

Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* nas Etapas de Beneficiamento de Ostras (*Crassostrea rhizophorae*), Cultivadas na Baía de Todos os Santos - BA, e Determinação dos Pontos Críticos de Controle

Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in the Stages of Oysters Improvement (*Crassostrea rhizophorae*), Cultivated in the Baía de Todos os Santos - BA, and Determination of the Critical Control Points

Leticia de Alencar Pereira Rodrigues^{a*}; Celso Duarte Carvalho Filho^b

^a Centro de Tecnologia Pedro Ribeiro, SENAI, BA, Brasil

^b Departamento de Bromatologia, Agrícola da Universidade Federal da Bahia, BA, Brasil

* E-mail: letialencar@gmail.com

Recebido: 10 de Outubro de 2010. Aceito: 22 de Março de 2011.

Resumo

O consumo de moluscos, especialmente ostras cruas, é prática crescente em todas as regiões litorâneas do Brasil, podendo representar riscos à saúde pública. Este artigo objetivou determinar *Vibrio parahaemolyticus* em ostras ao longo da cadeia produtiva, avaliar quantitativamente sua provável ingestão através do consumo de ostras cruas e identificar os pontos críticos de controle (PCC) com foco neste perigo biológico. Três amostras de cada etapa do processamento, contendo cada uma 15 ostras (*Crassostrea rhizophorae*), fizeram parte das sete coletas realizadas entre janeiro de 2008 a fevereiro de 2009, em Santiago do Iguape, Cachoeira-BA. O Número Mais Provável (NMP/g) de *V. parahaemolyticus* nas amostras de ostra na etapa de cultivo, após o transporte, após a depuração e na etapa de consumo variou de <3 a $3,5 \times 10^2$, <3 a $4,7 \times 10^2$, <3 a $5,5 \times 10^2$, <3 a $3,3 \times 10^5$, respectivamente. Em termos de avaliação da exposição humana associada ao consumo, a estimativa de *V. parahaemolyticus*/porção de ostras variou de $4,4 \times 10^2$ a $6,7 \times 10^4$ NMP/porção de ostra. Os pontos críticos encontrados na cadeia produtiva de ostras foram dois, nas etapas: PCC 1 (após a depuração) e PCC 2 (exposição para o consumo). Verificou-se que a população de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras é maior após a etapa de depuração e no momento do consumo do que na etapa de cultivo, indicando falhas no processo de depuração e a necessidade da implantação dos sistemas de controle de qualidade como Boas Práticas de Fabricação e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.

Palavras-chave: *Vibrio parahaemolyticus*. *Crassostrea*. Análise dos Perigos em Pontos Críticos e de Controle.

Abstract

The consumption of shellfish, especially raw oysters, is a growing practice in all littoral regions of Brazil and can represent serious risks to public health. In the present study aimed to determine *Vibrio parahaemolyticus* in oysters along the production chain, quantitatively assess the probable ingestion of *V. parahaemolyticus* by eating raw oysters and to identify critical control points (CCP), focusing on this biological hazard. Three samples of each stage of processing, each containing 15 oysters (*Crassostrea rhizophorae*), were part of seven samples collected between January 2008 and February 2009 in Santiago, Iguape Cachoeira-BA. The most probable number (MPN / g) of *V. parahaemolyticus*, in oyster samples in the stage of growing, after transport, and after purification at the stage of consumption varied from <3 to 3.5×10^2 , <3 to 4.7×10^2 , <3 to 5.5×10^2 , <3-3, 3×10^5 , respectively. In terms of human exposure assessment associated with the consumption, the estimate of *V. parahaemolyticus* / portion of oysters ranged from 102 to $6.7 \times 4.4 \times 10^4$ MPN / portion of the oyster. The critical control points found in the productive chain of oysters were two steps: CCP 1 (after purification) and CCP 2 (exposure to consumption). By the results it appears that the population of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters is greater after the purification step and the time of consumption than in the stage of growing, indicating failures in the debugging process and the need for implementation of control systems quality and Good Manufacturing Practices and Hazard Analysis and Critical Control Points.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*. *Crassostrea*. Hazard Analysis and Critical Control Point.

1 Introdução

A distribuição geográfica da ostra nativa *C. rhizophorae* abrange a região sul do Caribe, Venezuela, Suriname e Brasil até o Uruguai, podendo alcançar até 120 mm de comprimento¹. Ela vive em águas de salinidade entre 32,9 e 44,02‰, temperaturas variando entre 25 e 30 °C e tem alto potencial de fecundidade, reproduzindo-se durante todo ano².

A capacidade de filtração da ostra pode atingir 10 litros de água por hora e cerca de 200 litros por dia. Por esta característica e pelo processo de bioacumulação, as ostras são reconhecidas como reservatório de vários microrganismos e podem acumular bactérias patogênicas naturais do ambiente marinho, tais como *V.*

cholerae, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, e microrganismos de origem fecal, principalmente *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli* e vírus entéricos³.

O *Vibrio parahaemolyticus* é um agente patogênico humano que ocorre naturalmente nos ambientes marinhos. É frequentemente isolado a partir de peixes, polvos, camarões, caranguejos, lagostas, ostras e vieiras⁴, sendo uma das principais espécies do gênero *Vibrio* que tem sido reconhecida como patógeno relevante distribuído nas regiões costeiras de clima temperado e tropical em todo o mundo⁵. A ocorrência deste patógeno nem sempre está associada à presença de organismos indicadores, mas às alterações físico-químicas do

ambiente, como pH, salinidade e temperatura⁶.

O risco de doenças infecciosas oriundas do consumo de moluscos é problema amplamente reconhecido há vários anos, tanto pela indústria de alimentos, quanto pelas agências de saúde. Nos Estados Unidos, de todos os casos de doenças alimentares, o consumo de moluscos e de outros frutos do mar respondeu por 10-19% dos casos, sendo que 9% vão a óbito. Em quinze anos de estudos sobre surtos dessas doenças em Nova Iorque, os frutos do mar foram indicados como veículos de transmissão em 19% dos casos. Os moluscos bivalves (ostras e mexilhões) foram responsáveis por 64% das intoxicações. O agente causador pôde ser confirmado em 44% desses surtos e, destes, 47% foram causados por vírus e 9% por bactérias⁷.

Os métodos de processamento têm sido o principal fator na redução das doenças relacionadas ao consumo de moluscos. As técnicas mais efetivas incluem o cozimento, a transposição, a depuração e alta pressão hidrostática. Esses métodos são praticados em diversos países europeus, assim como Estados Unidos, Austrália e Canadá⁸.

Em cultivos de moluscos bivalves a depuração é o mais usado. Este método é praticado há aproximadamente 100 anos e iniciou-se com a associação de surtos de febre tifóide ao consumo de moluscos crus no Reino Unido⁹. O princípio do processo é a manutenção dos moluscos, por determinado tempo, em contato com água limpa sob condições controladas, a fim de que, através do processo de filtração (bombeamento da água pelo molusco), os patógenos presentes nos tecidos sejam excretados nas fezes e pseudofezes¹⁰.

Existem basicamente três tipos de sistemas de depuração: os tanques de depuração que funcionam com água limpa e fresca injetada continuamente através de bomba (sistema de fluxo contínuo), tanques nos quais a água pode ser substituída em intervalos determinados (Batch-process) ou ainda, tanques com água recirculada (sistema fechado de circulação)¹¹.

A partir de 1995, com o acordo Sanitário e Fitossanitário da Organização Mundial do Comércio, a análise do risco tornou-se estratégia importante, já que os alimentos podem ser importados livremente desde que não comprometam o nível de proteção ao consumidor exigido pelo país importador. Esse nível de proteção estabelecido em um país denomina-se ALOP (Appropriate Level of Protection). No rastro do Acordo Sanitário e Fitossanitário e da análise de risco, o Codex Alimentarius oficializou novas ferramentas de gestão dos riscos microbiológicos, como os FSO (Food Safety Objectives) e PO (Performance Objectives) e os PC (Performance Criteria) e MC (Microbiological Criteria)^{12,13}. Segundo a OMS, define-se ALOP como o nível de proteção considerado adequado por um país que estabelece uma medida sanitária ou fitossanitária para proteger a saúde humana, animal e de plantas em seu território. Enquanto o FSO corresponde à máxima concentração de perigo microbiológico em um alimento no momento do consumo de forma a atender o ALOP estabelecido¹⁴.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi quantificar *Vibrio*

parahaemolyticus em ostras cultivadas na Baía de Todos os Santos ao longo da cadeia produtiva (cultivo, transporte, após processo de depuração e comercialização); avaliar o risco da provável ingestão desta bactéria através do consumo de ostras cruas e identificar os pontos críticos de controle (PCC) com foco no perigo biológico *V. parahaemolyticus*.

2 Material e Métodos

As ostras foram coletadas na Baía de Todos os Santos, Santiago de Iguape - município de Cachoeira/BA, durante o período de 12 meses (janeiro de 2008 a fevereiro de 2009), totalizando sete colheitas de ostras *Crassostrea rhizophorae* em épocas diferentes. Cada coleta foi realizada em quatro pontos da cadeia produtiva: cultivo e transporte até o tanque de depuração, após o processo de depuração e no ato do consumo. Foi constituída de três amostras para cada ponto, com cerca de 15 indivíduos por amostra.

2.2 Coleta das ostras

As amostras de ostras, composta de 15 unidades de tamanho comercial foram coletadas manualmente, submetidas a jatos de água tratada sob pressão, selecionadas de maneira aleatória e acondicionadas em embalagem plástica transparente, em seguida foram acondicionadas em uma caixa de material termoisolante, com gelo reciclável e temperatura oscilando entre 4 e 12 °C. No final da coleta, essa caixa foi transportada para o Laboratório de Microbiologia do Centro de Tecnologia Industrial Pedro Ribeiro Mariani - Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI-CETIND) e estocada sob refrigeração (4 a 8 °C), sendo o intervalo entre coleta e análise de, no máximo, seis horas. A alíquota para o ensaio foi obtida a partir de um "pool" de no mínimo seis unidades oriundas das três amostras coletadas.

2.3 Avaliação microbiológica

2.3.1 Preparo das amostras para análise

As conchas foram abertas assepticamente com auxílio de uma faca esterilizada e todo o conteúdo das ostras (seis) juntamente com o líquido intervalvar foi recolhido em uma embalagem plástica estéril. Em seguida, homogeneizados em aparelho Stomacher por 1 minuto em alta velocidade.

Para a análise da quantidade de ostras consumidas, cada ostra (organismo e líquido intervalvar) foi pesada antes da homogeneização.

2.3.2 Análise de *Vibrio parahaemolyticus*

Para a determinação de *Vibrio parahaemolyticus*, a partir do homogeneizado do item 2.3.1, foi preparada uma alíquota de 50 ± 0,4 g que foi homogeneizada em 450 mL de solução salina fosfatada tamponada (PBS). Agitou-se por 30 segundos e, em seguida, procedeu-se à diluição decimal seriada até 10⁻⁴.

A partir de cada diluição em PBS, volumes de 1 mL em triplicata, foram inoculados em série de três tubos, contendo

10 mL de água peptonada alcalina (APA) com 3% de NaCl. Incubou-se a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 16 a 18 horas.

Os tubos que apresentaram turvação foram semeados em placas com ágar TCBS (tiosulfato citrato bile sacarose). Após a incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas, três colônias típicas de *Vibrio parahaemolyticus* (redondas, 2-3 mm de diâmetro, opacas, de cor verde-azuladas) foram semeadas em superfície seca de ágar triptona a 1% com 2% de NaCl (T1N2). Após 18 a 24 horas de incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, foi realizado o teste para verificar a produção de enzima oxidase e, quando positivo, realizou-se o teste de coloração de Gram; semeou-se em tubos com meio para o teste de motilidade, indol, caldo uréia, ágar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI), caldo Voges-Proskauer (VP) e ágar Lisina e Ferro (LIA). Em todos os meios foi acrescido 3% de NaCl em sua composição. Incubaram-se a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Em seguida, isolados com reações características de *Vibrio parahaemolyticus*, foram submetidos à prova de halofilismo em caldo triptona a 1%, com diferentes concentrações de NaCl (0; 3; 6; 8 e 10%).

As colônias com crescimento em 3, 6 e 8% de NaCl e ausência de crescimento em 0 e 10%, foram identificadas através do kit API 20E (bioMérieux).

Para acompanhamento dos testes bioquímicos de identificação foram utilizadas as cepas controle de *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (RJ).

2.4 Avaliação da exposição humana a *Vibrio parahaemolyticus* associado ao consumo de ostras cruas

A avaliação da exposição humana a *V. parahaemolyticus* teve como objetivo, estimar a quantidade de *V. parahaemolyticus* ingerido por meio do consumo de ostras cruas. Não sendo foco do trabalho, modelagem matemática sobre os fatores ambientais e de práticas de processamento que influenciam a população de *V. parahaemolyticus* em ostras.

A representação esquemática da avaliação da exposição é mostrada na figura 1. A avaliação foi feita na etapa de consumo e os fatores considerados para avaliação da exposição foram: quantidade de ostras consumidas por porção, peso médio das ostras consumidas, população de *V. parahaemolyticus* no momento do consumo. Nesta etapa também foram registradas as temperaturas e tempos médios durante a exposição.

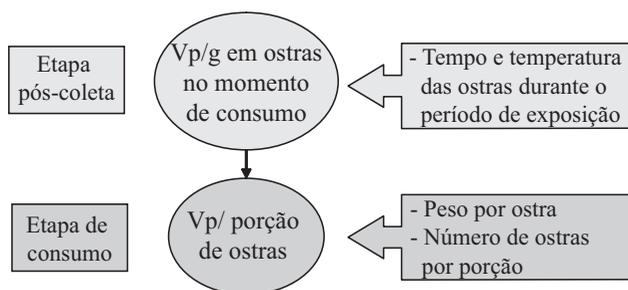


Figura 1: Modelo conceitual para a avaliação da exposição humana a *Vibrio parahaemolyticus*/grama (Vp/g) de ostras, do cultivo ao consumo¹⁵

A estimativa do peso de uma ostra foi determinada a partir da média das pesagens do músculo e do líquido interno das ostras obtidas na etapa de consumo. O número de ostras servidas por porção foi obtida em função das porções servidas em restaurantes que geralmente são de 12 unidades.

2.5 Levantamento dos pontos críticos de controle (PCC)

O levantamento dos PCC é uma das etapas no processo de implantação do Plano APPCC, sendo fundamental para o estabelecimento dos requisitos para garantia da qualidade higiênico-sanitária do produto, visando à proteção da saúde da população e principalmente porque consiste em uma ferramenta de busca da melhoria contínua da qualidade.

Para esta pesquisa, foi feito o levantamento das etapas de processo das ostras e a identificação dos PCC, tendo como perigo alvo o *V. parahaemolyticus*. Os dados foram obtidos seguindo os questionamentos contidos no Quadro “representativo” da árvore decisória proposta pelo Guia para Elaboração do Plano APPCC¹⁵.

2.6 Aplicação da equação conceitual do ICMSF¹⁴

O *Codex Alimentarius* oficializou novas ferramentas de gestão dos riscos microbiológicos, como:

- FSO (Food Safety Objective) = Corresponde à máxima frequência ou concentração de perigo em um alimento no momento do consumo de forma a atender o Apropriated Level of Protection (ALOP) estabelecido;
- PO (Performance Objectives) = Objetivo de desempenho a ser atingido em determinado momento da cadeia produtiva de um alimento. Um PO deve atender o ALOP estabelecido, assim como um FSO;
- PC (Performance criteria) = Ação de prevenção ou eliminação de um perigo para atendimento do PO ou FSO;
- MC (Microbiological Criteria) = Padrão microbiológico que define a aceitabilidade do produto, ou lote de produtos, baseado na ausência, presença ou número de micro-organismos por unidade de massa, área ou lote.

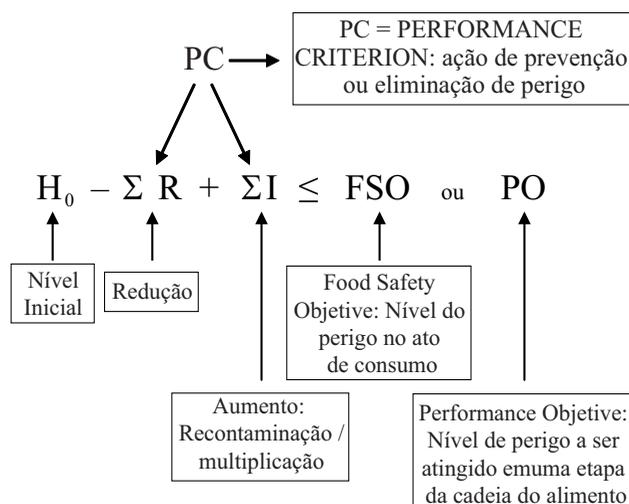


Figura 2: Ferramentas de gestão dos riscos microbiológicos, equação conceitual do ICMSF¹⁴

Para avaliação da exposição humana ao *V. parahaemolyticus* associado ao consumo de ostras cruas, a estimativa da presença de *V. parahaemolyticus* por porção de ostra no momento do consumo foi obtida através da equação conceitual do ICMSF da Figura 2.

3 Resultados e Discussão

3.1 Determinação de *V. parahaemolyticus* nas amostras de ostras

Na tabela 1 são apresentadas as populações médias de *Vibrio parahaemolyticus* (NMP/g) em ostras coletadas em diferentes pontos da cadeia produtiva em Santiago do Iguape, em diferentes épocas durante o ano.

Tabela 1: População média de *Vibrio parahaemolyticus* (NMP/g) em ostras em pontos da cadeia produtiva das ostras oriundas de Santiago do Iguape/BA

Coleta	V. parahaemolyticus			
	Cultivo	Transporte	Depuração	Consumo
Janeiro/08	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
Abril/08	2,3	2,5	3,4	1,2 X 10 ³
Agosto/08	4,2	4,7	9,3	1,3 X 10 ³
Setembro/08	9,2	9,3	1,4 X 10	1,6 X 10 ⁴
Novembro/08	1,2 X 10 ²	1,4 X 10 ²	2,0 X 10 ²	2,4 X 10 ⁵
Janeiro/09	3,5 X 10 ²	4,7 X 10 ²	5,5 X 10 ²	3,3 X 10 ⁵
Fevereiro/09	3,2 X 10 ²	3,8 X 10 ²	4,0 X 10 ²	3,2 X 10 ⁴

Estes dados mostram que as ostras cultivadas nesta região possuem grande potencial de risco àqueles que consumirem estes moluscos crus. Apesar de serem microrganismos naturais do meio marinho, sua patogenicidade pode estar associada à fatores genéticos, predisposição dos consumidores ou a fatores ambientais da área de cultivo e sua presença nestes alimentos que são consumidos crus, poderá desencadear danos a saúde.

A presença de *V. parahaemolyticus* no total das 84 amostras de ostras analisadas em todas as etapas de processamento (cultivo até o consumo final) foi de 85,7%. Em outro trabalho¹⁶ os autores analisaram 20 amostras de ostras e 100 de mexilhões, em São Paulo, e foi detectada a presença de *V. parahaemolyticus* em 13 (61,5%) amostras de ostras e em 39 (39%) de mexilhões.

A ocorrência de vibrios patogênicos em 26 amostras de ostras, procedentes da região de Cananéia, São Paulo, coletadas em restaurantes, peixarias e bancas de feiras-livres constataram a presença de *V. parahaemolyticus* em 77% das amostras, com populações variando de <3 a 1.200 NMP/100 g, com média de 110 NMP/100g¹⁷. No período de março de 1991 a agosto de 1993¹⁸, 100 amostras de pescado (56 de ostras, 20 de mexilhões e 24 de camarão) foram analisadas e os autores detectaram *V. parahaemolyticus* em 49 (87,5%) das 56 amostras de ostras.

A presença de *V. parahaemolyticus* em 25% das amostras de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e 56,25% das amostras de sururu (*Mytella charruana*) também foi detectada durante a comercialização no Grande Recife, PE¹⁹. Em outro trabalho foi

detectado *V. parahaemolyticus* em 20 amostras de ostras (100%) procedentes da região de Cananéia, entre junho de 1998 e março de 1999, com população variando de 3,6 a >2.400 NMP/g²⁰.

Em 180 amostras de ostras cultivadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, a presença de *Vibrio* spp. foi detectada em 25 amostras (13,88%), e deste total em 9 (36%) foram confirmadas a ocorrência de *V. parahaemolyticus*²¹.

3.2 Avaliação da exposição humana a *V. parahaemolyticus* associado ao consumo de ostras cruas

A estimativa total de *V. parahaemolyticus* por porção no momento do consumo foi obtida multiplicando-se o peso por porção de ostras pela população de *V. parahaemolyticus* no momento do consumo, considerando que a porção servida é de 12 unidades. O peso médio das ostras foi de 15,92 g obtido pela pesagem de 30 indivíduos já expostos para consumo no mercado varejista.

Como apresentado na tabela 2, a estimativa de *V. parahaemolyticus*/porção de ostras variou de 4,4 X 10² a 6,7 X 10⁴ NMP/porção de ostra. No entanto, para a legislação brasileira, o limite máximo permitido de *Vibrio parahaemolyticus*, é apenas estabelecido para pratos prontos à base de pescados, em cozinhas, restaurantes e similares, sendo este de 10³ NMP g⁻¹. Ou seja, a atual legislação libera a comercialização e o consumo de bivalves *in natura* que atendam aos limites microbiológicos estabelecidos, somente se não consumidos crus. Vale ressaltar que, moluscos bivalves como ostras são, tradicionalmente, consumidos crus ou levemente cozidos e não existem dados epidemiológicos de doença causada por *V. parahaemolyticus* no Brasil. A implantação de sistemas de qualidade e estratégias de segurança para toda cadeia produtiva de moluscos bivalves poderiam minimizar o impacto em saúde pública, e garantir nível de proteção apropriado para estes alimentos consumidos crus.

Tabela 2: Estimativa de *Vibrio parahaemolyticus* (NMP/porção) ao longo dos meses no ato da coleta e do consumo

Meses de coleta	<i>V. parahaemolyticus</i> (NMP)/g (coleta)	<i>V. parahaemolyticus</i> (NMP)/porção de ostra
Abril/08	2,3	4,4 X 10 ²
Agosto/08	4,2	8,0 X 10 ²
Setembro/08	9,2	1,7 X 10 ³
Novembro/08	1,2 x 10 ²	2,3 X 10 ⁴
Janeiro/09	3,5 x 10 ²	6,7 X 10 ⁴
Fevereiro/09	3,2 x 10 ²	6,1 X 10 ⁴

É importante frisar que um programa de vigilância epidemiológica e sanitária de alimentos tem como meta, não apenas quantificar o número de casos reportados (incidência e prevalência), mas também deve ser útil na identificação de patógenos emergentes, além de determinar os fatores que levam ao aumento dos riscos de ocorrência de doenças.

De acordo com os padrões da Nova Zelândia e Japão, o nível máximo permitido de *Vibrio parahaemolyticus* em

mariscos consumidos crus é 100 NMP/g²², enquanto USDA (United States Food and Drug Administration) requer menos que 10.000 NMP/g²³.

Tabela 3: Determinação de *Vibrio parahaemolyticus* no cultivo, após a depuração e na etapa de consumo das ostras (log NMP/g) utilizando-se a equação conceitual do ICMSF

Meses de coleta	Ho (Vp log NMP)/g (cultivo)	Ho - ΣR + ΣI (Vp log NMP)/g (após a depuração)	Ho - ΣR + ΣI (Vp log NMP)/g (consumo)
Abril/08	0,32	0,42	3,05
Agosto/08	0,61	0,96	3,08
Setembro/08	0,96	1,13	4,19
Novembro/08	2,08	2,30	5,38
Janeiro/09	2,54	2,72	5,50
Fevereiro/09	2,48	2,60	4,47

Ho = contagem inicial do microrganismo

ΣR = somatório das práticas de redução microbiana

ΣI = somatório das falhas de processo que promovem aumento da carga microbiana

Como pode ser verificado na tabela 3, o aumento das estimativas de *V. parahaemolyticus* na etapa após a depuração variou de 0,96 a 2,72 ciclo log e na etapa de exposição ao consumo, o aumento variou de 3,05 a 5,50 ciclo log. Ou seja, ocorreram mudanças na concentração do perigo nas ostras em função principalmente da falta de medidas de controle adequadas, representados pelo ΣR e ΣI que estão relacionados ao PC (Performance criteria). Já que, segundo o ICMSF, entende-se por medida de controle toda e qualquer ação que pode prevenir ou eliminar um perigo ou reduzi-lo ao nível aceitável.

No presente estudo ocorreu aumento na população de *V.*

parahaemolyticus após a depuração, sendo, portanto dados concordantes com os estudos, que citaram que no caso de contaminação natural, *Vibrio* spp. pode ser mais resistente aos efeitos da depuração, podendo ocorrer até mesmo o aumento da população após o processo. Além disso, no caso do processo de depuração adotado pela empresa em estudo, apesar de se assemelhar ao sistema de “batch” quanto à substituição da água a cada 48 horas, não possui controle da qualidade da água utilizada para se obter a garantia de que é microbiologicamente segura, sendo o parâmetro salinidade o único a ser controlado.

Atualmente no Brasil, não há definição para o ALOP e o FSO para *Vibrio parahaemolyticus* em ostras consumidas cruas. Comparando os valores na equação conceitual do ICMSF para a etapa de consumo (Tabela 3), que está na faixa de $1,2 \times 10^3$ a $3,3 \times 10^5$ NMP/g, com os padrões de níveis máximos de *V. parahaemolyticus* da Nova Zelândia e Japão (100 NMP/g) e USDA (10.000 NMP/g), todos apresentam valores acima do permitido, considerando-se *V. parahaemolyticus*.

3.3 Levantamento dos pontos críticos de controle (PCC)

O levantamento dos PCC, tendo como perigo alvo o *V. parahaemolyticus*, foi realizado através do Quadro “representativo” da Árvore decisória (Figura 3) que foi elaborado conforme Guia para Elaboração do Plano APPCC¹⁵. Baseado no fluxograma de processamento das ostras (Figura 4), as respostas da árvore decisória referentes a cada etapa de processo (Figura 3) conduziram à conclusão da existência de dois pontos críticos de controle: PCC 1, após o processo de depuração, e PCC 2, durante o armazenamento nos locais de venda para consumo. Infelizmente a empresa em estudo não reconhecia estes pontos e nenhum procedimento de controle foi implementado para estas etapas.

Etapa do processo	Captura	Limpeza	Transporte	Limpeza	Depuração	Armazenamento (Consumo)
Perigos significativos biológicos	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>					
O perigo é controlado pelo programa de pré-requisitos?	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Existem medidas preventivas para o perigo identificado?	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
Esta etapa elimina ou reduz a provável ocorrência de um perigo em níveis aceitáveis ?	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim
Poderia a contaminação com o perigo identificado ocorrer acima de níveis aceitáveis, ou poderia a mesma aumentar em níveis inaceitáveis?	Sim	Sim	Sim	Sim	-	Sim
Uma etapa subsequente será capaz de eliminar o perigo identificado ou reduzir em provável ocorrência a níveis aceitáveis?	Sim	Sim	Sim	Sim	-	Não
PCC ou Não PCC?	Não é PCC	Não é PCC	Não é PCC	Não é PCC	PCC 1 (B)	PCC 2 (B)

Figura 3: Quadro “representativo” da árvore decisória¹⁵

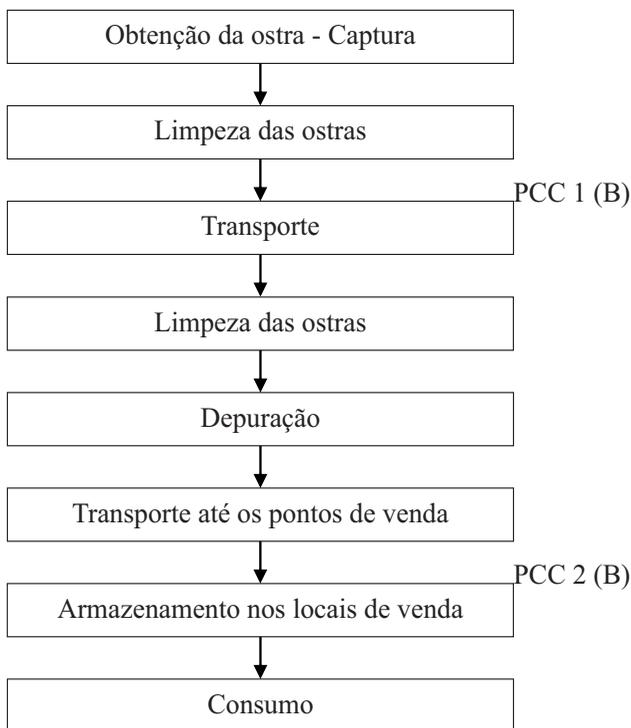


Figura 4: Fluxograma de processo de ostras

A etapa identificada como PCC1 foi a depuração, na qual deveria acontecer a eliminação do perigo microbiológico *V. parahaemolyticus*. Trata-se de um método comumente utilizado para reduzir os níveis de bactérias na “carne” dos moluscos e, portanto diminuir o potencial de riscos associados ao consumo. Neste processo, os mariscos são colocados em reservatórios com água-do-mar purificada pelo tempo apropriado para remover contaminantes de seus tecidos através da filtração^{24,25}. O processo de depuração comercial tem pouca influência sobre a persistência e a concentração de *Vibrio* spp. em ostras²⁴⁻²⁶. No presente estudo ocorreu aumento na população de *V. parahaemolyticus* após a depuração, sendo, portanto, dados concordantes com os estudos que citaram que no caso de contaminação natural, *Vibrio* spp. pode ser mais resistente aos efeitos da depuração, podendo ocorrer até mesmo o aumento da população após o processo. Desta forma, há necessidade do estudo de processos de depuração eficientes na eliminação de *V. parahaemolyticus*.

Do ponto de vista tecnológico, um dos principais fatores que auxiliam na prevenção da contaminação dos alimentos por microrganismos patogênicos ou evitam a multiplicação das bactérias pré-existentes no alimento é o controle da temperatura aliada às boas práticas de fabricação. O binômio tempo X temperatura consiste numa ferramenta importante para eliminar, diminuir ou manter a carga microbiana presente no alimento, durante as etapas de processamento, manipulação e distribuição do produto para consumo em níveis seguros¹⁵.

O PCC2, etapa do armazenamento refrigerado das ostras, mostrou que não havia controle da temperatura deste alimento.

Através da monitorização diária da temperatura e do tempo de exposição nos três pontos de venda destes alimentos, foi possível verificar que as ostras estavam sendo armazenadas em temperaturas inadequadas por tempo prolongado. A temperatura e o tempo médio de exposição foram de 23 °C e 48 horas, respectivamente, resultando na multiplicação dos microrganismos, conforme foi demonstrado pelo aumento da contagem de *V. parahaemolyticus* nas ostras expostas para comercialização e para consumo imediato.

Em outro estudo os autores analisaram 40 amostras de ostras coletadas em restaurantes do Rio de Janeiro - RJ e 10 amostras de mexilhões capturados de banco natural de Niterói - RJ, 141 cepas de *V. parahaemolyticus* foram isoladas, sendo que essas cepas isoladas foram detectadas em sua maioria a partir das amostras de ostras (86,4%)²⁷.

Após avaliação de 40 amostras de ostras servidas *in natura* em restaurantes do Rio de Janeiro, foi constatada a presença de *V. parahaemolyticus* e *V. alginolyticus* em isolados dos 75% dos estabelecimentos. Os autores ainda ressaltaram que 40% dos estabelecimentos estocavam ostras em temperatura ambiente, o que constitui risco para a saúde pública, pois propicia condições de multiplicação de patógenos no alimento²⁸.

A redução de *V. parahaemolyticus* em ostras através do resfriamento imediato é variável e de aproximadamente 1,0 log₁₀, quando se efetua o congelamento a redução é de 2,0 log₁₀, e caso seja adotado o tratamento térmico, alta pressão ou irradiação a redução pode ser de 4,5 log₁₀, sendo estas estratégias aplicáveis ao processo de ostras cruas¹³.

Caso não haja necessidade de disponibilizar ao consumidor as ostras vivas, pode-se adotar o congelamento logo após a depuração para posterior venda, sendo, portanto uma medida preventiva e corretiva viável em termos comerciais pela possibilidade de fornecer reduções de até 2,0 log₁₀, visto que a mínima temperatura de crescimento de *V. parahaemolyticus* tem sido reportada como sendo 5 °C²⁹ e 8,3 °C³⁰.

4 Conclusão

A partir dos resultados encontrados nesta pesquisa, foi possível concluir que a população de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras em Santiago do Iguape-Bahia, no período estudado, foi maior após a etapa de depuração e na etapa de exposição para o consumo, quando comparadas à etapa de cultivo.

As etapas depuração e exposição foram consideradas pontos críticos de controle (PCC1 e PCC2), onde não havia nenhum procedimento de controle implementado.

Referências

1. Rios EC. Seashells of Brazil. Rio Grande: FURG; 1994.
2. Boffi AV. Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico. São Paulo: HUCITEC; 1979.
3. Potasman I, Paz A, Odeh M. Infectious outbreak associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. Clin Infect Dis 2002;35(8):921-8.

4. Liston J. Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technol* 1990;44:56-62.
5. Pereira CS, Possas CA, Viana CM, Rodrigues DP. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (Perna perna) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007;1(40):56-9.
6. Dalsgaard A. The occurrence of human pathogenic *Vibrio* spp. and *Salmonella* in aquaculture. *Int J Food Microbiol* 1998;33:127-38.
7. Butt AA, Aldridge KE, Sanders CV. Infections related to the ingestion of seafood Part I: viral and bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2004;4:201-12.
8. Corrêa AA. Estudo sobre a dinâmica de depuração de ostras de cultivo (*Crassostrea gigas*) artificialmente contaminadas com *Salmonella enterica* sorovar *Typhimurium*. Florianópolis. Dissertação [Mestrado em Biotecnologia] – Universidade Federal de Santa Catarina; 2006.
9. Rodrick GE, Schneider KR. Molluscan shellfish depuration. In: Villaboa A, Reguera B, Romalde J, Reis R. Proceedings of 4th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela, Spain; 2003
10. Richards GP. Microbial purification of shellfish: a review of depuration and relaying. *J Food Prot* 1988;51:218-51.
11. Richards GP. The evolution of molluscan shellfish safety. In: Villaboa A, Reguera B, Romalde J, Reis R. Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO; 2003.
12. Franco BDGM. Segurança de alimentos: novas ferramentas de gestão dos riscos microbiológicos. ILSI Brasil Notícias, 2005. Disponível em <http://cultivandotalentos.tempsite.ws/2010/07/seguranca-de-alimentos-novas-ferramentas-de-gestao-dos-riscos-microbiologicos/>
13. FDA. US Food and Drug Administration. 2005. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/V.parahaemolyticusra-toc.html>.
14. ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods 7. Microbiological testing in food safety management. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2002.
15. Guia para elaboração do plano APPCC. Brasília: SEBRAE/ SENAI/DN; 1999.
16. Rodrigues PF. Caracterização sanitária de áreas de criação de moluscos bivalvos do litoral norte do Estado São Paulo. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Ciência] - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo; 1998.
17. Matté GR, Matté MH, Rivera IG, Martini MT. Distribution of potentially pathogenic *Vibrios* in oysters from a tropical region. *J Food Prot* 1994;57(10):870-3.
18. Landgraf M, Leme KBP, Garcia-Moreno ML. Occurrence of emerging pathogenic *Vibrio* spp. in seafood consumed in São Paulo city, Brasil. *Rev Microbiol* 1996;27:126-30.
19. Lira AA, Barros GC, Mota RA. *Vibrio parahaemolyticus* em bivalves comercializados no Grande Recife (Resultados preliminares). In: Anais do 20º Congresso Brasileiro de Microbiologia, Salvador; 1999.
20. Ristori CA. Bactérias patogênicas em ostras (*Crassostrea brasiliensis*) e água da região estuarina de Cananéia, litoral Sul, do Estado de São Paulo. São Paulo: USP; 2000.
21. Ramos RJ. Monitoramento bacteriológico de águas do mar e de ostras (*Crassostrea gigas*) em áreas de cultivo na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina. Florianópolis. Dissertação [Mestrado em Ciência dos Alimentos] Universidade Federal de Santa Catarina; 2007
22. Lee JK, Jung DW, Eom SY, Oh SW, Kim Y, Kwak HS et al. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. *Food Control* 2008;19:990-4.
23. Food and Agriculture Organization of the United Nations e World Health Organization. Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Report of a Joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand. 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/008/y8145e/y8145e00.htm>.
24. Richards GP. Microbial purification of shellfish: a review of depuration and relaying. *J Food Protect* 1988;51:218-51.
25. Eyles M.J, Davey GR. Microbiology of commercial depuration of the Sydney rock oyster, *Crassostrea commercialis*. *J Food Prot* 1984;47:703-6.
26. Lopes GISL. Depuração de ostra (*Crassostrea brasiliensis*) contaminada artificialmente com *Vibrio cholerae* O1, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* e *Salmonella Enteritidis*. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas] - Universidade de São Paulo; 2001.
27. Pereira CS, Viana CM, Rodrigues DP. *Vibrio parahaemolyticus* produtores de urease isolados a partir de ostras (*Crassostrea rizophorae*) coletadas in natura em restaurantes e mexilhões (Perna perna) de banco natural. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004;24(4):591-5.
28. Pereira CS, Viana CM, Rodrigues DP. Vibrios patogênicos em ostras (*Crassostrea rizophorae*) servidas em restaurantes no Rio de Janeiro: um alerta para Saúde Pública. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007;40(3):300-3.
29. Twedt RM. *Vibrio parahaemolyticus*. In: Doyle MP. Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker; 1989.
30. Miles DW, Ross T, Olley J, Mcmeekin TA. Development and evaluation of a predictive model for the effect of temperature and water activity on the growth rate of *Vibrio parahaemolyticus*. *Int J Food Microbiol* 1997;38:133-42.

