

ANEXO

(Continuação Capítulo 10)

ÁGUAS & ÁGUAS

3ª EDIÇÃO ATUALIZADA e REVISADA

JORGE ANTÔNIO BARROS DE MACÊDO

Bacharel em Química Tecnológica
Especialização em Análise de Traços e Química Ambiental
“Magister Scientiae” em Ciência e Tecnologia de Alimentos
“Doctor Scientiae” em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Professor Titular Faculdades Integradas Vianna Jr.
Professor Convidado do NEC – Núcleo de Educação em
Ciência, Matemática, Tecnologia – U.F.J.F
Professor Titular do Instituto Estadual de Educação / JF

Email: j.macedo@terra.com.br
Site: www.jorgemacedo.pro.br ou www.aguaseguas.ufjf.br

Copyright© 2007 by Jorge Antônio Barros de Macêdo

Todos os direitos reservados. É vedada a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, ou outros), sem permissão expressa do Autor.

Editoração do Texto: Jorge Macedo

Capa: Daniela de Oliveira Brito

FICHA CATALOGRÁFICA

MACÊDO, JORGE ANTÔNIO BARROS DE

ÁGUAS & ÁGUAS / Jorge Antônio Barros de Macêdo – Belo Horizonte -
MG: CRQ-MG, 2007.

Bibliografia

1. Água, História, Consumo, Conservação, Quantidade, Qualidade
2. Água Comportamento Anormal, Reuso
3. Água Potável, Tratamento, Usos
4. Águas Caldeira, Resfriamento
5. Águas Estabelecimento da Área de Saúde
6. Água de chuva
7. Águas Indústria de Alimentos - Detergentes e Sanificantes
8. Doenças de veiculação hídrica

CDU- 628.1.034

Índices para catalogação sistemático

- | | |
|---|--------------------|
| 1. Águas – História, Comportamento anormal, Reuso: | Tecnologia 664.028 |
| 2. Águas - Potável, Industrial, Estabelecimento de Saúde: | Tecnologia 664.028 |
| 2. Águas Caldeira, Resfriamento: | Tecnologia 664.028 |
| 3. Águas da Indústria de Alimentos –
Detergentes e sanificantes: | Tecnologia 664.028 |
| 4. Doenças de veiculação hídrica: | Tecnologia 664.028 |
| 5- Aproveitamento de água de chuva: | Tecnologia 664.028 |

Impresso no Brasil / *Printed in Brazil*

ISBN-10: 85-90156-89-0

ISBN-13: 978-85-90156-89-5

ANEXO

CAPÍTULO 10

DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA E ALIMENTAR

Carlos Henrique Pessoa de Menezes e Silva
Farmacêutico-Bioquímico, Mestre em Microbiologia
Microbiologista do Centro Tecnológico de Análises (CETAN),
Vila Velha/ES

O Quadro 8 destaca informações sobre a sensibilidade de vários agentes patógenos oportunistas conhecidos e emergentes com respeito à desinfecção com cloro. Não se dispõe de informações concretas sobre a sensibilidade destes microrganismos a desinfetantes alternativos como o dióxido de cloro e o ozônio.

QUADRO 8- Sensibilidade aos desinfetantes dos patógenos oportunistas emergentes e nos patógenos transmitidos pela água.

Microrganismo	Desinfetante	Comentários sobre o tempo de sobrevivência
<i>Anaerobiospirillum succiniciproducens</i>	Qualquer	Sensibilidade desconhecida
<i>Aeromonas</i> spp.	Cloro livre >0,3 mg/L	Curto
	Cloro livre 0,1 mg/L	>4 log de eliminação em 5 minutos a 4°C
<i>Campylobacter</i> spp	Cloro livre >0,2 mg/L	Sensível, rapidamente inativado a não ser que haja um alto nível de contaminação
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Qualquer	Sensibilidade provavelmente similar a outras enterobactérias
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Qualquer	Desconhecido, provavelmente sejam mais sensíveis que as <i>Aeromonas</i>
	Cloro livre 1,0 mg/L	São inativados em 8 horas
<i>Mycobacterium</i> spp	Cloro livre 0,15 mg/L	Efeito não bactericida; relação inversa entre o residual do desinfetante e o n° de UFC/100ml: cloro a 0,1-0,9 mg/L: eliminação somente após 7 dias

Continuação QUADRO 8

<i>Vibrio fluvialis</i>	Qualquer	Sensibilidade desconhecida, porém, provavelmente similar a das células de bactérias entéricas vegetativas
<i>Helicobacter pylori</i>	Cloro livre 0,5 mg/L	>4 log de eliminação em 80 segundos a 5°C
Rotavírus humano	Cloro livre 0,75 mg/L	Aproximadamente 5% sobrevivem depois de 60 minutos
<i>Blastocystis hominis</i>	Qualquer	Sensibilidade desconhecida
Cianobactérias (algas verde-azuladas)	Qualquer	Sensibilidade desconhecida
<i>Cyclospora cayatensis</i> e outras espécies de <i>Cyclospora</i>	Qualquer	Sensibilidade desconhecida

FONTE: CDC, 2004.

10.2.5- Microrganismos Indicadores

Para se avaliar a presença de organismos patogênicos na água, é determinado à presença ou ausência de uns organismos e respectiva população que esteja na água, sempre que organismos patogênicos estejam indicando contaminação. Esse organismo é chamado de indicador.

O isolamento e identificação de cada microrganismo, exigem uma metodologia diferente e a ausência ou presença de um patógeno não exclui a presença de outros. Devido a monitorização dos trabalhos de rotina, o fator econômico deve ser levado em consideração na escolha da metodologia e o uso de uma metodologia simples e de um indicador não patogênico facilitam o procedimento de trabalho.

Para um indicador ser considerado ideal é importante observar algumas características, tais como, ser aplicável a todos os tipos de água, ter uma população mais numerosa no ambiente que os patógenos, sobreviver melhor que os possíveis patógenos (especialmente importante na avaliação da água clorada e do mar) e ser detectado por uma metodologia simples e barata. A utilização de um indicador não patogênico facilita os procedimentos. Infelizmente, não existe um indicador ideal de qualidade sanitária da água, mas sim alguns organismos que se aproximam das exigências referidas.

Os dados obtidos em diferentes localidades e laboratórios devem ser comparáveis, e para possibilitar essa comparação, a metodologia utilizada na amostragem e detecção deve ser padronizada, o material a ser usado, previamente esterilizado, e as condições de amostragem totalmente assépticas. Para evitar mudanças na população, o transporte

e o processamento devem ser o mais rápido possível e as amostras mantidas em banho de gelo.

É importante neutralizar o cloro, de amostras de água clorada, com solução esterilizada de tiosulfato de sódio imediatamente após a coleta, 0,1mL de uma solução de tiosulfato de sódio para 100mL de amostra (concentração final na amostra = 100mg/L) é suficiente para neutralizar 15mg de cloro residual por litro de amostra (LEITÃO, HAGLER et al., 1988; SILVA e JUNQUEIRA, 1995; LIVROONLINE, 2000).

O grupo coliforme é dividido em coliformes totais e coliformes fecais. Defini-se coliformes totais como bastonetes Gram negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas 35°C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal como diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo.

Por isso, sua enumeração em água é menos representativa como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de coliformes fecais ou *Escherichia coli*. Porém, sua enumeração é muito utilizada em indústrias alimentícias, indicando contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos. (SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

A definição de coliformes fecais é a mesma de coliformes totais, restringindo-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5–45,5°C. Essa definição objetivou selecionar os coliformes originários do trato gastrointestinal. Atualmente, sabe-se que este grupo inclui pelo menos três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais os dois últimos podem ser de origem não fecal. Por esse motivo a enumeração direta de *E.coli* como indicação de contaminação fecal é mais representativa do que as demais, sendo que a presença de coliformes fecais é muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *E.coli* dentro do grupo fecal (70%).

A *E.coli*, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (LEITÃO, HAGLER et al., 1988; SILVA e JUNQUEIRA, 1995; LIVROONLINE, 2000).

Existem várias críticas e algumas desvantagens apontadas sobre o uso de coliformes como indicadores de poluição fecal, particularmente o fato de sua pouca tolerância à toxicidade da água do mar e ao procedimento de cloração em relação a alguns patógenos mais resistentes. Vários outros indicadores foram sugeridos, mas o emprego

de coliformes ainda é o mais vantajoso para a análise microbiológica de água.

A metodologia padrão empregada no exame bacteriológico da água, para medida do grupo coliforme, inclui dois procedimentos, a técnica dos tubos múltiplos e a técnica da membrana filtrante (LEITÃO, HAGLER et al., 1988; SILVA e JUNQUEIRA, 1995).

Os estreptococos fecais constituem um grupo de bactérias reconhecidas como indicadores de contaminação fecal há décadas, porém sua utilização só se fez efetiva após 1950 com o desenvolvimento de meios de cultura contendo azida sódica. O *habitat* normal deste grupo de bactérias é o trato intestinal humano e de outros animais e estas bactérias normalmente não ocorrem em águas e solos de áreas não poluídas, sendo que as poucas incidências estão relacionadas diretamente a animais de vida selvagem ou à drenagem dos solos por enxurradas. Embora estas bactérias possam persistir por longos períodos em águas de irrigação com alto teor eletrolítico, geralmente não se multiplicam em águas poluídas, sendo, portanto, sua presença indicativa de contaminação fecal recente.

Este grupo de bactérias engloba várias espécies que apresentam diferentes graus de resistência às variações ambientais e origens fecais específicas. Assim, as espécies incluídas no gênero *Enterococcus* apresentam maior resistência e são caracterizadas por sua capacidade de crescer em temperaturas de 10-45°C, pH de até 9,6 e em meios com altas concentrações de NaCl. Além disso, conseguem sobreviver a temperaturas de 60°C durante 30 minutos. Por outro lado, as espécies *Streptococcus bovis* e *S.equinus* são mais sensíveis que qualquer outro grupo de bactérias indicadoras de poluição fecal, resistindo somente cerca de 24 horas na água. Em relação à origem fecal das bactérias deste grupo, algumas espécies têm sido relatadas como sendo exclusivas de fezes humanas, como é o caso dos *Enterococcus faecalis*. Em fezes animais são predominantes as espécies *S.bovis* e *S.equinus* e, em relação a aves domésticas, suas fezes são caracterizadas pela presença de *S.avium*.

Estudos comparativos relativos à resistência de vários indicadores, patógenos e vírus a diferentes processos de tratamento de esgoto têm demonstrado que a remoção de estreptococos fecais é consideravelmente menor que a de coliformes fecais, sendo, deste modo, mais estritamente relacionada à sobrevivência de vírus. Nesse sentido, este grupo de bactérias constitui um indicador cuja pesquisa é de interesse para avaliação desses processos de tratamento.

Embora a determinação de estreptococos fecais possa fornecer dados suplementares valiosos, não é recomendada sua utilização como único parâmetro bacteriológico na avaliação da qualidade da água. Em combinação com a determinação de coliformes termotolerantes/*E.coli*, os

resultados relativos à densidade de estreptococos fecais podem fornecer informações mais específicas sobre a fonte de poluição. Sua pesquisa é de particular interesse na avaliação da qualidade de águas para o consumo humano, águas de reservatórios, água do mar e outros tipos de água em que a contaminação viral é indesejável. São aplicáveis também a determinação da qualidade de águas com teores elevados de matéria orgânica, especialmente quando as mesmas recebem efluentes de esgotos clorados (MACÊDO, 2003).

A determinação de *Salmonella* não é prática como indicador, devido à complexa metodologia de contagem e à presença variável na água poluída. O grande número de sorotipos de *Salmonella* conhecidos faz o grupo particularmente útil para estudos epidemiológicos (ANTUNES, 1995; LEITÃO, HAGLER et al., 1988).

COLIFAGOS

As bactérias enteropatógenas encontram-se em geral em baixas quantidades em águas naturais, razão pela qual sua detecção em laboratório é realizada com certa dificuldade. Principalmente por motivos técnicos, há uma tendência do desenvolvimento de técnicas microbiológicas de água baseadas na detecção de outros microrganismos presentes em material fecal e que podem servir de indicadores, como já discutido anteriormente. Ainda que os coliformes totais, coliformes termotolerantes (*E.coli*) e enterococos sejam utilizados como indicadores de contaminação fecal, seu uso apresenta algumas desvantagens, já que tem sido reportados casos de enfermidades entéricas pelo consumo de água na qual não havia sido detectado coliformes nem enterococos. Além disso, nenhum desses microrganismos servem como indicadores de contaminação viral (ZEVALLLOS, 1997). A detecção de vírus entéricos requer laboratórios especializados e os resultados em geral demoram vários dias para serem liberados com precisão. Estas dificuldades no uso dos enterovírus como indicadores de contaminação fecal na água tem levado à busca de indicadores alternativos que sejam de rápida e fácil detecção e que permitam prever o comportamento dos enterovírus no meio ambiente. Por isto, os vírus de *E.coli* (denominados colifagos) podem ser melhores indicadores de contaminação fecal (BORREGO, et al., 1987). A presença de colifagos em fezes humanas e efluentes é constante e sua detecção é fácil e rápida. Os colifagos são vírus que infectam as células de *E.coli* e têm sido isolados facilmente de águas contaminadas conjuntamente com os coliformes totais (WENTZEL, et al., 1992). Quando as condições ambientais são desfavoráveis, os coliformes não são bons indicadores de contaminação fecal e desaparecem rapidamente, gerando resultados laboratoriais falso-negativos (GRAWOW, 1996). Os colifagos, além de serem indicadores de contaminação fecal, são também considerados

indicadores da presença de enterovírus em águas naturais e tratadas. Isto se deve ao fato desses vírus serem mais resistentes aos processos de tratamento da água que as bactérias indicadoras convencionais (ROMERO, et al., 1990).

O método de camada delgada sugerido pela *American Public Health Association* (APHA) é a técnica mais adequada para a quantificação de colifagos em amostras de água altamente contaminadas e também em águas tratadas quimicamente. Os resultados em geral são revelados dentro de 3 a 4 horas de incubação (ALONSO, et al., 1994; APHA, 1999). O método de filtração em membrana demonstra ser eficiente para a quantificação de baixas concentrações de colifagos em amostras de águas tratadas, por sua sensibilidade, rapidez na obtenção dos resultados (6 a 8 horas de incubação) e a vantagem de se poder analisar grandes volumes de amostra (100 a 1.000 mL).

Os colifagos apresentam boa correlação com os coliformes durante o tratamento e resistência à desinfecção, detectando-se em águas finais com limites aceitáveis de pH (em torno de 7,2), turbidez (em torno de 0,82 uT), cloro residual (cerca de 0,83 g/L) e ausência de coliformes, demonstram que são bons indicadores de contaminação fecal e de remoção da carga microbiana (GRABOW, et al., 1994).

Nenhum indicador é perfeito e aqueles destinados a determinar a contaminação fecal certamente não funcionam adequadamente como indicadores de poluição de outras origens. Os coliformes e outros indicadores fecais devem ser suplementados com indicadores adicionais que compensem a ineficiência destes na monitoramento de poluição diversificada. Vários grupos de microrganismos têm-se mostrado adequado para essa finalidade: Bactérias heterotróficas, leveduras, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e vírus (LEITÃO, HAGLER et al., 1988; LIVROONLINE, 2000).

10.3- DOENÇAS DE ORIGEM ALIMENTAR

10.3.1- Introdução

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem veicular diversos microrganismos patogênicos, causadores de diversas perturbações fisiológicas nas pessoas que os consomem. Os alimentos que, eventualmente, estejam contaminados por microrganismos causadores de doenças, ao serem ingeridos, permitem que os patógenos ou os seus metabólitos (enzimas e toxinas) invadam os fluidos ou os tecidos do hospedeiro causando algumas doenças graves.

A expressão "doenças de origem alimentar" é tradicionalmente utilizada para designar um quadro sintomatológico, caracterizado por um conjunto de perturbações gastrointestinais, envolvendo geralmente vômitos, diarreia, febres e dores abdominais, que podem ocorrer individualmente ou em combinação.

As doenças de origem alimentar podem ser provocadas por diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e vírus. As bactérias, pela sua diversidade e patogenia, constituem, de longe, o grupo microbiano mais importante e mais comumente associado às doenças transmitidas pelos alimentos.

Os alimentos podem ser contaminados por bactérias patogênicas para o homem como resultado de deficientes condições de higiene durante o seu processamento, quer a partir de pessoas ou animais doentes, quer a partir de fezes provenientes de indivíduos infectados (APHA, 2003).

Os alimentos podem, também, constituir um perigo para a saúde pública, devido ao crescimento excessivo de populações bacterianas, à superfície ou no interior dos mesmos, oriundas do meio ambiente capazes de produzir toxinas (exotoxinas), que ao serem ingeridas com o alimento podem causar graves problemas.

Em menor escala, os fungos (bolores) podem também ser responsáveis por doenças alimentares, devido à possibilidade de crescimento de determinadas espécies, capazes de produzir toxinas fúngicas (as micotoxinas) na superfície dos alimentos, especialmente naquelas situações em que as condições de conservação e armazenamento sejam defeituosas. Por outro lado, um alimento pode ficar contaminado com micotoxinas sem que, para isso, haja necessidade de ocorrência de crescimento de bolor no alimento. Trata-se de um caso curioso, em que determinados alimentos de origem animal (leite ou carne) poderão conter micotoxinas, caso sejam derivados de animais que se alimentaram de rações provenientes de

produtos vegetais onde tivesse eventualmente, ocorrido a produção dessas micotoxinas.

Dada a menor importância das doenças alimentares provocadas por vírus e protozoários, entendemos não ser relevante, nesta altura, tecer considerações mais aprofundadas à respeito (SILVA, 1999).

10.3.2- O tamanho do problema das doenças de origem alimentar

As enfermidades de origem alimentar ocorrem quando uma pessoa contrai uma doença devido à ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou toxinas indesejáveis. Essa condição é, freqüentemente, denominada como *toxinfecção* alimentar. Muitos casos de enfermidades causadas por alimentos não são notificados, pois seus sintomas são geralmente parecidos com gripes. Os sintomas mais comuns de doenças de origem alimentar, incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e febre.

É sabido que apenas um pequeno número de casos de enfermidades causadas por alimentos é notificado aos órgãos de inspeção de alimentos, de controle e às agências de saúde. Isso se deve, em parte, ao fato de que muitos patógenos presentes em alimentos causam sintomas brandos, e a vítima não busca auxílio médico. Portanto, o número de casos notificados pode ser definido como a ponta do *iceberg*, tendo em vista o número real de intoxicações causadas por alimentos.

A quantidade de produtos disponíveis no mercado oferece ao consumidor a oportunidade de ampla escolha. Entretanto, apesar do progresso na medicina, na ciência e na tecnologia de produção de alimentos, as enfermidades causadas por patógenos alimentares continuam apresentando problemas significativos para a saúde e para a economia.

10.3.3 - Causas da contaminação de alimentos

Existe um grande número de fatores que contribuem para tornar um alimento inseguro, causando toxinfecções àquelas pessoas que os ingerirem. As principais causas podem ser resumidas como:

- controle inadequado da temperatura durante o cozimento, o resfriamento e a estocagem;
- higiene pessoal insuficiente;
- contaminação cruzada entre produtos crus e processados;
- monitoramento inadequado dos processos.

Esses fatores podem ser reduzidos consideravelmente por meio de treinamento adequado da equipe e implementação do sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) combinado com a avaliação de riscos.

A chave para a produção de alimentos seguros é produzir alimentos microbiologicamente estáveis. Em outras palavras, é necessário certificar-se de que nenhum microrganismo do alimento vai se multiplicar até doses infecciosas. De maneira ideal, é importante que estejam inativados e que não haja toxinas.

Essencialmente, as temperaturas de cozimento e de resfriamento devem ter como finalidade:

- a redução do número de microrganismos infectivos em uma ordem de 6 log (ou seja, reduzir 10^6 células/g).;
- não prover condições que permitam o crescimento de esporos microbianos que sobreviveram ao cozimento;
- evitar condições favoráveis para a produção de toxinas termoestáveis: por definição, essas toxinas são resistentes a 100°C durante 30 minutos e, portanto, não são destruídas no processo de cocção.

As contaminações cruzadas causam contaminações pós-processamento do alimento (ou seja, após a etapa de cozimento). Podem ser evitadas por meio de:

- planejamento cuidadoso do ambiente e distribuição de equipamentos da fábrica;
- controle do movimento do pessoal;
- hábitos adequados dos manipuladores quanto à higiene.

QUADRO 9- Etiologia dos surtos e casos de doenças de origem alimentar.

Agente etiológico	Surtos (%)	Casos (%)
Bactérias	70	95
Agentes químicos	20	03
Parasitas	07	01
Vírus	03	01

Fonte: BANWART, 1989.

QUADRO 10- Quantidades de Bactérias no ser Humano.

Local	Quantidade
Poros	10 a 62500 bactérias
Costas	$3,0 \times 10^2$ bactérias / cm ²
Couro cabeludo	$1,5 \times 10^6$ bactérias / cm ²
Axilas	2.500.000 bactérias / cm ²
INTESTINO	
Duodeno e Jejuno	10^5 bactérias / g
Íleo proximal	10^8 bactérias / g
Íleo terminal e cego	10^{10} bactérias / g
BOCA	
Gengiva	$3,6 \times 10^{10}$ bactérias / cm ²
Saliva	$7,5 \times 10^8$ bactérias / mL
FEZES	$3,00 \times 10^8$ coliformes fecais/g

Fonte: SILVA Jr., 1995

QUADRO 11- Fatores que contribuem para as doenças de origem alimentar.

Causas	Porcentagem dos surtos (%)
Temperatura inadequada de armazenagem	50,9
Más condições higiênicas de manipuladores	22,6
Cozimento incorreto	13,3
Matéria prima de qualidade insatisfatória	13,2

Fonte: FREITAS, 1997.

Outros fatores também contribuíram indiretamente para a perda de qualidade dos produtos, se destacando a água de má qualidade (5,6%), falta de planejamento do tempo de preparo do alimento, ou seja, preparo muito antecipado (5,6%), equipamentos e utensílios contaminados (3,7%) e transporte de forma incorreta (1,8%) (FREITAS, 1997).

QUADRO 12- Locais de produção dos alimentos envolvidos em surtos de doenças de origem alimentar.

Local	Porcentagem dos surtos (%)
Serviços comunitários de alimentação	40
Local desconhecido	40
Residências	15
Indústria alimentícia	05

Fonte: BANWART, 1989.

10.3.4 - Qualidade e Segurança Alimentar

Apesar de, sobretudo nas últimas duas décadas, terem sido alcançados avanços notáveis no conhecimento das doenças adquiridas por via alimentar e nos processos susceptíveis de serem implementados em ordem à minimização dos riscos, cumpre ter em atenção que, paralelamente, emergiram novas ameaças reais para a saúde pública relacionadas com a segurança dos alimentos.

Em primeiro lugar, assinala-se a crescente expansão da alimentação coletiva e da preparação industrial dos gêneros alimentícios, associadas à centralização do processamento de grandes quantidades de alimentos, por vezes distribuídos por regiões distantes do mundo. Nestas circunstâncias, qualquer incidente que ocorra nas mencionadas fases de preparação ou transformação de gêneros alimentícios, pode afetar um número elevado de consumidores (por ex: nos EUA em 2000 ocorreu um surto provocado por sorvetes contaminados por *Salmonella enteritidis* que afetou mais de 60.000 consumidores) e debilitar a confiança do público, dada a ampla visibilidade de tais incidentes, que todos evocam a vulnerabilidade do ser humano.

Com vistas a minimizar os riscos, um número crescente de empresas - dos setores da produção, da transformação, da distribuição e da restauração coletiva - tem recentemente aplicado diversos procedimentos em ordem a garantir uma maior segurança dos alimentos (e dos alimentos para animais), a saber: código de boas práticas, sistemas de rastreabilidade e o sistema de autocontrole conhecido como APPCC.

O tratamento dos alimentos por radiação ionizante representa um processo promissor na redução das contaminações bacterianas. Já é aplicado em algumas situações, nomeadamente no tratamento de alimentos pré-cozidos. O termo, todavia, tem ainda uma conotação negativa junto ao público, o que provavelmente irá dificultar uma ampla aplicação do referido tratamento. Convém enfatizar, todavia, que é na fase de pré-colheita e no estábulo, que convém começar a aplicar medidas conducentes à prevenção da ocorrência de contaminantes microbiológicos e químicos (APHA, 2003).

Em segundo lugar, no mundo assiste-se diariamente ao aumento da proporção da população com deficiências no sistema imunológico, portanto mais susceptíveis aos efeitos nocivos dos agentes infecciosos, eventualmente presentes nos alimentos. Por exemplo, uma infecção por *Salmonella enteritidis* tem um caráter benigno numa pessoa imunocompetente, mas pode causar doenças severas num doente imunocomprometido. Os doentes com maior grau de depleção imunológica são os que apresentam infecção pelo vírus HIV (causador da síndrome da imunodeficiência adquirida ou AIDS), os transplantados

de medula óssea e os que são submetidos a tratamentos por radioterapia, quimioterapia ou com drogas imunossupressoras. Os diabéticos e os idosos, em proporção crescente nas sociedades modernas, são também imunodeprimidos (assim como os recém-nascidos, cujo sistema imunológico não se encontra ainda suficientemente desenvolvido).

Em terceiro lugar, é preocupante a crescente resistência dos microrganismos aos antibióticos, devido primordialmente ao uso inadequado da antibioticoterapia em medicina humana (por ex: a maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* - os estafilococos produzem uma exotoxina termorresistente, que pode estar presente nos alimentos, designadamente quando manipulados em condições de higiene deficientes - resiste à penicilina e a outros antibióticos).

Convém acrescentar que investigações recentes revelam que algumas bactérias patogênicas têm capacidade para desenvolver resistência não só aos antibióticos mas também a condições adversas do meio (pH, atividade de água, temperatura, etc.) não letais, dando origem a mutantes que não só sobrevivem e se multiplicam nessas condições, como podem adquirir maior virulência. Assim sendo, pode-se tornar difícil inativar ou controlar os microrganismos emergentes através dos processos tradicionais de conservação dos alimentos. Cumpre, portanto, proceder a uma monitorização correta e exaustiva da qualidade sanitária dos alimentos, quer após o processamento quer durante o armazenamento subsequente.

Em quarto lugar, refiram-se os efeitos nocivos de diversas micotoxinas, ainda insuficientemente estudados no homem. Tendo em vista que algumas toxinas fúngicas têm efeitos cumulativos e são responsáveis por patologias com uma longa duração (suspeitando-se que favorecem o desenvolvimento de neoplasias malignas nos seres humanos), a prevenção e controle das micotoxinas, que ocorrem naturalmente nos alimentos vegetais e o estudo das micotoxicoses, constituem tópicos importantes (APHA, 2003; CDC, 2004).

A Segurança Alimentar surge atualmente como uma das principais preocupações da Indústria Alimentar. Tal fato decorre da grande preocupação do consumidor com os alimentos que come atualmente e do receio que estes não sejam seguros para a saúde humana, ou seja, que não sejam inócuos. E, no entanto, se atentarmos ao estado sanitário dos alimentos e aos cuidados e cautelas a que são sujeitos atualmente quando da sua fabricação, muito maior nos dias de hoje, tal preocupação aparece como um paradoxo.

Nas últimas décadas a sociedade urbanizou-se, com cada vez maior concentração da população nos centros urbanos, sem qualquer ligação com a atividade agrícola. Este afastamento do mundo rural, não só provoca um desconhecimento do ciclo da produção primária, matéria-

prima dos alimentos, como contempla também artificialmente esta vida “passada”, ficando a noção do que o “antigamente é que era bom...”. Enquanto há 30 anos uma família gastava em média 2 horas para confeccionar uma refeição, atualmente a média não ultrapassa meia hora, havendo estratos da população que não ocupam mais de 15 minutos. Outra característica da sociedade moderna é a sua grande sedentarização e a conseqüente maior preocupação com uma dieta alimentar diferente e mais adaptada a esta vida sedentária e com pouco exercício físico. Foram estas evoluções da sociedade que provocaram uma nova relação com o alimento, havendo simultaneamente uma maior preocupação com a composição nutricional do alimento e um maior afastamento ou desconhecimento do seu processo de fabricação (CDC, 2004).

A estas evoluções e preocupações por parte do consumidor, a indústria alimentícia responde produzindo alimentos mais adaptados às novas exigências e limitações de tempo deste mesmo consumidor e, simultaneamente, mais sofisticados na sua composição. Assistimos assim a uma rápida transformação da indústria alimentícia nos últimos anos, setor que tradicionalmente era uma indústria de alterações bastante lentas. Naturalmente que tais transformações não se deveram apenas às alterações dos gostos dos consumidores. A indústria alimentar também tem de responder aos desafios da globalização e aumento da concorrência, beneficiando, por outro lado, as inovações e avanços da tecnologia e biotecnologia. Por outro lado ainda, o consumidor tem uma atitude dupla e por vezes paradoxal, face a estas evoluções. A sua “vida sem tempo” leva-o a optar por produtos que beneficiam das vantagens das inovações tecnológicas. Referimo-nos a produtos de preparação rápida, com doses de dimensão adequada e de conservação mais longa. Simultaneamente mostram uma preferência a produtos ligados a regiões e culturas tradicionais, sem qualquer transformação. É a esta dupla atitude, nem sempre muito compatível, que o produtor de alimentos tem de responder, assegurando simultaneamente níveis elevados de inoquidade.

10.3.5 - A Flora Microbiana dos Alimentos

10.3.5.1 - Microrganismos deteriorantes

Os alimentos degradados são aqueles que têm sabor e odor desagradáveis. Essa degradação é resultado do crescimento indesejável de microrganismos produtores de compostos voláteis durante seu metabolismo, os quais o olfato e o paladar humano podem detectar. Tais

microrganismos não causam toxinfecções. Esses alimentos não apresentam as características desejadas pelo consumidor, sendo esse um fato de interesse à qualidade e não à segurança dos alimentos. Os termos degradados e não-degradados são subjetivos, uma vez que a aceitação do alimento depende da expectativa do consumidor e não está relacionada com a segurança alimentar. O leite azedo é inaceitável para beber, mas pode ser utilizado na fabricação de bolos. O crescimento de *Pseudomonas* spp. é indesejável em carnes, contudo desejável no cultivo de certos pássaros. A produção de ácido acético durante a estocagem de vinhos é inaceitável, contudo é necessária para a produção de vinagre a partir do vinho (e da cerveja).

A degradação de alimentos envolve qualquer alteração que torna o alimento inaceitável para o consumo humano. Ela pode ocorrer devido a diversos fatores:

- danos causados por insetos;
- danos físicos devido a batidas, pressão, congelamento, secagem e radiação;
- atividades de enzimas dos próprios tecidos animais e vegetais;
- alterações químicas que não são introduzidas por microrganismos ou por enzimas de ocorrência natural;
- atividade de bactérias, fungos e leveduras.

Durante a colheita, o processamento e a manipulação, os alimentos podem ser contaminados com uma grande variedade de microrganismos. Conseqüentemente, durante a distribuição e a estocagem, as condições serão favoráveis para a multiplicação de microrganismos específicos, ocasionando a deterioração. Quais microrganismos se desenvolverão ou quais as reações químicas ou bioquímicas que ocorrerão dependem dos parâmetros intrínsecos e extrínsecos dos alimentos. A deterioração pode ser retardada por meio da diminuição da temperatura de estocagem.

Para alimentos frescos, as principais alterações na qualidade podem ocorrer devido:

- ao crescimento e metabolismo bacteriano, resultando em possíveis alterações do pH e formação de compostos tóxicos, odores desagradáveis e formação de gás e camadas limosas;
- à oxidação de lipídios e pigmentos contidos em alimentos gordurosos, resultando na liberação de sabor indesejável e na formação de compostos que possuam efeitos biológicos adversos ou que favoreçam a descoloração.

A deterioração dos alimentos não se deve somente ao crescimento de microrganismos, mas também à produção de metabólitos finais que causam odor indesejável, produção de camada limosa e de gás. A deterioração do leite mostra esses dois aspectos com o crescimento de

microrganismos termodúricos (como o *Bacillus cereus*) e a produção de sabor desagradável (amargor, devido a proteases termoestáveis).

Uma grande variedade de microrganismos pode estar presente nos alimentos e se desenvolver se as condições forem favoráveis. Tendo em vista a susceptibilidade à deterioração, os alimentos podem ser classificados como não-perecíveis (ou estáveis), semi-perecíveis e perecíveis. A classificação depende de fatores intrínsecos como a atividade de água, o pH, a presença de agentes antimicrobianos naturais, etc. A farinha é um produto estável, porque possui baixa atividade de água. As maçãs são semi-perecíveis, pois a manipulação inadequada e a estocagem imprópria podem resultar em lenta putrefação causada por fungos, enquanto as carnes cruas são perecíveis, já que fatores intrínsecos como pH e atividade de água favorecem o crescimento microbiano (OMS, 2003; APHA, 2003; CDC, 2004).

10.3.5.2 - Microrganismos deteriorantes Gram-negativos

Pseudomonas, *Alteromonas*, *Shewanella putrefaciens* e as *Aeromonas* spp. deterioram produtos lácteos, carne vermelha, carne de galinha, peixe e ovos neutros, além de serem estocados sem atmosfera modificada (isto é, com níveis normais de oxigênio). Existem diversos mecanismos de deterioração, incluindo a produção de proteases e lipases termoestáveis, as quais produzem aromas e sabores desagradáveis no leite, mesmo após a morte dos microrganismos pela pasteurização. Eles produzem, ainda, pigmentos na deterioração de ovos. A *Erwinia carotovora* e várias *Pseudomonas* spp. são responsáveis por aproximadamente 35% das deteriorações vegetais.

10.3.5.3- Microrganismos deteriorantes Gram-positivos não formadores de esporos

As bactérias ácido-lácticas e as *Brocothrix thermosphacta* são bastonetes gram-positivos que causam deteriorações típicas em carnes estocadas em embalagens com atmosfera modificada ou embalagens a vácuo. A *Acetobacter* e o *Pediococcus* spp. podem produzir uma camada limosa espessa em cervejas. A produção de diacetil por bactérias ácido-lácticas, causa a deterioração de cerveja. Esses microrganismos podem produzir, ainda, ácido láctico em vinhos, causando gosto amargo. A *Acetobacter* produz ácido láctico em cerveja, também resultando em sabor amargo no produto.

10.3.5.4- Microrganismos deteriorantes Gram-positivos formadores de esporos

Os microrganismos formadores de esporos, tais como *Bacillus spp.* e *Clostridium spp.*, podem ser importantes determinantes de alimentos processados termicamente, uma vez que seus esporos podem sobreviver ao processamento. Os *Bacillus cereus* podem crescer em leite pasteurizado a 5°C e produz o coalho doce (coagulação da retina, sem acidificação) e a nata fina. O *B. stearothermophilus* causa a deterioração “ácida sem estufamento” (*flat sour*) em alimentos enlatados. Ele cresce no interior da lata, produzindo ácidos (daí o termo deterioração ácida), mas sem a produção de gás, e portanto, a lata não *incha*. O *Clostridium thermosaccharolyticum* deteriora alimentos enlatados, produzindo gases e, por isso, a lata estufa. O *Desulfotomaculum nigrificans* produz sulfeto de hidrogênio, o qual causa estufamento de latas e mau cheiro. Esse fenômeno é conhecido como deterioração com cheiro repugnante de enxofre.

O *B. stearothermophilus*, o *C. thermosaccharolyticum* e *D. nigrificans* são microrganismos termofílicos. Isso significa que essas bactérias somente podem crescer em temperaturas maiores que as do ambiente. Dessa forma, alimentos enlatados são processados para estar comercialmente estéreis, uma vez que, sob condições normais de estocagem, não se espera que ocorra nenhum crescimento microbiano.

10.3.5.5- Bolores e leveduras deteriorantes

Os bolores (mofos) e as leveduras são mais resistentes a baixas atividades de água e pHs ácidos do que as bactérias. Por essa razão, deterioram alimentos como vegetais e produtos de panificação. Produzem enzimas pectinólidas, que amaciam os tecidos vegetais, causando putrefação. Cerca de 30% da deterioração de frutas ocorre devido ao fungo *Penicillium*. Os fungos também produzem grandes quantidades de esporângios coloridos que são visíveis nos alimentos. O pão é deteriorado por *Rhizopus nigricans* (mofo preto), *Penicillium* (mofo verde), *Aspergillus* (mofo verde) e *Neurospora sitophila* (pão avermelhado). As leveduras osmofílicas (*Saccharomyces* e *Torulopsis spp.*) são capazes de crescer em altas concentrações de açúcar (65 a 70%) e deterioram geléias, xaropes e mel. Os fungos podem produzir também diversos tipos de deterioração de carnes devido aos microrganismos *Mucor*, *Rhizopus* e *Thamnidium*.

10.3.6- Deterioração de produtos lácteos

O leite é um meio ideal para o crescimento de bactérias e, por isso, deve ser mantido sob refrigeração. A flora intrínseca do leite (cerca de 10^2 a 10^4 UFC/mL) é proveniente dos canais de leite de vaca, do úbere, dos equipamentos de ordenha etc, utilizados durante a produção. Essa flora inclui *Pseudomonas spp.*, *Alcaligenes spp.*, *Aeromonas spp.*, *Acinetobacter-Moraxella spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* e coliformes. A deterioração do leite é conseqüência, sobretudo, do crescimento de microrganismos psicrófilos, que produzem lipases e proteases termoestáveis que não são desnaturadas durante a pasteurização.

As pseudomonas, flavobactérias e *Alcaligenes spp.* são produtoras de lipases, as quais produzem cadeias médias e curtas de ácidos graxos a partir dos triglicerídeos do leite. Esses ácidos graxos conferem ao leite aroma e sabor rançoso desagradável. As proteases são produzidas pelas *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia* e *Bacillus spp.* Essas enzimas hidrolizam as proteínas do leite, produzindo peptídeos que azedam o mesmo. Por essa razão, altas contagens microbianas antes da pasteurização são indesejáveis, já que a ação residual das enzimas durante a estocagem resulta na redução da vida de prateleira do leite.

A pasteurização a 72°C por 15 segundos é realizada para matar todas as bactérias patógenas presentes no leite fresco, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp.* e *Brucella spp.* Os microrganismos termodúricos são aqueles que sobrevivem à pasteurização. Incluem *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* e *Microbacterium lacticum*. Os esporos de *B. cereus* e de *B. subtilis* sobreviverão aos tratamentos térmicos. O crescimento do *Bacillus cereus* causa a deterioração do leite conhecida como nata fina.

10.3.7- Deterioração de produtos de carne bovina e frango

As carnes (usualmente músculos) são produtos altamente perecíveis com atividade de água suficiente para o crescimento da maioria dos microrganismos. Como a carne é altamente protéica, ela é relativamente tamponada e o crescimento dos microrganismos não diminui significativamente o pH. Por ser um produto nutritivo, a carne pode ser deteriorada rapidamente por causa do crescimento de microrganismos e até ser prejudicial à saúde devido à contaminação de patógenos. A carne, por si só, é estéril quando no corpo do animal.

Entretanto, pode ser contaminada facilmente durante o abate, a evisceração, a manipulação no processamento e a estocagem inapropriada.

Se microrganismos como as *Pseudomonas spp.*, *Brochothrix thermosphacta* e bactérias ácido-lácticas crescerem na carne, esta se tornará deteriorada e inaceitável para o consumo. São os crescimentos de patógenos causadores de toxinfecções alimentares, tais como *Salmonella*, linhagens de *E.coli* produtoras de toxinas, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus* produtores de toxinas que tornam os produtos cárneos e de aves preocupantes.

A pele de aves pode carregar diversos organismos deteriorantes: *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Moraxella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Shewanella putrefaciens* e *Lactobacillus spp.* O patógeno *Campylobacter jejuni* também pode estar presente na pele e, conseqüentemente, ser transferido para superfícies de trabalho.

Os patógenos como *Salmonella enteritidis* podem infectar os ovários e os ovidutos de galinhas e, conseqüentemente, os ovos, principalmente durante a formação da casca. Além disso, as cascas de ovos tornam-se contaminadas com bactérias intestinais durante a passagem pela cloaca e com o contato com a superfície das incubadoras. O *Clostridium perfringens* é isolado em pequenas proporções em carne crua de frango. Essa bactéria é incapaz de crescer, devido às baixas temperaturas de estocagem e à presença de microrganismos psicrotófilos competidores.

As bactérias encontradas em carne de frango incluem: *S.aureus*, *L.monocytogenes* e *C.botulinum* do tipo C (não-patogênicos para adultos saudáveis). As linhagens de *S.aureus* encontradas em aves não são patogênicas aos homens. Os alimentos à base de frango com estafilococos são normalmente contaminados após cocção por manipuladores de alimentos.

As carcaças, em temperaturas maiores que 20°C, serão prontamente deterioradas por bactérias provenientes do intestino dos animais, as quais contaminaram a carne durante a evisceração. A flora deteriorante é dominada por microrganismos mesófilos tais como *E.coli*, *Aeromonas spp.*, *Proteus spp.* e *Micrococcus spp.* Em temperaturas abaixo de 20°C, a flora deteriorante predominante será constituída por psicrotófilos tais como *Pseudomonas spp.* (dos tipos fluorescente e não-fluorescente).

A carne de frango contém, ainda, um pequeno número de *Acinetobacter spp.* e *Shewanella putrefaciens*. A temperaturas de refrigeração de 5°C ou menor, a flora deteriorante será, predominantemente, de *Pseudomonas*. Essas bactérias são aeróbias e, portanto, somente crescem na superfície dos alimentos até uma

profundidade de 3 a 4mm nos tecidos subjacentes. A degradação é resultado da degradação de proteínas, o que produz compostos voláteis desagradáveis tais como indol, dimetil dissulfido e amônia. As oxidações químicas de lípidios insaturados resultam em sabor rançoso e desagradável.

O crescimento de fungos ocorre durante períodos de estocagem prolongada.

10.3.8- Deterioração de peixes

As bactérias podem ser detectadas em peixe fresco pela formação de uma camada limosa na pele (10^2 a 10^5 UFC/g), nas brânquias (10^3 a 10^4 UFC/g) e nos intestinos (10^2 a 10^9 UFC/g). Os peixes marinhos, provenientes dos Mares do Norte, serão colonizados principalmente por psicrótrofilos, enquanto os peixes de água morna serão colonizados, em maior proporção, por mesófilos.

A flora psicrótrófila será constituída por *Pseudomonas spp.*, *Alteromonas spp.*, *Shewanella putrefaciens*, *Acinetobacter spp.* e *Moraxella spp.* Já a flora mesófila será formada por micrococcos e corineformes, além de *Acinetobacter*. A flora dos peixes desembarcados nos portos incluirá organismos provenientes do gelo utilizado na preservação de peixes e da flora que contamina os barcos.

Devido à alta quantidade de bactérias psicrótrófilas, a deterioração ocorre muito rapidamente, uma vez que as baixas temperaturas são favoráveis a esses microrganismos. A 7°C, durante cinco dias, a carga microbiana pode aumentar até 10^8 /g. A degradação dos peixes ocorre mais rapidamente que a degradação das carnes, as quais levariam cerca de 10 dias para atingir esse valor de contaminação. O odor desagradável produzido por algumas linhagens de *Pseudomonas* resulta de éteres voláteis (como o etil-acetato) e compostos sulfídicos voláteis (metilmercaptano, dimetil sulfito, etc). O oxidotrimetilamina é reduzido por certos microrganismos deteriorantes de peixes, tais como *Shewanella putrefaciens*, que produzem trimetilamina e conferem um odor característico de peixe deteriorado. A *Photobacterium phosphoreum* (uma bactéria luminescente) causa a deterioração de bacalhau embalado a vácuo.

10.3.9- Deterioração de ovos

Os ovos possuem uma barreira de fatores antimicrobianos, incluindo agentes quelantes de ferro (conalbumina) e lisozima na albumina (clara de ovos). A casca é coberta com uma cutícula repelente

de água e duas membranas internas. Em contraste, a gema não contém nenhum fator antimicrobiano. A deterioração ocorre principalmente devido a microorganismos como *Pseudomonas spp.*, *Proteus vulgaris*, *Alteromonas spp.* e *Serratia marcescens*. Esses microorganismos produzem uma variedade de putrefações coloridas.

10.4- Microrganismos causadores de doenças de origem alimentar

As doenças de origem alimentar são originadas por alimentos que:

- parecem normais
- possuem odor normal
- possuem sabor normal

Como o consumidor não está consciente dos problemas potenciais envolvidos com os alimentos, quantidades significativas são ingeridas, proporcionando que doses infectivas de microrganismos sejam excedidas, tornando as pessoas doentes. É difícil rastrear o alimento responsável pelas toxinfecções ocorridas, uma vez que o consumidor dificilmente informa quais alimentos poderiam estar inadequados em suas últimas refeições (CDC, 2004).

As doenças de origem alimentar são causadas por diversos microrganismos e o período de incubação e de duração da doença varia consideravelmente (Quadro 13).

QUADRO 13- Microrganismos mais comuns causadores de enfermidades originadas por alimentos.

Microrganismo	Período de Incubação	Duração da Enfermidade
Espécies de <i>Aeromonas</i>	Desconhecido	1-7 dias
<i>Campylobacter jejuni</i>	3-5 dias	2-10 dias
<i>Escherichia coli</i>		
ETEC	16-72 horas	3-5 dias
EPEC	16-48 horas	5-15 dias
EIEC	16-48 horas	2-7 dias
EHEC	72-120 horas	2-12 dias
Hepatite A	30-60 dias	2-4 semanas
<i>Listeria monocytogenes</i>	3-70 dias	Variável
Vírus tipo Norwalk	24-48 horas	1-2 dias
Rotavírus	24-72 horas	4-6 dias
<i>Salmonella spp.</i>	16-72 horas	2-7 dias
<i>Shigella spp.</i>	16-72 horas	2-7 dias
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3-7 dias	1-3 semanas

Fonte: CDC,2004.

Os organismos causadores de doenças transmitidas por alimentos são normalmente divididos em dois grupos:

- infecciosos: *Salmonella*, *Campylobacter* e *Escherichia coli* patogênicas;
- intoxicantes: *Bacillus cereus*, *S.aureus*, *C.botulinum*.

O primeiro grupo compreende os microrganismos que se multiplicam no trato intestinal humano, enquanto o segundo grupo é formado por aqueles microrganismos que produzem toxinas, tanto nos alimentos quanto durante sua passagem pelo trato intestinal. Essa divisão é bastante útil, pois auxilia no reconhecimento das rotas da enfermidade alimentar. Os microrganismos vegetativos são destruídos por tratamento térmico, porém esporos bacterianos podem sobreviver e, então, germinar em alimentos que não são mantidos sob frio ou calor adequados.

10.5- Microrganismos indicadores

O termo "microrganismo indicador" pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismos, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente, é associado a microrganismos de origem intestinal, porém outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações. Por exemplo, a presença de bactérias gram-negativas em alimentos tratados termicamente é um indicativo de tratamentos térmicos inadequados (relativo ao número inicial desses organismos) ou uma contaminação posterior ao tratamento térmico. As contagens de coliformes são muito utilizadas nas análises de alimentos tratados termicamente, ainda que esse grupo represente uma pequena porção das bactérias Gram-negativas (APHA, 2003).

10.6- Patógenos de origem alimentar

10.6.1- *Campylobacter*

Os *Campylobacter* são reconhecidos como patógenos animais, sendo considerados como patógenos humanos somente há 15 ou 20 anos. Atualmente, os incidentes notificados envolvendo *Campylobacter* são mais frequentes do que qualquer outros patógenos.

Existem duas espécies principais de *Campylobacter* causadoras de doenças alimentares. O *C.jejuni* causa a maioria dos surtos (89 a 93%), sendo seguido pelo *C.coli* (7 a 10%). Também o *C.upsaliensis* e o

C.lari, ocasionalmente, são implicados em surtos alimentares. Tais microrganismos são encontrados em aves domésticas, gado, suínos, ovinos, roedores e pássaros. As rotas da infecção passam pela água contaminada, leite e carne. Os frangos são as maiores fontes potenciais de *Campylobacter* infecciosos. Conseqüentemente, a maioria dos casos esporádicos é oriunda de preparações higienicamente inadequadas ou do consumo de produtos de aves. A maioria dos surtos causados por *C.jejuni* é associada com o consumo de leite cru ou água não-clorada.

O microrganismo é muito sensível à secagem e é destruído por cocção de 55 a 60°C, durante 10 minutos. Embora os microrganismos não se multipliquem à temperatura ambiente, uma pequena dose infecciosa (500 células) pode facilmente causar uma contaminação cruzada entre carnes cruas e processadas. Esta é uma possível causa para o fato de a gastrenterite causada por *Campylobacter* ser mais freqüente do que a causada por *Salmonella* em muitos países. Há uma notável incidência de enterites originadas por *Campylobacter* nos meses de verão.

Um aumento da resistência à ciprofloxacina (um antibiótico importante) foi relatado, possivelmente devido à utilização no meio veterinário do antibiótico enrofloxacin estruturalmente relacionado (fluorquinolonas), o qual é usado para aumentar o porte de aves domésticas.

As características de enterites causadas por *Campylobacter* são: doença semelhante a gripe; dores abdominais; febre; diarreia, a qual pode ser profusa, aquosa e, freqüentemente, com sangue.

O período de incubação é de 2 a 10 dias, perdurando por cerca de uma semana. A doença é autolimitante. O microrganismo é secretado nas fezes durante várias semanas após os sintomas terem cessado. As recaídas ocorrem em mais ou menos 25% dos casos.

O *Campylobacter* pode facilmente causar contaminação cruzada em alimentos processados. Um pedaço de carne crua contaminada pode deixar 10 mil células de *Campylobacter* por cm² em uma superfície de trabalho. Como a dose infecciosa é de apenas mil células, a carga microbiana residual deve ser reduzida a <2 UFC/cm². O *C.jejuni* é rapidamente destruído por um cozimento a 55 a 60°C, por 10 minutos, e não é um formador de esporos. Conseqüentemente, os principais mecanismos de controle são regimes de cozimento adequados e a prevenção da contaminação cruzada causada por carnes de gado e de frango contaminadas (CDC, 2004).

10.6.2- *Salmonella*

A *Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*. São bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam esporos e têm forma de bastonetes curtos.

Os sintomas característicos de doenças de origem alimentar causadas por *Salmonella* incluem: diarreia; náusea; dor abdominal; febre branda e calafrios; algumas vezes, vômitos, dor de cabeça e fraqueza.

O período de incubação antes da doença é de cerca de 16 a 72h. A enfermidade é, normalmente, autolimitante e persiste durante 2 a 7 dias. A pessoa infectada excretará grandes quantidades de *Salmonella* pelas fezes durante o período da doença. O número de salmonelas nas fezes decresce, porém, em alguns casos excepcionais (portadores assintomáticos) continuará por até três meses. As conseqüências crônicas, tais como artrites reativas pós-enterites e síndrome de Reiter, podem continuar por até 3 a 4 semanas após o início dos sintomas agudos.

A dose infecciosa varia de acordo com a idade e a saúde da vítima, com o alimento e ainda com a linhagem da *Salmonella*. As doses infecciosas podem variar de 20 até 10⁶ células.

A enfermidade é causada pela passagem no lúmen e penetração de células de *Salmonella* no epitélio do intestino delgado, onde se multiplicam. A seguir, a bactéria invade o íleo e até mesmo o cólon. A infecção propicia uma resposta inflamatória. O número de casos de salmoneloses demonstra uma tendência sazonal definida, com picos de incidência no verão.

Uma ampla variedade de alimentos contaminados é associada às salmoneloses, incluindo carne bovina crua, aves domésticas, ovos, leite e derivados, peixes, camarões, pernas de rã, fermentos, cocos, molhos e temperos para salada, misturas para bolo, sobremesas recheadas e coberturas com cremes, gelatina desidratada, manteiga de amendoim, cacau e chocolates. A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas de manipulação ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados. O microrganismo se multiplica no alimento até atingir a dose infecciosa.

Além das cascas de ovos, as gemas também podem ser contaminadas por *S. enteritidis* por meio de infecção transovariana. O organismo proveniente do ânus percorre o corpo até colonizar os ovários. Logo após, a *S. enteritidis* infecta o ovo antes da formação da casca protetora. Um ovo não-fecundado infectado resulta em produtos derivados de ovos contaminados, enquanto aqueles que forem fecundados resultam em uma ave cronicamente enferma, com infecção sistêmica que, conseqüentemente, originará carcaças contaminadas.

A preocupação atual é o aumento de sorotipos multirresistentes a antibióticos. *S. typhi* e *S. paratyphi* A, B e C produzem a febre tifóide e doenças assemelhadas em humanos. Essa febre é uma doença que causa risco de vida. O microrganismo multiplica-se no tecido submucoso do epitélio do íleo e propaga-se no corpo via macrófagos. A seguir,

vários órgãos internos, como o baço e o fígado, tornam-se infectados. A bactéria infecta a vesícula biliar, o fígado e, finalmente, o intestino, utilizando a bile como meio de transporte. Se o organismo não progride além da vesícula biliar, então a febre tifóide não se desenvolverá. Mesmo assim, a pessoa pode continuar a excretar o microrganismo nas fezes.

Os sintomas da febre tifóide são: febre alta de 39-40°C; letargia; câibras abdominais; cefaléia; perda de apetite; podem surgir erupções cutâneas achatadas, de coloração rósea.

A taxa de fatalidade da febre tifóide é de 10%, enquanto a de outras salmoneloses é de menos de 1%. Um pequeno número de pessoas se recupera da febre tifóide, porém continua a excretar as bactérias nas fezes. *S. typhi* e *S. paratyphi* entram no corpo por meio de alimentos e bebidas que podem ter sido contaminados por pessoas que estavam excretando o microrganismo pelas fezes (OMS, 2003; APHA, 2004, SILVA, 1999).

10.6.3- *Escherichia coli* patogênicas

As linhagens patogênicas de *E.coli* são divididas de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos de patogenicidade nos seguintes grupos:

E.coli enterotoxigênica (ETEC) é comumente conhecida como causadora da diarreia dos viajantes. A ETEC causa diarreia aquosa, com aparência similar à água de arroz, e produz febres baixas. O microrganismo coloniza as proximidades do intestino delgado.

E. coli enteropatogênica (EPEC) causa diarreia aquosa em crianças. A EPEC causa vômitos, febre e diarreia aquosa contendo muco, mas não sangue. O microrganismo coloniza as microvilosidades de todo o intestino, para produzir a lesão característica de ligação ou desaparecimento nas bordas da microvilosidade.

E. coli entero-hemorrágica (EHEC) causa diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica, síndrome urêmica hemolítica e púrpura trombocitopênica. Esse grupo inclui os sorotipos O157, O26, O111.

E. coli enteroagregativa (EaggEC) causa diarreia aquosa persistente, principalmente em crianças, durando mais de 14 dias.

E.coli enteroinvasiva (EIEC) causa febre e diarreias profusas contendo muco e sangue (APHA, 2003; SILVA, 1999).

10.6.4- *Shigella*

A *Shigella* é uma bactéria altamente infectante que coloniza o trato intestinal. O gênero *Shigella* consiste de quatro espécies: *S. dysenteriae* (sorotipo A), *S. flexneri* (sorotipo B), *S. boydii* (sorotipo C) e

S. sonnei (sorotipo D). Em geral, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* e *S. boydii* predominam nos países em desenvolvimento. Em contraste, *S. sonnei* é a mais comum e *S. dysenteriae* é a menos comum nos países desenvolvidos. A *Shigella* se propaga por contato direto e indireto com indivíduos infectados. O alimento ou a água podem ser contaminados por contato direto ou indireto com material fecal de pessoas infectadas. A *Shigella* causa surtos frequentemente em creches.

Os principais sintomas da shigelose são: diarréia branda ou leve, aquosa e/ou sanguinolenta; febre e náuseas; podem ocorrer vômitos e dores abdominais.

Os sintomas aparecem dentro de 12 até 96h após a exposição à *Shigella*; o período de incubação é de, normalmente, uma semana para *S. dysenteriae*. Os sintomas da *S. sonnei* são geralmente menos graves do que os das outras espécies de *Shigella*. A *S. dysenteriae* pode ser associada com sérias doenças, incluindo megacólon tóxico e síndrome urêmica hemolítica. As células de *Shigella* são encontradas nas fezes por 1 a 2 semanas de infecção (OMS, 2003; SILVA, 1999).

10.6.5- *Listeria*

A *Listeria* é uma bactéria gram-positiva, que não forma esporos. É móvel por meio de flagelos e cresce entre 0 e 42°C. É menos sensível ao calor, quando comparada com a *Salmonella*, sendo que a pasteurização é suficiente para destruir o organismo. O gênero é dividido em oito espécies, dentre as quais a *L. monocytogenes* é a que causa maior preocupação no que concerne a enfermidades causadas por alimentos.

A *L. monocytogenes* foi encontrada em pelo menos 37 espécies de mamíferos, tanto domésticos quanto selvagens, assim como em 17 espécies de pássaros e possivelmente em algumas espécies de peixes e crustáceos. É plausível que de 1 a 10% da população sejam portadores intestinais de *L. monocytogenes*. Essa bactéria foi isolada a partir de vários ambientes, incluindo vegetação em decomposição, terra, ração animal, esgoto e água. É resistente a diversas condições ambientais e pode crescer a temperaturas tão baixas quanto 3°C.

Já foi encontrada em uma variedade de alimentos, tanto cru como processado, onde pode sobreviver e multiplicar-se rapidamente durante a estocagem. Entre esses alimentos, incluem-se leite e queijo supostamente pasteurizados (particularmente variedades pouco curadas), carne (incluindo avícola) e produtos de carne, vegetais crus, salsichas de carne crua fermentada, assim como frutos do mar e peixes. A *L. monocytogenes* é bastante forte e resiste aos efeitos deletérios do congelamento e secagem. Sua capacidade de crescer em temperaturas tão baixas quanto 3°C permite multiplicação em alimentos refrigerados.

A *L. monocytogenes* é responsável por infecções oportunistas, infectando, preferencialmente, indivíduos com o sistema imunológico perturbado, incluindo mulheres grávidas, recém-nascidos e idosos. A listeriose é clinicamente definida quando o microrganismo é isolado a partir do sangue, do fluido cefalorraquidiano ou de qualquer outro local estéril, como a placenta e o feto.

Os sintomas da listeriose são: meningite, encefalite e septicemia; pode levar a aborto, nascimento de feto morto ou prematuro quando a mulher grávida é infectada no segundo e terceiro trimestres.

A dose infectante de *L. monocytogenes* é desconhecida, mas acredita-se que varia de acordo com a linhagem e suscetibilidade da vítima. A partir de casos contraídos pela ingestão de leite cru ou supostamente pasteurizado é evidente que menos de mil organismos podem levar à doença. O período de incubação é excessivamente longo, de 1 a 90 dias.

A *L. monocytogenes* pode invadir o epitélio gastrointestinal. Uma vez que a bactéria entra nos monócitos, macrófagos ou leucócitos polimorfonucleares do hospedeiro, pode se disseminar pela corrente sanguínea, levando à septicemia. Sua presença intracelular em células fagocitárias também permite acesso ao cérebro e provavelmente migração da placenta para o feto em mulheres grávidas. A patogenicidade da *L. monocytogenes* concentra-se na habilidade em sobreviver e multiplicar-se em células fagocitárias de seus hospedeiros. A *Listeria* propicia altas taxas de mortalidade.

Quando ocorre meningite listérica, a mortalidade pode chegar a 70%. Nos casos de septicemia, a taxa de mortalidade é de 50%, enquanto em infecções perinatais-neonatais é maior do que 80%. Em infecções durante a gravidez, a mãe normalmente sobrevive. As infecções podem ocorrer sem a presença de sintomas, resultando em excreção fecal de *Listeria* infecciosa (APHA, 2003; SILVA, 1999).

10.6.6- *Yersinia*

Existem três espécies patogênicas no gênero *Yersinia*, mas somente a *Y. enterocolitica* e a *Y. pseudotuberculosis* causam gastroenterite.

O crescimento ótimo do microrganismo ocorre na faixa de 30 a 37°C, entretanto, também é capaz de crescer em temperaturas de refrigeração de alimentos (8°C). ambos os organismos foram isolados de animais tais como porcos, aves, castores, gatos e cachorros. Apenas a *Y. enterocolitica* foi detectada no meio ambiente e em fontes alimentícias, como por exemplo, lagoas, lagos, carnes, sorvete e leite. A maioria dos isolados foi verificada como não-patogênica.

Os sintomas típicos de enfermidades causadas por alimentos contaminados por *Yersinia* são: dores abdominais; febre; diarreia (durando várias semanas); outros sintomas podem incluir garganta inflamada, fezes sanguinolentas, erupções cutâneas, náuseas, dor de cabeça, mal-estar, dores nas articulações e vômito.

A yersiniose é freqüentemente caracterizada por sintomas como diarreia e/ou vômitos, entretanto, febre e dor abdominal são os mais comuns. As infecções causadas por *Yersinia* são similares a apendicites e linfadenites mesentéricas. A bactéria pode também causar infecções em outros lugares como ferimentos, articulações e trato urinário. A dose mínima infecciosa é desconhecida. O início da doença acontece, normalmente, entre 24 e 48h após a ingestão, podendo o período máximo de incubação alcançar 11 dias.

A *Y. enterocolitica* está presente em todo o ambiente. Pode ser encontrada em carnes (de porco, gado, ovelha, etc), ostras peixes e leite cru. A causa exata da contaminação alimentar é desconhecida. No entanto, a prevalência desse organismo no solo e na água e em animais oferece amplas oportunidades para que entre nos suprimentos alimentícios. O principal hospedeiro reconhecido para essa bactéria é o porco.

O microrganismo é resistente a condições de estocagem adversas (como congelamento durante 16 meses). Uma sanificação inadequada e técnicas de esterilização e estocagem impróprias não podem ser desconsideradas como contribuintes à contaminação. Dessa forma, um controle primário do organismo necessita de alterações nas práticas atuais de abate. Como o organismo é capaz de crescer em temperaturas de refrigeração, essa não é uma técnica efetiva de controle, a menos que combinada com a adição de conservantes (OMS, 2003; SILVA, 1999).

10.6.7- *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é uma bactéria esférica (coco) Gram-positiva, ocorrendo em pares, em pequenas cadeias ou em cachos. As intoxicações alimentares são causadas pelas enterotoxinas. Essas toxinas são altamente termoestáveis ($D_{98,9} \geq 2h$) e resistentes à cocção ou a enzimas proteolíticas. São superantígenos e estimulam os monócitos e os macrófagos a produzir citocinas. Uma dose de toxina menor que 1,0 μ g/kg (300 a 500ng) em alimentos contaminados produzirá sintomas de contaminação por estafilococos. Essa quantidade de toxina é produzida por 10⁹ microrganismos por grama. A resistência ao calor e à ação proteolítica do trato intestinal significa que é importante evitar o crescimento de *S. aureus* nos alimentos e que esses sejam testados

quanto à presença de enterotoxinas após os tratamentos térmicos (e subsequente morte das células bacterianas).

Os estafilococos existem no ar, na poeira, no esgoto, na água, no leite e nos alimentos ou equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas aos ambientes, nos seres humanos e nos animais. Os humanos e os animais são os principais reservatórios. Os estafilococos estão presentes nas vias nasais e na garganta, além de no cabelo e na pele de 80% ou mais dos indivíduos saudáveis. Essa incidência pode ser ainda maior para indivíduos associados ou que entram em contato com pessoas doentes e ambientes hospitalares.

Apesar de os manipuladores de alimentos serem, normalmente, as principais fontes de contaminação dos alimentos, quando há surtos, os equipamentos e as superfícies também podem ser a fonte das contaminações por *S. aureus*. As intoxicações humanas são causadas pela ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos por algumas linhagens de *S. aureus* normalmente, porque o alimento não foi mantido quente (60°C ou mais) ou frio o suficiente (7,2°C ou menos).

Os alimentos normalmente relacionados às intoxicações causadas por *S. aureus* são carnes e produtos de carne, frangos e produtos de ovos, saladas como as de atum, galinha, batata e macarrão, produtos de panificação como creme, tortas de creme e bombas de chocolate, sanduíches e leite ou produtos lácteos. Os alimentos que requerem manipulação considerável durante a preparação e que são mantidos a temperaturas ligeiramente elevadas após a preparação, são aqueles freqüentemente envolvidos em intoxicações alimentares causadas por estafilococos.

O organismo é inativado rapidamente pelo calor ($D_{65,5} = 0,2$ a $2,0$ min), mas é resistente à secagem e é tolerante a altas concentrações de sais.

Os sintomas de intoxicações causadas por estafilococos aparecem rapidamente e são: náuseas; vômitos; dores abdominais.

O início dos sintomas de enfermidades causadas por estafilococos é normalmente rápido, ocorrendo dentro de horas após a ingestão. Os sintomas podem ser bastante agudos, dependendo da suscetibilidade individual à toxina, da quantidade de alimento contaminado ingerido, da quantidade de toxina no alimento ingerido e da saúde geral da pessoa. Os sintomas mais comuns são náuseas, vômitos e dores abdominais. Alguns indivíduos podem não demonstrar sempre todos os sintomas associados com a enfermidade. Em casos mais sérios, podem ocorrer dor de cabeça, dores musculares e mudanças transientes na pressão sangüínea e na taxa de pulsação. A doença é normalmente autolimitante e geralmente dura de 2 a 3 dias. Os casos graves durarão mais tempo.

Como a toxina estafilocócica é bastante termoestável, não pode ser inativada por regimes de cocção padrão. Por isso, evitando a

contaminação do alimento pelo microrganismo e mantendo-o à baixa temperatura, a carga microbiana pode ser limitada (OMS, 2003; APHA, 2003; SILVA, 1999).

10.6.8- *Clostridium perfringens*

O *Clostridium perfringens* é um bastonete anaeróbio, Gram-positivo, formador de esporos. Anaeróbio significa que o organismo é incapaz de crescer na presença de oxigênio livre. Foi inicialmente associado à diarreia em 1895, mas o primeiro relato de envolvimento com intoxicações alimentares ocorreu em 1943. É amplamente distribuído no ambiente e freqüentemente é encontrado no intestino de humanos e animais. Os esporos do microrganismo persistem no solo, em sedimentos e em áreas sujeitas à poluição fecal de humanos e animais.

A diarreia aguda causada pelo *C. perfringens* deve-se à produção de uma enterotoxina, a alfa-toxina.

As características de intoxicações causadas por *C. perfringens* são: dor abdominal; náusea; diarreia aguda; sintomas que aparecem 8 a 12h após a ingestão do microrganismo.

A forma mais comum de intoxicação por *C. perfringens* é caracterizada por dores abdominais intensas e diarreias que iniciam 8 a 12h após o consumo do alimento contendo grande quantidade do microrganismo, o qual produz as toxinas causadoras da enfermidade. A doença dura normalmente 24h; entretanto, sintomas menos graves podem permanecer em alguns indivíduos por 1 ou 2 semanas. Poucas mortes foram relatadas como resultado da desidratação e de outras complicações.

As carnes, os produtos cárneos e os molhos são os alimentos mais freqüentemente implicados.

Alguns microrganismos podem persistir sob a forma de esporos após a cocção. Os esporos germinam, e a bactéria se multiplica até níveis causadores de enfermidades durante os períodos de refrigeração e estocagem. O processo de cocção retira o oxigênio, criando, dessa maneira, condições anaeróbias favoráveis para o crescimento de clostrídios.

Após a ingestão, a enterotoxina é produzida no intestino, depois de o microrganismo ter passado pelo estômago. A enterotoxina é associada à esporulação, possivelmente induzida pelo ambiente ácido do estômago. A enterotoxina é uma proteína termosensível, a qual é destruída pelo calor (o valor D_{90} é 4 minutos).

O controle desse microrganismo é atingido principalmente por meio da cocção e do resfriamento. Os resfriamentos rápidos de 55 para 15°C reduzem a possibilidade de sobrevivência e a posterior germinação

de esporos do clostrídio. Pelo reaquecimento do alimento até 70°C imediatamente antes do consumo, pode-se destruir qualquer célula vegetativa presente (CDC, 2003; SILVA, 1999).

10.6.9- *Clostridium botulinum* dos tipos A, B, E e F

O *C. botulinum* é um bastonete gram-positivo, anaeróbio estrito. Causa uma doença de origem alimentar denominada botulismo. Trata-se de uma intoxicação alimentar causada pela ingestão de neurotoxinas pré-formadas. O microrganismo é encontrado por toda a natureza.

Existem sete tipos de *C. botulinum*: A, B, C, D, E, F e G. Os tipos A, B, E e F são os principais causadores de botulismo humano (tipos C e D em animais).

O microrganismo forma esporos, os quais podem ser transmitidos pelo ar e contaminar jarras abertas ou latas. Uma vez fechadas, as condições anaeróbias favorecem o crescimento dos esporos e a produção de toxinas.

Os sintomas do botulismo são: visão dupla; náusea; vômito; fadiga; tonturas; dor de cabeça; garganta e nariz secos; falhas respiratórias.

O início dos sintomas ocorre de 12 a 36h após a ingestão das toxinas bacterianas. As toxinas botulínicas bloqueiam a liberação do neurotransmissor acetilcolina, resultando em fraqueza muscular e subsequente paralisia. A doença pode durar de duas horas até 14 dias, dependendo da dose e da vulnerabilidade do hospedeiro. A taxa de fatalidade é de cerca de 10%.

O botulismo é associado com alimentos enlatados de baixa acidez (principalmente aqueles de produção caseira), vegetais, peixes e produtos de carne. Também é associado com o mel, e por isso, o mel não deve ser dado a crianças com menos de um ano de idade. Os esporos germinam no trato intestinal e as bactérias produzem as toxinas causadoras da síndrome do bebê mole.

O tratamento térmico de alimentos enlatados de baixa acidez a 121°C por três minutos ou equivalente eliminará os esporos de *C. botulinum*. Essa bactéria não pode crescer em alimentos ácidos ou acidificados com pHs menores do que 4,6 (CDC, 2003; SILVA, 1999).

10.6.10- *Bacillus cereus*

O *B. cereus* é um patógeno alimentar formador de esporos que foi isolado pela primeira vez em 1887. Os esporos podem sobreviver a muitos processos de cocção. O microrganismo cresce bem em alimentos cozidos devido à inativação da microflora competidora. O *B. cereus* é um bastonete Gram-positivo, aeróbio facultativo.

O *B. cereus* é encontrado por toda a natureza, sendo isolado do solo, da vegetação, da água fresca e dos pêlos de animais. É

comumente encontrado em baixos níveis nos alimentos ($<10^2$ UFC/g), os quais são considerados aceitáveis. As intoxicações alimentares iniciam quando o alimento é sujeito a abusos de tempo-temperatura, propiciando que um nível baixo de organismos se multiplique até níveis ($> 10^5$ UFC/g) significativos (necessários para intoxicação).

Existem dois tipos reconhecidos de intoxicações alimentares causadas por *B. cereus*: o diarréico e o emético. Ambos são autolimitantes, e a recuperação ocorre dentro de 24h. O *B. cereus* produz toxinas diarréicas durante o crescimento no intestino delgado humano, enquanto as toxinas eméticas são pré-formadas no alimento.

Os sintomas da intoxicação alimentar diarréica causada por *B. cereus* são: diarréia aquosa; dores abdominais; náuseas; vômitos raramente.

Os sintomas dessa enfermidade são similares àqueles das doenças causadas por *C. perfringens*. O início das diarréias aquosas e das dores abdominais ocorre em 8 a 24h após o consumo de alimentos contaminados. A náusea pode acompanhar a diarréia, mas os vômitos raramente ocorrem. Na maioria das vezes, os sintomas persistem por 24h, tempo em que o microrganismo é excretado em grandes quantidades.

Os sintomas da intoxicação alimentar por *B. cereus* são: náuseas; vômitos; dores abdominais e possível diarréia.

O tipo emético de intoxicação por náuseas e vômitos durante um período de 0,5 até 6h após o consumo de alimentos contaminados. Ocasionalmente, dores abdominais e diarréias podem ocorrer. A duração dos sintomas geralmente é menor que 24h. Os sintomas desse tipo de intoxicação alimentar são semelhantes àqueles causados por *S. aureus*.

Uma grande variedade de alimentos, incluindo carnes, leites, vegetais e peixes, foi associada ao tipo diarréico de intoxicação. Os surtos do tipo emético são geralmente associados com produtos de arroz, no entanto, outros alimentos ricos em amido, como batatas, massas e produtos de queijo, também foram implicados. As misturas para alimentos como molhos, pudins, sopas, massas folhadas e saladas são freqüentemente relacionadas a surtos alimentares. A presença de um grande número de *B. cereus* ($>10^6$ organismos/g) em alimentos é indicativa do crescimento ativo e proliferação do microrganismo e é um perigo potencial à saúde.

Como o microrganismo se encontra por todo o meio ambiente, baixos números ocorrem comumente em alimentos. Por isso, o principal mecanismo de controle é a prevenção da germinação de esporos e a multiplicação em alimentos cozidos prontos para consumo. A estocagem de alimentos abaixo de 10°C inibirá o crescimento de *B. cereus* (OMS, 2003; APHA, 2003; SILVA, 1999).

10.6.11- *Vibrio parahaemolyticus*

V. parahaemolyticus significa vibrio que dissolve o sangue. Foi isolado, pela primeira vez, em 1951. O microrganismo não é isolado na ausência de NaCl (2-3%) e, por isso, não foi cultivado em estudos de gastroenterites anteriores. O *V. parahaemolyticus* é atualmente reconhecido como o maior causador de gastroenterites de origem alimentar no Japão. Isso porque o microrganismo é associado com o consumo de alimentos marinhos, os quais são parte significativa da dieta no Japão.

Os sintomas típicos de doença alimentar causada por *Vibrio parahaemolyticus*, são: diarréias; dores abdominais; náuseas; vômitos; dores de cabeça; febre e tremores.

O período de incubação é de 4 a 96h após a ingestão do microrganismo, sendo a média de 15h. a doença é normalmente branda ou moderada, embora alguns casos possam necessitar de hospitalização. Em média, essa doença dura cerca de três dias. O distúrbio é causado quando o organismo se liga, via adesinas células-associadas, ao intestino e excreta uma enterotoxina. A dose infecciosa pode ser maior que um milhão de organismos.

O organismo está presente, normalmente, em quantidade inferior a 10^3 UFC/g em peixes e frutos do mar, exceto em águas mornas, onde a contagem pode aumentar para 10^6 UFC/g. As infecções causadas por esse microrganismo foram associadas ao consumo de peixe e frutos do mar, impropriamente cozidos ou cozidos e recontaminados.

Existe uma correlação entre a probabilidade de infecção e os meses mais quentes do ano. A refrigeração inadequada de frutos do mar contaminados com esse microrganismo permite a sua proliferação, o que aumenta a possibilidade de infecção. O organismo é bastante sensível ao calor, e os surtos devem-se, freqüentemente, a processos de manipulação inadequados e a abusos de temperaturas. O controle desse microrganismo pode ocorrer por meio da prevenção da sua multiplicação após a pesca, pelo resfriamento ($<5^{\circ}\text{C}$) e pela cocção com temperatura interna maior do que 65°C . O isolamento de qualquer espécie de *Vibrio* a partir de alimentos cozidos indica práticas de higiene inapropriadas, já que o microrganismo é destruído rapidamente pelo calor (CDC, 2003; SILVA, 1999).

10.6.12- *Vibrio vulnificus*

O *V. vulnificus* foi relatado pela primeira vez em 1976 como vibrio lactose-positivo. "*Vulnificus*" significa causador de feridas, o que reflete a habilidade do microrganismo em invadir e destruir tecidos. O microrganismo e, portanto, associado com infecções que originam

feridas e septicemias fatais. Tem a maior taxa de morte de qualquer agente causador de distúrbios de origem alimentar e causa 95% das mortes relacionadas com frutos do mar.

Os sintomas típicos, da doença alimentar, causada por *V. vulnificus* são: febre; tremores; náuseas; lesões na pele.

O início dos sintomas ocorre cerca de 24h (a partir de 12h até vários dias) após a ingestão de frutos do mar contaminados (especialmente ostras) por pessoas vulneráveis. Os indivíduos mais suscetíveis às infecções incluem idosos, pessoas imunocomprometidas e aqueles que sofrem de distúrbios crônicos do fígado e de alcoolismo crônico. O microrganismo difere dos outros vibrios patogênicos, uma vez que invade e se multiplica na corrente sanguínea. A mortalidade ocorre em 40 a 60% dos casos. O microrganismo é altamente invasivo e produz diversos fatores que o protegem do sistema imunológico do hospedeiro.

O *V. vulnificus* é isolado a partir de moluscos e águas litorâneas. O microrganismo é raramente isolado de águas do mar com temperaturas inferiores a 10 a 15°C, mas os números aumentam quando a temperatura da água é superior a 21°C. A principal rota de infecção é a ingestão seguida de feridas e septicemia. Não é uma causa significativa de doenças alimentares entre adultos saudáveis. Portanto, a principal forma de prevenção é evitar o consumo de moluscos crus, em particular ostras, por indivíduos imunocomprometidos. O isolamento de qualquer espécie de *Vibrio* a partir de alimentos cozidos indica práticas de higiene inadequadas, pois os microrganismos são rapidamente destruídos pelo calor, e não têm sido relatados casos em alimentos processados. O controle do microrganismo ocorre principalmente pela interrupção da coleta de ostras se as temperaturas da água excederem 25°C e também pelo resfriamento e manutenção das ostras a temperaturas menores que 15°C (CDC, 2003; APHA, 2003; SILVA, 1999).

10.6.13- *Aeromonas hydrophila*

O gênero *Aeromonas* foi proposto em 1936 como uma *Enterobacteriaceae* em forma de bastonete. *A. hydrophila* está presente em ambientes de água fresca e em águas salgadas. Tem sido freqüentemente encontrada em peixes e frutos do mar e em amostras de carne vermelha (gado, porco e ovelha) e de frango no mercado. O microrganismo é capaz de crescer lentamente a 0°C.

Os sintomas gerais de gastroenterites causadas por *A. hydrophila* são: diarreia; dores abdominais; náusea; tremores e dores de cabeça; doenças similares a disenteria; colite; sintomas adicionais que incluem septicemia, meningite, endocardite e úlceras córneas.

Dois tipos distintos de gastroenterites foram associados com a *A. hydrophila*: a doença do tipo colérica com diarreia aquosa (água de

arroz) e a doença disentérica caracterizada por liberação de fezes contendo sangue e muco. A dose infecciosa do microrganismo é desconhecida. A *A. hydrophila* pode se disseminar através da corrente sangüínea e causar uma infecção generalizada em pessoas com sistemas imunológicos deficientes. Aqueles que correm risco são indivíduos sofrendo de leucemia, carcinoma e cirrose ou aqueles tratados com drogas imunodepressoras e, ainda, os que passam por quimioterapia (CDC, 2003; SILVA, 1999).

10.6.14- *Plesiomonas shigelloides*

A *P. shigelloides* é um bastonete aeróbio facultativo, Gram-negativo, relacionado ao gênero *Aeromonas* e classificado na família *Vibrionaceae*.

É isolada a partir de água fresca, peixes, frutos do mar, gado, caprinos, suínos, gatos, cães, macacos, urubus, cobras e sapos.

A maioria das infecções causadas por *P. shigelloides* é suspeita de ter-se originado na água. Os organismos podem estar presentes em água contaminada ou não-tratada, a qual tenha sido utilizada como água potável ou recreacional. A *P. shigelloides* nem sempre causa enfermidades após a ingestão, podendo residir temporariamente como um membro transiente não-infeccioso da flora intestinal. Foi isolada de fezes de pacientes com diarréia, mas também é isolada algumas vezes, de indivíduos saudáveis (0,2 a 3,2% da população).

Os sintomas típicos de gastroenterites por *P. shigelloides*, incluem: diarréia; dor abdominal; náusea; tremores; para alguns, febre menos extensa, dores de cabeça e vômitos.

Os sintomas podem iniciar em 20 a 24h após o consumo de água ou alimento contaminado e duram de 1 a 9 dias. A diarréia é aquosa sem muco e sem sangue. Em casos mais graves, entretanto, a diarréia pode ser amarelo-esverdeada, espumosa e tingida de sangue.

A dose infecciosa é presumidamente um pouco alta, pelo menos maior que um milhão de organismos.

O organismo é encontrado por todo o meio ambiente. A maioria das infecções causadas por *P. shigelloides* ocorre no verão e correlaciona-se com a contaminação ambiental da água fresca (rios, córregos, lagoas, etc). A rota normal de transmissão do microrganismo em casos isolados ou epidêmicos é pela ingestão de água contaminada ou moluscos crus.

Como o microrganismo é sensível ao calor, o principal método de controle é a cocção adequada de moluscos antes da ingestão (CDC, 2003; OMS, 2004; SILVA, 1999).

10.7- Bibliografia

ABERC, **Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividades**, 2^a Ed. São Paulo: Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas, 109p., 1995.

ALONSO, M.; J. SÁNCHEZ, M. MORIÑIGO, J. BORREGO. **A Direct membrane filter method for enumerating somatic coliphages in drinking water.** *Microbiología SEM* 10, 285-296, 1994.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Ed.** *American Public Health Association*, Washington, D.C., 1999.

ANDRADE, N. J., MACÊDO, J. A. B., **Higienização na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 182p., 1996.

ANTUNES, G. S., **Manual de diagnóstico bacteriológico**, 2^a Edição. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS. 278p., 1995.

BANWART, G. J., **Basica food microbiology.** New York: Van Nostrand Reinhold Company. 519p., 1989.

BARER, M. R.; WRIGHT, A. E. **Cryptosporidium and water.** *Lett. Appl. Microbiol.* v.11, p-271-277., 2000.

BELL, A., GUASPARINI, R., MEEDS, D., MATHIES, R. G.; FARLEY, J. D. **A swimming pool associated of Cryptosporidiosis in British Columbia.** *Can. J. Public Health.* v. 84, p-334-337. 1999.

BIFULCO, J. M.; SCHAEFER, F.W. III, F. W. **Antibody-magnetite method for selective concentration of Giardia lamblia cysts from water samples.** *Appl. Environ. Microbiol.* v.9, p-772-776., 1993.

BITTON, G. **Wastewater Microbiology.** New York: Wiley-Liss. 478 p., 1994.

BLACK, E. K., FINCH, G. R., TAGHI-KILANI, R.; BELOSEVIC, M. **Comparison of assays for Cryptosporidium parvum oocysts viability after chemical disinfection.** *FEMS Microbiol. Lett.* v.135, p-187-189., 1996.

BORREGO, J.; MORIÑIGO, M; DE VICENTE, A.; CÓRNAX, R.; ROMERO, P. **Colifagos as an Indicator of fecal pollution in water. It relationship with indicator and pathogenic microorganism.** *Water Res.* v.21, p-1473-1480, 1987.

BRAGA, B., et al. **Introdução a Engenharia Ambiental.** São Paulo: Prentice Hall, 2002.

BRANCO, S. M. **Hidrobiologia Aplicada a Engenharia Sanitária**. CETESB, SP, 1986.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 30 de maio de 2004.

BRENNAN, M. K.; MACPHERSON, D. W.; PALMER, J.; KEYSTONE, J. S. **Cyclosporiasis: a new cause of diarrhea**. *Can. Med. Assoc. J.* v.155, n.9, p-1.293-6. 1999.

BRYAN, F. L., Risks of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases. **Journal Food Protection**, n.51, v.8, p.663-673, 1988.

CABELLI V. J. **Health effects criteria for marine recreational waters. Research Triangle Park, North Carolina**: Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Health Effects Research Laboratory - EPA publication no. 600/1-80-031. 1999.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Preventing lead poisoning in young children: a statement by the Centers for Disease Control**. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, CDC, October 21, 1991.

CDC. **Suggested health and safety guidelines for public spas and hot tubs**. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, CDC - DHHS publication no. 99-960. 1981.

CDC. **Surveillance for waterborne disease outbreaks 1991-1992**. *MMWR*. v.42, (No. SS-5), p-1-22, 1993.

CDC. **Surveillance for waterborne disease outbreaks, 1999-2003**. *MMWR*. v.40, (No. SS-3), p-1-21, 2004.

CDC. **Waterborne disease outbreaks, 1989-1990**. *MMWR* 1991;40(No. SS-3): 1-21.

CDC. **Outbreaks of *Cyclospora cayetanensis* infection - United States, 2001**. *JAMA* 1996; 276 (3) :183.

CLARKE, S. C.; MCINTYRE, M. **The incidence of *Cyclospora cayetanensis* in stool samples submitted to a district general hospital**. *Epidemiol. Infect.* 1996; 117 (1): 189-93.

CLIVER, D. O., **Foodborne disease**. San Diego: Academic Press, 1990. 395p.

CRAUN G. F, ed. **Methods for the investigation and prevention of waterborne disease outbreaks**. Cincinnati, OH: Environmental Protection

Agency, Health Effects Research Laboratory, 2000; EPA publication no. 600/1-90/005a.

CRAUN G. F, ED. **Waterborne diseases in the United States**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1986.

DUPONT H. L, CHAPPELL C. L, STERLING C. R, OKHUYSEN P. C, ROSE J. B, JAKUBOWSKI W. **The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers**. *N Engl J Med* 1995;332:855-9.

ELDER G. H., HUNTER P.R., CODD G. A. **Hazardous Freshwater *Cyanobacteria* (Blue-Green Algae)**. *Lancet* 341:1519-20, 2000.

ELLIOTT, R. P., **Microorganisms in foods. Their significance and methods of enumeration**. V.1, 2 Ed., IN: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1978. 434p.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Part 141. **National primary drinking water regulations: monitoring requirements for public drinking water supplies: *Cryptosporidium*, *Giardia*, viruses, disinfection byproducts, water treatment plant data and other information requirements; proposed rule**. *Federal Register* 1994;59:6332-444.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Parts 141 and 142. **Drinking water: national primary drinking water regulations; filtration, disinfection; turbidity, *Giardia lamblia*, viruses, *Legionella*, and heterotrophic bacteria; final rule**. *Federal Register* 1989;54:27486-541.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Parts 141 and 142. **Drinking water: national primary drinking water regulations; total coliforms (including fecal coliforms and *E. coli*); final rule**. *Federal Register* 1989;54:27544-68.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Parts 141 and 142. **Drinking water: national primary drinking water regulations; total coliforms; corrections and technical amendments; final rule**. *Federal Register* 1990;55:25064-5.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 40 CFR Parts 141 and 142. **National primary drinking water regulations: enhanced surface water treatment requirements; proposed rule**. *Federal Register* 1994;59:38832-58.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Water programs: national interim primary drinking water regulations**. *Federal Register* 1975;40:59566-74.

FAYER, R. 1995. **Effect of sodium hypochlorite exposure on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts for neonatal BALB/c mice**. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:844-846.

FINCH, G. R., BLACK, E. K., GYÜRÉK, L.; BELOSEVIC, M. 1995. **Ozone inactivation of *Cryptosporidium parvum* in demand-free phosphate buffer determined by in vitro excystation and animal infectivity.** *Appl. Environ. Microbiol.* 59:4203-4210.

FOBBS, M., SKALA M. **Waterborne hepatitis A associated with a church and school.** *Missouri Epidemiologist* 1999;14:6-8.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M., **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FREITAS, L. H., **Desenvolvimento de sistema especialista para diagnóstico das toxinfecções alimentares de origem bacteriana em serviços de alimentação.** Viçosa, MG. 95p.. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1994.

FUORTES, L., NETTLEMAN, M. **Leptospirosis: a consequence of the Iowa flood.** *Iowa Med* 1999; 84:449-50.

GAMA, J. C. N. **Avaliação bacteriológica da água de equipos odontológicos.** Monografia de conclusão do curso de Odontologia. FAESA, 2003.

GILROY D. J., KAUFFMAN K. W., et. al. **Assessing Potential Health Risks from *Microcystin* Toxins in Blue-Green Algae Dietary Supplements.** *Environmental Health Perspectives* 108(5), 435-39, 2000.

GRADOW, W. **Indicators systems for assessment of virological safety of treated drinking water.** *Wat. Sci. Tech.* 18, 159-165, 1996.

GRABOW, W.; COUBROUGH, P.; NUPEN, E. **Evaluation of coliphages as indicator of the virological quality of sewage-polluted waters.** *Water SA.* 10, 7-14., 1994.

HAAS C. N., ROSE, J. B. **Reconciliation of microbial risk models and outbreak epidemiology: the case of the Milwaukee outbreak.** In: Proceedings of the American Engineering and administrative recommendations for water fluoridation, 2000. *MMWR* 1995;44(No. RR-13).

HIGHSMITH A.K., MCNAMARA, A. M. **Microbiology of recreational and therapeutic whirlpools.** *Toxicity Assessment* 1998;3:599-611.

HOFF, J. C. **Inactivation of microbial agents by chemical disinfectants.** Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency, Drinking Water Research Division, Water Engineering Research Laboratory, 1986; EPA publication no. 600/2-86/067.

ICMSF, THE INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS OF THE INTERNATIONAL UNION OF MICROBIOLOGICAL SOCIETIES. **Ecologia microbiana de los alimentos. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos em los alimentos**, Vol 1. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1980. 332p.

JAWETZ, E., MELNICK, J. L., ADELBERG, E. A., **Microbiologia médica**, 20^a Edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A. 1995.p.

JAY, J. M., **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.. 1994. 804p.

JOCHIMSEN, E. M., CARMICHAEL, W. W., et. al. **Liver Failure and Death after Exposure to *Microcystins* at a Hemodialysis Center in Brazil**. *NEJM* 338(13):873-878, 1998.

JOHN, D. T., HOWARD, M. J. **Seasonal distribution of pathogenic free-living amebae in Oklahoma waters**. *Parasitol Res* 1999;81:193-201.

KUIPER-GOODMAN, T., FALCONER, I., FITZGERALD, J. "Human Health Aspects". In: **Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management**. Chorus, I and Bartram J (ed.), London: E & FN Spon, 1999.

LEITÃO, M. F. F., HAGLER, L. C. S. M., HAGLER, A. N., MENEZES, T. J. B., **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1988. 186p.

LIVROONLINE, **Alimentos e Doenças**, [29/06/2000]. (<http://www.livroonline.com/cursos/MB1505/capitulos/cap3.html>,2000).

MACÊDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas**. 2^a. Ed. Belo Horizonte/MG: CRQ, 2003.

MACÊDO, J. A. B. **Piscinas - água & tratamento & química**. 1^a. Ed. Belo Horizonte/MG: CRQ, 2003.

MURRAY, P. R., et al., **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 1992.p.

NEVES, D. P.; NELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M., **Parasitologia Humana**, 9^o Edição. São Paulo: Editora Atheneu 1995. 524p.

ONG, C., MOOREHEAD, W., ROSS, A.; ISAAC-RENTON, J. 1996. **Studies of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in two adjacent watersheds**. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:2798-2805.

ORTEGA, Y. R.; STERLING, C. R.; GILMAN, R. H.; GAMA, V. A.; DIAZ, F. ***Cyclospora species* - a new protozoan pathogen of humans**. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 1.308-12.

PINTO, C. F., **Doenças Adquiridas por Via Oral**. Disponível em: <<http://www.guiproser.com.br/hydrrotecnica,2000>>. Acesso em 18 de julho de 2000.

PESSÔA, S. B.; ALMEIDA, A. **Parasitologia Humana**. Rio de Janeiro: Ed.Guanabara-Koogan, 1996, 1038 p.

POINTS, F. W., **Water Qualit and Treatment American Water Works Association**. 4ª Edition, Washington, D.C.: Mc Graw Hill, Inc., 1991.p.

PONTIUS F, W., ROBERSON, J. A. **The current regulatory agenda: an update**. *Journal of the American Water Works Association* 1994;86:54-63.

POURIAS, D. E.; ANDRADE A., et. al. **Fatal Microcystin Intoxication in Haemodialysis Unit in Caruaru, Brazil**. *Lancet* 352:21-26, 1998.

RESSOM, R.; SOONG, F.S.; FITZGERALD J., et. al. **Health Effects of Toxic Cyanobacteria (Blue-Green Algae)**. National Health and Medical Research Council, Commonwealth of Australia, 2004.

RICHTER, C. A.; NETTO, J. M. A. **Tratamento de Água–Tecnologia Atualizada**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 1991. 332p.

ROMERO, P.;BORREGO, J.; MORIÑIGO, M.; DE VICENTE, A.; CÓRNAX, R. **Coliphages as an indicator of fecal pollution en water. Their survival and productive infectivity in natural aquatic environments**. *Wat. Res.* 24, 111-116, 1990.

SALUD, **Organizacion Panamericana de Guias para la Calidad del Água Potable**, Volume 2, Whashington, DC.,1987.p.

SILVA Jr., E. A., **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1999. 397p.

SILVA, C. H. P. M. **Bacteriologia, um texto ilustrado**. Rio de Janeiro: Ed. Eventos. 1999. 531 p.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A. **Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos–Manual técnico nº14**. Campinas: ITAL– Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1995. 228p.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**, 2ªedição. São Paulo: Livraria Atheneu Editora, 1991. 386p.

TURNER, P. C.; GAMMIE, A. J., et al. **Pneumonia Associated with Contact with Cyanobacteria**. *Brit Med J* 300:1440-1, 2000.

VISVESVARA, G.S.; STEHR-GREEN, J. K. **Epidemiology of free-living ameba infections**. *J Protozool* 1990;37:25S-33S.

VISVESVARA, G.S.; MOURA, H.; KOVACS-NACE, E.; WALLACE, S.; EBERHARD, M.L. **Uniform staining of *Cyclospora* oocysts in fecal smears by a modified safranin technique with microwave heating.** *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(3): 730-3.

VON SPEERLING, M. **Princípios do tratamento biológicos de águas residuárias.** Vol. 1 – Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos, 2ª Ed., DESA, UFMG, 1996.

WENTZEL, R.; O'NEIL, P.; KITCHEMS, J. **Evaluation of coliphage detection as a rapid indicator of water quality.** *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 430-434, 1992.

ZEEVALLOS, P. **Evaluación de colifagos como indicadores alternativos de contaminación fecal en la planta de Tratamiento de Agua de La Atarjea. Lima- Perú.** Tesis de Licenciatura en Biología. *Universidad Nacional Federico Villarreal*, 1997.