejo industrial e amônia por provocarem alterações nos epitélios das brânquias e no fluxo normal de íons (MACHADO, 1999).

Este estudo demonstrou alterações histológicas nas brânquias provenientes da contaminação por metais pesados como o descolamento do epitélio (Figura 6A), ruptura das células epiteliais e edemas (Figuras 6B, 6C). Tais alterações resultam em um significativo aumento da distância de difusão respiratória, afetando as trocas gasosas. Também foram evidenciados granulomas nas lamelas (Figura 6D).

Figura 6: Seção transversal de brânquia de *Ucides cordatus*. **(A)** Aumento 100×; HE. Descolamento do epitélio (Setas); **(B)** Aumento 100×; HE. Edema intersticial (ED); **(C)** Aumento 200×; HE. Edema (ED), ruptura epitelial (RE); **(D)** Aumento 400×; HE. Granuloma (G).



Os granulomas não estão associados à contaminação por metais tóxicos, mas a parasitos, infecção por bactérias e fungos que geram um processo inflamatório (LUQUE, 2004; RIBEIRO, 2008).

A exposição ao cádmio resulta em alterações histológicas nas brânquias como proliferação do epitélio filamental, vasodilatação do seio venoso central e da região basal do eixo vascular das lamelas, necrose e destacamento do epitélio lamelar associado a edema intersticial (GARCIA-SANTOS et al., 2007). Foi identificado nos exemplares capturados o destacamento do epitélio lamelar associado a edema intersticial e a ruptura de células pilares. Com a perda da sustentação há o aparecimento dos aneurismas lamelares.

Outras alterações decorrentes da exposição a outros poluentes, dentre eles os metais pesados, são: fusão lamelar; hipertrofia das células epiteliais; hiperplasia ou fusão das lamelas por crescimento celular, reduzindo a área de superfície respiratória; hipersecreção de muco (SANTOS FILHO et al., 2014; SILVA, 2004; WANG et al., 2013). A proliferação do epitélio filamentar e a fusão de lamelas são alterações histológicas que também funcionam como mecanismos de defesa, porque diminuem a área de superfície vulnerável da brânquia e/ou aumentam a barreira de difusão ao poluente (FREITAS et al., 2013). As toxinas podem penetrar nas brânquias e competir com os sais absorvidos para o controle de osmorregulação, obstruindo as vias de acesso da célula e evitando tanto as trocas gasosas como a osmorregulação. Substâncias como metais pesados e ácidos graxos podem atravessar o epitélio respiratório, chegar diretamente à corrente sanguínea e afetar órgãos internos (FREITAS et al., 2013).

Os resultados referentes às amostras de aves denotaram alterações histológicas em tecido hepático. Muitas lesões hepáticas não são específicas quanto à etiologia, mas fornecem informações importantes sobre a ocorrência de doenças sistêmicas. Observa-se a presença de infiltrados inflamatórios mononucleares (Figuras 7A, 7B) e áreas com esteatose hepática (Figuras 8A, 8B). Os aspectos verificados nestes animais podem estar relacionados com as alterações pertencentes a quadros de colissepticemia. Muitos cortes apresentaram-se com estrutura microscópica normal, porém, estudos de Silva et al. (2012) concluíram que a ausência de alteração no fígado não é garantia de que este não possui alteração microscópica ou isenção de patógenos.

Na Figura 7 os hepatócitos também apresentam esteatose, ou seja, acúmulo de gorduras neutras no citoplasma, na forma de grandes vacúolos esféricos e opticamente vazios. A esteatose se caracteriza pelos vacúolos citoplasmáticos, que deslocam o núcleo para a periferia. Os vacúolos têm limites muito nítidos porque a gordura neutra (triglicérides) não se mistura com o citoplasma aquoso. E pode ser sugestiva de lesão hepática tóxica (SODER; BALDISSEROTTO, 2009).

Nas amostras de músculo pôde ser observado também infiltrado de células inflamatórias entre as fibras musculares e depósito de substância de reserva (Figuras 9A, 9B), inferindo, assim, que essas alterações possam ter como causa a exposição aos vestígios de metais pesados presentes na área de estudos.

Figura 7: Secção de fígado de frango. Aumento 100× (A) e 400× (B); HE. Células inflamatórias mononucleares (seta).

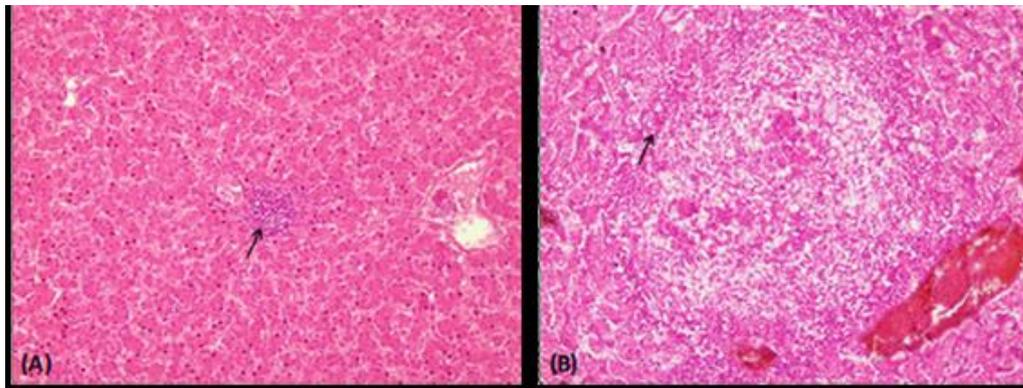


Figura 8: Secção de fígado de frango. Aumento 100× (A) e 400× (B); HE. Esteatose (seta).

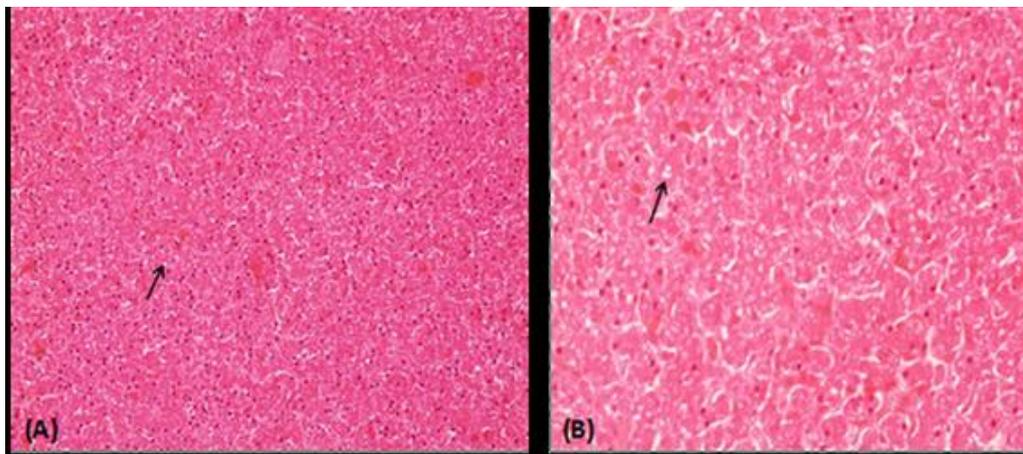
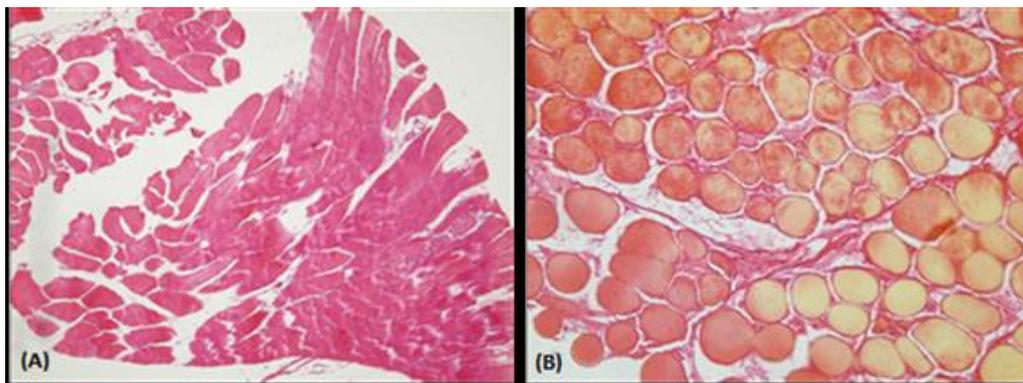


Figura 9: Secção transversal de tecido muscular de frango. Aumento 100×; HE. (A) Células inflamatórias mononucleares (seta). (B) Substância de reserva (seta).



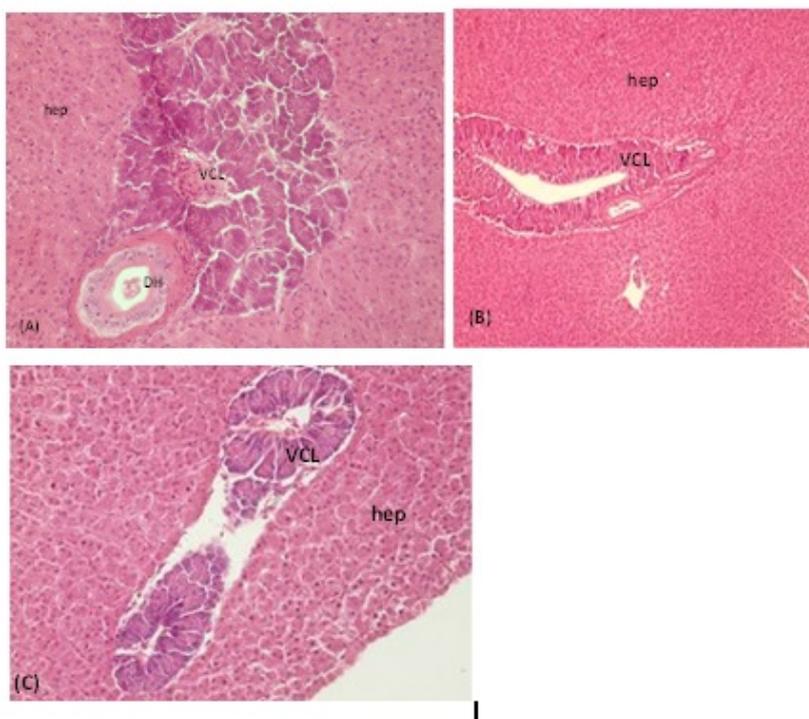
Alguns estudos mostraram o acúmulo significativo de chumbo em diferentes órgãos de peixes. Ribeiro (2010) demonstrou que este acúmulo ocorre de forma distinta nos diferentes tecidos e células. Em experimentos *in vivo* este autor verificou que o tecido muscular apre-

sentou menor concentração de chumbo, o fígado um acúmulo gradual ao longo do tempo, enquanto nas brânquias a concentração de chumbo aumentou até a 24^a h. De acordo com Arellano e colaboradores (1999, apud CASTRO et al., 2014) as brânquias constituem um órgão "chave" para o estudo das ações dos poluentes no meio aquático porque estão continuamente em contato com a água e possuem uma superfície de contato relativamente grande.

O tecido hepático de peixes analisado microscopicamente neste estudo apresentou morfologia sem muitas alterações, com células hepáticas formando cordões de hepatócitos, o espaço porta contendo ramos da veia porta, da artéria hepática e de ductos biliares e células de Kupfer próximas à parede dos sinusoides. Denota-se, porém, o espessamento do tecido que reveste as veias centro lobulares e a multiplicação celular ao redor do espaço porta (Figuras 10A, 10B, 10C).

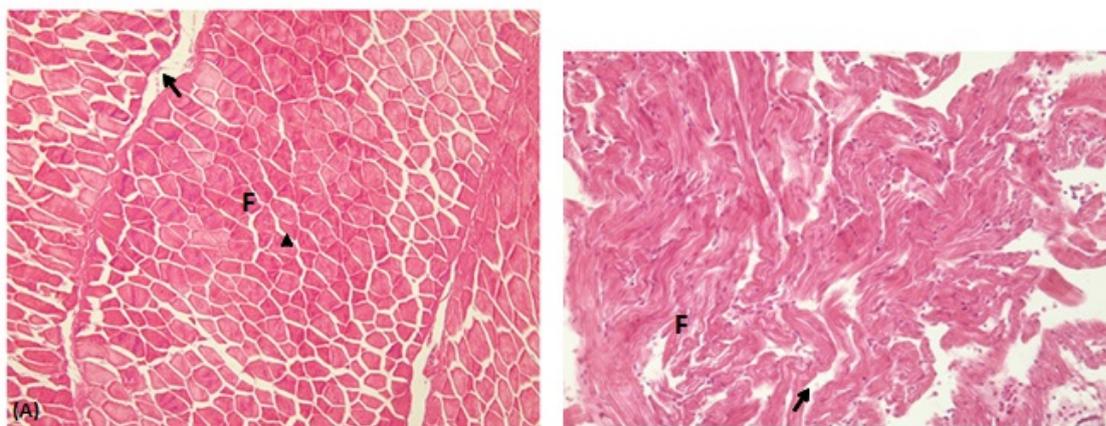
Van Dyk et al. (2007) evidenciam algumas alterações histológicas, como hialinização, congestão dos vasos sanguíneos, aumento da vacuolização associada ao acúmulo de lipídeos e inchaço celular, em fígados de peixes expostos a elevadas concentrações de cádmio e zinco.

Figura 10: Tecido hepático de amostras de peixes. Aumento 400× (A e C), 200× (B); HE. Veia centrolobular espessada (VCL), hepatócitos (hep) e ducto hepático (DH).



Com relação ao tecido muscular de peixes, não foram observadas alterações microscópicas tissulares (Figuras 11A e 11B). Este resultado foi semelhante ao de Lima (2013) que demonstrou que o chumbo se apresentou em baixa concentração no músculo dos peixes avaliados em sua pesquisa.

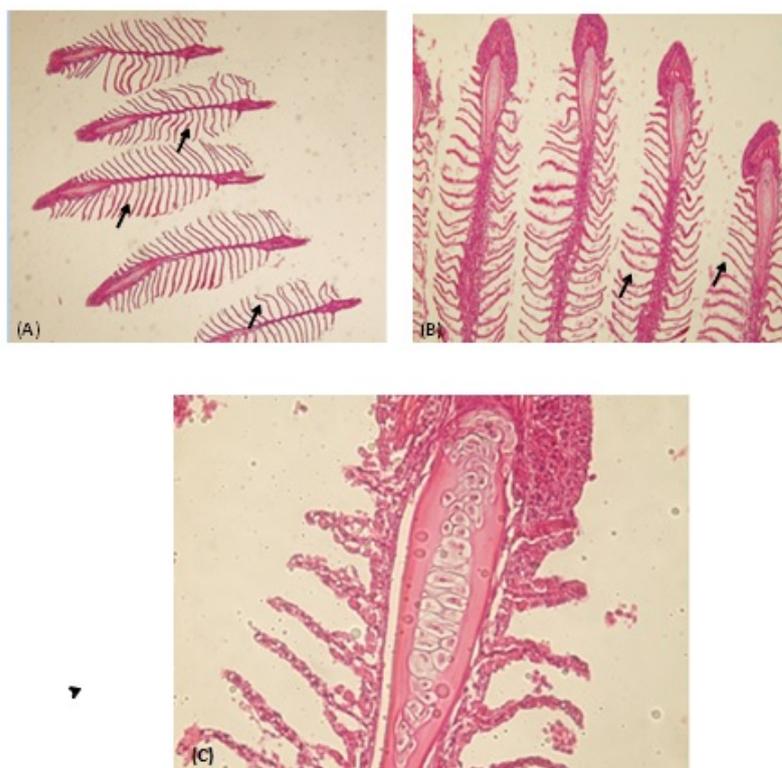
Figura 11: Tecido muscular de amostras de peixes. Aumento 100× (A e B); HE. Corte transversal (A) e corte longitudinal (B). Fibra muscular (F), perímísio (ponta de seta) e epimísio (seta).



As brânquias dos peixes analisados apresentaram nas lamelas e nos filamentos lesões estruturais. Verificou-se a proliferação de epitélio filamentososo, presença de edema e deslocamento epitelial (Figuras 12A, 12B e 12C). Estudos realizados por Santos et al. (2007) mostraram que os peixes expostos ao cádmio também apresentaram sinais de lesões epiteliais, assim como, edema intersticial, vasodilatação das lamelas, destacamento do epitélio lamelar e proliferação do epitélio filamentar. As alterações observadas também incluíram fusão nas lamelas como resultado de hiperplasia e hipertrofia epitelial, ruptura do sistema de células pilar, aneurismas e necroses.

Castro (2014) constatou também algumas lesões branquiais como fusão e aneurisma lamelar, deslocamento e necrose do epitélio, proliferações de células do muco e dilatação capilar. Enquanto Ribeiro (2010) demonstrou que os peixes *P. lineatus* expostos ao chumbo apresentaram maior número de células de cloreto nas lamelas branquiais. Desta forma, verifica-se que as brânquias se mostraram como um dos melhores órgãos biomarcadores para esse tipo de análise no animal bioindicador peixe.

Figura 12: Secção de brânquias de peixes *Bagre marinus*. Aumento 40× (A), 100× (B), 200× (C); HE. Espaço lamelar (seta), edema (E), deslocamento do epitélio (ponta de seta).



As análises microscópicas das amostras dos alimentos vegetais coentro, aipim e quiabo não demonstraram alterações estruturais.

De um modo geral, é esperado que vegetais cultivados em solo contaminado por metais pesados apresentem distorções nos tilacoides dos cloroplastos e na quantidade e tamanho dos grãos de amido (MORAES, 2011). A ausência desses achados nas amostras de vegetais localmente cultivados, permite suscitar a possibilidade de redução da contaminação por metais pesados do solo e das águas que irrigam estes vegetais a níveis que não oferece risco alimentar aos consumidores.

Desta forma, este estudo pode indicar que as alterações histológicas observadas em órgãos de caranguejos, aves e peixes demonstram que estes animais podem estar sofrendo os efeitos da contaminação por metais pesados presentes na área de estudo, mesmo após décadas da desativação da indústria de chumbo instalada no município. Por se tratar de uma importante fonte de renda para a população e uma das principais fontes de proteína animal, o

consumo destes alimentos pode ser considerado um forte fator para exposição e contaminação dos seres humanos por metais pesados, podendo gerar impactos sociais, econômicos e à saúde da população local.

Portanto, verifica-se a relevância das análises histopatológicas como importante biomarcadoras e os espécimes analisados como bioindicadores na avaliação da contaminação por metais pesados do ecossistema de Santo Amaro e entorno, assim como, na estimativa de risco à saúde humana decorrentes do consumo de alimentos potencialmente contaminados.

Desta forma, trabalhos futuros ainda devem ser realizados para esclarecimento dos níveis de metais pesados presentes nas amostras de alimentos consumidos pela população local e verificação quanto às normas previstas para o consumo alimentar, como preconizado na legislação brasileira (ANVISA). Considerando ainda os hábitos alimentares da população de Santo Amaro (Bahia) e o grande impacto ambiental que acometeu essa cidade, deve-se ressaltar ainda mais a importância da continuidade de estudos com análises de metais pesados, através de amostras que são utilizadas como fonte de alimento, tanto de origem animal quanto vegetal.

Referências

BARRETO, T.R. **Alterações morfofuncionais e metabólicas no teleósteo de água doce matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869) exposto ao organofosforado metil paration (Folisuper 600 BR)**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2006.

CARVALHO, F.M. SILVANY NETO, A.M.; TAVARES, T.M.; COSTA, A.C.A.; CHAVES, C. d'EI R; NASCIMENTO, L.D.; REIS, M.A. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, Washington , v.13, n.1, 2003.

CASTILHO, G.G. **Aspectos reprodutivos do Caranguejo-Uçá, *Ucides cordatus* (L.) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), na Baía de Antonina, Paraná, Brasil**. 2006. . Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação , Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

4. CASTRO, J.S.; SILVA, J.S.; FREITAS, L.C.; CARVALHO-NETA, R.N.F. Biomarcadores

histopatológicos na espécie *Hoplias malabaricus* (Pisces, Osteichthyes, Erythrinidae) em uma Unidade de Conservação de São Luís (MA) **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.66, n.6, 2014.

FAUSTO, L. **Exposição ocupacional ao chumbo**. 2009. . Monografia (Especialização) - Curso de Enfermagem do Trabalho. Faculdade Iguazu, Pato Branco, 2009.

FREITAS, R.A.; CORREIA, K.M.; OLIVEIRA, M.G; TAVARES M.G.T; OLIVEIRA, G.M.C; CINTRA, A; RICIOLE, H; NUNES, I; FAGUNDES, J; ANTONIOSI FILHO, N.R. Avaliação das brânquias de *Danio Rerio* expostos a diferentes concentrações de gasolina e diesel. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.23, p.59-66, 2013.

GARCIA-SANTOS, S.S.; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J.; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, 2007.

GOBBI, J.M.. **Estudo sobre a presença de metais em diferentes tecidos de peixes surubins (*Pseudoplatystoma coruscans*) capturados no rio São Francisco (MG)**. 2007. . Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 2007.

HACON, S.S. de. Avaliação e gestão do risco ecotoxicológico à saúde humana. In: **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. AZEVEDO F. A.; CHASIN, A. A. M. (Coords.). São Paulo: Intertox, p.245–322, 2003.

HATJE, V.; DE ANDRADE, J.B. (Org.) **Baía de Todos os Santos – Aspectos Oceanográficos**, EDUFBA, 2009.

HATTORI, G.Y. **Densidade populacional do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) na região de Iguape (SP)**. 2006. 159 f. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488 p.

LEMONS, L.S. **Avaliação das concentrações de Cd, Cu, Hg, Mn, Se e Zn em pequenos cetáceos da costa norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2012. . Dissertação (Mestrado), Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2012.

LEONARDO, J.M.L.O; LAURO VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P; MOREIRA, H.L.M; NATALI, M.R.N; VOLSKI, T; CAVICHILOLO, F. Histologia das brânquias de larvas da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), de origem tailandesa, submetidas a diferentes níveis de vitamina C. **Acta Scientiarum**, Maringá,, v.23, n.4, p.863-870, 2001.

LIMA, F.B; BRACCINI, M.C; DÍAZ, A.O; PINHEIRO JUNIOR, C; GUIMARÃES, A.C.G. Morfologia das brânquias de *Steindachnerina brevipinna* (Eigenmann & Eigenmann, 1889) (Characiformes, Curimatidae). **Revista Biotemas**, v.22, n.1, p.87-92, 2009.

LIMA, G.V. **Bioecologia do caranguejo *Armases rubripes* (RATHBUN, 1897) (Crustacea, Brachyura, Sesarmidae) na baía de Sepetiba, RJ.** 2007. . Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

LUQUE, J.L. Biologia, epidemiologia e controle de parasitas de peixes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, s.1, p.161-164, 2004.

MACHADO, M.R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.1, n.1, p.63-76, 1999.

MARCOLIN, C.R.; CARQUEIJA, C.R.G; TOZETTO, S.O; OLIVEIRA, D.C; CÔRREA, A.M.A. Alterações morfológicas do hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) em relação aos estádios de intermuda e pré-muda inicial. **Revista Brasileira de Zoociências**, v.10, n.2, p.97-104, 2008.

MENDONÇA, J.T.; LUCENA, A.C.P. Avaliação das capturas de Caranguejo-Uçá *Ucides cordatus* no município de Iguape, litoral sul de São Paulo, Brasil. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v.35, n.2, p.169-179, 2009.

MORAES, C.L. **Biochemical, physiological, and ultrastructural changes in seeds and tomato plants exposed to lead.** 2011. 72 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

OOST, R. van D.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, p.57-149, 2003.

PAPA, L.P. **Caracterização estrutural do sistema reprodutor masculino e do hepatopân-**

creas dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum*. 2007. 118 f. Tese (Doutorado) - Curso de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

PORTELLA, R.B.; ALCOFORADO; I. G.; LEMOS, S. Passivo ambiental e desengenharia: o exemplo de Santo Amaro da Purificação-BA. In: **Anais do CONCISTEC'10/ 1º Congresso Científico da Semana Tecnológica – IFSP**, 2010.

RABELO, T.S. **Estudo das contaminações remanescentes de chumbo e cádmio no município de Santo Amaro - BA**. 2010. 133 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental Urbana, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

RAMOS, M.A.V. **Avaliação preliminar dos teores de metais traço em peixes e crustáceos provenientes da porção norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Solos e Qualidade de Ecossistemas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2012.

REPULA, C.M.M; CAMPOS, B. K; GANZAROLLI, E. M; LOPES, M. C; QUINÁIA, S. P. Biomonitoramento de Cr e Pb em peixes de água doce. **Química. Nova**, São Paulo, v.35, n.5, 2012.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado) - Unesp, Jaboticabal, 2006.

RIBEIRO, R.O. **Doença do caranguejo letárgico: desvendando questões etiológicas, epidemiológicas e de saúde pública**. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

RIBEIRO, A.M. **Acúmulo Tecidual de Chumbo e seus efeitos sobre os processos osteomodulatórios de *prochilodus Lineatus***. Dissertação do curso de pós-graduação em Ciências biológicas da Universidade Estadual de Londrina, PR, 2010.

RODRIGUES, F.C.L. **Morfologia do sistema reprodutor masculino da lagosta espinhosa *Panulirus argus* (LATREILLE, 1804) (Crustacea: Decapoda: Palinuridae) do litoral do estado do Ceará**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

SANTOS, S.G; MONTEIRO, S.M.; CARROLA, J; FONTAINHAS-FERNANDES, A. Alterações histológicas em brânquias de tilápia nilótica *Oreochromis niloticus* causadas pelo cádmio. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.59, n.2, p.376-381, 2007.

SANTOS FILHO, F.M; REZENDE, K.F.O; EMERENCIANO, A.K; MOREIRA, L.M; VILA, V.B; BORGES, R.M; PRESSINOTTI, L.N. *Avaliação* de biomarcadores histológicos em peixes coletados a montante e a jusante da mancha urbana. **ASA**, São Paulo, v.2, n.1, p.9-22, 2014.

SANTOS, D.M.S. **Qualidade da água e histopatologia de órgãos de peixes provenientes de criatórios do município de Itapecuru Mirim, Maranhão**. 2010. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “ Júlio de Mesquita Filho” , Jaboticabal, 2010.

SANTOS, L.F.P. **Avaliação dos Teores de Cádmio e Chumbo em Pescado Proveniente de São Francisco do Conde, Bahia**. 2011. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

SILVA, A.G. **Alterações histopatológicas de peixes como biomarcadores da contaminação aquática**. 2004. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

SILVA, I.M.M.; BALIZA, M.; SANTOS, M.P.; REBOUÇAS, L.T.; ROCHA, E.V.S.; SANTOS, V.A.; SILVA, R.M.; EVÊNCIO-NETO, J. Presença de *Escherichia coli* em fígados de frangos provenientes de matadouros avícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.3, p.694-700, 2012.

SOARES, A.P. **Caracterização do ciclo de vitelogênese da lagosta pintada (*Panulirus echinatus* SMITH, 1869), do litoral sul de Pernambuco**. 2010. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SODER, R.B.; BALDISSEROTTO, M. Esteatose hepática na obesidade infantil: investigação por imagem. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v.19, n.4, p.202-208, 2009.

SOUZA, J.P. **Toxicidade do cádmio em uma cadeia alimentar constituída por microalga (*Scenedesmus quadricauda*), um cladóceros (*Simocephalus serralatus*) e um peixe (*Hypophessobrycon edques*)**. 2012. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ecologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

VAN DYK J.C; PIETERSE G.M; VAN VUREN J.H.J. Alterações histológicas no fígado de *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) após exposição de Cádmio e zinco; **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.66, p.432-440, 2007.

WANG, J; ZHANG, P; SHEN, Q; WANG, Q; LIU, D; LI, J; WANG, L. The Effects of Cadmium Exposure on the Oxidative State and Cell Death in the Gill of Freshwater Crab *Sinopotamon henanense*. **Plos One**, v.8, n.5, p.1-9, 2013.

Caracterização de cepas de *Escherichia coli* isoladas de frangos de corte no Recôncavo da Bahia

Isabella de Matos Mendes da Silva

Fábio de Oliveira Santos

Ricardo Mendes da Silva

Maykson Costa de Jesus

Marcilio Delan Baliza Fernandes

Vaneza Leal Cardoso

Sibele do Oliveira Tozetto Klein

Taiana de Araújo Conceição

A importância da indústria avícola, como fornecedora de proteína animal de baixo custo, levou a criação de frangos de corte a ter forte impacto a nível internacional. Os avanços na área de nutrição, genética, manejo e sanidade tornaram a avicultura a atividade pecuária de maior crescimento das últimas décadas (JACOBSEN; FLÔRES, 2008). A produção global da carne de aves atingiu 111 milhões de toneladas em 2014, sendo aproximadamente 100 milhões de toneladas de carne de frango, 6,5 milhões de carne de peru e 4,5 milhões de toneladas de carne de pato. Ao contrário da carne bovina e suína, o crescimento da produção está previsto em ambos os grupos de países, em desenvolvimento e desenvolvidos. Preços competitivos das carnes de aves em relação a outras carnes é um elemento importante em sua dinâmica (FAO, 2014). Existem algumas razões que determinam o aumento do consumo da carne de aves, além do preço. Trata-se de um alimento saudável e altamente nutritivo, uma vez que uma porção de de filé de peito sem pele de frango de corte, de até oito semanas de vida, contém apenas 108 kcal e de proteína, e com essa quantidade o consumidor estará satisfazendo 46% de suas necessidades diárias de proteínas (UNIFESP,

2015).

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário da produção avícola mundial. Segundo dados do Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (2016), o país é o segundo maior produtor de carne de frango do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Com uma produção em franca ascensão, em 2015 chegou a 13.140 milhões de toneladas, crescimento de 3,54% em relação ao ano anterior, quando foram produzidas 12.690 milhões de toneladas. A avicultura brasileira iniciou sua produção intensiva na década de 60 e atualmente o país é o primeiro exportador mundial de carne de frango, sendo o Paraná o maior produtor e exportador do Brasil, produzindo 32,46% e exportando 35,70% dos números totais do Brasil em 2015. O consumo per capita passou de 2,3kg, em 1971, para 43,25kg em 2015 (ABPA, 2016). Segundo dados do Relatório de Projeções do Agronegócio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no período de 2014/2015 a 2024/2025 é projetado um crescimento anual de 3,0% da produção de carne de frango, sendo maior que a produção bovina e suína. É projetado ainda um grande aumento no consumo de carne de frango, alcançando 54,7 quilos por habitante. Quanto às exportações, as projeções indicam uma taxa de crescimento anual de 3,6% , garantindo ao Brasil a permanência na primeira colocação no *ranking* de países exportadores de carne de frango (MAPA, 2015).

A produção de frangos está distribuída em todo território nacional, impactando a economia de grande parte dos estados (AVILA et al., 2007). A região Sul lidera o *ranking* nacional, sendo responsável por 63% da produção brasileira. Na região Nordeste, a Bahia é responsável por 0,74% da produção, perdendo apenas para o estado de Pernambuco, que contribui com 0,81% (ABPA, 2016). A avicultura brasileira não só adquiriu a capacidade de produzir o quilograma de carne de frango mais barato do mundo, como também a capacidade de produzir e vender produtos avícolas de uma excepcional qualidade física, com qualidade sanitária, que são capazes de atender simultaneamente, às muitas especificações de seus clientes em mais de 150 países aos quais exporta (NUNES, 2006).

Produzir alimentos seguros é obrigação, não constituindo diferencial de mercado, pois, segundo França (2007), atender aspectos relacionados à ausência de patógenos e resíduos associados à carne de frango é condição determinante da participação no comércio internacional.

O serviço oficial permanente de inspeção sanitária dos matadouros avícolas, representado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e suas representações estaduais e municipais, constituem órgãos responsáveis pela garantia de qualidade da carne e vísceras para o consumo. Os encarregados da inspeção, médicos veterinários, realizam a inspeção *ante mortem*, que compreende o exame visual dos lotes de aves destinadas ao abate, bem como o conjunto de medidas adotadas para a habilitação das mesmas ao processamento industrial, e os exames *post mortem* que são efetuados na linha de abate dos matadouros (BRASIL, 1952; BRASIL, 1998).

Os matadouros avícolas existem três linhas de inspeção: A, B e C. A Linha A, é onde se realiza o exame interno das aves, através da visualização da cavidade celomática e dos órgãos a elas pertencentes, como sacos aéreos, pulmões rins e órgãos sexuais. Na Linha B, é realizado o exame das vísceras, como coração, fígado, moela, baço, intestinos, ovário e oviduto nas poedeiras. A terceira linha de inspeção, Linha C, é onde se realiza a observação das superfícies externas como pele e articulações (BRASIL, 1998).

O fígado das aves, assim como o de outras espécies, é o órgão que pode modificar seu aspecto em decorrência de ação de fatores químicos e/ou microbiológicos diretamente em seu parênquima, ou em outros órgãos que demandem as suas atuações como regulador ou detoxificador (MACLACHLAN; CULLEN, 1998).

A inspeção do fígado ocorre durante os trabalhos de evisceração (Linha B) e os critérios de condenação de vísceras de frango, especialmente do fígado, consideram o aspecto visual (cor, forma e tamanho), consistência e odor do órgão (BRASIL, 1998a). Apesar de muitas lesões do fígado não serem específicas, bem como as causas das mesmas, estas proporcionam uma importante informação sobre os diversos processos patológicos e, em muitas espécies de aves, é o primeiro e o maior órgão interno a ser visto na necropsia quando a cavidade celomática é aberta (RANDALL; REECE, 1996).

Por outro lado Santana et al. (2008), ao observarem as causas de condenação de carcaças de aves em matadouros localizados no Estado de Goiás, constataram que o principal motivo das condenações das carcaças de frango foi a presença de celulite associada à contaminação por *Escherichia coli* (*E. coli*). A celulite aviária é um processo infeccioso ocasionado por bactérias que invadem o tecido, por meio das lesões superficiais na pele causadas pelo

contato com outras aves ou devido à má qualidade da cama. Salienta-se que estas lesões são comumente causadas pelo subgrupo da *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC), especialmente APEC, *Escherichia coli* Patogênica para Aves (HUJA et al., 2015).

Mesmo com crescimento normal e aparência saudável as aves exibem placas caseosas sob a pele, vistas somente na etapa de processamento, após a depenagem dificultando sua identificação antes do abate. Apesar de não haver sinais clínicos associados à celulite em aves vivas, a presença da patologia resulta na condenação de parte ou a totalidade da carcaça durante a inspeção *post mortem*, dependendo de sua localização e extensão. (BRASIL, 1998a; GOMIS et al., 2000). Além disto, Vieira et al. (2006) afirmaram que a celulite representa uma porta de entrada de microrganismos, favorecendo a contaminação de vários órgãos como fígado, coração, sacos aéreos e ossos.

Desta forma Santana et al. (2008) citam que para a qualidade do produto final deve ser implantado o controle sanitário e operacional na indústria, assim como deve existir um controle da densidade populacional na granja, recomendando que o número máximo de aves seja 15 por m^2 . Estas ações visam o controle e a tentativa de erradicação de enfermidades infecciosas que ameaçam a integridade do plantel, bem como a sanidade do produto final. Dentre estas, a colibacilose é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna, devido aos grandes prejuízos econômicos causados no mundo inteiro por quadros como: pneumonia, peritonite, coliseptemia, celulite, pleuropneumonia, peri-hepatite, pericardite, salpingite, panofalmitis, osteomielite/sinovite, onfalite, coligranuloma, síndrome de cabeça inchada e doença crônica respiratória (BARNES; NOLAN; VAILLANCOUT, 2008).

De acordo com Andreatti Filho (2006), a colibacilose é o termo comumente empregado para designar as infecções causadas por *E. coli* nos animais. Além desses agentes infecciosos, a infecção por *E. coli* se torna clinicamente aparente quando fatores ambientais adversos estão presentes, como a presença de gases irritantes, principalmente a amônia, umidade da cama, poeira, variações climáticas e alta densidade de ocupação (BARNES; NOLAN, VAILLANCOUT, 2008).

O gênero *Escherichia* contém cerca de mil tipos antigênicos. Constitui-se na espécie bacteriana mais isolada e envolvida em casos de sepse por gram-negativos e choque induzido por endotoxinas. É um mesófilo capaz de se multiplicar entre 7 e 42°C, sendo 37°C a temperatura

ótima, embora existam estirpes que se multiplicam a 4-5 °C, existindo relatos de sobrevivência por mais de nove meses em temperatura de congelamento (−20°). Temperaturas entre 60°C e 70°C por 30 minutos são capazes de inativar a maioria das cepas. São consideradas neutrófilas, multiplicando-se numa faixa de pH entre 9,0 e o pH próximo do neutro propicia condições ótimas para sua multiplicação (JAY, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2006).

Escherichia coli se constitui em um patógeno entérico e extraentérico causador de infecções invasivas no homem e animais, além de ser um dos integrantes da microbiota intestinal de mamíferos e aves (RON, 2006), a exemplo do patotipo APEC (*E. coli* Patogênica para Aves) que causa infecções extraintestinais em aves, como infecção respiratória, pericardite e septicemia. Em humanos, este patotipo está associado a infecções intra-abdominais (KAPER, 2005). Frangos também são susceptíveis à colonização por *E. coli* O157:H7, pertencente ao patotipo EHEC, responsável pela síndrome da colite urêmico-hemolítica hemorrágica em humanos (BARNES, VAILLANCOURT; GROSS, 2008).

Com base nas características de patogenicidade, no efeito em certas culturas de células e nos grupos sorológicos são reconhecidos nove grupos de *E. coli* virulentos (patotipos), conforme descritos a seguir: *E. coli* enteroagregativa (EaggEC); *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); *E. coli* enteropatogênica (EPEC); *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); *E. coli* que adere difusamente (DAEC); *E. coli* uropatogênica (UPEC); *E. coli* de meningite neonatal (NMEC) e *E. coli* patogênica para aves (APEC) (KAPER, 2005). Além destes, Ferreira e Knobl (2000) citam o patotipo *E. coli* enteropatogênica para coelhos (REDEC) e Moulin-Schouleur et al. (2007) citam a *E. coli* causadora de sepse (SePEC).

Dentre os principais fatores de virulência associados à *E. coli* aviária, destacam-se a expressão de adesinas, a produção de sideróforos e a capacidade de resistir à ação microbicida do soro. Os fatores que apresentam maior correlação com a virulência são a resistência dos componentes do sistema complemento e a capacidade de sequestrar o íon ferro na corrente sanguínea e nos tecidos do hospedeiro. Estes dois fatores contribuem para a sobrevivência e a evolução da doença após a invasão da bactéria (FERREIRA; KNOBL, 2000).

De acordo com Andreatti Filho (2006) o diagnóstico de *E. coli* deve ser baseado no isolamento e identificação da bactéria, estando também na dependência da diferenciação entre amostras patogênicas e apatogênicas de *E. coli*. Um aspecto crítico dos métodos microbi-

ológicos é o fato da técnica utilizada para quantificação de microrganismos ser demorado e intensivo em mão-de-obra para a obtenção do resultado, entretanto, o método de contagem de placas é o mais comum utilizado para quantificar bactérias viáveis e cultiváveis.

O método Petrifilm (3M Company), método oficial da Association of Official Analytical Chemists – AOAC, realiza uma modificação da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC's) em placas. É composto por dois filmes estéreis Reidratáveis, impregnados pelo meio de cultura que contém os nutrientes do ágar vermelho violeta bile (VRBA), um agente gelificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glucuronidase (5bromo-4cloro-3indolil- β -D-glicuronídeo) e um indicador tetrazólico (FORSYTHE, 2013). Neste método, para identificação de *E. coli*, ocorre a formação de colônias azuis ou vermelha-azuladas associadas a bolhas de gás. A glicuronidase produzida pela *E. coli* reage com o corante indicador na placa, formando um precipitado azul em torno da colônia. Não sendo consideradas e contadas colônias que cresceram na borda de espuma da placa, pois estas não estão sob a influência seletiva do meio (FORSYTHE, 2013).

Avanços recentes no desenvolvimento de novas tecnologias voltadas para o diagnóstico e quantificação celular começaram a produzir métodos mais rápidos e eficientes, tais como fluorescência, bioluminescência, citometria de fluxo, autofluorescência, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e espectroscopia infravermelha. No entanto, estas técnicas apesar de serem eficientes para o diagnóstico são incapazes, individualmente, de quantificar células (FRITZ et al., 2015). O desenvolvimento e utilização de novas ferramentas para a caracterização molecular e biológica de espécies patogênicas, como a APEC, são necessárias para o entendimento da patogênese visando prevenir perdas econômicas causadas por essas linhagens. Esses novos métodos poderão substituir os métodos tradicionais, oferecendo resultados mais rápidos e sensíveis (PRIEGO et al., 2000).

A Reação em Cadeia da Polimerase, tecnologia baseada na amplificação de sequências de DNA pela enzima polimerase, representa um grande avanço no diagnóstico molecular e caracterização genética de microrganismos patogênicos, como a *Escherichia coli*, sendo um dos mais importantes avanços na área de métodos rápidos em microbiologia (GARCIA et al., 2008; ROCHA et al., 2008). A técnica foi desenvolvida por Saiki et al. em 1985 e aperfeiçoada por Mullis et al. em 1987, que introduziram o conceito de *primer* (iniciador) e o uso de uma

enzima termoestável, a *Taq* polimerase (VIEIRA, 2017).

Trata-se de um método *in vitro* de síntese de ácidos nucleicos através do qual um segmento específico de DNA é replicado. Envolve dois iniciadores oligonucleotídicos que são sequências de aproximadamente 25 bases de DNA que flanqueiam o fragmento de DNA a ser amplificado com a utilização de ciclos repetidos de desnaturação do DNA por calor, anelamento dos iniciadores às suas sequências complementares no DNA de interesse e extensão dos iniciadores anelados com a *Taq* polimerase utilizando um grande número de nucleotídeos de DNA livres. (RANDALL, 1990; JORDE et al., 2004) Desta forma pode-se conseguir, em poucas horas, grandes quantidades de um gene ou parte dele a partir de uma quantidade mínima de DNA, inclusive de uma única célula, permitindo a identificação dos indivíduos através de fragmentos de seu DNA.

Os produtos da PCR são analisados por meio de eletroforese, a qual possui dois modelos básicos, podendo ser em géis de agarose ou em géis de poliacrilamida. As duas substâncias formam tramas de poros de tamanhos variáveis possibilitando a separação dos fragmentos, que terá sua eficiência dependente da concentração do polímero e da intensidade da voltagem e amperagem aplicada (VIEIRA, 2017). Durante a eletroforese, as moléculas de DNA se posicionam em paralelo ao campo elétrico; a dificuldade de transpor a matriz de agarose ou poliacrilamida em direção ao pólo positivo é inversamente proporcional ao tamanho de cada molécula. As menores migram mais rapidamente possibilitando a separação por tamanho ou peso molecular. Assim, quanto maior a molécula, maior o tempo de migração, possibilitando a separação dos fragmentos, qualquer que seja o tamanho (MAGALHÃES et al., 2005).

Um fator preocupante relacionado à cepa APEC consiste na atribuição de risco zoonótico, devido às semelhanças existentes entre as linhagens APEC e estirpes de *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC) de origem humana, causadoras de infecção do trato urinário, septicemia, peritonite e meningite (KAPER; 2005; ROJAS et al., 2014). As cepas de APEC podem servir de elo até as cepas extra-intestinais patogênicas de *E. coli* em humanos, por possuírem alguns fatores de virulência que as habilitam a causar patologias fora do trato intestinal. Além disto, APEC resistentes podem transferir genes de resistência antimicrobiana para cepas de humanos e para as comensais intestinais, via cadeia de produção alimentar, gerando implicações no tratamento de infecções do trato urinário e outras infecções extra-intestinais

(LIMA FILHO et al., 2013; KAZEMNIA; ARMADI; DILMAGHANI, 2014).

Diante da importância da cadeia produtiva de carne de frango como fonte geradora de receitas e de alimentos para todo o planeta, do impacto econômico e ambiental gerado pelo descarte ocorrido nos matadouros, dos riscos à saúde do consumidor oferecido pelo potencial zoonótico das cepas APEC e da inexistência de um estudo que trace a possível trajetória percorrida desde o surgimento até o destino final deste patógeno, desenvolvemos no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CCS/UFRB) atividades de extensão e pesquisa, as quais abordaremos neste capítulo, objetivando identificar os genes de virulência *iss* e *iutA* de cepas de *E. coli* isoladas de amostras de fígado e celulite de frangos oriundos de matadouros instalados no Recôncavo da Bahia. Por ser um estudo de caráter multidisciplinar, outros aspectos deste trabalho foram abordados em capítulos distintos deste livro.

Os genes mais frequentemente encontrados em isolados patogênicos e não detectados em isolados fecais de frangos sadios são *tsh*, *iutA*, *iss*, *cvaC* e *papC* (LA RAGIONE, WOODWARD, 2002; RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005a, 2005b). Rocha et al. (2008) citaram que os mecanismos de virulência das amostras de *E. coli* potencialmente patogênicas têm sido continuamente estudados, e acredita-se ser multifatorial. No caso de APEC os autores detectaram diversos genes, como o resistência séria -*iss* (73,8%), hemaglutinina sensível a temperatura - *tsh* (55,7%) e presença de aerobactina - *iutA* (45,9%).

O gene *iss*, que expressa uma proteína de parede celular bacteriana, tem sido localizado em vários plasmídios de grandes dimensões que são capazes de carrear simultaneamente fatores de virulência e de resistência a antimicrobianos (JOHNSON et al., 2002) e pesquisas o correlacionam fortemente com a habilidade de isolados de APEC em causar patologias em frangos (RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005a). Ressalta-se que o gene *iss* normalmente é amplificado em estirpes de APEC isoladas de celulite aviária. Sua presença nas lesões confere um possível risco de patogenicidade para os seres humanos, desde que o frango contaminado seja consumido (BARROS et al., 2013).

Diversos trabalhos relatam a presença do gene *iss* como um dos mais prevalentes em aves doentes (EWERS et al., 2004; RODRIGUEZ-SEIK et al., 2005a; DISSANAYAKE; OCTAVIA; LAN, 2014; MOHAMED; SHEHATA; RAFEEK, 2014). Segundo Johnson et al. (2002), além

de conferir resistência sérica ao sistema imune do hospedeiro, esse gene também é capaz de carrear fatores de resistência a substâncias antimicrobianas. Nolan et al. (2002) revelam que apesar da possibilidade da existência da doença em animais apresentando estirpes com a ausência desse gene, a sua presença em *E. coli* oriunda de aves com colibacilose pode ser considerada um marcador de patogenicidade para APEC.

Segundo Huja et al. (2015), nas células eucarióticas os íons ferro são carregados por proteínas especiais, como transferrinas e ferritinas, que os liberam quando é necessário e também mantém a concentração de íons de ferro livre (Fe^3) em 10-24M. Desta forma, uma bactéria septicêmica tem que competir contra estas proteínas, daí a necessidade de haver mecanismos específicos para a aquisição de ferro em seus hospedeiros e de fato cepas de *Escherichia coli* O78-9, assim como outras estirpes septicêmicas, codificam outros tipos de sistemas sideróforos. Estes sistemas incluem aerobactinas (LAFONT et al., 1987), yersiniabactina e IroN (SCHUBERT et al., 2002). Dho e Lafont (1984) observaram uma correlação positiva entre a baixa concentração de ferro e a capacidade de crescimento das estirpes de APEC e de sua letalidade para os frangos de um dia de idade. Silveira et al. (2002) demonstraram que a cepas patogênicas de APEC expressam sistemas de aquisição de ferro enquanto que cepas não patogênicas não apresentam este mecanismo genético.

Os receptores da aerobactina, proteínas de membrana externa sintetizadas pelo gene *iutA*, fazem parte do sistema de captação e transporte de ferro mais utilizado pela *E. coli*. Trata-se de um sideróforo que se liga ao íon ferro quando excretado ao meio, formando um complexo estável, através do qual o ferro é transportado ao citoplasma via componentes específicos das membranas externa e interna (NEILANDS; BINDEREIF; MOTEGOMEREI, 1985). Muitos autores encontram a associação de estirpes virulentas de *Escherichia coli* com a presença de aerobactina e por conta disto ela vem sendo utilizada como importante marcador de virulência, uma vez que os genes do plasmídeo ColV no qual o gene *iutA* está codificado, também pode carrear outros fatores de virulência (GOES; GAZIRI; VIDOTTO, 1993).

Nosso trabalho foi dividido em dois momentos, conforme a seguir. No primeiro momento nós avaliamos a presença de cinco genes distintos de *E. coli* isoladas de amostras de fígado de frangos provenientes de dois matadouros avícolas. Das 62 amostras de fígado coletadas, 30 não apresentavam alterações macroscópicas e 32 apresentaram alterações macroscópicas,

com conseqüente descarte da carcaça. Trinta cepas de *E. coli* foram isoladas pelo método clássico de diagnóstico, sendo 21 destas cepas isoladas dos fígados inalterados e 9 cepas isoladas dos fígados provenientes de carcaças rejeitadas. Os genes das 30 cepas isoladas, avaliados pelo método da PCR, foram: o gene de resistência sérica *iss* utilizado para a identificação de *E. coli* patogênica para aves, o gene para *Shiga cytotoxin stx-1* e *stx-2* utilizado para a identificação de *E. coli* enteroemorrágica, o gene *bfpA* utilizado para a identificação de *E. coli* enteropatogênica e os genes para toxinas LT-I (*elt*) e ST-I (*stl*) utilizado para a identificação de *E. coli* enterotoxigênica. Nós identificamos o gene *iss* em vinte e cinco isolados de *E. coli*, sendo que 16 destas amostras foram isoladas de fígados de animais hígidos. O gene *stx* foi identificado em quatro cepas isoladas, sendo que em três destas havia também presença do gene *iss*, caracterizando infecção mista. Com relação aos outros genes avaliados (*bfpA*, *elt* e *stl*), não os identificamos nas amostras avaliadas, desta forma, não havendo a caracterização genética de EPEC e ETEC.

Em função dos resultados encontrados neste primeiro momento do nosso trabalho, no qual 83,3% dos genes isolados de *E. coli* foi o *iss* (APEC), avaliamos, no segundo momento do trabalho, 100 amostras de lesões de celulite e 100 amostras de fígados de frango oriundos de uma linha de abate em um matadouro avícola o qual recebe aves de nove aviários da região, objetivando pesquisar os genes *iss* e *iutA* em *E. coli* isoladas destas amostras e determinar as possíveis vias de contaminação das aves.

Os resultados deste estudo revelaram que foram amplificados, por PCR, simultaneamente os genes *iutA* e *iss* em 87,80% dos isolados de *Escherichia coli* das amostras de celulite. Os genes *iutA* e *iss*, amplificaram em 97,56% e 89,02% , respectivamente, dos isolados de *Escherichia coli* originados de lesões de celulite aviária. A amplificação de apenas um gene ocorreu em 9,76% para o gene *iutA* e 1,22% para o gene *iss*, confirmando a genotipagem de isolados de *E. coli* oriunda de celulite como um método eficiente para identificação de estirpes bacterianas. A presença dos fatores de virulência, *iutA* e *iss*, na maioria das vezes que *E. coli* foi isolada simultaneamente em celulites e fígados salienta a possibilidade de que APEC esteja presente nos dois tecidos biológicos, fortalecendo a hipótese de que a bactéria infecta o animal por meio das lesões de pele e posteriormente alcança o fígado, o que configuraria o caráter sistêmico da infecção, demandando assim o descarte total da carcaça quando da

presença de lesões de celulite.

O descarte total de carcaças baseado nas alterações macroscópicas do fígado deve continuar sendo utilizado, pois reduz o risco de fornecer alimentos inseguros ao consumidor, entretanto estes estudos, juntamente com os trabalhos dos autores referenciados, indicam que a presença de lesões cutâneas nas carcaças deve ser transformada de critério de descarte parcial ou total para descarte total independente da extensão ou localização da lesão. A inclusão das análises microbiológicas e histopatológicas nas rotinas da inspeção sanitária da produção de carne de aves também se faz necessária para assegurar a inóquidade dos produtos.

Além das análises nos produtos, é fundamental o conhecimento dos fatores determinantes do surgimento deste e de outros patógenos causadores de doenças no homem e animais, desta forma poderão ser realizadas intervenções efetivas que controlarão ou eliminarão estes agentes infecciosos antes de seu contato com possíveis hospedeiros. Assim posto, a definição dos genes de virulência, e suas possíveis combinações, caracterizando com precisão os microrganismos patogênicos, é imprescindível para a eficácia do diagnóstico, controle e combate aos agentes infecciosos veiculados por alimentos, permitindo assim a segurança alimentar e conseqüentemente a melhoria da saúde da população.

Referências

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2016**. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2016>>. Acesso em: 25 set. 2016.

ANDREATTI FILHO, R.L. **Saúde Aviária e Doenças**. São Paulo: Roca, 2006.

AVILA, V. S. de. et al. **Materiais alternativos em substituição à maravalha como cama de frangos**. Concórdia, SC: EMBRAPA-CNPSA, 2007. (EMBRAPA-CNPSA. Comunicado Técnico, 465).

BARNES, H. J.; NOLAN, L.K.; VAILLANCOUT, J. Colibacillosis. In: BARNES, H. J. et al. **Disease of poultry**. Ames: Blackwell Publishing, p.691-737, 2008.

BARNES, H.J.; VAILLANCOURT, J.P.; GROSS, W.B. Colibacillosis. In: SAIF, Y.M. (Org.)

Diseases of poultry. Ames, Iowa: Iowa state University Press, 12 ed. p.631-656, 2008.

BARROS, L.S.S.; SILVA, R.M.; SILVA, I.M.M.; BALIZA, M.; FREITAS, F. A Avicultura brasileira e sua afinidade com a celulite aviária. **Arquivos de Pesquisa Animal**, v.1, n.2, p.78-97, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 7 jul. 1952. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D30691.htm>. Acesso em: 27 mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 210, de 10 de novembro de 1998. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 26 nov. 1998. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1129>>. Acesso em: 28 mai. 2016.

DHO, M.; LAFONT, J.P. Adhesive properties and iron uptake abilities in *Escherichia coli* lethal and non-lethal for chicks. **Avian Diseases**, v.28, p.1016-1025. 1984.

DISSANAYAKE, D.R.A.; OCTAVIA, S.; LAN, R. Population structure and virulence content of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from outbreaks in Sri Lanka. **Veterinary Microbiology**. Amsterdam. v.168, p.403-412, 2014.

EWERS, C.; JANSSEN, T.; KIESSLING, S.; PHILIPP, H.C.; WIELER, L.H. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.104, p.91-102, 2004.

FAO. Food and Agriculture Organization. **FAOSTAT Livestock Primary 2014**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/ql>. Acesso em 13 dez 2016. FERREIRA, A.J.P.; KNOBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, p.197-207, 2000.

FORSYTHE, J.S. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. Porto Alegre (RS): Artmed, 2013.

FRANÇA, J.M. A competitividade da avicultura de corte e a certificação de qualidade para o mercado externo. **Revista Avicultura Industrial**, v.1, p. 20-25, 2007.

FRITZ, B. G.; WALKER, D. K.; GOVEIA, D. E.; PARKER, A. E.; GOERES, D. M. Evaluation of

Petrifilm™ Aerobic Count Plates as an Equivalent Alternative to Drop Plating on R2A Agar Plates in a Biofilm Disinfectant Efficacy Test. **Current Microbiology**, v.70, p.450–456, 2015.

GARCIA, P.M.; ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Detecção de *Escherichia coli* O157:H7 inoculada experimentalmente em amostras de leite cru por método convencional e PCR multiplex. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1241-1249, 2008.

GOES, C.R.; GAZIRI, L.C.J.; VIDOTTO, M.C. Cloned genes of virulent genes of avian *Escherichia coli* do not confer virulence to recombinant strains. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. V.26, n.3, p.26-275. 1993.

GOMIS, S.M.; GOMIS, A. I. U.; HORADAGODA, N. U.; WIJEWARDENE, T.G.; ALLAN, B.J. ; POTTER A.A. studies on cellulitis and other disease syndromes caused by *Escherichia coli* in broilers in Sri Lanka. **Tropical Animal Health and Production**, v.32, p.341-351, 2000.

HUJA, S., OREN, Y., TROST, E., BRZUSZKIEWICZ, E., BIRAN, D., BLOM, J. GOESMANN, A., GOTTSCHALK, G., HACKER, J., RON, E.Z., DOBRINDT, U. Genomic Avenue to Avian Colisepticemia. **Mbio**. Washington, v.6, p.1-13, jan.-fev. 2015.

JACOBSEN, G.; FLÔRES, M.L. Condições por síndrome ascítica em frangos abatidos sob inspeção federal entre 2002 e 2006 no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**. v.38, n.7, p.1966-1971, 2008.

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

JOHNSON, T.J.; GIDDINGS, C.W.; HORNE, S.M.; GIBBS, P.S.; WOOLEY, R.E.; OLAH, J.S.P.; KERCHER, R.; SHERWOOD, J.S.; FOLEY, S.L.; NOLAN, L.K. Location of increased serum survival gene and selected virulence traits on a conjugative R plasmid in an avian *Escherichia coli* isolate. **Avian Diseases**. Jacksonville, v.46, n.2, p.342-352, abr-jun, 2002.

JORDE, L.B.; CAREY, J.C.; BAMSHAD, M.J.; WHITE, R.L. **Genética Médica**.3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 415p.

KAZEMNIA, A.; AHMADI, M.; DILMAGHANI, M. Antibiotic resistance pattern of different *Escherichia coli* phylogenetic groups isolated from human urinary tract infection and avian colibacillosis. **Iranian Biomedical Journal**, v.18, n.4, p.219-224, 2014.

LA RAGIONE, R.M.; WOODWARD, M.J. Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia-review article. Research in **Veterinary Science**, v.73, p.27-35, 2002.

LAFONT J.P.; DHO, M.; HAUTEVILLE, H.M.D.; BREE, A.; SANSONETTI, P.J. Presence and expression of aerobactin genes in virulent avian strains of *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v.55, p.193–197. 1987.

LIMA-FILHO, J.V.; MARTINS, L.V.; NASCIMENTO, D.C.; VENTURA, R.F.; BATISTA, J.E.; SILVA, A.F.; RALPH, M.T.; VAZ, R.V.; RABELLO, C.B.; SILVA, I.M., EVÊNCIO-NETO, J. Zoonotic potential of multidrug-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* obtained from healthy poultry carcasses in Salvador, Brazil. **Brazilian Journal Infectious Diseases**,v.17, n.1, p.54–61, 2013.

KAPER, J.B. Pathogenic *Escherichia coli*. **International Journal of Medical Microbiology**. v.295, p.355-356, 2005.

MACLACHLAN, N.J; CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: THOMSON, R.G. **Patologia Veterinária Especial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p.265-298, 1998.

MAGALHÃES, V. D.; FERREIRA, J.C.; BARELLI, C.; DARINI, A. L. C. Eletroforese em campo pulsante em bacteriologia – uma revisão técnica. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.155-161, 2005.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio – Brasil 2014/15 a 2024/25**. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/2016/projecoes-agronegocio-2016-2026.pdf>. Acesso em: 21 out. 2016.

MOHAMED, M. A.; SHEHATA, M.A.; RAFEEK, E. Virulence genes content and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from broiler chickens. **Veterinary Medicine International**. Cairo, v.2, nov, 2014.

MOULIN-SCHOULEUR, M.; REPERANT, M.; LAURENT, S.; BREE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains of Avian and Human Origin: Link Between Phylogenetic Relationships and Common Virulence Patterns. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.3366–3376, 2007.

- NEILANDS, J.B.; BINDEREIF, A.; MOTEGOMEREI, J.Z. Genetic Basis of Assimilation on Pathogenic *Escherichia coli*. **Courrent Topics in Microbiology and Immunology**, v.118, p.179-195. 1985.
- NOLAN, L. K.; GIDDINGS, C.W.; HORNE, S.M.; DOETKOTT, C.; GIBBS, P.S.; WOOLEY, R.E.; FOLEY, S.L. Complement resistance, as determined by viable count and flow cytometric methods, and its association with the presence of *iss* and the virulence of avian *Escherichia coli*. **Avian Diseases**, v.46, n.2, p.386-392, 2002.
- NUNES, F.G. ¿Por qué estan competitiva la avicultura brasileña? (II). **Mundo Ganadero**, n.187, p.24-31, 2006. Disponível em: < [http://www.researchgate.net/publication/28281705_Por_qu_es_tan_competitiva_la_avicultura_brasilea_\(II\)](http://www.researchgate.net/publication/28281705_Por_qu_es_tan_competitiva_la_avicultura_brasilea_(II))>. Acesso em: 14 jun. 2015.
- PRIEGO, R.; MEDINA, L.M.; JORDANO, R. Evaluation of Petrifilm series 2000 as a possible rapid method to count coliforms in foods. **Journal of Food Protection**, v.63, n.8, p.1.137-1.140, 2000.
- RANDALL, C.J.; REECE, R.J. **Color Atlas of Avian Histopathology**. Turin: Mosby-Wolfe, 1996, 232p.
- RANDALL, K. S.; Amplification of genomic DNA in INNIS, M.A.; GEFAND, D.H.; SININSKY, J.J.; WHITE, T.I. **PCR Protocols a guide to methods and applications**. Academic Press, San Diego California, 1990.
- ROCHA, A.C.G.P; ROCHA, S.L.S.; LIMA-ROSA, C.A.V.; SOUZA, G.F.; MORAES, H.L.S.; SALLE, F.O.; MORAES, L.B.; SALLE, C.T.P. Genes associated with pathogenicity of avian *Escherichia coli* (APEC) isolated from respiratory cases of poultry. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.3, p.183-186, mar., 2008.
- RODRIGUEZ-SIEK, K.E.; GIDDINGS, C.W.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, T.J.; NOLAN, L.K. Characterizing the APEC pathotype. *Veterinary Research*, v.36, p.241-256, 2005a.
- RODRIGUEZ-SIEK, K.E., GIDDINGS, C.W.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, T.J.; FAKHR, M.K.; NOLAN, L.K. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. **Microbiology**, n.151, p.2097–2110. 2005b.
- ROJAS, T.C.G.; MALUTA, R.P.; KOENIGKAN, L.V.; SILVEIRA, W.D. In silico phylogenetic

and virulence gene profile analyses of avian pathogenic *Escherichia coli* genome sequences.

Pesquisa Veterinária Brasileira, v.34, n.2, p.129-133, 2014.

RON, E.Z. Host specificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. **Current Opinion in Microbiology**, v.9, n.1, p.28-32, 2006.

SANTANA, A.P.; MURATA, L.S.; FREITAS, C.G.; DELPHINO, M.K.; PIMENTEL, C.M.. Causes of condemnation of carcasses from poultry in slaughterhouses located in state of Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2587-2592, 2008.

SCHUBERT, S.; PICARD, B.; GOURIOU, S.; HEESEMANN, J.; DENAMUR, E. *Yersinia* high-pathogenicity island contributes to virulence in *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. **Infection and Immunity**, n.70 p.5335–5337. 2002.

SILVEIRA, W.D.; FERREIRA, A.; BROCCHI, M.; HOLLANDA, L.M.; CASTRO, A.F.P.; YAMADA, A.T.; LANCELLOTTI, M. Biological characteristics and pathogenicity of avian *Escherichia coli* strains. **Veterinary Microbiology**, n.85, p.47-53, 2002.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8.ed. São Paulo: Artmed, 2006.

UNIFESP. Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Departamento de Informática em Saúde. **Tabela de composição química dos alimentos - Relatório básico: Frango, de corte ate 8 semanas, peito, só carne, enriquecido, cru**. Disponível em: <<http://www2.unifesp.br/dis/servicos/nutri/public/alimento/nutriente/ndbno/05314>>. Acesso em: 09 ago. 2015.

VIEIRA, T.B.; FRANCO, R.M.; MAGALHÃES, H.; PRAXEDES, C.I.S.; TORTELLY, R. Celulite em frangos de corte abatidos sob inspeção sanitária: aspectos anatomopatológicos associados ao isolamento de *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.13, n.3, p.174-177, set.-dez. 2006.

VIEIRA, D.P. **Técnicas de PCR: aplicações e padronização de reações**. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Disponível em: <<http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/proto/protocolos/aula1.pdf>>. Acesso em: 07 jan. 2017.

Identificação de marcadores moleculares que permitam caracterizar a associação entre polimorfismo genético e doenças

Marcilio Delan Baliza Fernandes

Domingos Claudison de Freitas

Sibele do Oliveira Tozetto Klein

Arthur Gonzalez

Djanilson Barbosa dos Santos

Taiana de Araújo Conceição

Fábio de Oliveira Santos

As doenças cardiovasculares são a primeira causa de mortes no mundo. Aproximadamente 17,1 milhões de pessoas morreram em 2004 por doenças cardiovasculares, representando 29% de todas as mortes. Destas, 7,2 milhões foram devido a Doença Cardíaca Coronária e 5,7 milhões devido a Acidente Vascular Cerebral. Estima-se que em 2030 em torno de 23,6 milhões de pessoas morrerão de doenças cardiovasculares, principalmente por doença cardíaca e acidente vascular cerebral, sendo que cerca de 80% ocorrerão em países de baixa e média renda (WHO, 2009; SCHMIDT, 2011).

No Brasil, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 33% das mortes com causas conhecidas. Quando são excluídos os óbitos por causas mal definidas e a violência esse índice sobe para 37% (LOTUFO, 2005). Um fato agravante desse quadro é que aproximadamente um terço dos óbitos por doenças cardiovasculares ocorrem precocemente em adultos na faixa etária de 35 a 64 anos (ISHITANI, 2006). Ressalte-se que essas mortes são em grande parte evitáveis se houver assistência ou prevenção oportuna (NOLTE, 2004). Há uma tendência lenta e constante de redução das taxas de mortalidade cardiovascular. A doença cerebrovascular

teve redução anual das taxas ajustadas por idade de 1,5% para homens e 1,6% para mulheres. O conjunto das doenças do coração, hipertensão, doença coronária e insuficiência cardíaca também tiveram taxas anuais decrescentes de 1,2% para homens e 1,3% para mulheres. No entanto, apesar do declínio, a mortalidade no Brasil ainda é elevada em comparação a outros países, tanto para doença cerebrovascular como para doenças do coração (BRASIL, 2006). Em 2004 foram 285.543 óbitos causados por doenças do aparelho circulatório, sendo 90.930 casos por doenças cerebrovasculares, 86.791 casos por doenças isquêmicas do coração, 65.482 casos por infarto agudo do miocárdio, 30.850 casos por doenças hipertensivas e 1.987 casos por aterosclerose (BRASIL, 2004). Entre 1996 e 1999, essas doenças foram responsáveis por 17% das internações de pessoas com idade entre 40 e 59 anos e 29% daquelas com 60 ou mais anos, sendo a primeira causa de hospitalizações no setor público (PASSOS, 2006). Em 2007 foram registrados 1.157.509 internações levando-se em consideração as doenças do aparelho circulatório, com um custo maior que 1,4 bilhões de reais aos cofres públicos (ROSA, 2009). Apesar dos elevados investimentos para o controle das afecções cardiovasculares, as taxas de morbimortalidade têm sofrido poucas modificações nas últimas décadas. Os melhores resultados foram com programas direcionados às mudanças de hábitos maléficos à saúde das pessoas, tais como: combate às dietas ricas em colesterol, ao sedentarismo, à obesidade e ao tabagismo (MENDES, 2006). Na região Nordeste, o risco de morte por doenças do aparelho circulatório é de aproximadamente 118 por 100.000 habitantes (BRASIL, 2004).

Dentre os fatores de risco para doenças cardiovasculares podemos citar hipertensão arterial, idade, sexo, tabagismo, níveis elevados de colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), níveis diminuídos de HDL (lipoproteína de alta densidade), diabetes melito, sedentarismo, obesidade e história familiar (ISHITANI, 2006; TAVARES, 2000). Considerando que as doenças cardiovasculares, diabetes e câncer compartilham vários desses fatores de risco, a Organização Mundial de Saúde propõe ações integradas de prevenção e controle para essas doenças baseada na redução da hipertensão arterial, tabagismo, uso de álcool, inatividade física, dieta inadequada, obesidade e hipercolesterolemia (PEREIRA, 2009).

As dislipidemias são anormalidades na concentração das gorduras circulantes no sangue, fato que predispõe os indivíduos ao aparecimento da aterosclerose (depósitos de placas de gordura, chamadas de ateromas, na parede das artérias). Associação de níveis elevados de

LDL-C com o desenvolvimento de doença cardiovascular parece estar relacionada à maior facilidade da lipoproteína em se oxidar e na presença de sua subfração pequena e densa. Já o nível sérico de HDL-C elevado é um fator de proteção do indivíduo para doença cardiovascular (ROSINI, 2005). Lipídios, fosfolipídios, colesterol, triglicérides e éster de colesterol juntamente com apolipoproteínas participam da formação dessas classes de lipoproteínas (LDL, HDL) bem como dos quilomícron, IDL (lipoproteína de densidade intermediária) e VLDL (lipoproteína de muita baixa densidade). A via metabólica das lipoproteínas é extremamente complexa e inclui várias etapas como modificação extracelular de lipoproteínas, hidrólise de triglicérides e fosfolípidos pelas enzimas lipase lipoprotéica (LPL) e lipase hepática (HL), transporte reverso de colesterol das células às lipoproteínas, esterificação do colesterol, troca e/ou transferência de ésteres de colesterol, triglicérides e fosfolípidos, enzimaticamente catalisadas, dentre outras. Cada uma destas etapas envolve uma ação coordenada de várias proteínas (NOVAK, 1996).

A hipercolesterolemia é a principal causa de doença arterial coronária (DAC), quando associada a outros fatores biológicos e/ou ambientais, leva à formação da placa ateromatosa aumentando o risco de morte por infarto do miocárdio (VIEIRA, 2005). A concentração plasmática de triglicérides (TG) e HDL-C tem sido considerado fator de risco independente para DAC (THU, 2006). Estudos epidemiológicos têm mostrado uma relação inversa entre concentração plasmática de HDL-C e risco para DAC (GORDON, 1989; WILSON, 1988). O potencial de uma dieta ou de um alimento em aumentar os níveis de colesterol sérico e em promover aterosclerose está diretamente relacionado ao seu conteúdo de colesterol e de gordura saturada. Pesquisas revelam alta correlação entre incidência de doenças ateroscleróticas, níveis de lipídeos séricos e hábitos alimentares (FORNÉS, 2002).

Por outro lado, estudos epidemiológicos mostram probabilidade de 6% para indivíduos de 50 anos, sem fatores de riscos conhecidos, desenvolverem um evento coronariano em 10 anos e que indivíduos de 60 anos passam a ter probabilidade de 9% em desenvolver o mesmo evento. Isso sugere que outros fatores, como os genéticos, estejam implicados na susceptibilidade do indivíduo desenvolver o evento cardíaco (TAVARES, 2000). Sendo assim, os genes contribuem tanto para a causa como para a patogênese de anormalidade da fisiologia humana, incluindo as doenças do coração e do sistema vascular (PEREIRA, 2004). Desta forma, mutações podem resultar em padrões lipoprotéicos anormais e contribuir para o

aparecimento de doenças, como a aterosclerose (NOVAK, 1996).

Muitos fatores de risco genéticos para DAC têm sido descritos e aqueles relacionados à fisiopatologia da placa ateromatosa são considerados candidatos a fatores de risco em pacientes hipercolesterolêmicos. Uma das abordagens mais utilizadas na pesquisa desses genes candidatos a fatores de risco consiste em estudar os genes envolvidos no processo fisiopatológico da DAC, identificando as variantes genotípicas comuns nas populações que possuem maior frequência em pacientes hipercolesterolêmicos com DAC, podendo-se estabelecer uma possível relação de causa e efeito. Outra forma de investigação pode ser feita determinando a frequência de SNPs (polimorfismos de um único nucleotídeo) localizados próximos a genes relacionados com a fisiopatologia da DAC e estabelecer a força do equilíbrio de ligação entre esses SNPs e a frequência de DAC na população (VIEIRA, 2005).

Estudos de inúmeros genes mostram que diversos polimorfismos em regiões reguladoras desses genes podem ser responsáveis por alterações do seu produto, sendo a maioria deles do tipo SNPs (FRANCESCHI, 2009). Vários trabalhos mostram a importância dos SNPs no estudo de frequências alélicas populacionais (VIEIRA, 2005). A associação de SNPs com doenças humanas tem um grande potencial para a direta aplicação clínica, por prover novos e mais acurados marcadores genéticos para o diagnóstico e prognóstico e, possivelmente, para novos alvos terapêuticos (FRANCESCHI, 2009).

Apesar de causas exógenas freqüentes no risco para DAC, fatores genéticos podem ser definitivos quando há mutações nos genes LDLR, APOB, PCSK9, ABC ou ARH (causas monogênicas) que levam aos quadros clínicos mais severos. No entanto, pacientes hipercolesterolêmicos que apresentem mutações em vários outros genes (APOA, APOC, APOE, PON, CETP, LCAT, LPL, EPCR, ACE, MTHFR, IL-6, MMP, TNF, FG, PAI-1) podem ter aumentado o risco para DAC, uma vez que tais mutações promovem alterações no metabolismo lipídico, no processo inflamatório ou na coagulação sangüínea (FILHO, 2009; VIEIRA, 2005).

A LPL catalisa a hidrólise dos triglicérides dos quilomícrons e das VLDL na superfície endotelial dos capilares sangüíneos, onde essa enzima fica aderida por meio de moléculas de proteoglicanos. Lipoproteínas ricas em triglicérides ligam-se à lipase por meio da apolipoproteína (apo) CII, presente na superfície da lipoproteína, a qual também estimula a ação enzimática. Os produtos de degradação dos triglicérides, ácidos graxos e glicerol são

absorvidos por tecidos como o adiposo e o músculo, onde são reesterificados e armazenados. A diminuição na atividade da LPL pode influenciar as concentrações de lípidos plasmáticos causando graus variados de hipertrigliceridemia isolada ou associada a hipercolesterolemia (ALMEIDA, 2007).

O gene da LPL está localizado no cromossomo 8 sendo composto por 10 exons, interrompidos por 9 introns, com massa molecular de aproximadamente 30 Kb, codificando uma proteína com 475 aminoácidos. Das várias mutações descritas no gene, a LPL Asp9Asn, Asn291Ser e a S447X são as mais importantes pela maior frequência e influência na suscetibilidade à aterosclerose (ALMEIDA, 2007).

Estudo recente mostrou associação entre polimorfismo Asp9Asn e infarto do miocárdio em pacientes com Diabetes melito 2. Polimorfismo Asn291Ser foi um importante fator predisponente para pacientes hipertrigliceridemicos na população da Irlanda do Norte. No entanto, o polimorfismo S447X (G1595C) no gene da LPL cria um códon de parada prematura, truncando os dois últimos aminoácidos, resíduos de serina e glicina, na região final carboxila da proteína, associado com efeitos opostos quando comparado com polimorfismo Asp9Asn e Asn291Ser (VASUDEVAN, 2009).

Segundo Filho et al. (2009), o polimorfismo S447X reduz o risco do desenvolvimento de patologias cardiovasculares relacionadas com o metabolismo lipídico. Esse polimorfismo foi relacionado com níveis altos de HDL-C e baixas concentrações de TG, ajudando a prevenir a DAC prematura (THU, 2006). O polimorfismo S447X é um dos mais freqüentes entre as várias proteínas envolvidas no metabolismo intravascular de lipídios, incidindo em 17% a 22% da população caucasiana. Ocorre no exon 9 do gene LPL, havendo a substituição de citosina (C) por guanina (G) na posição 1595 (ALMEIDA, 2007).

Em estudo realizado por Thu et al. (2006) no Vietnam, com 351 garotas entre 7 e 9 anos de idade, encontraram frequência alélica de 2,0% para polimorfismo LPL 447XX e 19,7% para polimorfismo LPL 447SX, resultando numa frequência alélica de 11,9% . Quando avaliado polimorfismo LPL S447X e concentração plasmática de lipídeos os autores encontraram diferentes concentrações para TG entre alelos LPL 447SS e alelos LPL 447SX/XX (P=00,4). A concentração plasmática de HDL-C foi alta em indivíduos com alelos LPL 447SX/XX em comparação ao alelo LPL 447SS (P=00,7), contudo, fatores ambientais também influenciaram

na concentração plasmática de HDL-C ($P=0,0001$). No geral, a concentração plasmática de HDL-C foi de 7,4% mais elevada e a concentração plasmática de TG foi 13,6% menor em portadores do alelo LPL 447X do que os portadores do alelo LPL 447S.

Almeida et al. (2006) fizeram o primeiro relato da frequência do polimorfismo S447X da lipase lipoprotéica em pacientes com DAC prematura na população brasileira avaliando 313 pacientes com DAC prematura e 150 indivíduos sem história clínica de DAC, encontrando frequência de 23%. Em conclusão, neste estudo, o polimorfismo S447X da lipase lipoprotéica está relacionado com diminuição das concentrações de triglicérides nos pacientes do sexo masculino com DAC, não havendo essa relação com o sexo feminino. A presença do polimorfismo S447X da lipase lipoprotéica não foi associada com a incidência de DAC.

Outro gene também associado com doenças cardiovasculares é o Neuropeptídeo Y (NPY). Caracteriza-se por ser um peptídeo de 36 aminoácidos amplamente distribuído nos mamíferos e abundantes no sistema nervoso central e Periférico. Esse neurotransmissor está presente em grande concentração nas fibras nervosas do cérebro, coração, vasos sanguíneos e trato gastrointestinal (PESONEN, 2008; ALDANA, 2000), envolvendo-se em diversas funções fisiológicas como controle do apetite (estimulando a ingestão de alimentos ou com papel regulatório no eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal), propriedades ansiolíticas e sedativas que induzem aumento da pressão sanguínea e efeitos no ritmo circadiano (KAIPPIO, 2009). Desta forma, além de sua associação com doenças cardiovasculares, vários estudos empregando SNPs no gene NPY tem avaliado sua relação com diferenças na resposta ao stress (ZHOU, 2008), diabetes tipo 2 (JAAKKOLA, 2007; UKKOLA, 2007), ingestão de alimentos e obesidade (KARVONEN, 2006), alcoolismo (MOTTAGUI-TABAR, 2005), hipertensão (WALLERSTEDT, 2004), dentre outros.

Polimorfismos SNPs no gene do NPY tem sido associado a níveis séricos elevados de lipídios e doenças cardiovasculares. O polimorfismo T1128C troca uma leucina por prolina na sétima posição e têm-se especulado que isso altera a síntese, transporte ou secreção deste neuropeptídeo (MITCHELL, 2008). Entretanto, não se sabe ao certo se o alelo Pro7 está associado com o aumento ou diminuição do risco de DAC.

Ilveskoski et al (2008) investigaram a associação do polimorfismo Leu7Pro com aterosclerose coronária em 410 homens caucasianos que faleceu subitamente. Foram analisadas áreas

de aterosclerose coronariana, estreitamento das artérias coronárias, presença de infarto do miocárdio e / ou trombose coronariana. Os autores encontraram distribuição de 89,8% para o genótipo Leu7/Leu7, Leu7/Pro7 igual a 10% e Pro7/Pro7 igual a 0,2% . Embora o alelo Pro7 tenha sido associado com hipertensão arterial referida ($P=0,03$), os homens portadores do alelo Pro7 apresentaram menor área de estrias gordurosas ($P=0,04$), lesões de fibrose ($P=0,07$) e lesões complexas ($P=0,004$) na artéria coronária esquerda descendente anterior do que os homens com o genótipo Leu7/Leu7. Os autores concluem que substituição Pro7 no gene NPY protege homens de meia idade da aterosclerose coronária e pode diminuir o risco de eventos coronarianos agudos.

A caracterização de polimorfismos genéticos que afetam a atividade de enzimas biometabolizadoras constitui alvos promissores para a investigação da susceptibilidade genética a doenças cardiovasculares. A importância de se conhecer essa susceptibilidade consiste na possibilidade de modificação de hábitos alimentares, sociais (tabagismo, alcoolismo) nos indivíduos identificados como grupo de risco. Ainda, conhecer a prevalência das variáveis associadas a Doença Arterial Coronariana (DAC) e dislipidemia pode ser de grande importância para a saúde pública no que diz respeito à adoção de programas de intervenção para o controle dessas doenças. Trabalhos dessa natureza têm sido desenvolvidos no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Recôncavo do Bahia (UFRB) em parceria com médicos do Instituto de Cardiologia do Recôncavo (INCAR), avaliando pacientes diagnosticados com DAC, bem como, indivíduos que não apresentam a doença.

Considerando os indicadores de morbi-mortalidade sobre doenças cardiovasculares no Estado da Bahia, bem como na região do Recôncavo Baiano, os quais são semelhantes aos descritos no Brasil e no mundo, avaliamos dois genes de interesse com relação ao polimorfismo genético, genes da Lipase Lipoprotéica (LPL) e do Neuropeptídeo Y (NPY), através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática para verificar polimorfismo no tamanho de fragmentos de restrição (RFLP) do DNA amplificado, o que permite distinguir os principais tipos de mutações documentadas para os genes respectivos genes. Assim, busca-se identificar, por meio da aplicação de ferramentas moleculares, marcadores que permitam caracterizar geneticamente a associação entre polimorfismos nos genes da LPL e NPY com DAC e dislipidemias. Esses dados podem ser utilizados para determinação da

susceptibilidade populacional ao desenvolvimento de DAC, direcionando medidas profiláticas e educativas para população de risco, e subsidiando órgãos governamentais na prevenção primária destas patologias. Ademais, publicações científicas sobre a composição alélica do LPL e NPY para as populações do Recôncavo da Bahia e sua relação com o desenvolvimento de DAC e dislipidemias ainda não foram descritas, conferindo o caráter de ineditismo nos estudos de epidemiologia molecular dessas doenças com base em polimorfismos genético. Nossos resultados têm corroborado com outros estudos, onde o polimorfismo do gene S447X pode estar associado com a diminuição de triglicerídeos e aumento na concentração de lipoproteína de alta densidade, especialmente em indivíduos com Doença Arterial Coroária. No entanto, são poucos os estudos que discutem a associação da prevalência de dislipidemia com outros fatores de risco para DAC em uma população específica. Ainda, a falta de pesquisas sobre fatores de risco na população brasileira resulta em grande desvantagem em relação aos países desenvolvidos. Em relação ao perfil genético de uma população, o Brasil é particularmente rico na sua miscigenação, com o envolvimento de etnias como a caucasiana, negra e a ameríndia. Os negros trazidos para o Brasil vieram de diferentes regiões da África e de várias etnias africanas. Em adição, estima-se que no Brasil tenham existido mais de 200 etnias ameríndias. Na região do Recôncavo Baiano encontra-se uma forte remanescência dos povos africanos. O conhecimento das distribuições desses alelos em diferentes populações é importante para a investigação dos polimorfismos como fatores de risco em estudos epidemiológicos, relacionado com sua frequência geográfica e a variação étnica. Alguns indivíduos ou subgrupos populacionais, como as diferentes etnias, podem apresentar risco significativamente maior de desenvolver doenças cardiovasculares do que a média populacional.

Deste modo, compreender um pouco mais a cerca da distribuição de polimorfismos genéticos por grupos étnicos e por história sócio-econômica, além da associação desses polimorfismos com DAC e dislipidemia é fundamental para examinar relações dos perfis alélicos com os padrões de atividade dos genes estudados em grupos de paciente. Em adição, avaliar a ocorrência de novos polimorfismos (por seqüenciamento do gene) entre indivíduos portadores de padrões não descritos, pela detecção de novos mutantes e a caracterização das mutações predominantes, fornecerão bases concretas sobre o perfil genético e da evolução e miscigenação do povo brasileiro. Dados de associação entre polimorfismo genético e os fatores descritos anteriormente podem contribuir para uma melhor compreensão do papel que essas

variáveis exercem sobre a DAC assim como o prognóstico destes pacientes. Entretanto, é importante enfatizar que, ao contrário das doenças monogênicas, as doenças cardiovasculares formam um grupo de doenças cuja etiologia é complexa, derivada da combinação de vários genes que se inter-relacionam e que, ao mesmo tempo, interagem com outros múltiplos fatores ambientais. Essa complexidade de fatores, de inter-relações e interações torna o entendimento dos mecanismos fisiopatológico difícil.

Referências

ALDANA I.; RIVERO I.; RIVERO A.; HUENCHUNIR P.; FRIGOLA C.; ALONSO M.L.; MONGE A. New antagonist agents of Neuropeptide Y Receptors. **Química Nova**, v.23, n.6, p.737-41, 2000.

ALMEIDA, K..A; STRUNZ C.M.C; MARANHÃO R.C; MANSUR A.P. Polimorfismo S447X da Lipase Lipoprotéica: Influência sobre a Incidência de Doença Arterial Coronariana Prematura e sobre os Lípidos Plasmáticos. **Arq Bras Cardiol**. v.88, n.3, p.297-303, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Uma análise da mortalidade no Brasil e Regiões**. 2004. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/Gestor/visualizar_texto.cfm?idtxt=24421. Acesso em: setembro de 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: URL:<http://www.datasus.gov>. Acesso em: janeiro de 2006.

FILHO H.M.T.; LUCENA B. Biochips – mapeamento da genética individual. **Richet Nouvelles**. v.5, 2009.

FORNÉS N.S.; MARTINS I.S.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ G.; LATORRE M.R.D.O. Escores de consumo alimentar e níveis lipêmicos em população de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**, v.36, n.1, p.12-8, 2002.

FRANCESCHI, D.AS.; VIEL, D.O.; SELL, A.; VISENTAINER, J.E.L. Otimização de metodologia PCR-SSP para identificação de polimorfismos genéticos de *TNF* e *IL2*, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, n.4, 2009.

GORDON, D.J.; RIFKIND, B.M. High-density lipoprotein—the clinical implications of recent studies. **N Engl J Med**. v.321, p.1311–6, 1989:.

IIVESKOSKI, E.; VIIRI, L.E.; MIKKELSSON J.; PORSTI I.; LEHTIMAKI T.; KARHUNEN P.J. Neuropeptide Y signal peptide Pro7 substitution protects against coronary artery atherosclerosis: the Helsinki Sudden Death Study. **Atherosclerosis**, v.199, n.2, p.445-50, 2008.

ISHITANI, L.H.; FRANCO, G.C.; PERPÉTUO, I.H.O.; FRANÇA, E. Desigualdade social e mortalidade precoce por doenças cardiovasculares no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.40, n.4, 2006.

JAAKKOLA, U.; KOULU, M.; KARVONEN, M.K.; SEPPALA, H.; PESONEN, U.; VAHLBERG, T.; KALLIO, J. Impact of the Leu7Pro polymorphism of preproNPY on diurnal NPY and hormone secretion in type 2 diabetes. **Exp Clin Endocrinol Diabet**, v.115, n.5, p.281-6, 2007.

KAPIO, K.; KALLIO, J.; PESONEN, U. The effect of endogenous preproneuropeptide Y leucine 7 to proline 7 polymorphism on growth and apoptosis in primary cultured HUVECs. **Biol Chem**, v.390, n.9, p.899-905, 2009.

KARVONEN, M.K.; RUOTTINEN, S.; KOULU, M.; PESONEN, U.; NIINIKOSKI, H.; RASKNISSILA, L.; SIMELL, O.; RONNEMAA, T. Nutrient intake, weight, and Leu7Pro polymorphism in prepro-neuropeptide Y in children. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.91, n.11, p.4664-8, 2006.

LOTUFO, P.A. Stroke in Brazil: a neglected disease. **Med J.**, v.123, n.1, p.3-4, 2005.

MENDES, M.J.F.L.; ALVES, J.G.B.; ALVES, A.; SIQUEIRA, P.P.; FREIRE, E.F.C. Associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares em adolescentes e seus pais. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.** v.6, n.1, p.49-54, 2006.

MITCHELL GC; WANG Q; RAMAMOORTHY P; WHIM MD. A common single nucleotide polymorphism alters the synthesis and secretion of neuropeptide Y. **J Neurosci.** v.28, n.53, p.1428-34, 2008.

MOTTAGUI-TABAR, S.; PRINCE, J.A.; WAHLESTEDT, C.; ZHU, G.; GOLDMAN, D.; HEILIG, M. A novel single nucleotide polymorphism of the neuropeptide Y (NPY) gene associated with alcohol dependence. **Alcohol Clin Exp Res.** v.29, n.5, p.702-7, 2005.

NOLTE, E.; MCKEE, M. Does healthcare save lives? Avoidable mortality revisited. London: Nuffield Trust. 2004.

NOVAK, E.M.; BYDLOWISKI, S.P. Biologia Molecular das Dislipidemias. Variação Genética

das Apolipoproteínas. **Arq Bras Cardiol** v.67, n.6, p.411-17, 1996.

PASSOS, V.M.A.; ASSIS, T.D.; BARRETO, S.M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v.15, n.1, p.35-45, 2006.

PEREIRA, A.C.; KRIEGER, J.E. Conceitos Básicos em Cardiologia Molecular. *In*: Genética e Coração. **Rev Soc Cardiol** Estado de São Paulo. v.14, n.3, p.401-10, 2004.

PEREIRA, J.C.; BARRETO, S.M.; PASSOS, V.M.A. Perfil de risco cardiovascular e autoavaliação da saúde no Brasil: estudo de base populacional. **Rev Panam Salud Publica**. v.25, n.6, p.491-8, 2009.

PERSONEN, U. NPY L7P polymorphism and metabolic diseases. **Regul Pept**. v.149, n.1-3, p.51-55, 2008.

ROSA, T.E.C.; BERSUSA, A.A.S.; MONDINI, L.; SALDIVA, S.R.D.M.; NASCIMENTO, P.R.; VENANCIO, S.I. Integralidade da atenção às doenças cardiovasculares e diabetes mellitus: o papel da regionalização do Sistema Único de Saúde no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.12, n.2, p.158-71, 2009.

ROSINI, N.; ROSINI, A.D.; MOUSSE, D.M.; ROVARIS, M.L.; MACHADO, M.J. Prevalência e Associação de Dislipidemias em Pacientes com Três Fatores de Risco Associados para Doença Cardiovascular: Hipertensão, Tabagismo e Histórico Familiar. **NewsLab**. ed. 71, 2005.

SCHMIDT, M.I.; DUNCAN, B.B.; AZEVEDO e SILVA, G.; MENEZES, A.M.; MONTEIRO, C.A.; BARRETO, S.M.; CHOR, D.; MENEZES, P.R. Chronic noncommunicable diseases in Brazil: Burden and current challenges. **Lancet**. v.377, p.1949-1961, 2011.

TAVARES, A. Polimorfismos dos genes do sistema renina-angiotensina-aldosterona e as moléstias cardiovasculares. **Rev Bras Hipertens**. v.3, p.237-42, 2000.

THU, NN.; MAI, T.T.T.; OHMORI, R.; KUROKI, M.; CHUYEN, N.V.; HUNG, N.T.K.; KAWAKAMI, M.; KONDO, K. Plasma Triglyceride and HDL-Cholesterol Concentrations in Vietnamese Girls Are Affected by Lipoprotein Lipase, but Not Apolipoprotein CIII Polymorphism. **The Journal of Nutrition**. p.1488-92, 2006.

UKKOLA, O.; KESANIEMI, Y.A. Leu7Pro polymorphism of PreproNPY associated with an

increased risk for type II diabetes in middle-aged subjects. **Eur J Clin Nutr.** v.61, n.9, p.1102-5, 2007.

VASUDEVAN, R.; ISMAIL, P.; STANSLAS, J.; SHAMSUDIN, N. Analysis of three genetic polymorphisms in Malaysian essential hypertensive and type 2 diabetic subjects. **African Journal of Biotechnology.** v.8, n.10, p.2069-2075, 2009.

VIEIRA, J.R.S. Hipercolesterolemia e Risco Genético para Doença Arterial Coronária. **NewsLab.** ed.72, 2005.

ZHOU, Z.; ZHU, G.; HARIRI, A.R.; ENOCH, M.A.; SCOTT, D.; SINHA, R.; VIRKKUNEN, M.; MASH, D.C.; LIPSKY, R.H.; HU, X.Z.; HODGKINSON, C.A.; XU, K.; BUZAS, B.; YUAN, Q.; SHEN, P.H.; FERRELL, R.E.; MANUCK, S.B.; BROWN, S.M.; HAUGER, R.L.; STOHLER, C.S.; ZUBIETA, J.K.; GOLDMAN, D. Genetic variation in human NPY expression affects stress response and emotion. **Nature.** v.452, n.7190, p.997-1001, 2008.

WALLERSTEDT, S.M.; SKRTIC, S.; ERIKSSON, A.L.; OHLSSON, C.; HEDNER, T. Association analysis of the polymorphism T1128C in the signal peptide of neuropeptide Y in a Swedish hypertensive population. **J Hypertens.** v.22, n.7, p.1277-81, 2004.

WILSON, P.W.; ABBOTT, R.D.; CASTELLI, W.P. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham heart study. **Arteriosclerosis.** v.8, p.737-41, 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cardiovascular diseases (CVDs).** Geneva: WHO; 2009.

Ludicidade e educação em saúde na prevenção de enteroparasitos no Recôncavo da Bahia

Ana Lúcia Moreno Amor

Bruno Carvalho Marques

Viviane de Souza Oliveira

Luiz Henrique Silva Mota

Raíssa da Silva Santos

Edemilton Ribeiro Santos Junior

Ligia Maffei Carnevalli

Isabella de Matos Mendes da Silva

Rebeca Correa Rossi

A Educação em Saúde em um de seus vastos conceitos é definida como um recurso de ensino e aprendizagem que tenciona a promoção da saúde (SOUZA et al., 2012) e objetiva transformar saberes existentes no indivíduo. Nessa perspectiva, a prática educativa visa à promoção da autonomia e da responsabilização dos indivíduos no cuidado com a saúde, abolido da imposição de um saber técnico-científico detido pelo profissional de saúde, e agora apropriado da compreensão da sua situação de saúde (JACOBINA; SOUZA, 2009). Dessa forma, o educador em saúde tem o papel de facilitador das descobertas direcionando os sujeitos a refletir sobre a realidade, sendo que estes têm o poder e a autonomia de escolher os caminhos (SOUZA et al., 2012).

A partir de muitas práticas comunitárias e reflexões de cunho teórico e acadêmico, surgiram às bases do que hoje se constitui Educação Popular em Saúde (EPS), isto é, uma conjunção de saberes, vivências e práticas que se opõem à situação de opressão e exclusão social existente, apostando na construção do inédito viável. Esse processo imprime direcionalidade

política às práticas de EPS para um projeto de sociedade, no qual a saúde se insere como direito de cidadania e dever do Estado (BRASIL, 2012).

Em conformidade com a EPS o Ministério da Saúde criou a Política Nacional de Educação Popular em Saúde (PNEPS), que concebe a Educação Popular como práxis político-pedagógica orientadora da construção de processos educativos e de trabalho social emancipatórios, direcionada à promoção da autonomia das pessoas, à horizontalidade entre os saberes populares e técnico-científicos, à formação da consciência crítica, à cidadania participativa, ao respeito às diversas formas de vida, à superação das desigualdades sociais e de todas as formas de discriminação, violência e opressão (BRASIL, 2009).

No campo da saúde, a Educação Popular tem como característica, a intersetorialidade, o saber desenvolvido no trabalho, nas condições sociais de saúde, a estratégia singular para os processos que buscam o cuidado, a formação e a produção de conhecimento sobre o processo saúde-doença-cuidado capacitando os indivíduos a decidirem quais as estratégias mais apropriadas para promover, manter e recuperar sua saúde (BRASIL, 2012).

Dentre os fatores sociais determinantes da saúde, o saneamento básico está entre os mais relevantes. As condições de saneamento no País, de acordo com os dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), mostram que são expressivas as desigualdades no acesso aos serviços de abastecimento de água entre os habitantes das áreas urbanas e rurais (BRASIL, 2009). Esse cenário contribui direta e indiretamente, para o surgimento de doenças de veiculação hídrica, de parasitoses intestinais, as quais são responsáveis pela elevação da taxa de mortalidade infantil no país (BARBOSA et al., 2009). Ressalta-se ainda que estas doenças estejam associadas a determinantes sociais e ambientais, mostrando elevada prevalência em regiões com déficit em educação, precárias condições de habitação, higiene, abastecimento de água potável e saneamento básico, como exemplo, áreas rurais e periféricas urbanas.

Estudos realizados anteriormente destacam que as infecções parasitárias se constituem um dos mais sérios problemas de Saúde Pública no Brasil e nos países em expansão, afetando o desenvolvimento físico, cognitivo e social de escolares, principalmente pela sua correlação com o grau de desnutrição das populações, considerando as enteroparasitoses um assunto de grande relevância para a Saúde Pública (BASTOS et al., 2015). Acrescenta-se ainda, que

a escassez nos padrões higiênicos e sanitários e na manipulação dos alimentos é um dos responsáveis pela ocorrência de surtos das designadas Doenças Transmitidas por Alimento (DTA) no Brasil, sendo estas de maior ocorrência entre os indivíduos em idade escolar devido à precariedade nos hábitos de higiene, como levar as mãos sujas à boca, assim como os alimentos.

A relação dessas doenças com a comunidade, sobretudo com a população do campo e de baixa renda, chama a atenção da sociedade brasileira desde a década de trinta, quando o escritor Monteiro Lobato lançou o ícone do indivíduo parasitado através do personagem do Jeca Tatu (infectado por ancilostomídeos), que tem sua história como ferramenta educativa para problemas sanitários, principalmente para crianças, colaborando com o processo de conscientização (BARBOSA et al, 2013).

Desta forma, é de suma importância a prática de medidas preventivas no contexto familiar e escolar, tornando os estudantes, os profissionais da saúde e as comunidades visitadas/acompanhadas/trabalhadas, multiplicadores de conhecimento com relação às parasitoses no que se refere à manipulação, armazenamento e preparo de alimentos, conduta com a água a ser consumida como também, conhecimento acerca desse tipo de agravo à saúde por parte da população, preferencialmente adquirido mediante um processo educativo, o qual possibilite o indivíduo a mudar padrões de comportamentos para a promoção da sua saúde. Entende-se que a compreensão das práticas higiênicas correta propicia autonomia no processo de resolução dos problemas, garantindo a manipulação e consumo seguros como imprescindível para promoção da saúde dos sujeitos que preparam e consomem os alimentos.

Neste contexto, o Grupo de Estudos em Parasitologia Humana (GEPaH), que integra o Laboratório de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) do Centro de Ciências da Saúde (CCS), realiza atividades lúdicas de Educação em Saúde no controle e combate às infecções parasitárias, principalmente as de veiculação hídrica e/ou alimentar em comunidades do Recôncavo da Bahia. Procura abordar a atuação dos profissionais de saúde nas intervenções de Educação em Saúde, a partir da aplicabilidade de jogos lúdicos na prevenção das infecções parasitárias e práticas de promoção do cuidado à saúde para o público infanto-juvenil das comunidades envolvidas. Consoante com o princípio da integralidade norteado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), onde a abordagem do profissional de saúde não deve restringir-

se apenas à assistência curativista e ou tecnicista, mas sim averiguar minuciosamente as condições de risco à saúde, e posteriormente, realizar intervenções preventivas e de promoção ao cuidado do indivíduo e ou população, a exemplo da Educação em Saúde (JACOBINA; SOUZA, 2009).

Atividade lúdica no Recôncavo da Bahia realizado pelo GEPaH

A partir de resultados obtidos pelo grupo após investigação de parasitos intestinais em populações do Recôncavo da Bahia, na última década, foram realizadas, nas comunidades pesquisadas, atividades educacionais lúdicas de intervenção para redução, controle e prevenção de enteroparasitos.

Considerando os resultados obtidos para a população infanto-juvenil, na maioria das pesquisas realizadas pelo grupo, destacou-se frequência elevada para o encontro de ancilostomídeos, tanto em fezes de humanos quanto em fezes de cães e gatos analisados, seguida de protozoários comensais; nematodas ascaridídeos, *Ascaris lumbricoides* em humanos e *Toxocara* spp. nos animais, também apresentaram alta prevalência em algumas populações pesquisadas (OLIVEIRA e AMOR, 2012; JESUS et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2015; CARVALHO et al., 2016).

Com base nestes resultados, foram confeccionadas atividades que contribuíssem para estimular troca de conhecimentos acerca do controle e combate aos parasitos mais prevalentes na região, como por exemplo, propostas lúdicas e de jogos educativos de interação comunidade-universidade [ComUni(vers)idade], onde de maneira ilustrada e descontraída aproximasse a população sobre os conhecimentos relativos aos patógenos e seus ciclos de vida, a partir da associação entre personagens e fatos, ou parasitos e suas histórias.

As atividades lúdicas de caráter extensionistas foram confeccionadas e aplicadas por graduandos de Enfermagem, Medicina, Nutrição e Bacharelado Interdisciplinar em Saúde e pós-graduandos em Microbiologia Agrícola, em conjunto com servidores docentes e técnicos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia para famílias, escolares e demais sujeitos das comunidades trabalhadas, nesta última década de atividades do SANUTRI.

Dentre as atividades realizadas destaca-se uma ação nas comunidades rurais do Onha e Riacho Dantas, a qual ocorreu na Escola Municipal João da Cruz Souza, envolvendo

estudantes do Ensino Infantil e Fundamental do município de Santo Antônio de Jesus (Bahia), em dezembro de 2016, tendo como público-alvo os escolares que frequentavam a escola e também a comunidade que participou de uma pesquisa sobre contaminação ambiental (solo e água) e infecção parasitária humana e dos animais domésticos desta localidade, de março de 2015 a abril de 2016. O projeto de pesquisa cadastrado na Instituição de origem dos pesquisadores tem como título: “Avaliação da infecção por enteroparasitos, indicadores socioeconômicos e de saúde em populações do Recôncavo Baiano” .

A orientação metodológica da proposta foi baseada no desenvolvimento de atividades lúdicas voltadas para o tema “ medidas profiláticas no combate a patógenos veiculados por água e alimentos” , com enfoque para os parasitos detectados nos materiais analisados por exames parasitológicos (solo, água, fezes de humanos e de animais domésticos), baseada da seguinte forma:

- I. Avaliação prévia e bate papo investigativo com intuito de saber qual o nível de conhecimento dos participantes sobre o tema abordado com escolares e professores da escola municipal;
- II. Exibição em *data show* de um vídeo educativo animado do “ Super Sabão” (Super Sabão contra as parasitoses, produção de Edson Wolverine publicado em 07 de setembro de 2015 em <https://www.youtube.com/watch?v=nZp-UC89oak>), apresentando personagens infantis residentes no campo com hábitos inadequados de higiene e consumo da água e alimentos contaminados. O personagem do “ Super Sabão” , exibido no vídeo, entrou em ação a cada erro sinalizado por um *bip* demonstrando os hábitos saudáveis na manipulação dos alimentos e prevenção da infecção por parasitos. Após a exibição, baseou-se na exposição dialogada e no processo do pense rápido, no qual os escolares foram estimulados a responderem a partir dos exemplos trabalhados pelo personagem do vídeo animado, utilizando-se de perguntas diretas e objetivas acerca da temática abordada;
- III. Apresentação de teatro de fantoches com personagens caracterizados para o combate proposto e de acordo com a realidade local, de maneira que as crianças pudessem memorizá-los e recordar as informações multiplicando-as dessa forma no seu meio

social, e, principalmente no âmbito familiar;

- IV. Visualização de maquetes do corpo humano e cartazes ilustrativos dos ciclos biológicos de alguns dos principais parasitos encontrados nos resultados da pesquisa parasitológica na comunidade em questão, como *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma spp.*, *Giardia duodenalise* *Entamoeba histolytica*. Os ciclos de vida e formas de infecção destes parasitos intestinais foram abordados de forma lúdica, permitindo o conhecimento da morfologia dos parasitos e das respectivas medidas profiláticas pelos escolares;
- V. Utilização de dinâmicas por meio de jogos educativos. Confeccionou-se um jogo de tabuleiro com placas de emborrachados, intitulado “Conhecer para se prevenir”, composto por casas enumeradas de 1 a 6 com perguntas e respostas relacionadas à prevenção da infecção por enteroparasitos, um dado gigante e as crianças como os peões do jogo. Cada casa enumerada correspondia a perguntas nas cartas alternando entre verdadeiro ou falso, certo ou errado e em algumas casas algumas questões objetivas. As questões elaboradas avaliavam o conhecimento dos escolares de acordo com as abordagens dos ciclos biológicos anteriormente trabalhados. As perguntas objetivavam identificar o aprendizado destes escolares acerca dos hábitos de higiene adequados e inadequados praticados por estes na manipulação dos alimentos, bem como possuir um grau de conhecimento em relação às formas de infecção, sintomas e principais profilaxias das enteroparasitoses. Outro recurso lúdico utilizado foi o jogo “Passa e Repassa” com “Torta na Cara”. Foram formados grupos de 05 escolares que responderam a perguntas lançadas pela equipe executora. O grupo que primeiro tocava no prato “coringa” (um prato vazio) tinha a oportunidade de responder à pergunta; desconhecendo a resposta, passava a chance para o outro grupo que ou respondia corretamente ou levava “torta na cara”. O grupo anterior que repassava, recebia a “torta na cara”, caso o outro grupo acertasse;
- VI. “Como lavar as mãos corretamente?” - Assim como as outras atividades, essa temática foi trabalhada de maneira recreativa, primando pela livre associação e apropriação de saberes em um momento de socialização com os demais participantes e distribuição de um “Lanche educativo”, que foi precedido de uma demonstração visual e prática da lavagem adequada das mãos, dando ênfase nos momentos em que esta ação deve ser

executada de forma correta. Sabonetes líquidos artesanais foram distribuídos no fim da atividade, como forma de incentivá-los ao hábito frequente de lavagem das mãos como forma de prevenção da contaminação destas por patógenos e, conseqüente infecção parasitária;

- VII. Realização de uma feira de saúde, com *stands* diversos para orientação a respeito do tema trabalhado, bem como para outras questões diagnosticadas junto à pesquisa realizada (por exemplo, vacinação de crianças e animais, verificação de pressão arterial e dosagem de glicose, orientações sobre higienização bucal e sobre infecções sexualmente transmissíveis). Foi criado um stand para exibição de formas parasitárias diversas, bem como visualização de parasitos em microscópios, além de ectoparasitos e vetores de importância epidemiológica para região com intuito de apresentar superficialmente a morfologia e aparência desses animais, alimentar o imaginário desta população e aproximá-la do cotidiano da universidade.

Os itens I a VI foram realizados com escolares e professores da Escola Municipal João da Cruz Souza (durante a semana) e o item VII para todas as comunidades rurais pesquisadas nas dependências interna e externa da referida Escola (no final de semana).

Partindo-se do pressuposto que a metodologia é um meio e não um fim para colaboração na dinâmica da construção do conhecimento, o objetivo principal para as atividades propostas foi promover hábitos adequados de higiene, visando a Segurança Alimentar e Nutricional, de forma lúdica, destacando o sujeito como um ser que age, interage e transforma dialeticamente a sociedade na qual está inserido.

A partir dos trabalhos desenvolvidos, verificou-se o conhecimento dos estudantes sobre o tema por meio de um diálogo investigativo, no qual, inicialmente, a partir de uma pré-avaliação oral, a maioria dos escolares não tinha conhecimento prévio sobre os enteroparasitos mais comuns em seres humanos e sobre as doenças que estes podem causar, bem como os danos que provocam à saúde humana. Após a realização das dinâmicas propostas e dos jogos de perguntas e respostas, observou-se melhor desempenho nas respostas às perguntas previamente feitas no diálogo investigativo.

Para a feira de saúde, a comunidade visitou os *stands*, dialogou com os extensionistas e

esclareceu as dúvidas relativas à saúde, especialmente sobre parasitoses.

Dados de outros estudos mostram a relevância deste tipo de proposta. Marques et al. (2011), por exemplo, trabalharam com estudantes da rede pública e privada do Ensino Fundamental da cidade de Londrina e da região metropolitana de Curitiba no Paraná, orientando-os sobre a importância das parasitoses, dos mecanismos de transmissão dos parasitos e sobre as medidas higiênico-sanitárias adequadas para a prevenção dos mesmos. Utilizaram-se de atividades lúdicas com estes escolares, expondo o tema por meio de uma peça de teatro simulando um jogo de certo e errado, com a participação da plateia. Os autores revelaram que a aprendizagem de novos conceitos se torna significativa quando o discente o relaciona aos conhecimentos prévios que possui, além disso traz que o teatro é uma estratégia lúdica e encantadora de aprendizado que proporciona diversão, socialização, emoção, percepção e estimula a criatividade.

Nas atividades lúdicas desenvolvidas na região do Recôncavo da Bahia e nos trabalhos desenvolvidos por Marques et al. (2011) no Paraná, percebeu-se que o ato de dramatizar, cantar, jogar e brincar, insere os participantes nas propostas, independe da faixa etária, oportunizando um momento de troca de saberes; confrontando a realidade com o imaginário, vivenciando novas conquistas, além de ser uma nova tendência de aprender e ensinar, potencializando a ampliação das relações entre educador e educando.

Silva e Leda (2012) demonstraram por meio de atividades desenvolvidas com escolares do ensino fundamental de uma Escola Pública na cidade de Duque de Caxias (Rio de Janeiro), que o aprendizado de hábitos profiláticos de saúde na prevenção das parasitoses intestinais, utilizando-se de jogos lúdicos, ajuda na diminuição da prevalência de infecções parasitárias e, conseqüentemente, com os gastos com atendimento médico. De acordo com os autores o “jogo da saúde” permitiu aos estudantes uma participação de forma intensa, descontraída e interativa.

Nas atividades no Recôncavo da Bahia, o jogo educativo de “torta na cara” provocou intensa mobilização dos escolares que queriam participar várias vezes. Demonstravam satisfação em participar, no intuito de acertar as perguntas e ver o adversário coberto de *chantilly*.

As metodologias ativas deste estudo trabalharam com a exposição de conteúdo com a participação dos estudantes, cujo conhecimento prévio foi considerado e tomado como

ponto de partida (ANASTASIOU; ALVES, 2003). O grupo de trabalho levou os escolares e professores participantes da dinâmica a questionarem, interpretar e discutirem o objeto de estudo (prevenção a parasitos veiculados por água, alimentos, vetores e por má higiene pessoal), a partir do reconhecimento e confronto com as suas realidades.

As atividades de Educação em Saúde desenvolvidas com as comunidades do Onha e Riacho Dantas, bem como com outras comunidades do Recôncavo da Bahia, proporcionaram um maior conhecimento e entendimento sobre os hábitos saudáveis de higiene (lavagem correta das mãos e dos alimentos), sobre as enteroparasitoses, suas causas e formas de prevenção. Observou-se que no decorrer das atividades lúdicas desenvolvidas, que os participantes (pesquisadores e comunidades) ao mesmo tempo em que aprendiam, partilhavam conhecimentos e se divertiam, reagindo com entusiasmo às atividades propostas, demonstrando interesse e disposição para a execução das mesmas. Mostrando que atividades de Educação em Saúde representam uma importante ferramenta que pode ser utilizada e trabalhada com todas as faixas etárias, constituindo-se em um facilitador para ensinar hábitos de saúde e vida saudável.

Por meio das ferramentas lúdicas, incluindo animação audiovisual, brincadeiras e explicações breves e visuais do conteúdo fazendo uso de termos comuns, obteve-se um ótimo resultado, pois foi possível conciliar a teoria e a prática de uma forma divertida e descontraída e que pudesse contribuir na aprendizagem dos escolares e demais integrantes das comunidades pesquisadas, as quais foram adaptadas aos sujeitos. Percebeu-se também que os participantes já possuíam conhecimento prévio acerca das temáticas abordadas, apesar de desconhecerem os parasitos, haja vista a participação ativa dos sujeitos em todas as atividades.

Ao planejar estas ações buscou-se o desenvolvimento de diversas atividades lúdicas que motivassem os escolares e despertassem neles o interesse pelo tema abordado, garantindo assim uma aprendizagem eficaz.

Por conseguinte, as atividades lúdicas de Educação e Saúde voltadas para comunidades do Recôncavo da Bahia contribuíram de forma significativa para aprendizagem dos sujeitos sobre a prevenção das parasitoses intestinais mais prevalentes nas populações pesquisadas.

A população infanto-juvenil e demais grupos etários secundariamente envolvidos e ativos nas atividades e dinâmicas executadas demonstraram possuir conhecimento prévio a re-

speito do tema proposto. Após as ações extensionistas realizadas, espera-se que eles sejam agentes multiplicadores das informações sobre medidas profiláticas voltadas para o perfil da comunidade inserida.

Famílias, professores e direção das escolas atendidas demonstraram satisfação pelas atividades realizadas, evidenciando a aplicabilidade da proposta, pois os mesmos mostraram-se interessados no retorno do grupo a escola com mais temáticas a serem trabalhadas com os escolares e a equipe, relatando em as propostas de atividades lúdicas promovem uma maior interação e menor dispersão dos estudantes ocasionando em uma maior assimilação dos conteúdos abordados produzindo assim resultados positivos para os educadores e educandos.

Por fim, compreende-se que os profissionais de saúde têm como principal atribuição o desenvolvimento de atividades preventivas, as quais promovam mudanças no comportamento dos sujeitos, despertando nesses a autonomia do processo saúde-doença, tornando-os detentores do saber em cuidar.

Referências

ANASTASIOU, L.G.C. e ALVES, L.P. **Processos e ensinagem na Universidade: pressupostos para as estratégias de trabalho em aula**. Joinville, SC: Univille, 2003.

BARBOSA, L.A.; SAMPAIO, AL.A.; MELO, A.L.A.; MACEDO, A.P.N. A Educação em Saúde como Instrumento na Prevenção de Parasitoses. **RBPS**, Fortaleza, 2009.

BARBOSA, N.; MOTA, E.; CALVACANTI, B.; BÔTELHO, N.; SANTOS, M. Enteroparasitas e Profilaxia em alunos da zona rural de Serra Talhada- Pernambuco. **Rev. Perspectiva Online: Biologia e Saúde**, v.9, p.37-45, 2013.

BASTOS, P.A.S.; ANDRADE, L.J.; CARDOSO, T.C.; PEREIRA, C.D.; RABAQUIM, V.C.; LOPES, A.P.V.; OLIVEIRA, M.C.V.; OLIVEIRA, M.G.X.; KRAUSSER, P.; FEIJÓ, V.A.; KURODA, R.B.S. **Jogos Educativos e Atividades Lúdicas como Ferramenta para o Médico Veterinário Educador em Saúde. Atas de Saúde Ambiental – ASA**. São Paulo, Online, v.3, n.2, p.88-95, Ago. 2015.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios: Síntese de indicadores 2009 – PNAD**. Rio de Janeiro, v.30, p.1-133, 2009.

BRASIL. Ministério Da Saúde Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Política Nacional de Educação Popular em Saúde**. Comitê Nacional de Educação Popular em Saúde – CNEPS. Brasília, 2012.

CARVALHO, F.L.; SOUZA, V.B.; JESUS, J.M.; SANTOS, I.P.; ALMEIDA, J.S.; PEREIRA, J.S.; JESUS, R.S.; SILVA, I.M.; AMOR, A.L.M. Enteroparasites, socio-cultural indicators and health in a population from 0 to 18 years from the city of Santo Antônio de Jesus (Bahia) - Period from 2010 to 2011. **J Health Biol Sci**, v.4, n.1, p.8-1, 2016.

JACOBINA, R.R, SOUZA, A.M.P.I. Educação em Saúde em suas versões na história brasileira. **Rev Baiana de Saúde Públ.**, v.33, n.4, p.618-627 out./dez. 2009.

JESUS, C.O.; FONSECA, C.H.A.; LIMA, D.A.C.; OLIVEIRA, J.M.O.E.; SANTOS, G.A.; AMOR, A.L.M. Etapa 1 de projetos PIBITI 2015-2016: encontro de ancilostomídeos em comunidades do município de Santo Antônio de Jesus – Bahia. **IX Seminário de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação da UFRB**, 2015, Cruz das Almas. Anais do SEPIP 2015. p.413 – 413, 2015.

MARQUES, L.A.; LEMOS, L.G.T.; HERNANDES, M.C.; SEMPREBON, S.C.; OZAWA, P.M.M.; COSTA, I.C. PIIO - Uma forma ludopedagógica de aprender Parasitologia. **V Encontro Regional Sul de Ensino de Biologia (EREBIO-SUL)**. 18 a 21 de setembro de 2011.

OLIVEIRA, J.M.O.; LIMA, C.L.B.; ARGOLO, M.C.M.; BRITO, N.C.; SANTOS, G.A.; AMOR, A.L.M. Perfil parasitológico de animais domésticos (cães e gatos) de moradores do Recôncavo Baiano. **Anais do 51o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical - Medtrop2015**, número 1403, 2015.

OLIVEIRA, V.F.; AMOR, A.L.M. Association between the occurrence of intestinal parasites and different epidemiological. **RBAC**, v. 44, n.1, p.15-25, 2012.

RIBEIRO, P.A.C.; ALMEIDA, J.S.; MOTA, L.H.S.; PAZ, V.S.; SANTOS, G.A.; AMOR, ALM. Perfil da infecção por enteroparasitos, indicadores socioeconômicos e de saúde em população infanto-juvenil do recôncavo baiano: parasitoses intestinais na região **IX Seminário de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação da UFRB**, 2015, Cruz das Almas. Anais do SEPIP 2015, p.443 – 444, 2015.

SILVA, V.T; LEDA, R.L. Intervenções Educativas Sobre Parasitoses Intestinais: Aplicação de um jogo para alunos do Ensino Fundamental. Saúde & Amb. **Rev. Duque de Caxias**, v.7, n.2,

p.23-07, 2012.

SOUZA, V.B.; JESUS, J.M.; JESUS, R.S.; CARVALHO, F.L.; AMOR, A.L.M. Trabalhando com educação em saúde no combate à insegurança alimentar. **Seminário Internacional de Pesquisa e Educação em Enfermagem**, Salvador, 2012.

Ciência e saber popular: experiências com comunidades quilombolas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia

Isabella de Matos Mendes da Silva

Edileide Santana da Cruz

Valéria Macedo Almeida Camilo

Larissa Janusic

Fernanda Freitas

Monique Lima dos Santos

Gabrielly Sobral Neiva

Tarcísio da Silva Costa



Recôncavo Baiano é considerado um dos berços da cultura baiana, tendo como uma das suas principais manifestações a pesca artesanal (OTT, 1944), a qual se caracteriza pela captura de multiespécies (SOUTO, 2004). Dentre as áreas de ocorrência desta atividade na região, destaca-se a Reserva Extrativista (RESEX) Marinha Baía do Iguape, situada a de Salvador. Esta área é uma Unidade de Conservação Federal que tem como objetivo a proteção do ecossistema, dos meios de subsistência e de cultura de populações e/ o uso sustentável dos recursos naturais (BRASIL, 2000).

Ambientalmente, a RESEX apresenta um clima subtropical úmido com média de temperatura de 25°C e uma paisagem diversificada, agrupando manguezais com alta diversidade de espécies marinhas e o delta fluvial do rio Paraguaçu (HATJE e ANDRADE, 2009). Nela vivem 20 comunidades tradicionais, algumas delas de origem quilombola, que desenvolvem atividades extrativistas vegetais, de agricultura familiar e a pesca artesanal de mariscos (PROST, 2010).

As comunidades tradicionais remanescentes de quilombos se constituíram a partir de uma grande diversidade de processos e desenvolveram formas próprias de organização social, apresentando relativo grau de isolamento geográfico e vivendo desigualdades sociais e de saúde, como é o caso dessa região. (SILVA *et al.*, 2008).

A pesca artesanal nesta região desempenha um papel fundamental no fornecimento de alimentos, renda e no desenvolvimento socioeconômico (PROST, 2010). A captura de mariscos, denominada mariscagem possibilita a sobrevivência de famílias vinculadas a essa prática, destacando o papel da mulher neste território. Esta atividade contribui para a Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) das famílias garantindo subsistência, renda e reprodução cultural (CAMILO *et al.*, 2016).

SAN é conceituada como:

(...) a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras da saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis (BRASIL, 2006).

SAN envolve questões de acesso a alimentos de qualidade, práticas alimentares saudáveis, práticas sustentáveis de produção, cultura, conservação da biodiversidade e utilização sustentável dos recursos, partindo do pressuposto da íntima relação existente entre alimentação, saúde e meio ambiente (BURLANDY, 2009).

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), entre 20% de toda proteína animal consumida é derivada de animais aquáticos, os quais são altamente nutritivos e servem como um valioso complemento a dietas pobres em vitaminas essenciais e minerais (FAO, 2013).

A ingestão de bivalves é uma tradição em regiões costeiras do Brasil e entre os bivalves consumidos na região da RESEX Marinha Baía do Iguape destaca-se *Mytella guyanensis*, popularmente conhecido como sururu.

Este bivalve é um filtrador e possui capacidade de bioacumular em seus tecidos toxinas, poluentes químicos e biológicos, inclusive metais tóxicos e micro-organismos presentes no ambiente, podendo representar risco à SAN dos seus consumidores (PEREIRA *et al.*, 2007).

A espécie pode ser agente para ocorrência surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (SILVA-NETA et al., 2015), caso seja ingerido sem o correto processamento térmico e/ou decorrente de práticas inadequadas de manipulação, o que pode levar micro-organismos patogênicos ao trato gastrointestinal humano (PEREIRA et al, 2006).

A cadeia produtiva deste bivalve é realizada de forma artesanal, o que pode gerar riscos sanitários, caso não ocorra o controle na manipulação do mesmo, na pré-cozimento, no armazenamento e no transporte (CAMILO *et al.*, 2016). As etapas de processamento incluem lavagem, pré cozimento, desconchamento e armazenamento refrigerado para posterior consumo e/ou venda (PENA *et al.*, 2011), o que permite o aumento da vida útil e melhor comercialização. Para evitar que a carne do sururu não seja contaminada durante o processamento, é fundamental o controle da higiene pessoal dos manipuladores, limpeza das conchas, dos equipamentos e utensílios utilizados durante todo o processamento (SILVA JUNIOR, 2012).

Medidas de controle para evitar contaminação dos alimentos, devem ser pautadas, na participação do manipulador, o qual é um fator de maior relevância (ARAÚJO *et al.*, 2010). Segundo Saccol (2006), toda pessoa que, direta ou indiretamente, colabore na produção de alimentos deve ser sensibilizada quanto as Boas Práticas de Manipulação (BPM), as quais têm como finalidade prevenir e evitar que os alimentos sejam contaminados por agentes físicos, químicos e biológicos.

Diante dessa perspectiva, esse estudo teve como objetivo o relato das experiências com as atividades desenvolvidas no âmbito de dois projetos desenvolvidos pelo núcleo de pesquisas INCUBA nas comunidades quilombolas da RESEX Marinha Baía do Iguape, no contexto da Segurança Alimentar e Nutricional e na perspectiva de tecnologias sociais e economia solidária.

Metodologia

Trata-se de um estudo de intervenção com cunho educativo, durante o período de junho de março de 2016, com marisqueiras pertencentes a comunidades quilombolas da RESEX Marinha Baía do Iguape, localizada no município de Cachoeira, Bahia.

Marisqueiras de cinco comunidades distintas foram convidadas por meio do Centro de Educação e Cultura do Vale do Iguape - CECVI a participar do estudo. Estas fazem parte do núcleo de maricultura desta região e estão integradas ao Programa de Fortalecimento de Empreendi-

mentos de Economia Solidária e da agricultura familiar da Incubadora de Empreendimentos Solidários e Projetos Territoriais Estratégicos.

O estudo foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, protocolo CAAE: 09931612.6.0000.0056, conforme determina a Resolução n. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Os participantes da pesquisa foram informados dos objetivos do estudo e aqueles que concordaram em participar foram convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (BRASIL, 2012).

O bivalve escolhido para as análises foi o sururu (*Mytella guyanensis*), visto ser este coletado e revendido em maior quantidade pelas marisqueiras. Os aspectos ambientais foram respeitados sendo o referido estudo aprovado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (nº 42081-1).

Para alcançar os objetivos do estudo, a pesquisa foi realizada em três etapas.

Primeira etapa: Diagnóstica

Observação da realidade

Foram realizadas visitas de campo para o acompanhamento das atividades desenvolvidas pelas marisqueiras. Esta etapa constituiu-se da observação do trabalho das marisqueiras, da participação ativa na sua rotina, registro fotográfico de hábitos e atitudes durante o desenvolvimento das atividades e escuta dos relatos espontâneos. Nas visitas, pode-se acompanhar o processo de coleta do sururu no manguezal, as etapas de processamento até o armazenamento para posterior venda e/ou consumo próprio. Nesta perspectiva, o vínculo marisqueiras–pesquisador se deu por meio da proximidade, da convivência e vivências.

O processo de observação seguiu os estágios de trabalho de campo descritos por Patton (1990):

1. Entrada em campo (negociação com os participantes sobre a natureza do trabalho a ser feito e a entrada propriamente dita);
2. Rotinização do campo (localização de informantes-chave e obtenção dos dados);
3. Encerramento do trabalho de campo (cumprimento dos interesses, análise dos dados e

devolutiva dos resultados).

As atividades de campo foram registradas pelos pesquisadores em diários de campo e analisadas, sendo os resultados utilizados na construção da intervenção educativa.

Coleta em campo de água e sururu

Para a determinação da qualidade sanitária do sururu e identificação das possíveis fontes de contaminação do produto final, foram coletadas amostras de mãos, superfície de contato dos utensílios, sururu controle, sururu desconchado (sem lavar e lavado), e da água utilizada durante o processamento.

A coleta das amostras dos utensílios, representados por faca e recipiente plástico e das mãos das marisqueiras foram realizadas utilizando a técnica do esfregaço com swabs estéreis (SILVA et al., 2007). Também foram coletadas amostras da água utilizada durante o processamento do sururu.

Amostras dos sururus controle foram coletadas, processadas assepticamente e, posteriormente, foram submetidas à análise microbiológica. Ao fim, os resultados desta análise foram comparados aos valores encontrados nas amostras advindas do processamento habitual realizado pelas marisqueiras.

Análise microbiológica

A avaliação da qualidade microbiológica do sururu foi realizada utilizando o método rápido de contagem por placas Petrifilm™ (3M Company) para quantificação de coliformes totais, *Escherichia coli* (*E.coli*) (AOAC 998.8) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (AOAC 2003.11).

A análise microbiológica de água foi obtida por meio da contagem de coliformes totais e termotolerantes em 100 mL de cada amostra utilizando o método rápido cromogênico ReadyCult descrito por Silva et al. (2007).

As amostras foram transportadas em recipiente isotérmico contendo gelo químico para o Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CCS/UFRB) onde foram realizados os ensaios.

Segunda etapa: Intervenção educativa

A construção da intervenção educativa para as marisqueiras do presente estudo teve como base a observação da rotina e a oralidade, considerando as inadequações identificadas e, sobretudo, uma associação entre a prática e o discurso das atoras, respeitando os seus saberes e particularidades. Segundo Freire (2000), não é falando aos outros, de cima para baixo, sobretudo, como se fôssemos os portadores da verdade a ser transmitida aos demais, que aprendemos a escutar, mas é escutando que aprendemos a falar com eles.

Partindo desse diagnóstico foram elaboradas atividades formativas na área de BPF, divididas em quatro módulos: Noções de microbiologia e Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA); Manipulador; Higiene dos alimentos, Ambiente e utensílios; e Beneficiamento do pescado com carga horária total de 20 horas.

As atividades formativas foram realizadas nas sedes das cinco comunidades participantes, Kaonge, Kalembá, Dendê, Engenho da Ponte e Engenho da Praia, facilitando o acesso à informação, tendo como participantes 29 marisqueiras.

A metodologia utilizada para a intervenção educativa teve como base a construção de conhecimento a partir da valorização e do resgate da experiência de vida e de trabalho das atoras, que também foram corresponsáveis no desenvolvimento das atividades.

Durante a realização da primeira oficina formativa foi elaborado um levantamento de conceitos e atitudes voltadas à produção segura de alimentos, utilizando-se as questões norteadoras: “*o que é higiene?*” ; “*você acha que o alimento pode causar doenças?*” ; “*o que entende por Boas Práticas de Manipulação?*”.

Terceira etapa: Avaliação processual da intervenção educativa

Após a sensibilização foram reaplicadas as questões norteadoras por meio das entrevistas semi estruturadas e construído o “varal de ideias” , que consiste na exposição das percepções dos sujeitos acerca do conhecimento construído ao longo das oficinas. Em seguida, estas impressões foram afixadas em barbante suspenso, representando um varal gerando uma troca de saberes entre as atoras e os pesquisadores.

Outra estratégia utilizada como processo avaliativo foi à observação das práticas das

atoras durante a festa da ostra, evento tradicional realizado na comunidade, onde as mesmas elaboraram preparações a base de sururu e ostra.

Como parte final desta etapa foi realizada novamente a coleta e análise microbiológica de amostras, observação dos hábitos das atoras durante o processamento do sururu utilizando a metodologia descrita na etapa I e a uma oficina no Centro de Ciências da Saúde da UFRB intitulada *Moluscos bivalves: ciência e o saber tradicional*. A oficina teve carga horária de oito horas e contou com a participação de 20 marisqueiras. Foi elaborada a partir de uma demanda das atoras, que solicitaram conhecer as atividades desenvolvidas nos projetos *Mulheres mariscando e pescando sonhos: inclusão social de famílias quilombolas e Inclusão social de famílias quilombolas da Bacia e Vale do Iguape (Bahia) pela melhoria do processo produtivo de ostras*. Nesta oficina foram demonstradas as técnicas de análise microbiológica e histopatológica do sururu para as marisqueiras, conforme metodologia dos projetos.

Resultados e Discussão

Observações da realidade

Ao longo das visitas realizadas nas comunidades a fim de estreitar laços e apropriar-se dos métodos utilizados no processamento do sururu, pode-se observar que esta atividade envolve saberes que são socializados ao longo de gerações, tornando-se uma identidade da região.

A metodologia utilizada para a observação dos hábitos das marisqueiras foi fundamental para o bom desempenho das atividades. Para ingressar no campo foi preciso reconhecer e respeitar a sua forma de organização; assim como identificar informantes-chave. Este processo facilitou a compreensão da realidade local e permitiu uma maior aproximação com as atoras.

As marisqueiras caminhavam das suas casas até o mangue para realizar a captura do sururu norteadas pelo horário da maré, e utilizavam baldes plásticos para armazenagem. Constatou-se que o tempo gasto para a coleta era variável, ficando os sururus até quatro horas expostos à temperatura ambiente, sendo a mariscagem finalizada apenas quando os baldes eram preenchidos.

Após a coleta dos sururus no mangue, as marisqueiras lavavam os mesmos em suas residências utilizando água proveniente de reservatório comunitário, sendo retiradas as suji-

dades aderidas às conchas. Posteriormente, estes eram submetidos à pré-cocção no fogo à lenha, utilizando na maioria das vezes uma pequena quantidade de água e um pano para cobri-lo.

Em seguida, com o auxílio de uma faca foi separada a carne das valvas, em um processo denominado pelas marisqueiras de “catação”. Por fim, os sururus passavam por uma segunda lavagem e eram armazenados em sacos plásticos e congelados em refrigerador doméstico ou *freezer* para o consumo próprio e/ou comercialização.

O acompanhamento da rotina da mariscagem permitiu observar que as manipuladoras não dispõem de uma estrutura física e técnicas seguras para o processamento do sururu. Não obstante, Ribeiro e Martins (1995) destacam que os produtos tradicionais são denominados produtos com história, pois se constituem e fazem parte da história social de uma determinada cultura. A produção desses alimentos é uma arte construída ao longo do tempo por meio da tradição familiar. Mesmo processando o sururu de forma artesanal, é possível produzi-lo de forma adequada, desde que seja pautado nas BPM, garantindo desta maneira um produto final com qualidade higiênico-sanitária.

Análise microbiológica das etapas do processamento do sururu

Os resultados da análise microbiológica das mãos dos manipuladores estão descritos no Quadro 1. Observou-se que antes da intervenção educativa, 100% das amostras de mãos apresentaram populações de *S. aureus* em quantidade suficientemente patogênica, considerando a referência de $< 10^2$ UFC/mão (SILVA JUNIOR, 2014), o que indica ineficácia higiênico-sanitária em todas as comunidades avaliadas. No entanto, após a intervenção foi constatada uma redução da carga microbiana em relação a esse micro-organismo. Este fato indica mudanças nos hábitos higiênicos, haja vista que foi demonstrado pelas participantes, maior preocupação com a qualidade higiênico-sanitária do sururu, bem como algumas mudanças de postura quanto a adoção de BPM.

As BPM são procedimentos que devem ser adotados por manipuladores de alimentos a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária (BRASIL, 2004). O objetivo das BPM é evitar a ocorrência de doenças provocadas pelo consumo de alimentos contaminados, seja de origem biológica, física ou química, além de favorecer a manutenção das características sensoriais e nutricionais dos alimentos. Somam-se

a isso menores perdas econômicas devido à baixa qualidade alimentos.

Quanto à presença de *E. coli*, antes da intervenção, nenhuma das amostras de mãos apresentou contagem superior a 10^1 UFC/mão para este micro-organismo, e este valor foi mantido após a capacitação. Na ausência de padrões legais para contagens microbianas em mãos de manipuladores de alimentos, considera-se nível aceitável de contaminação a contagem inferior a 10^2 UFC/mão para *E. coli* (LITZ et al., 2007). Os valores encontrados para coliformes totais para as mãos das marisqueiras também se mantiveram estáveis após a intervenção educativa, porém $\geq 10^2$ UFC/mão em 50% das amostras analisadas (Quadro 1). A presença destes micro-organismos nas mãos de manipuladoras sinaliza a possibilidade da contaminação dos alimentos processados por elas. Dessa forma este resultado reforça a necessidade de elaboração de estratégias para apropriação do conhecimento a cerca desta temática pelas atoras, de forma que as mesmas além de apreenderem a temática, consigam praticá-las na sua realidade e, deste modo, colaborando para garantia de um alimento seguro.

Comparando os resultados obtidos na análise com amostras de mãos de outros manipuladores, foi possível observar que as marisqueiras apresentavam contagens superiores aos relatados por Kochanski et al. (2009) indicando ineficiência nas técnicas de processamento e nos procedimentos de higienização praticados.

Por meio da análise dos utensílios utilizados no processamento do sururu (faca e recipiente) anterior à intervenção, 100 % estavam contaminados por *S. aureus* e 11,11% por *E. coli*. Após a realização da intervenção houve uma redução nos valores encontrados dos mesmos. Para análise dos equipamentos e utensílios de preparação, Silva Jr. (2014) recomenda ausência de *S. aureus* e *E. coli* em 50 cm^2 da amostra.

É possível concluir que com a melhoria nas condições de higiene que houve redução da população de coliformes totais, *E. coli* e *S. aureus* nos utensílios analisados, porém apesar dessa redução, após a intervenção educativa a análise microbiológica dos utensílios para *S. aureus* persistiram em desacordo com Silva Jr. (2014).

A precariedade das instalações e condições dos utensílios onde eram realizadas as atividades de processamento do sururu pôde favorecer aos resultados das análises. Sugere-se um estudo da formalização do trabalho realizado pelas marisqueiras através da organização de unidades de beneficiamento de mariscos capturados na região, colaborando para a garantia

Quadro 1: Análise microbiológica da superfície de contato dos utensílios e das mãos das marisqueiras de sururu antes e após a intervenção educativa, 2013.

Marisqueiras/ Amostras		C. totais*	E. coli*		S. aureus*	
		Antes – Depois	Antes - Depois		Antes - Depois	
A	Mão	$4,6 \times 10^2$ - 3×10	< 10 -	< 10	$1,7 \times 10^4$ -	$2,2 \times 10^2$
	Recipiente	$1,0 \times 10^1$ - < 10	< 10 -	< 10	$1,8 \times 10^2$ -	3×10^1
	Faca	$1,0 \times 10^1$ - < 10	< 10 -	< 10	1×10^3	- 1×10^2
B	Mão	$1,0 \times 10^1$ - < 10	< 10-	< 10	$1,2 \times 10^3$ -	3×10^1
	Recipiente	< 10- < 10	< 10-	< 10	1×10^1	< 10
	Faca	< 10- < 10	< 10-	< 10	$1,1 \times 10^2$ -	$2,1 \times 10^2$
C	Mão	5×10^1 - 1×10^2	< 10-	< 10	9×10^3	1×10^3
	Recipiente	$4,0 \times 10^4$ - 1×10^1	1×10^2 -	< 10	$4,4 \times 10^3$ -	1×10^1
	Faca	2×10^2 - < 10	< 10-	< 10	$2,1 \times 10^3$ -	3×10^1
D	Mão	$1,8 \times 10^2$ - $2,7 \times 10^2$	< 10-	< 10	$1,7 \times 10^3$ -	4×10^1
	Recipiente	$1,9 \times 10^3$ - 5×10^1	< 10-	< 10	$1,0 \times 10^1$	- < 10
	Faca	1×10^1 - $8,6 \times 10^2$	< 10-	< 10	3×10^1	- 2×10^1

da qualidade sanitária desse alimento, bem como, a agregação de valor ao produto final, o que tornaria uma atividade mais rentável para as comunidades.

Em relação à qualidade microbiológica das amostras de água, 100% das amostras analisadas apresentaram presença de coliformes totais antes e após a intervenção educativa, e 66,66% demonstraram presença de *E. coli* antes e 100% após a intervenção educativa. De acordo com os padrões de potabilidade da água para consumo humano presentes na Portaria nº 2914/2011, a água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede) deve apresentar ausência em 100 mL de *E. coli*, e em relação aos coliformes totais esta portaria determina o

padrão de ausência em 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês (BRASIL, 2011).

O resultado desta análise pode estar associado às condições de distribuição da água para as comunidades, que apesar das comunidades possuírem um sistema próprio de abastecimento de água potável, a maioria dos domicílios não possui um sistema de captação próprio e nem instalações hidráulicas. A água é armazenada em reservatório aberto no ambiente para o uso geral e para cozinhar e beber, as marisqueiras armazenam a água em recipientes específicos e os guardam dentro de seus domicílios.

Apesar da presença de *E. coli* nas amostras de água, não foi possível estabelecer que a água das comunidades tenha sido uma fonte de contaminação no processamento do sururu, considerando a diversidade dos métodos microbiológicos utilizados, pois o limite mínimo de detecção do método para amostras de água apresenta maior sensibilidade, comparado ao método para análise de alimentos.

Em relação às análises microbiológicas do sururu, este quando obtido desconchado pelas marisqueiras apresentou 33,33 % das amostras com valores insatisfatórios para *S. aureus* antes da intervenção, de acordo com valores preconizados pela RDC n° 12/2001 (BRASIL, 2001) e este valor se manteve alto após à intervenção educativa (Quadro 2), Acredita-se que a contaminação por *S. aureus* no sururu tem como principal fonte as mãos das marisqueiras durante o processamento, considerando os resultados encontrados na análise microbiológica das mãos e utensílios.

O sururu sem lavar foi o que apresentou maiores valores de contaminação por *S. aureus* anterior e posterior ao processo de intervenção.

A presença de coliformes totais apresentou inicialmente resultados superiores a 10^1 UFC/g em 50% das amostras analisadas, contudo a análise final demonstrou resultados satisfatórios, haja vista que nenhuma amostra apresentou quantidade superior a 10^1 UFC/g.

Quadro 2: Análise microbiológica do sururu processado pelas marisqueiras antes e após a intervenção educativa, 2013.

Comunidade/Amostras		C. totais (UFC/g)		E. coli (UFC/g)		S. aureus (UFC/g)	
		Antes -	Depois	Antes -	Depois	Antes -	Depois
A	<i>In natura</i>	1,2 × 10 ² -	2 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	1 × 10 ¹ -	1 × 10 ¹ ×
	Sem lavar	< 10 -	6 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	5,1 × 10 ² -	2 × 10 ³ ×
	Lavado	< 10 -	2 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	2,3 × 10 ² -	1 × 10 ³ ×
B	<i>In natura</i>	< 10 -	< 10	< 10 -	< 10	1 × 10 ¹ -	1 × 10 ¹ ×
	Sem lavar	< 10 -	< 10	< 10 -	< 10	1,0 × 10 ³ -	1 × 10 ³ ×
	Lavado	< 10 -	1 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	1,9 × 10 ² -	5 × 10 ¹ ×
C	<i>In natura</i>	2 × 10 ¹ -	1 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	< 10 -	< 10
	Sem lavar	1 × 10 ³ -	1 × 10 ¹ ×	< 10 -	< 10	8 × 10 ³ -	1 × 10 ³ ×
	Lavado	4,9 × 10 ³ -	5 × 10 ¹ ×	1 × 10 ² -	< 10	1,5 × 10 ³ -	1,5 × 10 ² ×
D	<i>In natura</i>	< 10 -	< 10	< 10 -	< 10	< 10 -	10
	Sem lavar	4 × 10 ¹ -	< 10	< 10 -	< 10	1,2 × 10 ³ -	1,9 × 10 ² ×
	Lavado	1,6 × 10 ² -	< 10	< 10 -	< 10	3 × 10 ² -	4,0 × 10 ² ×

Inicialmente, 8,33% das amostras estudadas apresentaram uma população de *E. coli* igual a 1×10^2 UFC/g, por fim, todas as amostras mostraram-se com uma população deste micro-organismo inferior a 10 UFC/g.

Já as amostras de sururu obtidas em conchas e desconchado em laboratório (sururu controle), estavam de acordo com os valores recomendados por Brasil (2001) e Brasil (2012). Corroborando com o estudo realizado por Nascimento *et al.* (2011), o qual também avaliou moluscos adquiridos em conchas e realizou o processo de pré cocção dentro das boas práticas de higiene, e obteve ausência de *S. aureus*, coliformes totais e *E. coli*, comprovando que o tratamento térmico quando realizado em condições higiênicas satisfatórias e de forma eficiente diminui a carga microbiana inicial presente nos alimentos.

O sururu proveniente da comunidade C foi o único a apresentar condições impróprias para consumo e comercialização, por revelar valores acima de 10^3 UFC/g para *S. aureus*, tanto no sururu sem lavar quanto no sururu lavado.

Diante do exposto pode-se afirmar, que a contaminação do sururu por *S. aureus*, se deu através das mãos das manipuladoras durante o processamento do sururu, devido a não utilização de práticas de higiene adequadas e do desconhecimento da probabilidade de serem portadoras assintomáticas de micro-organismos, bem como, pela recontaminação por meio do contato com os utensílios mal higienizados, levando a riscos de intoxicação alimentar.

Ressalta-se a qualidade higiênico-sanitária como um fator de segurança dos alimentos, uma vez que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) tem aumentado consideravelmente, possivelmente como consequência da falta de conhecimento e/ou negligência dos manipuladores de alimentos quanto as BPM (STEFANELO, LINN e MESQUITA, 2009).

Assim, sugere-se a continuação do desenvolvimento de intervenções educativas, com o intuito de melhorar a qualidade sanitária do ambiente de processamento e como consequência a qualidade do sururu vendido pelas marisqueiras.

Avaliação da intervenção educativa

No presente estudo, observou-se, ao longo da atividade educativa, uma participação efetiva das atoras, bem como a apreensão do conhecimento sobre a qualidade dos alimentos, apesar da dificuldade em ler, apresentada pela maioria delas. Fato este superado pela metodologia aplicada nas atividades utilizando estratégias educativas adaptadas ao nível de escolaridade e à realidade dos sujeitos, construídas com e para as atoras.

Durante as atividades, foram utilizadas dinâmicas que proporcionaram alívio às tensões do grupo, incentivo à integração das atoras e quebra da seriedade do momento, tornando-o prazeroso e de máximo aproveitamento. Além disso, essas estratégias permitiram a avaliação do aprendizado como, por exemplo, a dinâmica de lavagem de mãos e higienização dos alimentos.

Ressalta-se que para construção do conhecimento, independente da temática abordada, devem ser respeitados os aspectos culturais, hábitos de vida, experiências anteriores e entendimento prévio das atoras, para que as mesmas compreendam e se posicionem como

seres ativos no processo de aprendizagem.

O material didático incluiu a representação da realidade com fotografias das atoras, dos alimentos produzidos e do local de trabalho, sendo de suma importância a transposição do conteúdo para as práticas do cotidiano, o que permitiu que as mesmas se reconhecessem nas imagens, tornando o processo de aprendizagem mais dinâmico e prático.

Após a realização das atividades formativas, foram reaplicadas as questões norteadoras iniciais às atoras, sendo que a construção do varal de ideias evidenciou a mudança de conceitos após a formação e as atoras começaram a associar alimentos com micro-organismos e estes como causadores de doenças (Figura 1).

Dentre as medidas aplicáveis na prevenção de DTA, destacam-se ações formativas continuadas junto aos manipuladores de alimentos, considerando os saberes e práticas de cada ator (GOES et al., 2001; FIGUEIREDO, 2000).

Os resultados obtidos indicam que o processo de intervenção deve ser constituído de uma prática fundamentada no diálogo em que os atores envolvidos sejam agentes na construção dos saberes, permitindo que este processo seja socializado e apreendido. Ressalta-se que a utilização de abordagens participativas neste estudo, foi imprescindível para ampliação e troca de saberes entre as atoras e os pesquisadores e melhor adesão às atividades desenvolvidas.

Figura 1: Varal de ideias utilizado em intervenção educativa na RESEX Baía do Iguape, Bahia.



Fonte: arquivo do projeto.

Acompanhando a rotina das marisqueiras após a intervenção educativa, pode-se verificar uma melhoria nos hábitos durante a manipulação e algumas mudanças como o uso de touca descartável ou lenço para proteger os cabelos no momento de coleta de amostras.

Durante a Festa da Ostra, evento tradicional realizado na comunidade, o qual apresenta a cultura quilombola e degustações de alimentos típicos preparados pelas marisqueiras, foi observado o uso de protetor capilar e luvas (Figura 2), bem como, a adoção de práticas higiênicas adequadas durante o preparo e distribuição das refeições, estando em conformidade com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2004).

No entanto, mesmo após a intervenção, verificou-se a continuidade de algumas inadequações na técnica de lavagem de mãos e utensílios durante a rotina. As marisqueiras continuaram a lavar as mãos apenas com água, o que justifica os resultados das análises microbiológicas das mãos e utensílios descritas anteriormente. Destaca-se que a correta higiene das mãos pode diminuir o risco de contaminação dos alimentos por micro-organismo, como *E. coli*. Este fato reforça a necessidade de realização de atividades formativas periódicas por considerar que a mudança de hábito por vezes é um processo demorado, dependente da apreensão e incorporação à rotina diária.

Figura 2: Refeição típica elaborada pelas marisqueiras, RESEX Baía do Iguape, Bahia.



Fonte: arquivo do projeto.

Contudo, as visitas de observação podem não ter sido suficientes para uma maior abrangência dos seus hábitos, tendo em vista que a presença dos pesquisadores podem ter provocado mudanças na forma agir; sendo uma limitação do presente estudo, sugerindo maior número de

visitas com o objetivo de reduzir este viés.

Os hábitos observados durante o processamento habitual do sururu fazem parte do costume das marisqueiras, para mudá-los é preciso de um espaço de tempo e, sobretudo, a criação de novos hábitos em substituição aos antigos. Para Santos et al. (2012), a mariscagem é uma atividade secularmente desenvolvida, envolve saberes adquiridos pelo lidar diário com o meio, bem como relações de parentesco, solidariedade e companheirismo.

De acordo com as novas necessidades, o conhecimento adquirido se (re)cria ao longo do tempo e confere referências amparadas na tradição, valores e hábitos, que são transformados (RAMALHO, 2007). Assim sendo, não é possível realizar mudanças sem que haja a sensibilização, acompanhada de uma avaliação periódica e diálogos frequentes com as mesmas (VICENTE et al., 2009).

Considerações Finais

Considerando a redução da carga microbiana do sururu, dos utensílios e das mãos das marisqueiras após a intervenção educativa sugere-se que houve mudança nos hábitos das marisqueiras observados, além da apreensão de novos saberes. As marisqueiras associaram higiene à limpeza pessoal e do ambiente e perceberam as BPM como uma forma segura de manipular o sururu, objetivando um produto final seguro.

As atividades formativas mostraram-se uma alternativa coletiva de transformação social e (re)significação da SAN, na qual a melhoria do processo produtivo foi feita a partir das experiências das atoras do núcleo de mariscagem, aliando ao saber científico na área.

Sendo assim, as intervenções educativas podem propiciar o fortalecimento e organização produtiva das famílias quilombolas, garantindo produção segura do sururu e redução do risco à saúde da população e dos consumidores desse bivalve. Contudo, vê-se também a necessidade de melhoria na estrutura física para a garantia de qualidade.

Diante da relevância da mariscagem para as comunidades quilombolas estudadas e para a SAN das famílias quilombolas, atividades periódicas de capacitação devem ser realizadas a fim de minimizar os riscos associados ao consumo deste alimento de grande valor cultural.

Referências

ARAÚJO, W.D.B., ALMEIDA, M.E.F., SANTOS, C.E.M., PIZZIOLLO, V.R. Avaliação do conhecimento de manipuladores de alimentos quanto às Boas Práticas de Fabricação. *Vivências*, v.6, n.9, p.67-73, 2010.

BRASIL. Decreto-Lei s/nº de 11 de agosto de 2000. Cria a Reserva Extrativista Marinha da Baía do Iguapé, nos Municípios de Maragogipe e Cachoeira, Estado da Bahia, e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 ago. 2000.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 12, 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 set. 2004.

_____. Decreto-lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (SISAN) com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada, e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 set. 2006.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. (**Série B. Textos Básicos de Saúde**). Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 212 p.

_____. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Norma de qualidade da água para consumo humano. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 dez. 2011.

_____. Ministério da pesca e agricultura. Instrução Normativa interministerial nº 7, de 08 de maio de 2012. Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves

(PNCMB), estabelece os procedimentos para a sua execução e dá outras providências. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 maio. 2012.

_____. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 jun. 2012.

BURLANDY L. A construção da política de segurança alimentar e nutricional no Brasil: estratégias e desafios para a promoção da intersetorialidade no âmbito federal de governo. **Ciênc. Saúde Coletiva**; v.14, n.3, p.851-860, 2009.

CAMILO, V.M.A, FREITAS, F, NEIVA, G.S., COSTA, T.S., SILVA, I.M.M. Processamento artesanal de sururu (*Mytella guyanensis*) pelas marisqueiras da RESEX Baía do Iguape: avaliação da qualidade antes e após intervenção educativa. **Vigil. sanit. debate**, v.4, n.4, p.34-42, 2016. doi: 10.3395/2317-269X.00825.

FIGUEIREDO, R.M. **SSOP: padrões e procedimentos operacionais de sanitização; PRP: Programa de redução de patógenos; manual de procedimentos e desenvolvimento**. São Paulo: Manole, 1999. 164 p.

FREIRE, Paulo. **Pedagogia da Autonomia**. 15^a. ed. São Paulo: Paz e Terra, 2000.

GÓES, J.A.W.; FURTUNATO, D.M.N.; VELOSO, I.S.; SANTOS, J.M. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n.82, p.20-22, 2001.

HATJE, V. ANDRADE, J.B. **Baía de Todos os Santos: aspectos oceanográficos**. 1^a ed. Salvador: EDUFBA, 2009.

KOCHANSKI, S.; PIEROZAN, M.K.; MOSSI, A.J.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.L.; GHISLENI C.P.; TONIAZZO, G. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Alim Nutr**; v.20, n.4, p.663-668, 2009.

LITZ, V.M.; RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.; PILOTT, F. Anti-sepsia de mãos na indústria de carnes: avaliação da clorhexidina, triclosan e iodóforo na redução da contaminação microbiana

em manipuladores. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.321-326, 2007.

NAÇÕES UNIDAS. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). **Interação do Gênero, da Agrobiodiversidade e dos Conhecimentos Locais ao Serviço da Segurança Alimentar**, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/009/y5956p/y5956p00.HTM>> Acesso em: 02 dez. 2014.

NASCIMENTO, V.A.; MITTARAQUIS, A.S.P; TRAVÁLIA, B.M.; SANTOS, R.

C.A.; NUNES, M.L.; AQUINO, L.C.L. Qualidade microbiológica de moluscos bivalves - sururu e ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, v.7, n.4, 2011.

OTT, C.F. Os elementos culturais da pescaria baiana. **Boletim do Museu Nacional**. n.4, p.1-65, 1944.

PATTON, M.Q. **Qualitative evaluation and research methods**, 2ª ed. Beverly Hills: Sage Publications, 1990.

PENA, P.G.L.; FREITAS, M.C.S.; CARDIM, A. Trabalho artesanal, cadências infernais e lesões por esforço repetitivo: estudo de caso em uma comunidade de marisqueiras na Ilha de Maré, Bahia. **Ciência & Saúde Coletiva**; v.16, n.8, p.383-392, 2011.

PEREIRA, C.S.; POSSAS, C.A.; VIANA, C.M.; RODRIGUES, D.P. *Vibrio* spp. isolados a partir de mexilhões (*Perna perna*) in natura e pré-cozidos de Estação Experimental de Cultivo, Rio de Janeiro-RJ, Brasil. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.27, n.2, p.387-390, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-0612007000200030&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 out. 2014.

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

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

RAMALHO, C.W. Ah, esse povo do mar! Um estudo sobre trabalho e pertencimento na pesca artesanal pernambucana. **Ruris**, v.1, n.2, 2007. Disponível em: <<http://www.ifch.unicamp.br/ojs/>

index.php/ruris/article/view/657/524>. Acesso em: 05 nov. 2014.

RIBEIRO, M.; MARTINS, C. A tradição já não é o que era dantes: a valorização dos produtos tradicionais face à mudança social. **Economia e Sociologia**, n.60. p.29-43,1995.

SACCOL, A.L.F.; RUBIM, B.A.; MESQUITA, M.O.; WELTER, L.; Importância de treinamento de manipuladores em boas práticas. **Disc. Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v.7, n.1, p.91-99, 2006.

SANTOS, E.A.; ARAGÃO, C.O.M.; MELO & SOUZA R. Tecendo as redes entre natureza e sociedade: os desafios das mulheres pescadoras em Sergipe. **Revista Fronteiras**, v.1, n.1, 2012. Disponível em: <<http://revistas.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/article/view/272>>. Acesso em: 18 out. 2014.

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

SILVA, D.O.; GUERREIRO, A.F.H.; GUERREIRO, C.H.; TOLEDO, L.M. A rede de causalidade da insegurança alimentar e nutricional de comunidades quilombolas com a construção da rodovia BR-163, Pará-Brasil. **Rev. Nutr.**,v.21, 2008.

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**. 3ª ed. São Paulo: Varela; 2007. 536 p.

SILVA-NETA, M.T., MACIEL, B.M., LOPES, A.T.S., MARQUES, E.L.S., REZENDE, R.P. and BOEHS, G. Microbiological quality and bacterial diversity of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in a monitored farming system and from natural stocks. **Genetics and Molecular Research**, n.14, p.15754-68, 2015.

SOUTO, F.J.B.; **A ciência que veio da lama: uma abordagem etnoecológica abrangente das relações ser humano/manguezal na comunidade pesqueira de Acupe, Santo Amaro-BA**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos; São Paulo, 2004.

STEFANELLO, C.L.; LINN, D.S.; MESQUITA, M.O. Percepção sobre Boas Práticas por cozinheiras e auxiliares de cozinha de uma UAN do noroeste do Rio Grande do Sul. **Revista Vivências**, v.5, n. 8, p.93-98, 2009.

VICENTE, A.N.C.; BERNARDIN, B.N.; BARBOSA, J.R.; PINTO, M.A.S. Aplicação de treinamento sobre Boas Práticas de Manipulação de Alimentos em uma Unidade de Alimentação e Nutrição Hospitalar. **Revista Nutrição em Pauta**, v. 17, n. 5, p.56-60, 2009.

Mini currículo dos Organizadores

Todos os organizadores integram o Núcleo de Segurança Alimentar e Nutricional (SANUTRI) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (CCS/UFRB) e possuem experiência na formação de recursos humanos científicos de graduação à pós-graduação e publicações em diferentes revistas indexadas em bancos de dados com divulgação mundial e com experiência na condução de projetos de pesquisa e extensão fomentados por agências nacionais e na promoção de eventos.

Autora

Ana Lúcia Moreno Amor

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal da Bahia (1998); mestrado em Patologia Humana pelo Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (2002) e doutorado em Biotecnologia em Saúde pelo Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste em Biotecnologia (2014). É professora adjunto II do CCS/UFRB, onde colaboradora com o Mestrado em Microbiologia Agrícola, ocupou o cargo de gestora de ensino, exerce o cargo de gestora de extensão e coordena o Grupo de Estudo em Parasitologia Humana (GEPaH). É membro dos grupos de pesquisa do CNPq: (1) Doenças Infeciosas, Parasitárias e Crônicas (DIPAC) e (2) Saúde, Alimentos, Nutrição e Ambiente (SANA) / UFRB. Atua na área de Ciências Biológicas e da Saúde, com ênfase em Parasitologia Básica e Clínica, Imunoparasitologia, Alergia, Biointeração, Biotecnologia, Segurança Alimentar e Educação para a Saúde.

Co-Autor 1

Fábio Santos de Oliveira

possui graduação em Licenciatura em Química Aplicada (1998); mestrado em Química (2001); doutorado em Química Analítica (2005) e pós-doutorado na área de Química (2006) – todos pela Universidade Federal da Bahia. Atualmente é professor associado I do CCS/UFRB onde exerceu os cargo de Vice-Diretor de Centro. Participa dos grupos de pesquisa do CNPq: (1) Laboratório de Automação e Instrumentação Analítica (como líder) e (2) SANA (como membro) - UFRB. É revisor dos periódicos Journal of the Brazilian Chemical Society, Microchimica Acta, Quimica Nova, Talanta, Food Analytical Methods e Food Chemistry. Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Instrumentação Analítica, atuando principalmente nos seguintes temas: análises de traços químicas ambientais, análise química de alimentos e bebidas, desenvolvimento de métodos espectrofotométricos de análise química, automação analítica, instrumentação e Quimiometria.

Co-Autora 2

Isabella de Matos Mendes da Silva

Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia (1996) e em Turismo pela Faculdade de Turismo da Bahia (1992); mestrado em Nutrição pela Universidade Federal da Bahia (2000) e doutorado em Ciência Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2009). É professora adjunta do CCS/UFRB e do Mestrado em Microbiologia Agrícola da UFRB. Atualmente Coordenadora de Pesquisa da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação, Criação e Inovação da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB); compõe a Incubadora de Empreendimentos Solidários - INCUBA/UFRB da Rede UNITRABALHO e lidera os grupos de pesquisa do CNPq: Doenças Infecciosas, Parasitárias e Crônicas (DIPAC) e Saúde, Alimento, Nutrição e Ambiente (SANA) - UFRB. Tem experiência na área de Ciências Agrárias, atuando principalmente nos seguintes temas: Microbiologia Básica e dos Alimentos e Higiene e Controle Sanitário de Alimentos.

Co-Autor 3

Marcilio Delan Baliza Fernandes

Possui graduação em Ciências Biomédicas pela Universidade Federal de Pernambuco (1995); mestrado em Genética pela Universidade Federal de Pernambuco (1999); doutorado em Ciências (Biologia Molecular) pela Fundação Oswaldo Cruz (2007) e pós-doutorado pela Universidade do Algarve, UALG, Portugal (2016). É professor Associado do CCS/UFRB, onde ocupou os cargos administrativos como Pró-Reitor de Planejamento, Chefe de Gabinete do Reitor e Gestor de Pesquisa. Participa dos grupos de pesquisa do CNPq: (1) Doenças Infecciosas, Parasitárias e Crônicas – DIPAC (como líder) e (2) Bioprodutos e Processos Aplicados à Nutrição Humana – BIONUTRI (como membro) - UFRB. Tem experiência na área de Genética com ênfase em Biologia Molecular e Epidemiologia Molecular, Genética Molecular e de Microorganismos, atuando principalmente na caracterização genética de micobactérias e enterobactérias e em projetos relacionados com polimorfismo genético associado a doenças crônicas não degenerativas.

Co-Autor 4

Ricardo Mendes da Silva

Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia (2008) e em Turismo pela Faculdade de Turismo da Bahia (1992); especialista em Docência do Ensino Superior pela Associação Baiana de Educação e Cultura (2006), mestrado em Ciência Animal pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (2011) e doutorado em Biociência Animal pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2015). É professor adjunto do CCS/UFRB. Foi Diretor Técnico da Vigilância à Saúde da Prefeitura Municipal de Santo Antônio de Jesus (Bahia) (2010-2014). É membro dos grupos de pesquisa do CNPq / UFRB: (1) Doenças Infecciosas, Parasitárias e Crônicas (DIPAC), (2) Saúde Pública Veterinária e (3) Saúde, Alimento, Nutrição e Ambiente (SANA). Tem experiência na área de microbiologia, parasitologia, biologia molecular e agroecologia.

Co-Autora 5

Sibele de Oliveira Tozetto Klein

Possui graduação em Biologia (1991) e doutorado em Biologia do Desenvolvimento (1997), ambos pela Eberhard Karls Universität Tübingen, Alemanha e pós-doutorado no Departamento de Genética da Universidade de São Paulo (2003). É professora adjunto do CCS/UFRB, onde é membro do Núcleo Docente Estruturante do curso de Medicina e Bacharelado Interdisciplinar em Saúde. Ocupa o cargo de chefe do Núcleo de Projetos Estratégicos da Superintendência para Assuntos Internacionais e coordena o Programa Ciências sem Fronteiras e Idiomas sem Fronteiras na UFRB. Participa dos Programas de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB) e em Tecnologias em Saúde (Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública). É membro dos grupos de pesquisa do CNPq: (1) Doenças Infecciosas, Parasitárias e Crônicas (DIPAC); (2) Saúde, Alimento, Nutrição e Ambiente (SANA) / UFRB e (3) Grupo de Estudos em Bioprospecção e Estresse Oxidativo: Educação, Ciências, Tecnologias e Saúde / UEAP. Tem experiência na área de Ciências Morfofuncionais, Biologia do Desenvolvimento, Embriologia e Genética, atuando principalmente nos seguintes temas: Embriologia Humana, Medicina Fetal, Desenvolvimento de Técnicas Histológicas, Análises teciduais em diferentes classes animais e em seres humanos e em projetos relacionados com polimorfismo genético associado a doenças crônicas não degenerativas.

MINISTÉRIO DA
EDUCAÇÃO



Editora UFRB

ISBN 978-855971048-9



9

788559

710489