



MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA
Secretaria de Monitoramento e Controle da Pesca e Aquicultura
Departamento de Monitoramento e Controle
Coordenação-Geral de Sanidade Pesqueira

**Manual do MPA para o Programa Nacional de
Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves
- PNCMB**

2014

CGSAP/DEMOC/SEMOC/MPA

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA

SBS Qd. 2 lote 10 Bloco “J”
Brasília – DF 70.070-120
Fone 55 (61) 2023 3531
Website: <http://www.mpa.gov.br>

Coordenação-Geral de Sanidade Pesqueira

**Manual do MPA para o Programa Nacional de
Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves
- PNCMB**

2^a edição

2014

CGSAP/DEMOC/SEMOC/MPA

Índice

APRESENTAÇÃO.....	4
INTRODUÇÃO.....	5
MANUAL DE COLETA E REMESSA DE AMOSTRAS OFICIAIS DO MPA PARA O PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE MOLUSCOS BIVALVES - PNCMB	7
INSTRUÇÕES GERAIS.....	7
Amostras.....	7
Análises.....	7
Local de Coleta das Amostras.....	10
Integridade das amostras	11
Transporte das amostras.....	12
Não conformidade das amostras	12
Material necessário para coleta de amostras	12
AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MICRO-ORGANISMOS CONTAMINANTES	13
Coleta de moluscos bivalves.....	13
AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE BIOTOXINAS MARINHAS.....	15
Coleta de moluscos bivalves.....	15
AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MICROGALGAS POTENCIALMENTE PRODUTORAS DE BIOTOXINAS MARINHAS.....	17
Coleta de amostras para análise qualitativa (rede de fitoplâncton).....	17
Coleta de amostras para análise quantitativa (água marinha)	19
ORIENTAÇÕES PARA A DEFINIÇÃO DA RETIRADA DE MOLUSCOS BIVALVES NAS ÁREAS DE EXTRAÇÃO OU CULTIVO	22
RESULTADOS DAS ANÁLISES E DEFINIÇÃO DA RETIRADA DE MOLUSCOS BIVALVES	22
Resultados de análise de biotoxinas	23
Resultados de análise de biotoxinas	23

APRESENTAÇÃO

Tendo em vista o disposto na Lei nº 11.958/2009, no Decreto nº 7.024/2009, no artigo 7º da Instrução Normativa Interministerial nº 07/2012 e a Portaria nº 204/2012 (alterada pela Portaria nº 175 de 15 de maio de 2013), considera-se importante a correta operacionalização do monitoramento, controle e fiscalização de micro-organismos contaminantes e biotoxinas marinhas, bem como o monitoramento de espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas.

A Coordenação Geral de Sanidade Pesqueira – CGSAP/DEMOC/SEMOC/MPA, em conjunto com o LAQUA-Itajaí, elaboraram este Manual do MPA para o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – PNCMB, que inclui o Manual de Coleta e Remessa de Amostras Oficiais do PNCMB e Orientações para a definição da retirada de moluscos bivalves nas áreas de extração ou cultivo, que tem como objetivo orientar e padronizar os procedimentos de coleta e remessa de amostras no âmbito do PNCMB.

Este material se propõe a servir como material orientativo para a adequada operacionalização da coleta e remessa de amostras destinadas às análises laboratoriais realizadas pelo PNCMB.

Além disso, estabelecerá os critérios a serem utilizados para a definição de retirada de moluscos bivalves e liberação de área suspensa, de acordo com os valores dispostos no artigo 6º do Anexo I da INI MPA/MAPA nº 07/2012 e com as metodologias analíticas oficiais dispostas na Portaria MPA nº 204/2012 (alterada pela Portaria nº 175 de 15 de maio de 2013).

INTRODUÇÃO

O Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – PNCMB, instituído pela Instrução Normativa Interministerial nº 7, de 8 de maio de 2012, foi elaborado para monitorar toda a produção do setor destinada ao consumo humano, como ostras, berbigões, vieiras e mexilhões. Este programa foi instituído em conjunto pelo MPA e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A Portaria MPA nº 204, de 28 de junho de 2012 (alterada pela Portaria nº 175 de 15 de maio de 2013), estabelece os procedimentos para coleta de amostras para realização de análises de micro-organismos contaminantes e de toxinas em moluscos bivalves e de análises para o monitoramento de espécies de microalgas potencialmente produtoras de toxinas.

Os moluscos bivalves se alimentam retirando partículas orgânicas por processo de filtração da água. Por essa razão, além do alimento, composto de matéria orgânica e microalgas, esses animais podem acumular substâncias tóxicas ou organismos patogênicos que estejam presentes na água.

No ambiente aquático existem naturalmente alguns organismos microscópicos capazes de produzir substâncias denominadas biotoxinas marinhas. Tais substâncias são perigosas para a saúde humana e de outros animais. As biotoxinas são resistentes ao calor e não são eliminadas com o cozimento, ou em outro tipo de processamento.

O consumo de moluscos bivalves contaminados com biotoxinas pode levar a sérias complicações à saúde, tais como diarréia, vômitos, dores abdominais, amnésia, distúrbios cardíacos, nervosos e respiratórios, convulsão e, em casos extremos, a coma e morte.

Além de biotoxinas marinhas, outro perigo a ser monitorado é a presença de micro-organismos patogênicos que eventualmente possam estar presentes na água de cultivo dos bivalves e que também podem ser acumulados. O monitoramento destes organismos reduz o risco de transmissão de doenças e infecções ao consumidor e garante a segurança alimentar de ostras, vieiras, mexilhões e demais bivalves.

O PNCMB abrange as etapas de retirada, trânsito, processamento e transporte de moluscos bivalves destinados ao consumo humano. Ao MPA cabe o monitoramento de micro-organismos e de biotoxinas marinhas, e ao MAPA cabe a fiscalização e a inspeção industrial dos processadores de moluscos bivalves registrados no Serviço de Inspeção Federal - SIF.

O programa foi todo estruturado para garantir o controle da produção de moluscos bivalves desde a coleta das amostras que são encaminhadas aos laboratórios, até o envio dos animais para o beneficiamento em estabelecimento sob supervisão dos diferentes níveis do serviço oficial de inspeção.

O monitoramento dos bivalves é realizado justamente para verificar se é seguro ou não proceder à retirada ou consumo dos moluscos. Neste sentido, o MPA determina um plano amostral no qual são realizadas coletas periódicas dos animais para a realização de análises laboratoriais. A amostragem é realizada em locais georreferenciados de cultivo e/ou extração de moluscos bivalves.

Conforme os resultados das análises, a retirada dos moluscos poderá ser suspensa ou liberada. Há ainda a possibilidade de a retirada ser liberada sob condição, o que significa que os moluscos deverão passar por um processo de depuração e/ou tratamento térmico, conforme determinação do serviço oficial de inspeção.

A execução do monitoramento ocorre por meio de agências ou órgãos estaduais de defesa sanitária animal.

MANUAL DE COLETA E REMESEA DE AMOSTRAS OFICIAIS DO MPA PARA O PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE MOLUSCOS BIVALVES - PNCMB

INSTRUÇÕES GERAIS

Amostras

As amostras destinadas ao monitoramento de biotoxinas marinhas e micro-organismos em moluscos bivalves são de dois tipos: PARTE COMESTÍVEL DE MOLUSCOS BIVALVES e ÁGUA DO MAR.

As amostras da parte comestível de moluscos bivalves são utilizadas tanto para a determinação da concentração de biotoxinas marinhas, quanto para a enumeração de micro-organismos contaminantes que eventualmente possam estar presentes nos moluscos bivalves.

As espécies de eleição de moluscos bivalves a serem coletadas para o monitoramento são as do grupo dos mexilhões; e, no caso de não haver mexilhões na área de produção, a coleta deve contemplar a espécies predominante no local, por exemplo, ostras ou vieiras.

Recomendamos que em áreas onde não haja o cultivo de mexilhões sejam colocadas pencas destes moluscos para coleta de amostras, devendo ser alternados os pontos para evitar a viciação da amostragem.

As amostras de água do mar são utilizadas para identificação e quantificação das microalgas potencialmente produtoras de toxinas, eventualmente presentes nas áreas de cultivo de moluscos, por meio de análise qualitativa e quantitativa, respectivamente.

Recomenda-se que seja realizada a higienização do material a ser utilizado para coleta, bem como das mãos do responsável pela coleta antes do início dos procedimentos descritos nesse manual.

Análises

Para as análises de micro-organismos contaminantes são necessárias, no mínimo, a coleta de 5 (cinco) amostras de 100 (cem) gramas cada da parte comestível de moluscos bivalves, obtidas em um mesmo dia e de diferentes pontos de coleta em

uma mesma Área de extração ou cultivo (Entende-se por área de extração ou cultivo uma área que pode conter um ou mais Parques aquícolas, cada um contendo uma ou mais Áreas aquícolas. Figuras 3B e 3C).

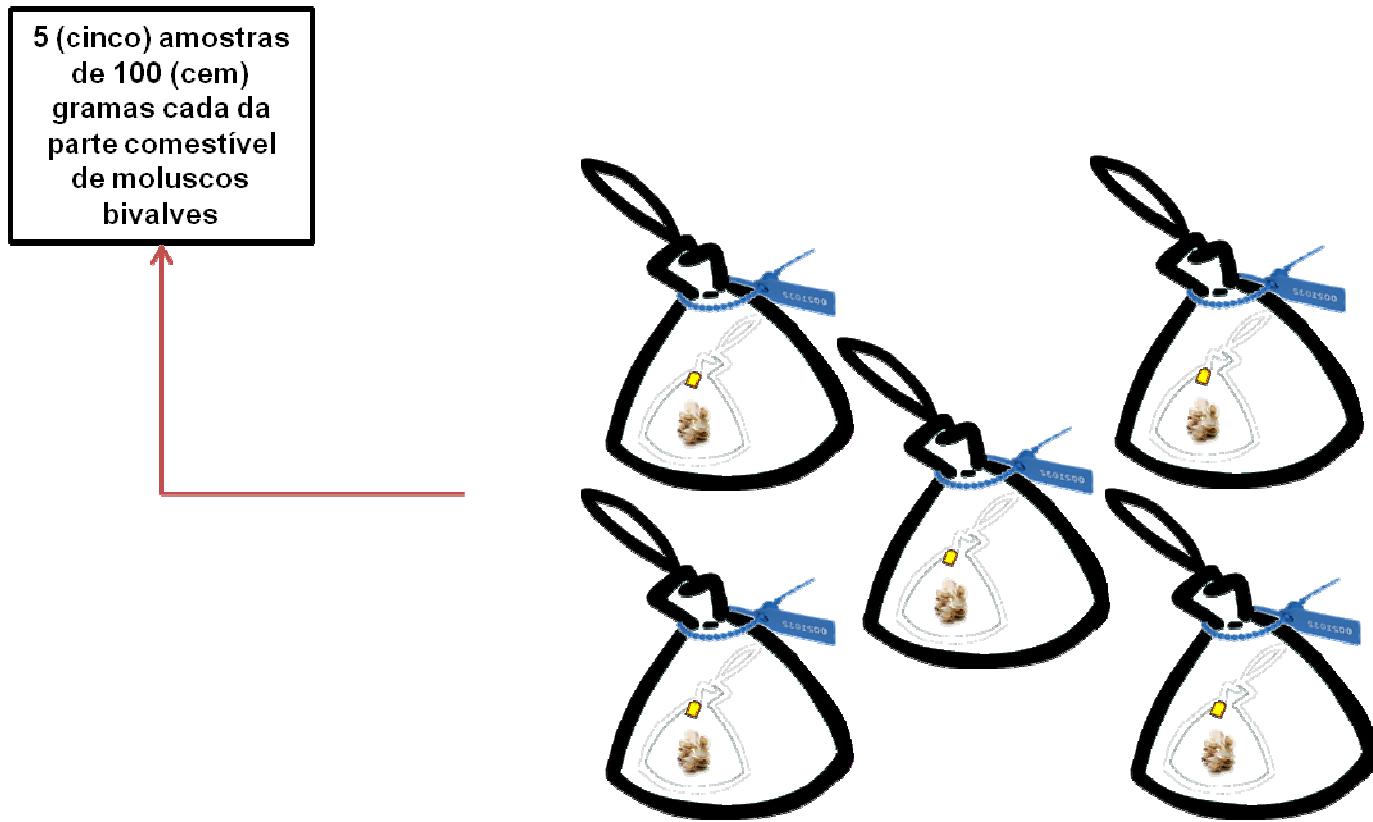


Figura 1. Cinco amostras de 100g cada da parte comestível de moluscos bivalves.

Nos pontos de coleta em que forem identificadas (ou haja suspeita da presença de) fontes de contaminação da água, a coleta de amostras para análise de micro-organismos contaminantes poderá ser dirigida a esses locais com o intuito de identificar possíveis contaminações. Enquanto não haver indícios de contaminação da água, a coleta das amostras deverá permanecer aleatória.

Para as análises de biotoxinas marinhas são necessárias, no mínimo, a coleta de 2 (duas) amostras de 500 (quinhentos) gramas cada da parte comestível de moluscos bivalves, obtidas em um mesmo dia e de diferentes pontos em uma mesma Área de extração ou cultivo.

Para as análises de microalgas potencialmente produtoras de toxinas são necessárias, no mínimo, a coleta de 2 (duas) amostras de 250 (duzentos e

cinquenta) mL de água marinha para análise quantitativa e 2 (duas) amostras concentradas de rede de fitoplâncton para análise qualitativa.

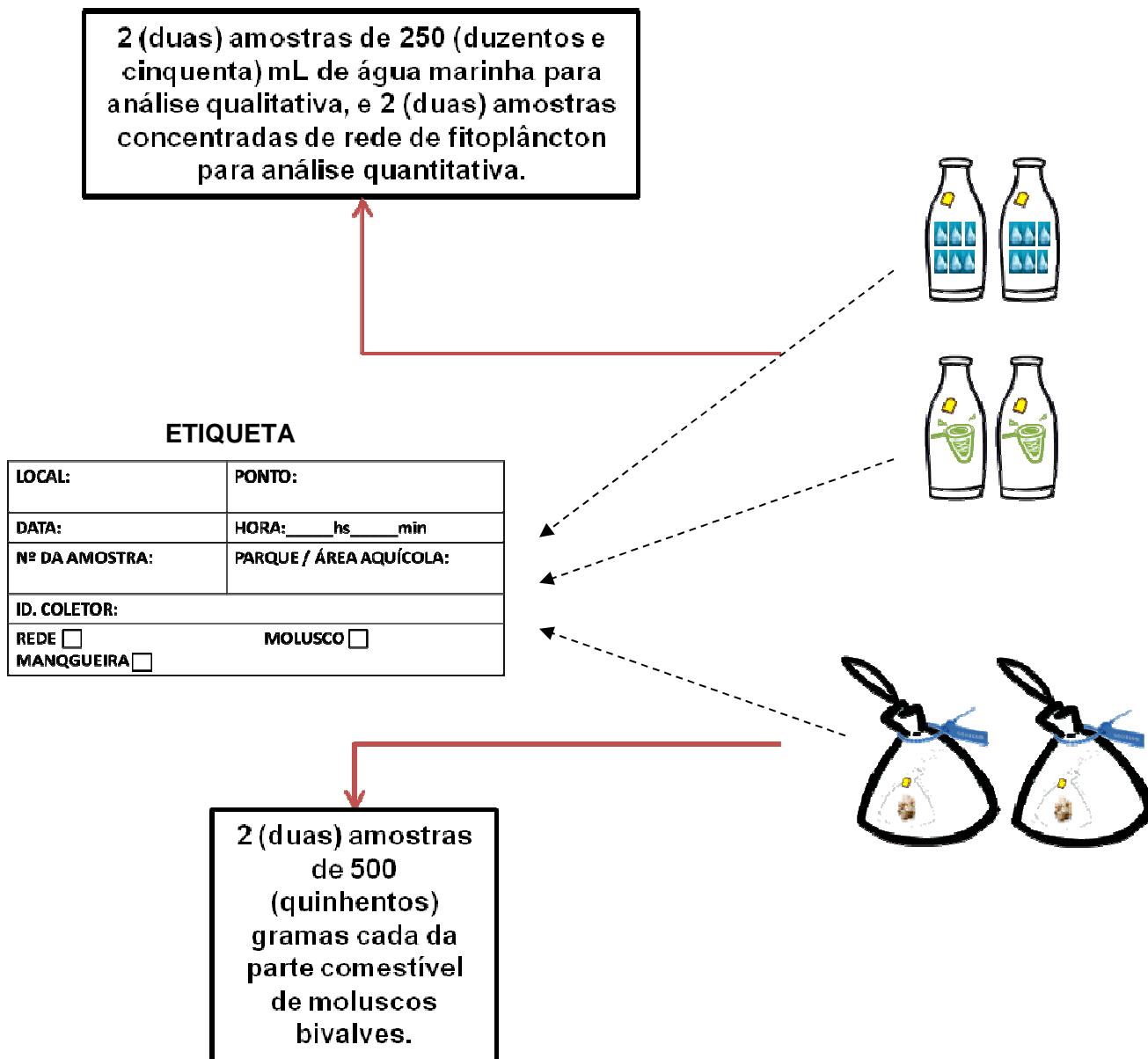


Figura 2. Duas amostras de 250 mL de água marinha, e duas amostras concentradas de rede de fitoplâncton.

Os 2 (dois) pontos de coleta para análise de biotoxinas marinhas e de microalgas potencialmente produtoras de toxinas poderão coincidir com 2 (dois) dos 5 (cinco) pontos de coleta para análise de micro-organismos contaminantes dentro de uma mesma área de extração ou cultivo.

As amostras para análises de biotoxinas e de microalgas potencialmente produtoras de toxinas deverão ser remetidas ao laboratório separadas daquelas destinadas às análises de micro-organismos contaminantes.

Local de Coleta das Amostras

As coletas serão realizadas em 47 (quarenta e sete) áreas de extração ou cultivo listadas no site do MPA, sendo um total de 38 (trinta e oito) áreas para análise microbiológica e de biotoxinas, 8 (oito) apenas para análise microbiológica e 1 (uma) apenas para análise de biotoxinas.

As amostras deverão ser coletadas em cada área de extração ou cultivo em pontos a serem definidos, a cada coleta, pelo fiscal responsável pela mesma.

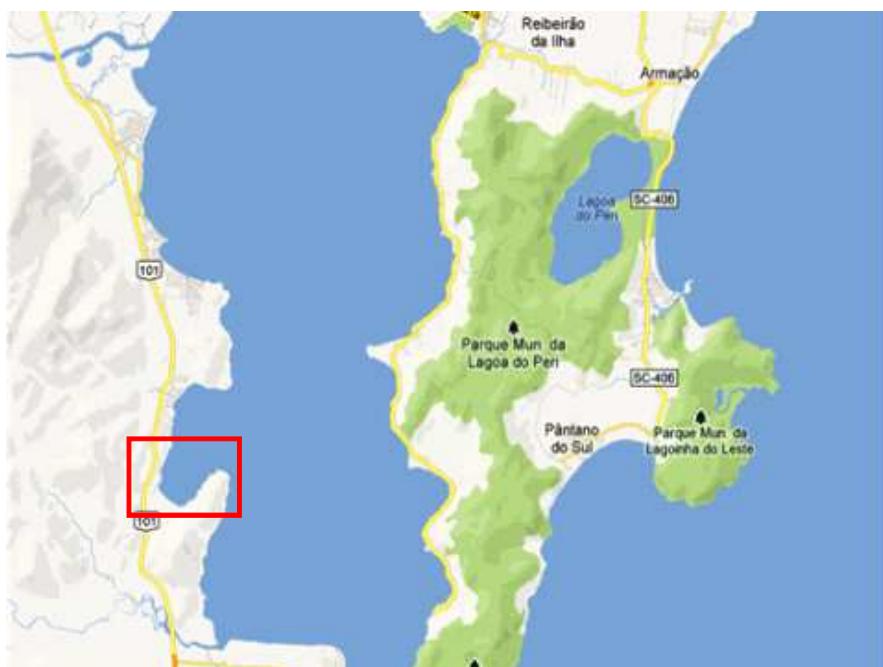
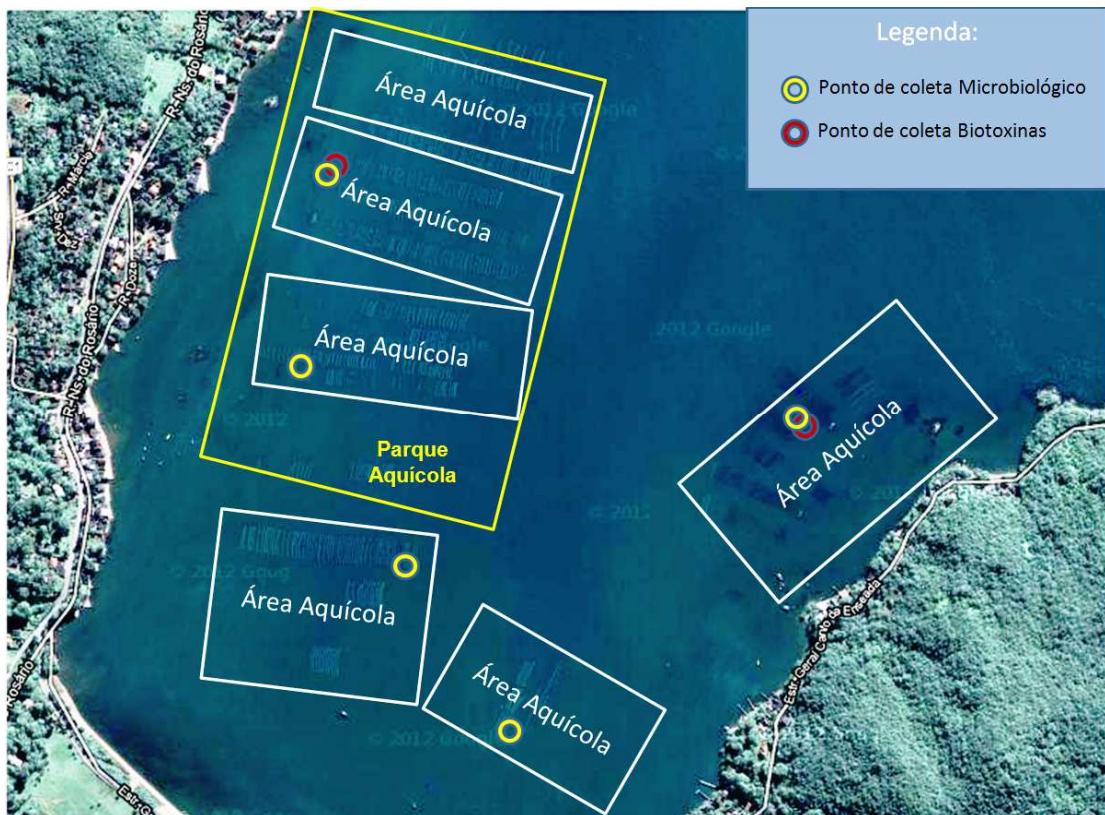


Figura 3 A. Localização de uma Área de extração ou cultivo.



Figura 3 B. Delimitação de uma Área de Extração ou Cultivo.



Fonte: Map data @2012 Google, MapLink

Figura 3 C. Exemplo de Parques Aquícolas, Áreas Aquícolas e de pontos de coleta.

Integridade das amostras

As amostras deverão ser preservadas em embalagem identificada por lacre numerado ou similar que garanta sua inviolabilidade.

As amostras de moluscos bivalves deverão ser embaladas individualmente e posteriormente reunidas em uma embalagem única que deverá ser lacrada.

Quanto às amostras de água marinha e de rede de fitoplâncton, estas deverão ser lacradas individualmente em garrafas destinadas ao armazenamento da amostra.

As amostras deverão ser remetidas ao laboratório com formulário padrão anexo.

Transporte das amostras

As amostras destinadas às análises de biotoxinas e às análises de microalgas deverão ser transportadas até o laboratório da rede RENAQUA - LAQUA-Itajaí sob refrigeração constante, assegurando a manutenção da temperatura inferior a 5°C. O intervalo entre a coleta e o processamento das amostras no laboratório não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas.

As amostras destinadas às análises de micro-organismos contaminantes deverão ser transportadas até o laboratório de rede oficial do governo brasileiro sob refrigeração constante, assegurando a manutenção da temperatura inferior a 5°C durante o transporte e evitando seu congelamento.

O intervalo entre a coleta e o processamento das amostras no laboratório não deverá exceder 48 (quarenta e oito) horas.

Não conformidade das amostras

Durante a recepção pelo laboratório, caso detectado que as amostras estão inaptas ou com não conformidade elas serão descartadas adequadamente.

Em seguida, o laboratório comunicará ao órgão ou entidade estadual de defesa animal sobre a necessidade de realização de nova coleta, por motivo de não conformidade.

Material necessário para coleta de amostras

- Balde plástico
- Caixa térmica para transporte
- Caneta permanente para identificação
- Lápis
- Etiquetas
- Formulário Padrão
- Funil
- Garrafas (250mL e 500mL)
- Gelo
- Lacres numerados
- Mangueira com válvula
- Rede de fitoplâncton de 20 µm de abertura de malha
- Sacos plásticos transparentes (Esterilizados)
- Solução de lugol*
- Régua
- Balança digital portátil
- Prancheta

*Solução de lugol neutro (100%), 20 g de iodeto de potássio (IK), 10 g de iodo (I₂), 200 ml de água destilada

AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MICRO-ORGANISMOS CONTAMINANTES

Coleta de moluscos bivalves

Passo 1 – Trazer a bordo da embarcação uma “penca” de mexilhões em cada ponto de coleta.

Passo 2 – Coletar aleatoriamente de diferentes partes da penca, para compor 100g de parte comestível dos moluscos, aproximadamente 12 unidades de mexilhões com média de 7cm de comprimento, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade aproximada de moluscos necessários para compor 100 gramas da parte comestível.

Média de comprimento	Quantidade	Peso aproximado da parte comestível
5 – 6cm	14 unidades de mexilhões	100g
6 – 7cm	12 unidades de mexilhões	100g
7 – 8cm	10 unidades de mexilhões	100g
-	500g de berbigões	100g

Passo 3 – Lavar os moluscos com água do mar limpa, retirando o máximo possível do material aderido às conchas.

Passo 4 – Embalar em saco plástico devidamente etiquetado e fechado (embalagem primária).

Passo 5 - Embalar novamente em saco plástico e lacrar o pacote (embalagem secundária)

Passo 6 - Reunir as cinco amostras de diferentes pontos de coleta, embaladas separadamente na embalagem secundária e acondicioná-las em caixa térmica com gelo (até 5°C).

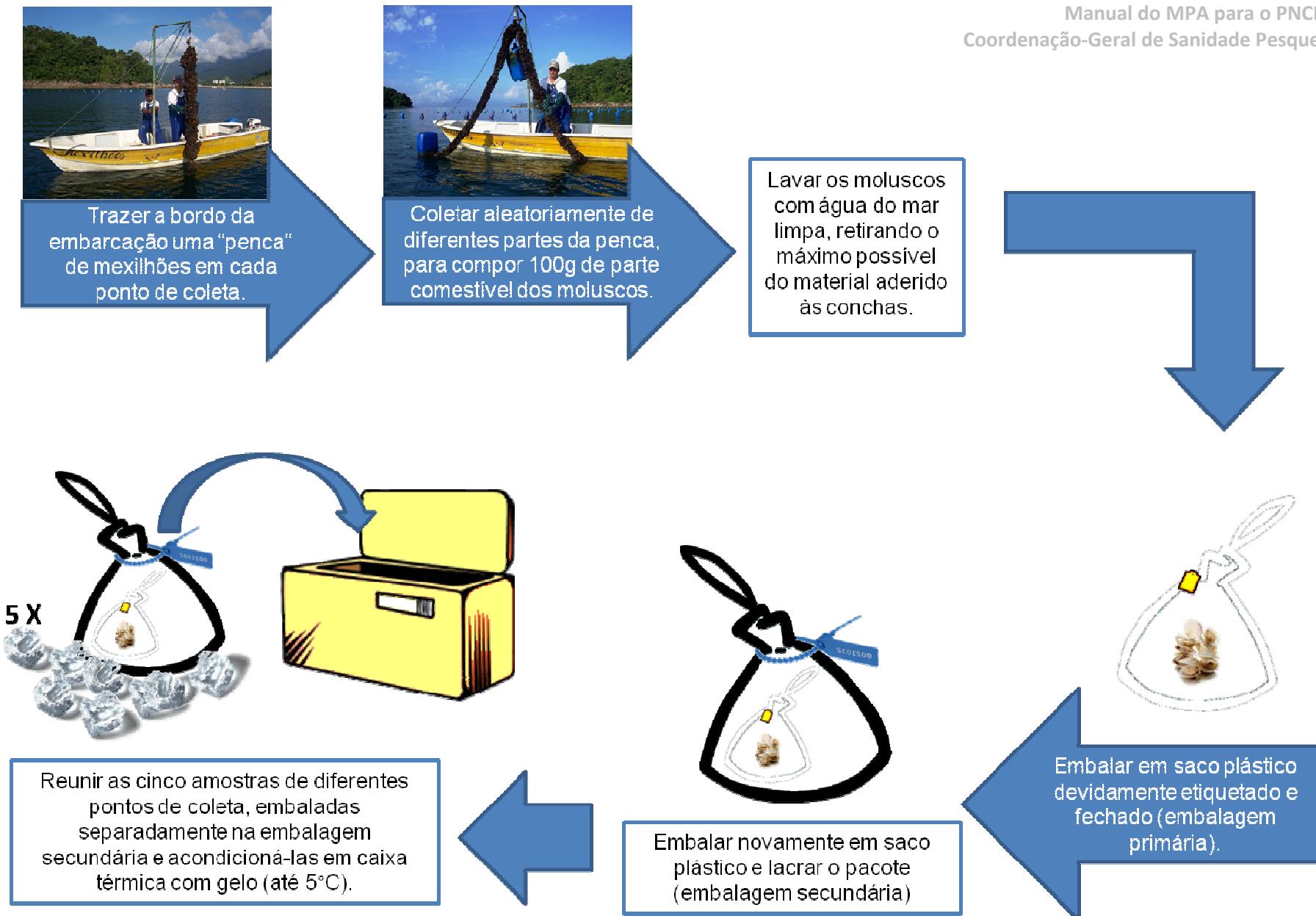


Figura 4. Procedimento de coleta de moluscos para pesquisa de micro-organismos contaminantes.

AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE BIOTOXINAS MARINHAS

Coleta de moluscos bivalves

Passo 1 – Trazer a bordo da embarcação uma “penca” de mexilhões.

Passo 2 – Coletar aleatoriamente de diferentes partes da penca, para compor 500g de parte comestível dos moluscos, aproximadamente 60 unidades de mexilhões com média de 7cm de comprimento, conforme Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade aproximada de moluscos necessários para compor 500 gramas da parte comestível.

Média de comprimento	Quantidade	Peso aproximado da parte comestível
5 – 6cm	70 unidades de mexilhões	500g
6 – 7cm	60 unidades de mexilhões	500g
7 – 8cm	50 unidades de mexilhões	500g
-	2,5kg de berbigões	500g

Obs.1: No caso de áreas de extração de moluscos de fundo, como os berbigões, coletar 2,5 Kg de moluscos, considerando o peso total com concha.

Passo 3 – Lavar os moluscos retirando o máximo possível do material aderido às conchas.

Passo 4 – Embalar em saco plástico devidamente etiquetado e fechado (embalagem primária).

Passo 5 - Embalar novamente em saco plástico e lacrar o pacote (embalagem secundária)

Passo 6 - Reunir as duas amostras de diferentes pontos de coleta, embaladas separadamente na embalagem secundária e acondicioná-las em caixa térmica com gelo para resfriamento.

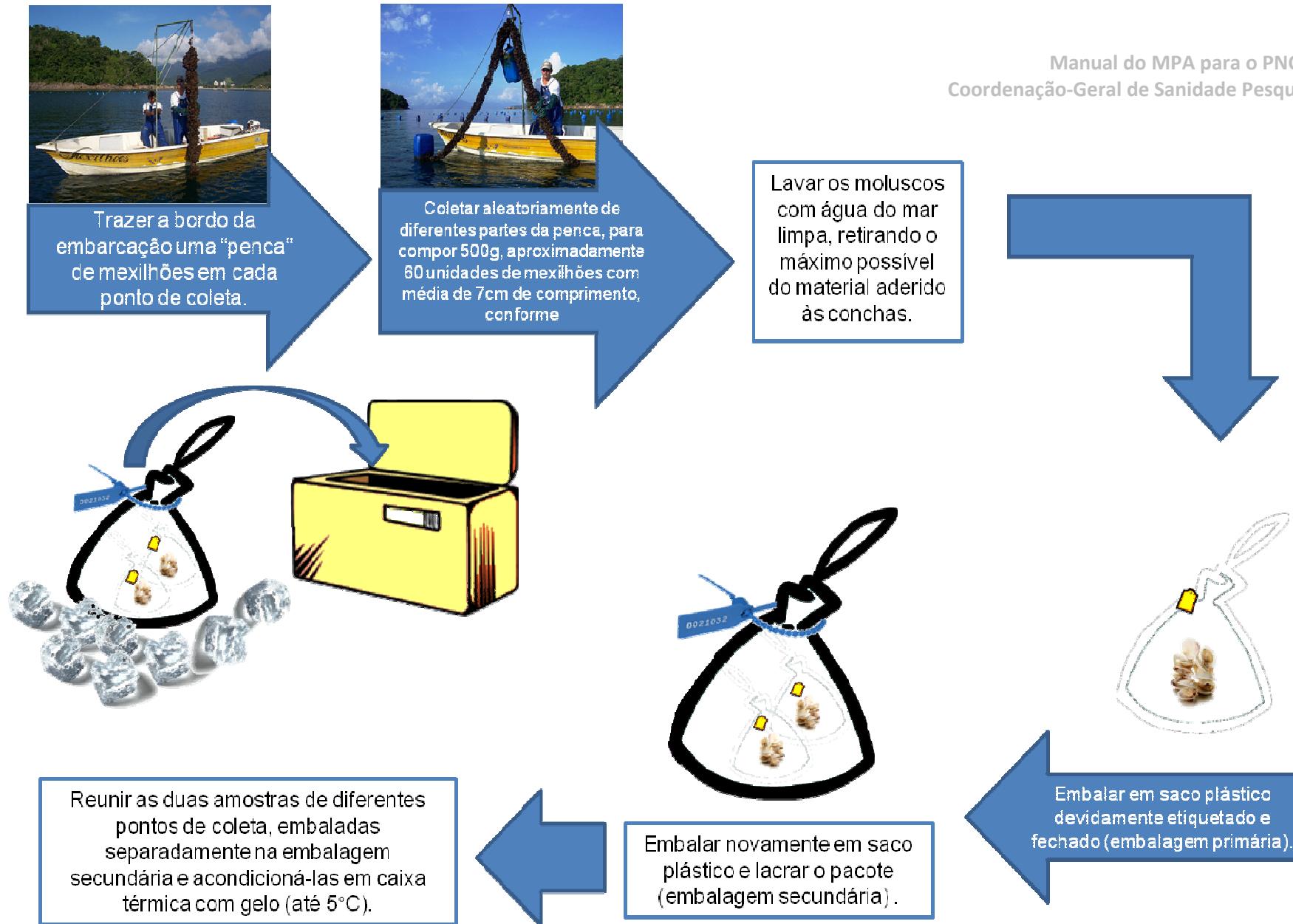


Figura 5. Procedimento de coleta de moluscos para pesquisa de biotoxinas marinhas.

AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE MICROGALGAS POTENCIALMENTE PRODUTORAS DE BIOTOXINAS MARINHAS

Coleta de amostras para análise qualitativa (rede de fitoplâncton)

Passo 1 – Lançar na água a rede de fitoplâncton previamente limpa e deixar afundar sem que toque o fundo.

Passo 2 – Recolher a rede lentamente na vertical para que filtre a água, concentrando o material em suspensão. Repetir esse procedimento por duas ou três vezes, dependendo da profundidade do local até que seja visível a concentração do material. Drenar o excesso de água para que o material filtrado seja retido no copo.

Passo 3 – Passar o conteúdo do copo para garrafa (embalagem primária) de amostra devidamente identificada com o termo REDE.

Passo 4 - Caso necessário, completar o volume da garrafa com água do local.

Passo 5 – Lavar a rede com água do local em fluxo contrário ao de filtração.

Obs.1: Caso a previsão de intervalo entre a coleta e a chegada ao laboratório seja superior a 24h, a amostra deverá ser fixada com lugol 1%, sendo considerada amostra fixada (adicionar 2,5mL de lugol na garrafa de 250ml de água para alcançar a concentração de 1%).

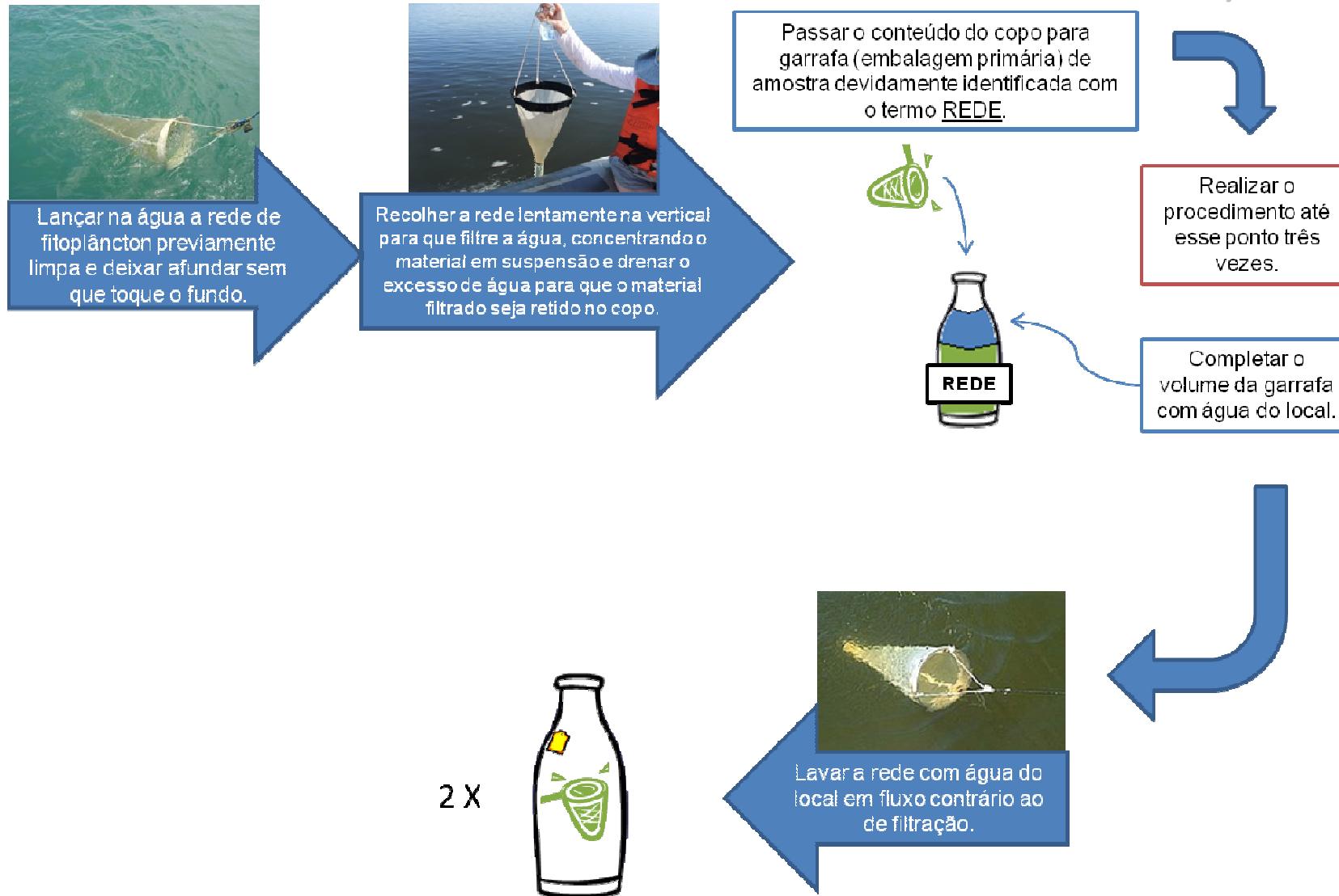


Figura 6. Procedimento de coleta de amostras de fitoplâncton para pesquisa de biotoxinas.

Coleta de amostras para análise quantitativa (água marinha)

Passo 1 – Lançar lentamente na água a mangueira previamente limpa com a válvula superior aberta e deixar afundar sem que toque o fundo.

Passo 2 – Com o espaço interno da mangueira preenchido com água, fechar a válvula superior e recolher a mangueira.

Passo 3 – Drenar o conteúdo da mangueira em balde, previamente limpo.

Passo 4 - Realizar os passos de 1 a 3, pelo menos três vezes.

Passo 5 – Passar uma parte do conteúdo do balde para garrafa (embalagem primária) de amostra de 250mL devidamente identificada com o termo MANGUEIRA com o auxílio de um funil.

Passo 6 - Fixar a amostra com solução de lugol neutro a 1%. (ex: 2,5 ml em 250 de amostra)

Passo 6 – Lavar a mangueira e demais utensílios com água do local.

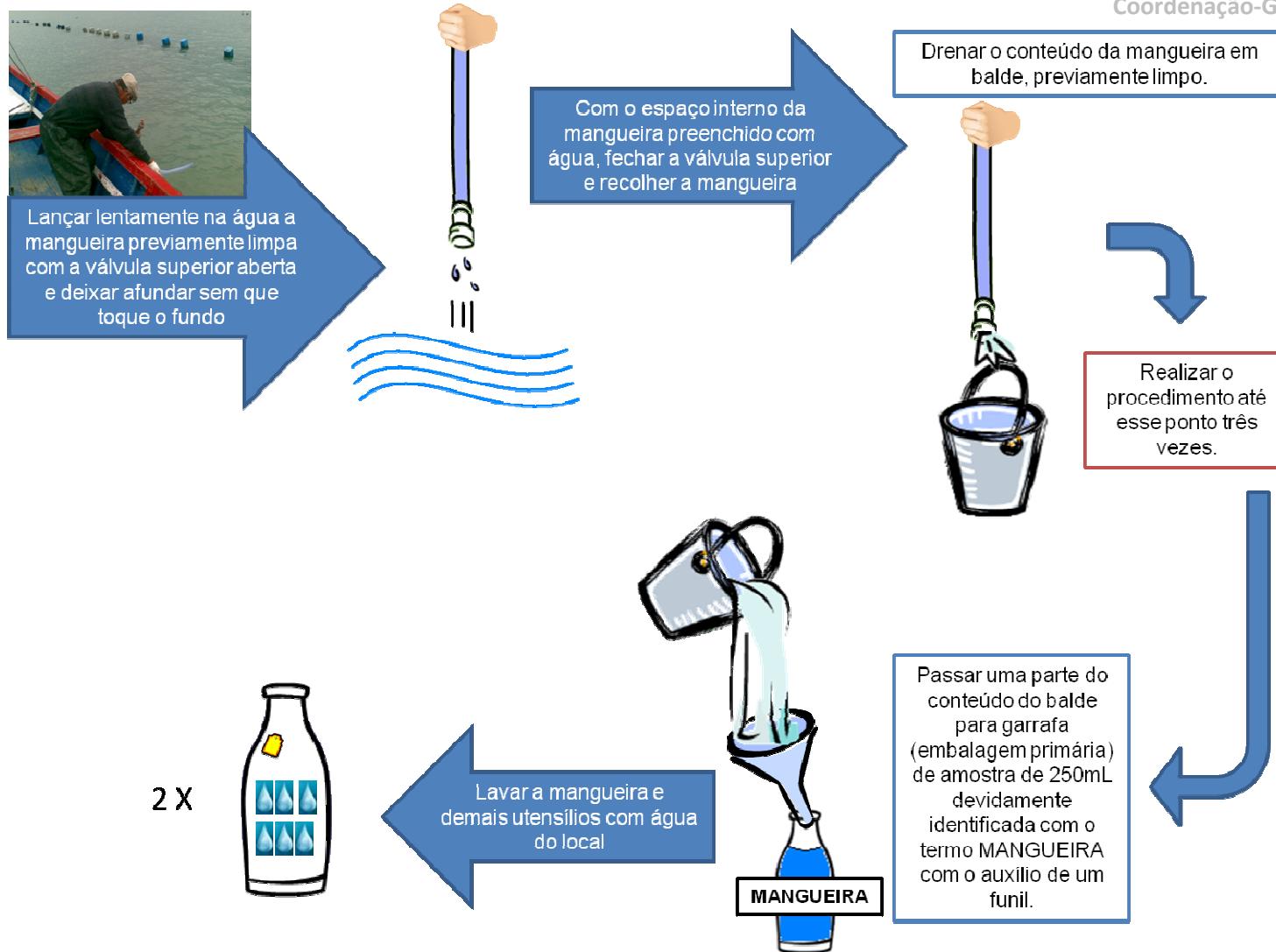


Figura 7. Procedimento de coleta de amostras de água para análises de microalgas .

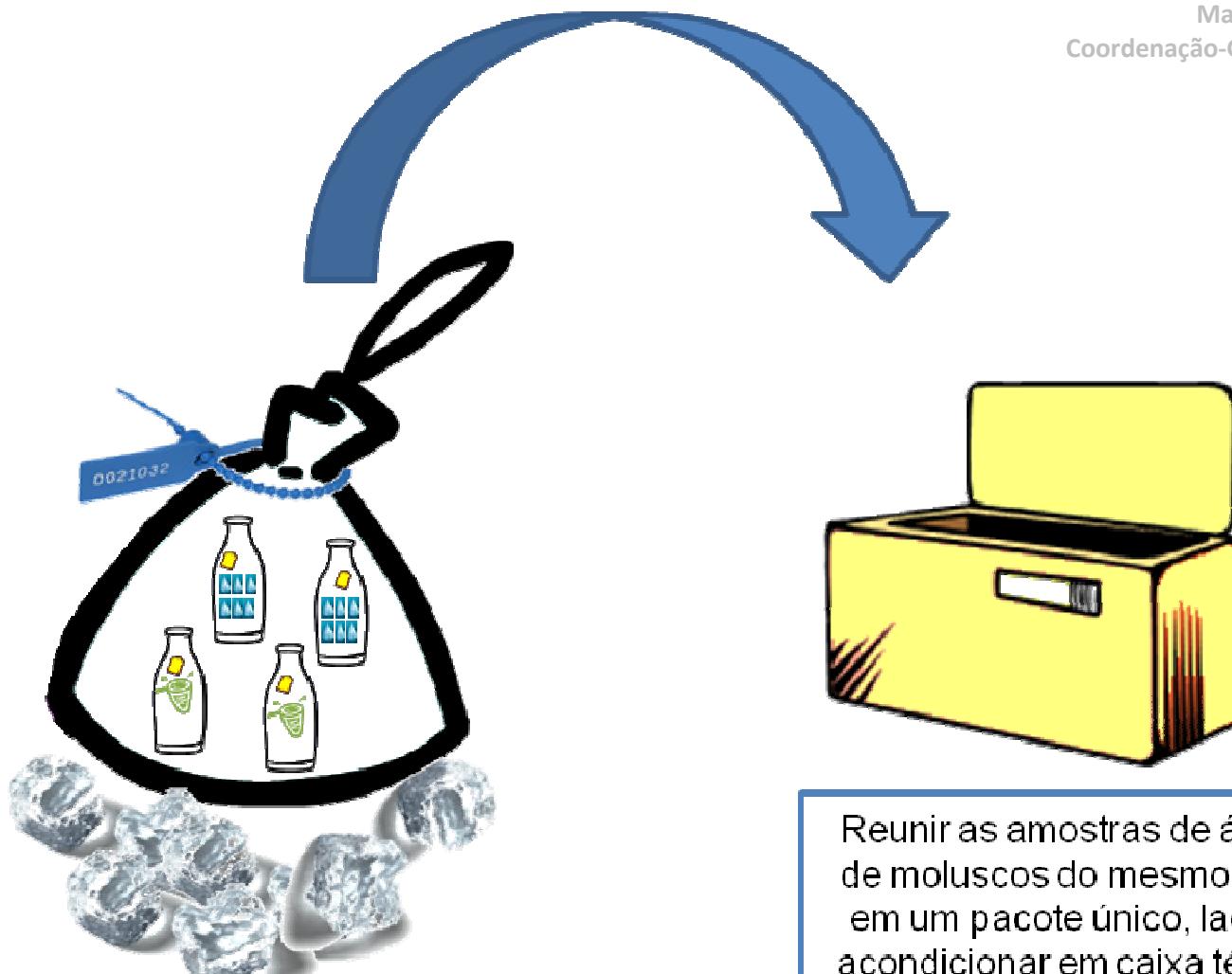


Figura 8. Acondicionamento e identificação das amostras de água e algas.

ORIENTAÇÕES PARA A DEFINIÇÃO DA RETIRADA DE MOLUSCOS BIVALVES NAS ÁREAS DE EXTRAÇÃO OU CULTIVO

RESULTADOS DAS ANÁLISES E DEFINIÇÃO DA RETIRADA DE MOLUSCOS BIVALVES

Os resultados do monitoramento de micro-organismos contaminantes e de biotoxinas produzidas por microalgas marinhas serão utilizados para a definição da retirada de moluscos bivalves, definida como:

- I - liberada;
- II - liberada sob condição; ou
- III - suspensa.

Para a definição de retirada de moluscos bivalves serão considerados os seguintes valores da Tabela 3.

Tabela 3. Critério para a definição de retirada de moluscos bivalves

Retirada liberada	NMP para <i>E.coli</i> em 100 gramas (g) da parte comestível dos moluscos bivalves	Limites de biotoxinas produzidas por microalgas em 1 quilograma (Kg) da parte comestível dos moluscos bivalves					
		<i>E.coli</i>	PSP	DSP	DSP	ASP	AZP
		< 230	<0,8mg (eq-STX)	<0,16mg (eq-AO)	<1mg (eq-YTX)	<20mg (AD)	<0,16mg (eq-AZA1)
Retirada liberada sob condição	230≤ NMP ≤ 46.000		<0,8mg (eq-STX)	<0,16mg (eq-AO)	<1mg (eq-YTX)	<20mg (AD)	<0,16mg (eq-AZA1)
Retirada suspensa	> 46.000		≥0,8mg (eq-STX)	≥0,16mg (eq-AO)	≥1mg (eq-YTX)	≥20mg (AD)	≥0,16mg (eq-AZA1)

Resultados de análise de biotoxinas

Para a análise de biotoxinas, o plano de amostragem será de 2 classes, com “n” (número de unidades de amostra) igual a 2 e “c” (número máximo de resultados positivos permitidos) igual a 0, “m” (limite entre contagem satisfatória e não satisfatória) igual ao limite estabelecido para cada biotoxina monitorada.

Nenhuma amostra deve conter mais que o limite estabelecido para cada biotoxina monitorada e a definição de retirada de moluscos bivalves das áreas de extração ou cultivo será feita de acordo com o disposto na tabela 4.

Tabela 4. Definição de retirada de moluscos bivalves de acordo com os resultados de análise de biotoxinas.

Nº amostras PSP ≥0,8mg (eq-STX)	Nº amostras DSP ≥0,16mg (eq-AO)	Nº amostras DSP ≥1mg (eq-YTX)	Nº amostras ASP ≥20mg (AD)	Nº amostras AZP ≥0,16mg (eq- AZA1)	Resultado de retirada de moluscos bivalves
=0	=0	=0	=0	=0	Liberada
≥ 1	≥ 1	≥ 1	≥ 1	≥ 1	Suspensa

A liberação de retirada de moluscos bivalves para área de extração ou cultivo definida com retirada suspensa, será realizada após 2 (dois) resultados consecutivos das análises de biotoxinas marinhas dentro dos limites aceitáveis

Resultados de análise de biotoxinas

Para a análise microbiológica, o plano de amostragem será de 3 classes, com “n” (número de unidades da amostra) igual a 5 e “c” (número máximo de resultados positivos permitidos) igual a 1, “m” (limite entre contagens satisfatórias e aceitáveis) igual a 230 e “M”(limite entre contagens aceitáveis e não satisfatórias) igual a 46.000.

Nenhuma das amostras deve conter um NMP maior que 46.000 e não mais que uma das cinco amostras deve conter NMP entre 230 e 46.000. A definição de retirada de moluscos bivalves das áreas de extração ou cultivo será feita de acordo com o disposto na tabela 5.

Tabela 5. Definição de retirada de moluscos bivalves de acordo com os resultados de análise microbiológica em cada classe de NMP prevista.

Nº amostras NMP<230	Nº amostras 230≤NMP≤46.000	Nº amostras NMP>46.000	Resultado de retirada de moluscos bivalves
= 5	= 0	= 0	Liberada
= 4	= 1	= 0	Liberada
= 4	= 0	= 1	Suspensa
≤ 3	≥ 2	= 0	Liberada sob condição
≤ 4	≥ 1	≥ 1	Suspensa

A liberação de retirada de moluscos bivalves para área de extração ou cultivo definida com retirada suspensa, será realizada após 2 (dois) resultados consecutivos com NMP menor ou igual a 46.000 nas análises micro-organismos contaminantes.