



Universidade de Évora
Curso de Medicina Veterinária

Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar
Estudo para o estabelecimento de critérios microbiológicos para
carcaças de lagomorfos

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária
Rita Cláudia Cardoso Ribeiro, nº 20745

Orientador: Mestre Maria Graça Mariano – Directora de Serviços do Gabinete Técnico e Pericial da ASAE

Co-orientador: Maria Manuel Mendes – Técnica Superior do Gabinete Técnico e Pericial da ASAE

Tutor: Professor Helder Carola Espiguinha Cortes

2010

Évora

Agradecimentos

“O essencial do conhecimento não está na sua posse mas na sua procura...”

Assim, não posso deixar de expressar a minha gratidão aos que mais estimularam a minha procura pelo conhecimento... e aos que tornaram todo o período de estágio único...

Às minhas orientadoras, Dra. Maria da Graça Mariano e Dra. Maria Manuel Mendes, por me terem acolhido tão bem, pelo carinho, pela amizade, por todos os ensinamentos, pelos horizontes que me abriram, pela máxima que o trabalho é um valor fundamental, por tudo...e especialmente pelo apoio cooperativo que esteve sempre presente.

Ao Eng. João Ramalho, pela amizade com que me brindou durante todo o meu estágio.

Ao bom ambiente de trabalho e a todo o companheirismo e ajuda: Eng.^a Susana Rodrigues, Eng.^a Gisela Niz, Nutricionista Sofia Mil-Homens, Eng. Carlos Alves.

À Maria de Lurdes Prisal, a minha colega de estágio mais querida.

À equipa do Laboratório de Segurança Alimentar da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, pela ajuda e disponibilidade demonstradas.

À equipa de Técnicos de Colheita de Amostras da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, pelo companheirismo.

Ao Dr. Telmo Nunes, também meu orientador (estágio de domínio acessório), pela amizade, pela presença permanente, pelos preciosos conselhos e sobretudo por me estimular a ir sempre mais além.

Ao meu tutor, o Professor Helder Cortes, pelo carinho, pela total disponibilidade demonstrada, pela ajuda do primeiro ao último momento, pela amizade.

Aos meus pais e irmã, por tudo e para sempre!

Índice Geral

Introdução geral.....	1
Objectivos	2
Parte I – O Estágio.....	3
1. Enquadramento Geral	3
2. Casuística	11
2.1.Casuística geral.....	11
2.2.Casuística no âmbito do PNCA	12
2.2.1. Análise de boletins e rótulos	13
2.2.2. Pareceres Técnicos	14
2.3.Casuística no âmbito do PNCR	15
2.3.1. Análise de boletins	16
2.4.Casuística no âmbito do PNCPI	17
2.4.1. Formações.....	17
2.5.Casuística no âmbito de outras competências do GTP	18
2.5.1. Respostas – Informação aos cidadãos	19
3. Discussão	22
3.1. Plano Nacional de Colheita de Amostras	23
3.2. Plano Nacional de Controlo de Resíduos	28
3.3. Plano Nacional de Controlo Plurianual Integrado	30
3.4. Outras actividades da competência do gabinete técnico e pericial.....	31
4. Conclusão.....	34
Parte II – Dissertação Científica.....	35
Resumo	35
Abstract.....	36
5. Revisão Bibliográfica	37
5.1. Segurança alimentar e doenças de origem alimentar	37
5.2. A carne como veículo de microrganismos	40
5.3. Critérios Microbiológicos.....	42
5.3.1. Critérios de higiene dos processos – carne e produtos derivados	44
5.4. Mesofilos totais e <i>Enterobacteriaceae</i>	45
5.5. <i>Salmonella</i> spp.....	46
5.5.1. Importância em saúde pública.....	46
5.5.2. Patogenicidade humana e animal	47

5.5.3. Os alimentos de origem animal e, nomeadamente, a carne como veículos de <i>Salmonella</i> spp.....	50
5.5.4. A contaminação das carcaças por <i>Salmonella</i> spp.....	51
5.5.5. Controlo e prevenção da salmonelose	52
5.6. A carne de coelho	53
5.6.1. Produção e consumo de carne de coelho	54
5.6.1.1. Distribuição da produção e do consumo de carne de coelho no mundo	55
5.6.1.2. Produção e consumo em Portugal	57
6. Apresentação do trabalho.....	60
6.1. Objectivos.....	61
7. Materiais e Métodos	62
7.1. Dimensão da amostra e processo de amostragem.....	62
7.2. Material e procedimento de colheita.....	63
7.3. Análise laboratorial.....	63
7.4. Análise estatística	64
7.5. Colheitas – ilustrações.....	65
8. Resultados	66
8.1. Caracterização da amostra.....	66
8.2. Prevalência de <i>Salmonella</i> na amostra em estudo	67
8.3. Análise estatística gráfica, descritiva e inferencial ao número de mesófilos totais e <i>Enterobacteriaceae</i> na amostra.....	68
9. Discussão	75
9.1. Prevalência de <i>Salmonella</i> spp. na amostra em estudo.....	75
9.2. Análise estatística gráfica, descritiva e inferencial ao número de mesófilos totais e <i>Enterobacteriaceae</i> na amostra.....	78
9.2.1. Mesófilos totais	78
9.2.2. <i>Enterobacteriaceae</i>	80
9.2.3. Análise estatística inferencial	81
10. Conclusão.....	84
Conclusão geral.....	86
Bibliografia	87
Anexos	95
Anexo 1	95

Anexo 2.....	95
Anexo 3.....	96
Anexo 4.....	97
Anexo 5.....	100

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Planos e Programas de controlo por amostragem abrangidos na actividade da ASAE	8
Tabela 2 – Número de amostras colhidas pela ASAE no triénio 2007/2009. Amostras não conformes (em número absoluto e relativo em percentagem).....	10
Tabela 3 – Distribuição da casuística por área de trabalho (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	11
Tabela 4 – Distribuição da casuística no âmbito do PNCA (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	12
Tabela 5 – Distribuição da casuística relativa à análise de boletins e respectivos rótulos dos géneros alimentícios, no âmbito do PNCA: Conformes e Não conformes (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	13
Tabela 6 – Distribuição dos pareceres realizados (frequências absolutas e relativas em percentagem) por não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	14
Tabela 7 – Distribuição da casuística no âmbito do PNCR (frequências absolutas e relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	15
Tabela 8 – Número de boletins do PNCR analisados. Sua categorização em conformes e não conformes (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem); Desfecho: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	16
Tabela 9 – Distribuição da casuística no âmbito do PNCPI (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	17
Tabela 10 – Formações PNCPI: sua distribuição por recursos humanos e por nível de participação, 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	18

Tabela 11 – Distribuição da casuística no âmbito de outras competências do GTP (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	18
Tabela 12 – Legislação consultada no âmbito da execução das respostas (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	20
Tabela 13 – Número de casos declarados e taxa de hospitalização de vários agentes patogénicos causadores de doença de origem alimentar em 2005	39
Tabela 14 – Produção de carne de coelho por continente (em toneladas e respectivo valor de percentagem): 2008/2009.....	56
Tabela 15 – Principais produtores de carne de coelho (resultados em toneladas): 2008	56
Tabela 16 – Distribuição do número de colheitas por matadouros (n=188): de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Resultados apresentados em número absoluto e relativo.. ..	66
Tabela 17 – Distribuição da amostra por data de colheitas, matadouros e lotes a abater: 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Número de colheitas realizadas em número absoluto e relativo (%).	67
Tabela 18 – Análise estatística descritiva da amostra quanto ao número de mesófilos totais (em log ufc/g): Média, Desvio-Padrão, Variância, Mínimo, Máximo, Mediana ou Segundo Quartil, Primeiro Quartil e Terceiro Quartil	70
Tabela 19 – Análise estatística descritiva da amostra quanto ao número de <i>Enterobacteriaceae</i> (em log ufc/g): Média, Desvio-Padrão, Variância, Mínimo, Máximo, Mediana ou Segundo Quartil, Primeiro Quartil e Terceiro Quartil.....	72

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Representação gráfica da distribuição da casuística por área de trabalho (Frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	11
Gráfico 2 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCA (Frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	12
Gráfico 3 – Representação gráfica da percentagem de conformidade e de não conformidade dos boletins e rótulos analisados (n=149 cada): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	13
Gráfico 4 – Representação gráfica da distribuição dos pareceres realizados (frequências relativas em percentagem) por não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	15
Gráfico 5 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCR (frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	16
Gráfico 6 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCPI (frequências relativas em %): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	17
Gráfico 7 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito de outras competências do GTP (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.....	19
Gráfico 8 – Representação gráfica da legislação consultada no âmbito da realização das respostas aos cidadãos (frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010	21
Gráfico 9 – Evolução da produção mundial de carne de coelho (toneladas): 2000/2009	55
Gráfico 10 – Evolução da quantidade (em toneladas) de carne de coelho produzida em Portugal, 2001/2009	58
Gráfico 11 – Número de mesófilos totais, em log ufc/g, nas colheitas efectuadas nos quatro matadouros em estudo (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010	68
Gráfico 12 – Número de <i>Enterobacteriaceae</i> , em log ufc/g, nas colheitas efectuadas nos quatro matadouros em estudo (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010.....	69
Gráfico 13 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de mesófilos totais na amostra (n=188). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g	70

Gráfico 14 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de mesofilos totais nas sub-amostras relativas a cada matadouro (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g	71
Gráfico 15 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de <i>Enterobacteriaceae</i> na amostra (n=188). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g	72
Gráfico 16 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de <i>Enterobacteriaceae</i> nas sub-amostras relativas a cada matadouro (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g.	73

Índice de figuras

Ilustração 1 – Linha de abate de coelhos: Esfola.....	65
Ilustração 2 – Linha de abate de coelhos: Evisceração	65
Ilustração 3 – Colheitas	65
Ilustração 4 – Materiais utilizados nas colheitas: maçarico, algodão, álcool a 70°C e sacos esterilizados	65

Lista de abreviaturas e Siglas utilizadas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ANOVA – Análise de Variância

ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

ASPOC - Associação Portuguesa de Cunicultura

BEDI - Plano de colheita de amostras de uvas, relacionado com o Banco Europeu de Dados Isotópicos do Sector Vitivinícola

BSE – Encefalopatia Espongiforme Bovina

CCE – Comissão das Comunidades Europeias

CE – Comissão Europeia

DACR - Direcção de Avaliação e Comunicação dos Riscos na Cadeia Alimentar

DAS - Direcção de Serviços Administrativos

DGA - Direcção Geral da Agricultura

DGV – Direcção Geral de Veterinária

D.L. – Decreto-lei

DR's - Direcções Regionais

DSHPV - Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária

DSPCO - Direcção e Serviços de Planeamento e Controlo Operacional

DST - Direcção de Serviços Técnicos

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

GA - Guia de alimentação

GAJ - Gabinete de Apoio Jurídico

GPP - Gabinete de Planeamento e Políticas

GTP – Gabinete Técnico e Pericial

HACCP – Análise de Perigos e Pontos de Controlo Críticos

IC – Intervalo de Confiança

ICMSF - Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas dos Alimentos

INE – Instituto Nacional de Estatística

IPIMAR - Instituto de Investigação das Pescas e do Mar

ISO – Organização Internacional de Normalização

LNIV – Laboratório Nacional de Investigação Veterinária

LSA - Laboratório de Segurança Alimentar

MSRV - Meio Semi-Sólido de Rappaport-Vassiliadis Modificado
NEPAA - Núcleo de Estudos e Planeamento da Área Alimentar
NEPAE - Núcleo de Estudos e Planeamento da Área Económica
NIT - Núcleo de Intervenção Técnica
OIE - Organização Internacional das Epizootias
OMS – Organização Mundial de Saúde
PCA – *Plate Count Agar*
PCBs – Bifenil Policlorados
PCAAC - Programa Comunitário de Ajuda aos Mais Carenciados
PCADAE - Programa de Controlo de Alimentos Destinados a uma Alimentação Especial
PCR – *Polymerase Chain Reaction*
PNCA - Plano Nacional de Colheita de Amostras
PNCPI - Plano Nacional de Controlo Plurianual Integrado
PNCRP - Programa Nacional de Controlo de Resíduos de Pesticidas
PNCR - Plano Nacional de Controlo de Resíduos
PNRCCA - Programa Nacional de Radioactividade em Componentes da Cadeia Alimentar
PRACE - Programa de Reestruturação da Administração Central do Estado
TCA - Técnicos de colheita de amostras
VRBG - Violet Red Bile Glucose Agar
VTBEV - Verificação Técnica das Bebidas Espirituosas de Origem Vínica

Introdução geral

A presente tese foi elaborada na sequência do estágio curricular de domínio fundamental do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio foi desenvolvido na área de saúde pública veterinária, incidindo sobretudo ao nível da segurança alimentar.

As principais motivações para a escolha da área de saúde pública veterinária foram o gosto que sempre demonstrei ao longo do curso pelas disciplinas que estabelecessem uma ligação entre a medicina veterinária e a medicina humana: Inspeção Sanitária, Higiene e Saúde Pública, Medicina Preventiva, Técnicas de produção Alimentar, Epidemiologia, Doenças Infecciosas e Parasitárias, Microbiologia e Parasitologia.

O estágio decorreu no presente ano de 2010, tendo início no dia 18 do mês de Fevereiro e término no dia 22 do mês de Junho, com a duração de quatro meses e quatro dias. Foi desenvolvido no Gabinete Técnico e Pericial, abreviadamente designado de GTP, unidade orgânica da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), sediada na Avenida Conde de Valbom em Lisboa.

A orientação e co-orientação ficaram a cargo respectivamente, da Médica Veterinária Maria da Graça Mariano (Directora de serviços do Gabinete Técnico e Pericial) e da Médica Veterinária Maria Manuel Mendes (Técnica Superior do Gabinete Técnico e Pericial).

Durante o estágio pude realizar actividades que me permitiram interpretar e aplicar a principal legislação nacional e comunitária reguladora do exercício das actividades económicas no sector alimentar; pude conhecer, cooperar e participar em actividades inerentes aos Planos de Controlo Oficial por Amostragem executados pela ASAE; assistir a formações (algumas das quais também como formadora) e a várias reuniões; escrever dois textos editados para a Newsletter da ASAE e desenvolver um trabalho de investigação.

A estrutura da presente tese consiste numa primeira parte alusiva a todo o trabalho efectuado durante o estágio e numa segunda parte que toma a forma de dissertação de natureza científica relativa ao trabalho de investigação que pude desenvolver: “Estudo para o estabelecimento de critérios microbiológicos para carcaças de lagomorfos”.

Assim, na primeira parte procede-se a um enquadramento geral do conteúdo programático do estágio, incidindo sobre os temas de saúde pública veterinária e competências de um médico veterinário em saúde pública; segurança alimentar e principal legislação reguladora; missão, atribuições e estrutura base da ASAE, sua caracterização em termos de organização subjacente aos vários planos/programas de controlo em que participa; estrutura e competências do GTP.

No final é apresentada a casuística do estágio por área de trabalho, sua discussão e breve conclusão.

Na segunda parte procede-se ao resumo do estudo, incluindo a sua versão em inglês, seguido pela sua apresentação e objectivos. Seguidamente é feita uma breve revisão bibliográfica ao tema. São apresentados os materiais e métodos, que incluem uma abordagem ao procedimento de amostragem realizado, e os resultados obtidos. Termina com a discussão e conclusão.

O relatório termina com uma conclusão geral e com a indicação da bibliografia utilizada.

Objectivos

O estágio contou com os seguintes objectivos:

1. Objectivos gerais:

- integrar os conhecimentos técnicos e científicos obtidos ao longo do curso;
- adquirir novas capacidades e competências direccionadas para a protecção e promoção da saúde humana e animal;
- conhecer a Autoridade de Segurança Alimentar e Económica e o Gabinete Técnico e Pericial.

2. Objectivos específicos:

- aplicar, em diversas actividades, a principal legislação alimentar;
- realizar actividades incluídas no âmbito dos principais Planos de Controlo Oficial por Amostragem executados pela ASAE;
- desenvolver o trabalho de investigação “Estudo para o estabelecimento de critérios microbiológicos para carcaças de lagomorfos”.

Parte I – O Estágio

1. Enquadramento geral

O conceito de “saúde pública veterinária” foi definido pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e Organização Mundial de Saúde (OMS), como “a soma de todas as contribuições para o bem-estar físico, mental e social dos seres humanos através da compreensão e aplicação da ciência veterinária”; tornando-se num conceito abrangente que inclui o princípio de que as actividades de saúde pública veterinária devem ser realizadas em parceria com outros grupos de saúde pública: não só veterinários como também médicos, enfermeiros, microbiologistas, especialistas ambientais, técnicos alimentares, técnicos agrícolas e cientistas (Organização Mundial de Saúde [OMS], 2002_a).

Os médicos veterinários como profissionais de ciências veterinárias, pelos seus conhecimentos e experiência profissional podem integrar vários domínios de núcleo no âmbito da saúde pública veterinária tais como na epidemiologia; diagnóstico, controlo e prevenção de agentes zoonóticos; em pesquisa biomédica; na gestão das populações de animais domésticos e selvagens; em análise de risco; na educação em saúde; em segurança alimentar respondendo a surtos de doenças infecciosas e intoxicações de origem animal e ambiental, etc., influenciando assim directamente a saúde humana (OMS, 2002_a).

As doenças de origem alimentar apresentam distribuição mundial e constituem um problema crescente de saúde pública, quer nos países desenvolvidos quer nos países em desenvolvimento. A sua incidência global é difícil de estimar mas no entanto todos os anos são contabilizadas milhões de mortes por doenças diarreicas, a maior parte das quais por contaminação dos alimentos e da água (OMS, 2007), em especial em grupos vulneráveis como lactentes e crianças, idosos, mulheres grávidas e imunodeprimidos (Motarjemi & Kaferstein, 1999).

Podem ser causadas por microrganismos ou suas toxinas - a salmonelose, a campilobacteriose, as infecções por *E. coli* enterohemorrágica, por *Listeria monocytogenes*, a cólera pela bactéria *Vibrio cholerae*; por toxinas naturais – as micotoxinas (as aflatoxinas e a ocratoxina) ou por biotoxinas marinhas; por agentes não convencionais (priões – agente da encefalopatia espongiforme bovina (BSE)); por metais - mercúrio, cádmio, chumbo ou por poluentes orgânicos persistentes - as dioxinas e os bifenil policlorados (PCB's) (OMS, 2007). Estes e outros potenciais agentes constituem um “perigo”, “*um agente biológico, químico ou físico presente nos géneros alimentícios ou nos alimentos para animais, ou uma condição dos mesmos, com potencialidades para provocar efeito nocivo para a saúde*” (Regulamento (CE)

Nº 178/2002). As consequências destes perigos podem ser visíveis em curto espaço de tempo ou só conhecidas após anos de investigação (OMS, 2007).

Na sua maioria, os casos de doença de origem alimentar ocorrem de forma esporádica e muitas vezes não são notificados, mas também podem ocorrer como graves surtos, afectando não só e de maneira significativa a saúde e bem-estar das populações como também a economia dos países. Receia-se que estes surtos sejam apenas a ponta do iceberg de um problema maior e persistente (OMS, 2002_b; Schlundt, 2002).

Com o intuito de garantir um elevado nível de saúde pública, a União Europeia e os Estados-Membros fizeram da segurança alimentar uma prioridade da agenda política europeia (Comissão das Comunidades Europeias [CCE], 2000; OMS, 2002_b).

Mas a história da legislação alimentar comunitária actual é recente. A partir da década de 70 e após se ter conseguido a auto-suficiência dos países da Comunidade com a Política Agrícola Comum, surge progressivamente a política de defesa dos consumidores, sendo este conceito introduzido com a publicação do Acto Único em 1986 (Europa_a).

Só a partir da década de 90 e resultado de graves crises alimentares que demonstraram a necessidade de melhorar os procedimentos relativos à segurança dos alimentos (Europa, 2008), a política de segurança alimentar da União Europeia foi objecto de uma reforma (CCE, 2000).

A legislação alimentar seria assim revista e alterada tornando-se mais completa e actualizada, tendo como principal objectivo restaurar a confiança dos consumidores (abalada pelas crises passadas), associando o conjunto das partes interessadas: os cidadãos, as organizações não governamentais, as associações profissionais, os parceiros comerciais e as organizações do comércio internacional (Europa, 2008).

Estas e outras prioridades inovadoras ficariam reflectidas com a publicação do Livro Verde (1997) e principalmente do Livro Branco (2000) sobre a segurança dos alimentos (CCE, 2000; Europa, 2008). Este último documento teve como princípio orientador a abordagem “do prado ao prato”. Assim, a política de segurança dos alimentos deveria ter como base uma abordagem global e integrada ao longo de toda a cadeia alimentar, sendo assim abrangidos todos os sectores, incluindo: a produção de alimentos para animais, a produção primária, o processamento de alimentos, a armazenagem, o transporte e o comércio. Os encarregados por cada uma das etapas (os produtores de alimentos para animais, os agricultores e os operadores do sector alimentar) seriam os principais responsáveis pela segurança dos alimentos (CCE, 2000).

Esta abordagem seria fundamentada na análise de riscos e rastreabilidade dos géneros alimentícios (CCE, 2000).

A análise de riscos engloba três componentes interligadas, a avaliação, a gestão e a comunicação dos riscos. A avaliação dos riscos, feita com base em pareceres científicos, implica a identificação e a caracterização do perigo, a avaliação da exposição e a caracterização do risco; a gestão dos riscos, que inclui o princípio da precaução como medida provisória, define as medidas de controlo para mitigar o risco e a comunicação dos riscos é um processo de intercâmbio de informações e opiniões entre os gestores, avaliadores e outros profissionais de risco (CCE, 2000).

No Livro Branco foi também preconizado a criação de uma Autoridade Alimentar Europeia independente, dotada da capacidade para avaliar o risco e responder às solicitações de esclarecimento de cariz científico; a instauração de controlos oficiais a nível nacional e europeu; a informação dos cidadãos (sobre a natureza de um determinado risco para a saúde, identificando o género alimentício e as medidas tomadas para prevenir, reduzir ou eliminar esse risco) e a aplicação do princípio da transparência a todos os níveis da segurança alimentar, com vista a aumentar a confiança dos consumidores (CCE, 2000).

No ano de 2002 é publicado o diploma regulamentar que constituiu o fundamento da nova legislação no domínio de segurança alimentar (CCE, 2000): o Regulamento (CE) N° 178/2002 “*que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Géneros Alimentícios e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios*”. Este regulamento viria estabelecer como princípios gerais no âmbito da segurança alimentar e que devem prevalecer sobre qualquer legislação, os principais objectivos preconizados no Livro Branco (CCE, 2000; Regulamento (CE) N° 178/2002; Hugas & Tsigarida, 2008).

Em 2004 é publicado o “pacote higiene”, um conjunto de actos que instituem regras de higiene para os produtos alimentares (Europa, 2007) compreendendo o Regulamento (CE) n° 852/2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios, o Regulamento (CE) n° 853/2004, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal e o Regulamento (CE) n° 854/2004, que instaura um quadro comunitário para os controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano e estabelece regras específicas para as carnes frescas, os moluscos bivalves, o leite e os produtos lácteos.

Os diplomas supracitados constituem a base da legislação alimentar mas existe um grande número de outros diplomas que não vão ser aqui destacados. Também, ao longo destes

últimos anos têm surgido novos diplomas, alterações e até revogações das leis anteriores, sempre com o intuito de salvaguardar a saúde pública e os direitos dos consumidores.

De uma maneira geral, a “nova” legislação alimentar funciona com os seguintes objectivos: protecção da vida e da saúde das pessoas; protecção dos interesses dos consumidores, tendo em conta a protecção da saúde e do bem-estar dos animais, a fitossanidade e o ambiente; promoção da livre circulação dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais na Comunidade e a consideração das normas internacionais existentes ou em preparação (Europa, 2008).

Além das acções da Comunidade, o desenvolvimento do quadro internacional no âmbito da segurança alimentar teve o apoio de certas organizações, como o *Codex Alimentarius*, o Gabinete Internacional das Epizootias (OIE), a Organização Mundial de Saúde e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (Europa, 2008).

Tal como não podia deixar de ser, Portugal como membro da União Europeia cumpre as políticas comunitárias, dentro das quais, as relativas à saúde pública e segurança alimentar.

O Ministério da Economia e da Inovação com a publicação do Decreto-Lei nº 237/2005 de 30 de Dezembro cria a Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). A criação desta nova entidade surge do objectivo de relançar a política de defesa dos consumidores, com particular relevo para os problemas da segurança alimentar e saúde pública, pretendendo responder à necessidade de uma actuação credível ao nível da avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, com vista a restringir a ocorrência de danos sociais nas áreas da saúde, da economia e na defesa dos consumidores. Congrega num único organismo a quase totalidade de serviços relacionados com fiscalização e com a avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, melhorando assim a eficácia e aumentando a confiança do consumidor (D.L. nº 237/2005).

Mais tarde surge o Decreto-Lei nº 274/2007 de 30 de Julho que aprova a lei orgânica da ASAE face ao cumprimento das directrizes do Programa de Reestruturação da Administração Central do Estado (PRACE) e estabelece alguns ajustamentos nas atribuições da ASAE, nomeadamente com o estabelecido no ponto 1 do seu Artigo 3º (Missões e atribuições),

(...) A ASAE tem por missão a avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, bem como a fiscalização e prevenção do cumprimento da legislação reguladora do exercício das actividades económicas nos sectores alimentar e não alimentar, exercendo funções de autoridade nacional de coordenação, do controlo oficial dos géneros

alimentícios e organismo nacional de ligação com outros Estados membros (D.L. nº 274/2007).

Muito importante da missão da ASAE e no âmbito da avaliação e comunicação dos riscos alimentares é a sua competência em colaborar com a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), conforme disposto no Regulamento (CE) nº 178/2002, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro.

De acordo com a Portaria nº 821/2007 de 31 de Julho, a estrutura nuclear da ASAE consiste na Direcção de Avaliação e Comunicação dos Riscos na Cadeia Alimentar (DACR), na Direcção e Serviços de Planeamento e Controlo Operacional (DSPCO), na Direcção de Serviços Administrativos (DSA), no Laboratório de Segurança Alimentar (LSA), no Gabinete Técnico-Pericial (GTP), na Direcção de Serviços Técnicos (DST), no Gabinete de Apoio Jurídico (GAJ) e em cinco Direcções Regionais (DR's).

Relativamente ao GTP e tal como estipulado pelo Artigo 6º da presente portaria, tem a seu cargo as seguintes funções:

(...) Proceder à realização de estudos, perícias, concepção, adaptação e aplicação de métodos e processos técnicos; elaborar procedimentos, pareceres e recomendações técnicas no âmbito alimentar e não alimentar; prestar assessoria técnica especializada nos vários domínios técnicos em que a ASAE tem atribuições, coordenando ao nível técnico as equipas técnico-periciais; garantir o funcionamento de um laboratório de apoio técnico no âmbito do combate à contrafacção e participar em reuniões nacionais e internacionais em que se discutam matérias relacionadas com a segurança alimentar, alimentos para animais e actividades económicas (Portaria nº 821/2007).

O GTP é uma unidade orgânica formado por equipas multidisciplinares. De acordo com o estipulado pelo Despacho nº 20143/2007, posteriormente revogado pelo Despacho nº 23912/2008, articulava-se em três núcleos o Núcleo de Estudos e Planeamento da Área Alimentar (NEPAA), responsável por executar e desenvolver as competências de âmbito alimentar do GTP e apoiar a coordenação do controlo oficial dos géneros alimentícios; o Núcleo de Estudos e Planeamento da Área Económica (NEPAE), responsável por executar e desenvolver as competências de âmbito não alimentar do GTP e por apoiar a execução do programa nacional de fiscalização de mercado, e pelo Núcleo de Intervenção Técnica (NIT), responsável também pela execução de competências do GTP e por garantir a execução dos planos de controlo oficial. Actualmente e sob vigor do Despacho nº 9012/2010 (26 de Maio de 2010) o NIT extinguiu-se ficando o GTP apenas constituído pelo NEPAA e NEPAE.

Em resposta à prevenção do cumprimento da legislação reguladora do exercício das actividades económicas no sector alimentar e tal como estipulado no Artigo 3º do Decreto-Lei nº 274/2007 (missão e atribuições) é executado pela ASAE, de forma autónoma ou em articulação com outras Autoridades competentes, um conjunto de oito Planos Nacionais e Programas Oficiais de Controlo (Plano Nacional de Controlo Plurianual Integrado – PNCPI), (tabela 1), cujo organismo coordenador é actualmente o Gabinete de Planeamento e Políticas (GPP), e nos quais o GTP tem uma participação activa em cada um dos planos/programas de controlo. Os planos/Programas possuem âmbito e abrangência diversos e o seu conjunto incide no seu todo, sobre as várias fases da cadeia alimentar (Regulamento (CE) nº 882/2004; Gabinete Técnico e Pericial [GTP], 2010_a).

Tabela 1 - Planos e Programas de controlo por amostragem abrangidos na actividade da ASAE

Plano/Programa	
PNCA	Plano Nacional de Colheita de Amostras – Géneros Alimentícios
PNCRP	Programa Nacional de Controlo de Resíduos de Pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios em Produtos de origem Vegetal (Decreto-Lei nº 274/2007)
PNCR/PNPR	Plano Nacional de Controlo de Resíduos – Espécies pecuárias e de caça (Decreto-Lei nº 274/2007)
PNRCCA	Programa Nacional de radioactividade em componentes da cadeia alimentar
PCADAE	Programa de Controlo de Alimentos Destinados a uma Alimentação Especial
BEDI	Plano de colheita de amostras de uvas, relacionado com o Banco Europeu de Dados Isotópicos do Sector Vitivinícola
PCAAC	Programa Comunitário de Ajuda aos Mais Carenciados
VTBEV	Verificação Técnica das Bebidas Espirituosas de Origem Vínica

As unidades orgânicas da ASAE envolvidas no controlo oficial são o GTP; o LSA, a quem compete a realização das análises destinadas ao controlo oficial e no qual funcionam quatro divisões, o Laboratório de Microbiologia, o Laboratório de Físico-Química, o Laboratório de Bebidas e Produtos Vitivinícolas e o Laboratório de Análises Tecnológicas e de Controlo; a DACR que pode colaborar com o GTP em actividades que necessitem da avaliação do risco associado; a DSPCO, que é responsável pelo planeamento das acções a fazer às indústrias de origem dos géneros alimentícios, objecto de análise laboratorial com resultado não conforme e as cinco DR's que actuam em conformidade com as instruções recebidas da DSPCO (GTP, 2010_a).

É importante referir as competências do GTP no âmbito do controlo oficial: elaborar, rever e actualizar o Manual de Procedimentos de Fiscalização (ProfASAE); elaborar

procedimentos, pareceres e recomendações técnicas; prestar o apoio técnico-pericial que lhe é solicitado, em relação a determinadas acções de fiscalização/inspecção; executar acções de perícia, face a solicitações recebidas e assegurar o planeamento e a execução do conjunto de Planos Nacionais e Programas Oficiais de controlo instituídos, com as demais operações incluídas (GTP, 2010_a).

A gestão da maioria dos planos/programas de controlo não é só da responsabilidade da ASAE, mas resulta da articulação entre várias Autoridades competentes e laboratórios. O PNCA é o único plano cuja gestão é da total responsabilidade da ASAE e nomeadamente do GTP – elabora o plano, define as amostragens, elabora os procedimentos de colheita e demais diligências, sendo as análises laboratoriais realizadas no LSA. O VTBEV também é da responsabilidade do GTP (tal como estipulado pelo Decreto-Lei nº 274/2007 e Portaria nº 1186/2009) mas a amostragem ocorre a pedido do operador (tendo menor relevância) (GTP, 2010_a).

Quanto ao planeamento e coordenação das actividades no âmbito dos Planos e Programas de controlo, tendo em consideração a especificidade dos objectivos inerentes a cada um e as diferentes entidades envolvidas, assim são efectuados modelos de planeamento e procedimento de amostragem distintos (GTP, 2010_a).

Actualmente, estão envolvidos seis funcionários do GTP no controlo oficial, o director de serviços e cinco técnicos superiores pertencentes ao NEPAE (sendo o número de técnicos variável e não se contabilizando o pessoal do NEPAE por ser relativo à área económica na qual não esteve envolvida).

A execução da amostragem relacionada com os Planos Nacionais e Programas Oficiais de Controlo Oficial por Amostragem é realizada através da intervenção directa do corpo de técnicos de colheita de amostras (TCA) e sem que se tenha conhecimento prévio. Os TCA são agrupados em brigadas e munidos de recursos materiais indispensáveis ao acto de colheita das amostras, assim como de viaturas especializadas. Antes da extinção do NIT, com a passagem de alguns destes funcionários (6 dos técnicos de colheita de amostras eram da responsabilidade do NIT) para a direcção regional de Lisboa e Vale do Tejo, cabia ao GTP efectuar a coordenação das brigadas de colheita de amostras. Actualmente é apenas responsável pelo seu acompanhamento técnico. Estas brigadas estão geralmente organizadas por plano e em função das regiões onde fazem colheitas (distribuídos pelas cinco direcções regionais – Direcção regional do Norte, do Centro, de Lisboa e Vale do Tejo, do Alentejo e do Algarve (GTP, 2010_a).

Importa realçar que a actuação face aos resultados obtidos é diferente consoante cada plano e natureza do resultado – conforme ou não conforme. Cabe ao NEPAA a apreciação dos resultados dos boletins analíticos e a proposta de medidas subsequentes à mesma (GTP, 2010_a).

Seguidamente é apresentada uma estatística resumo do número de amostras colhidas e seus resultados, no triénio de 2007 a 2009, relativas aos Planos Nacionais de Controlo por Amostragem em que a ASAE está directamente envolvida que permite destacar as actividades relacionadas com o PNCA e o PNCR como as mais representativas pois uma amostragem maior implica também mais recursos humanos, mais tempo no seu planeamento, execução e análise de resultados (tabela 2).

Também, o PNCA é o plano com maior taxa de não conformidades por ano (tabela 2), realçando assim a importância da realização deste controlo oficial de modo a garantir a defesa do consumidor e que os géneros alimentícios colocados no mercado não põem em risco a saúde pública.

Tabela 2 – Número de amostras colhidas pela ASAE no triénio 2007/2009. Amostras não conformes (em número absoluto e relativo em percentagem).

Plano	2007			2008			2009		
	Nº Total	Não C	% Não C	Nº Total	Não C	% Não C	Nº Total	Não C	% Não C
PNCA	1906	70	3,67	1276	47	3,68	2574	84	3,26
PNCRP	306	3	0,98	452	6	1,33	649	1	0,15
PNCR	4100	12	0,29	4931	8	0,16	6871	14	0,2
PNRCCA	27	-	-	80	-	-	80	-	-
PCDAE	20	0	0	20	0	0	15	0	0
VTBEV	-	-	-	-	-	-	21	1	4,76
BEDI	57	Não Ap	Não Ap	57	Não Ap	Não Ap	57	Não Ap	Não Ap
PCAAC	-	-	-	-	-	-	21	0	0
Total	6416	85	1,33	6816	61	0,9	10288	100	0,97

Legenda: Número total de amostras colhidas (Nº Total); número de amostras com resultado não conforme (Não C); percentagem de amostras com resultado não conforme (% Não C); não aplicável (Não Ap). Adaptado de GTP, 2010_a.

2. Casuística

2.1. Casuística geral

Tal como representado na tabela 3 e no gráfico 1 optou-se por uma apresentação da casuística do estágio por área de trabalho. A subdivisão apresentada agrupa os vários serviços que pude realizar durante o estágio em casuística no âmbito do PNCA, do PNCR, dos vários planos/programas de controlo (PNCPI) e de outras competências a cargo do GTP.

A casuística é caracterizada por frequência absoluta (tabela 3) e por respectiva frequência relativa em percentagem (tabela 3 e gráfico 1).

Durante o estágio a área de trabalho mais representativa foi a relacionada com outras competências do GTP – 36,8% (tabela 3 e gráfico 1).

Tabela 3 - Distribuição da casuística por área de trabalho (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Casuística /Área	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Casuística PNCA	69	30,9
Casuística PNPR	50	22,4
Casuística PNCPI	22	9,9
Outras competências GTP	82	36,8
Total	223	100,0

Distribuição da casuística por área de trabalho (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

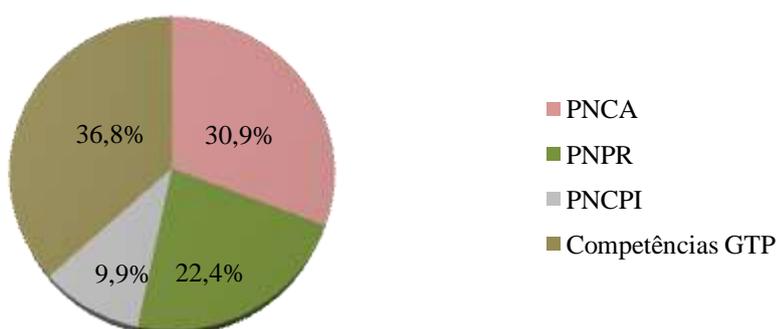


Gráfico 1 – Representação gráfica da distribuição da casuística por área de trabalho (Frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.2. Casuística no âmbito do PNCA

A casuística no âmbito do PNCA representou 30,9% do total da casuística (tabela 3 e gráfico 1). Neste âmbito, a análise de boletins analíticos e respectivos rótulos dos géneros alimentícios foi a actividade com maior frequência relativa, 31,9% (tabela 4 e gráfico 2).

Tabela 4 - Distribuição da casuística no âmbito do PNCA (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Trabalhos efectuados	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Análise de boletins e rótulos	22	31,9
Análise de boletins (coelhos)	9	13,0
Apresentações	1	1,4
Idas a matadouros (coelhos)	5	7,2
Normativo PNCA 2010	1	1,4
Notas de Remessa	7	10,2
Notificações para interposição de recurso	3	4,4
Ofícios	6	8,7
Outros	2	2,9
Pareceres Técnicos	10	14,5
Reuniões	3	4,4
Total	69	100,0

Distribuição da casuística no âmbito do PNCA (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

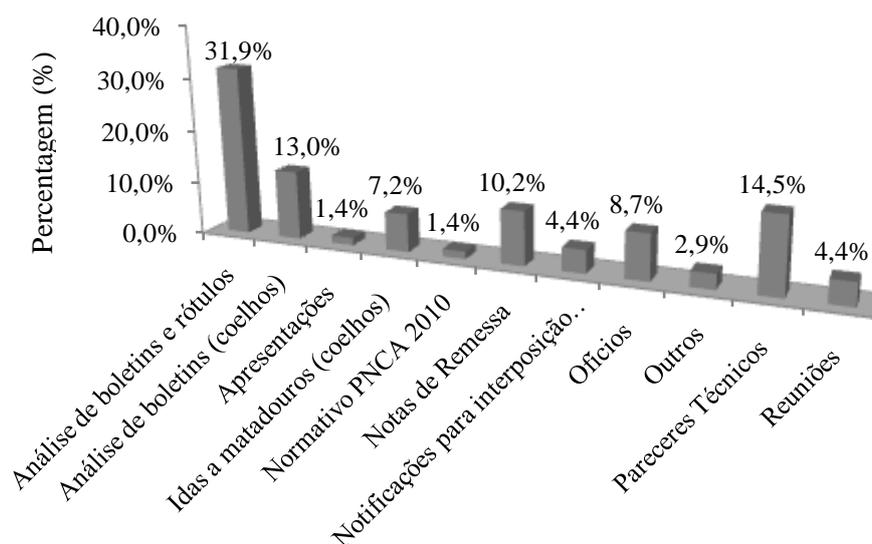


Gráfico 2 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCA (Frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.2.1. Análise de boletins e rótulos

Foram analisados 149 boletins analíticos e respectivos rótulos, 298 no total (tabela 5), com uma frequência relativa de 31,9% (tabela 4). Pela análise do gráfico 3 constata-se que mais de 75% dos boletins analíticos e respectivos rótulos foram conformes. A maioria das não conformidades foi devida a erros da rotulagem, 14,8% (tabela 5 e gráfico 3). Os géneros alimentícios com rótulos não-conformes foram sujeitos a parecer técnico, avaliando os motivos da não conformidade e as infrações cometidas, e a dois ofícios remetidos ao GPP (tabela 5).

As causas de não conformidade dos boletins analíticos foram a positividade à pesquisa de *Salmonella* e a contagem de *Listeria monocytogenes* a níveis superiores aos estipulados, não cumprindo assim o Regulamento (CE) nº 2073/2005 e sua posterior alteração pelo Regulamento (CE) nº 1441/2007.

Tabela 5 - Distribuição da casuística relativa à análise de boletins e respectivos rótulos dos géneros alimentícios, no âmbito do PNCA: Conformes e Não conformes (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Análise:	Frequência absoluta	Conformes (F. absoluta/%)	Não Conformes (F. absoluta/%)	Desfecho
Boletins analíticos	149	144 96,6	5 3,4	Aguardam ordem de parecer; 1 Ofício
Rótulos	149	127 85,2	22 14,8	10 Pareceres técnicos; 2 Ofícios
Total	298	271 90,9	27 9,1	

Percentagem de conformidade e não conformidade dos boletins e rótulos (%):

18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

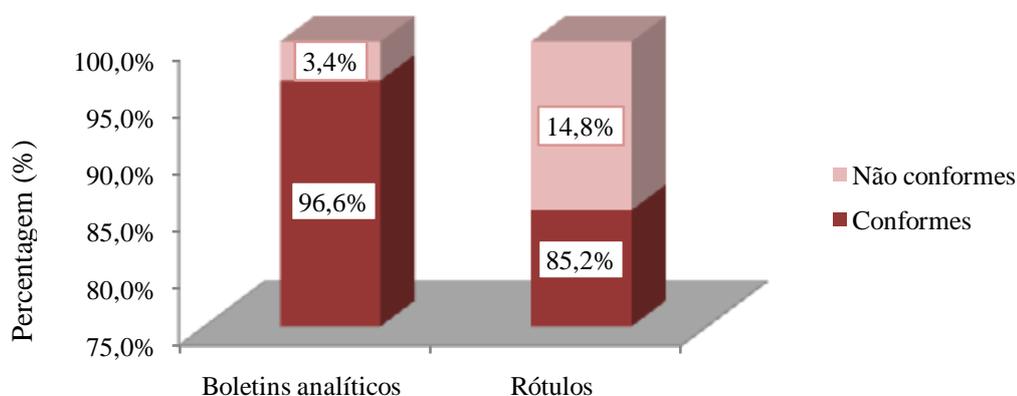


Gráfico 3 – Representação gráfica da percentagem de conformidade e de não conformidade dos boletins e rótulos analisados (149 cada): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.2.2. Pareceres Técnicos

A totalidade de pareceres técnicos executados foi pela não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios (tabelas 4 e 5). A tabela 6 apresenta a distribuição dos pareceres por causa de não conformidade (em frequência absoluta e frequência relativa em percentagem) e a legislação utilizada para sua elaboração.

Os motivos de não conformidade foram variados (tabela 6 e gráfico 4). A presença de rótulos com a denominação de venda incorrecta foi o mais frequente (30%) (tabela 6 e gráfico 4). Também pela análise da tabela 6 se verifica que o diploma mais frequentemente utilizado foi o Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de Dezembro, que estabelece as regras de rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios.

Tabela 6 – Distribuição dos pareceres realizados (frequências absolutas e relativas em percentagem) por não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Pareceres Técnicos	Motivo	Frequência (absoluta/%)		Legislação utilizada
Rotulagem dos géneros alimentícios	Deteção de leite de vaca em queijos de ovelha/cabra	2	20,0	Regulamento (CE) nº 273/2008; Decreto-Lei nº 560/99; Decreto-Lei nº 28/84; Regulamento (CE) nº 510/2006;
	Denominação de venda incorrecta	3	30,0	Regulamento (CE) nº853/2004; Decreto-Lei nº 560/99;
	Falta de marca de identificação: mel	1	10,0	Decreto-Lei nº 1/2007; Regulamento (CE) nº 853/2004;
	Idioma incorrecto	1	10,0	Decreto-Lei nº 560/99;
	Lista de ingredientes incompleta	1	10,0	Regulamento (CE) nº 853/2004; Decreto-Lei nº 33/2008; Decreto-Lei nº 560/99;
	Rótulo incorrecto “embalagem do dia”	1	10,0	Decreto-Lei nº 147/2006/ Decreto-Lei nº 207/2008; Decreto-Lei nº 560/99;
	Rótulo nutricional incorrecto	1	10,0	Decreto-Lei nº 167/2004;
Total		10	100,0	

Distribuição dos pareceres realizados (%) por não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

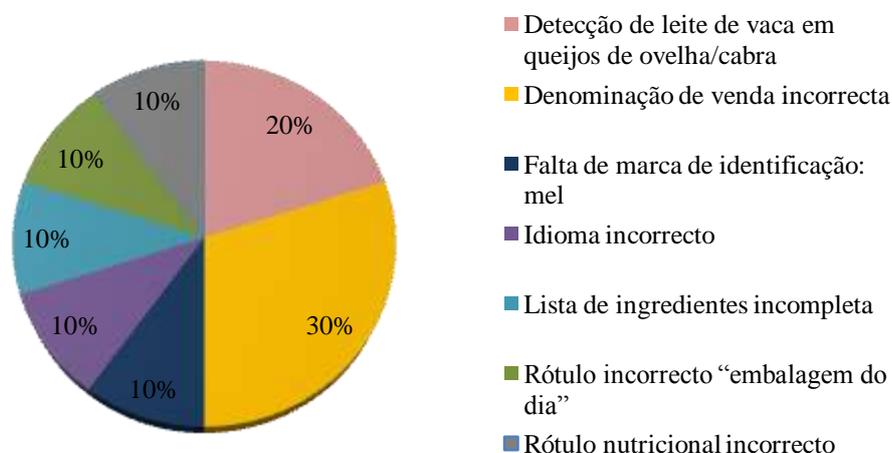


Gráfico 4 – Representação gráfica da distribuição dos pareceres realizados (frequências relativas em percentagem) por não conformidade à rotulagem dos géneros alimentícios: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.3. Casuística no âmbito do PNCR

O PNCR representou 22,4% da casuística total (tabela 3 e gráfico 1). Quanto aos trabalhos desempenhados neste âmbito, o mais frequente foi a análise de boletins analíticos (50,0%) (tabela 7 e gráfico 5), seguida pela introdução de dados relativos às colheitas efectuadas no âmbito deste plano (introdução semanal) e sob o qual eu fiquei encarregue pela actualização durante o período de estágio (36,0%, tabela 7 e gráfico 5).

Tabela 7 – Distribuição da casuística no âmbito do PNCR (frequências absolutas e relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Trabalhos efectuados	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Análise de boletins	25	50,0
Colheita PNPR	1	2,0
Introdução dados PNPR	18	36,0
Ofícios	3	6,0
Outros	2	4,0
Reuniões	1	2,0
Total	50	100,0

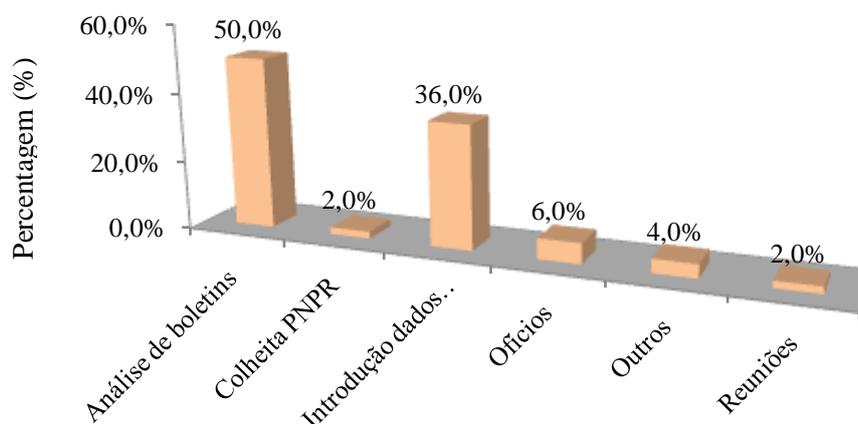
Distribuição da casuística no âmbito do PNCR (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

Gráfico 5 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCR (frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.3.1. Análise de boletins

Durante o período de estágio, foram analisados, no total, 870 boletins referentes ao PNCR (tabela 8), com uma frequência relativa de 50,0% (tabela 7 e gráfico 5). Destes, 96,2% foram conformes e 3,8% não-conformes (tabela 8). O motivo da não conformidade foi o mesmo: detecção de níveis elevados de mercúrio em fígados de caça selvagem (veados e javalis). Os boletins não-conformes foram remetidos à DGV, atendendo a que é esta autoridade tem competência nesta matéria. Foram remetidos em grupos, por ordem de chegada, anexados e respectivo ofício.

Tabela 8 – Número de boletins do PNCR analisados. Sua categorização em conformes e não conformes (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem); Desfecho: 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Análise:	Frequência absoluta	Conformes (F. absoluta/%)	Não Conformes (F. absoluta/%)	Desfecho
Boletins analíticos	870	837 96,2	33 3,8	3 Ofícios remetidos à DGV com os respectivos boletins anexados

2.4. Casuística no âmbito do PNCPI

A tabela 9 e o gráfico 6 apresentam a distribuição da casuística, por frequências absolutas e frequências relativas em percentagem, no âmbito das competências do GTP relativas à generalidade de planos/programas de controlo (PNCPI) (9,9% da casuística geral, tabela 3 e gráfico 1). Destas actividades destacaram-se as acções de formação aos técnicos responsáveis pelas colheitas de amostras e aos inspectores das brigadas das indústrias (31,8%).

Tabela 9 – Distribuição da casuística no âmbito do PNCPI (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Trabalhos efectuados	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Formações	7	31,8
Outros	3	13,6
Relatórios	6	27,3
Reuniões	6	27,3
Total	22	100

Distribuição da casuística no âmbito do PNCPI (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

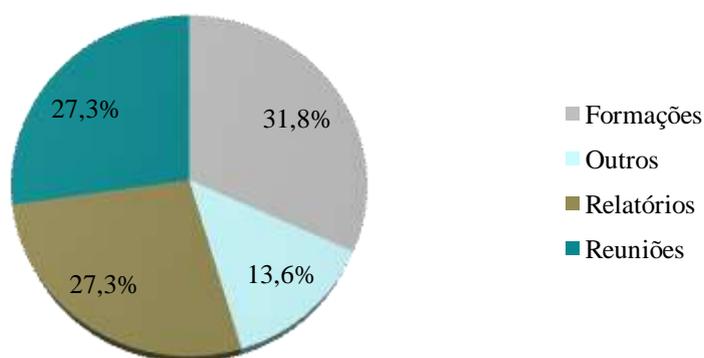


Gráfico 6 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito do PNCPI (frequências relativas em %): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.4.1. Formações

Seguidamente, na tabela 10, expõem-se as sete formações deste âmbito a que pude assistir sendo que em duas pude auxiliar na execução da formação e numa cheguei a apresentar em parte a formação aos inspectores das brigadas das indústrias da ASAE.

Tabela 10 – Formações PNCPI: sua distribuição por recursos humanos e por nível de participação, 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Formações	Recursos humanos	Nível de Participação
Colheita, entrega de amostras no LSA	Curso de formação	Assistência
Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos de Pesticidas - PNPRP	específica para as brigadas de colheita de amostras (Nível 2):	Assistência
Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos - PNPR	Planos de Vigilância –	Assistência
Rotulagem geral dos géneros alimentícios que se destinam ao consumidor final	Controlo oficial por amostragem.	Assistência
Teste Prático		Assistência e cooperação
Regime obrigatório de rotulagem de carne de bovino	Formação para as Brigadas das Indústrias	Assistência e cooperação na execução da apresentação;
Classificação Sanitária das Explorações		Execução da apresentação relativa à Brucelose e sua exposição aos inspectores.

2.5. Casuística no âmbito de outras competências do GTP

A tabela 11 e o gráfico 7 apresentam a distribuição da casuística do estágio no âmbito de outras das competências do GTP (36,8% do total da casuística geral, tabela 3 e gráfico 1).

Nesta área de trabalho, a actividade realizada com maior frequência foram as denominadas “respostas”. Estas, surgem do objectivo da ASAE de informação dos cidadãos quanto à legislação reguladora em vigor, nomeadamente, a relacionada com a legislação alimentar.

Tabela 11 – Distribuição da casuística no âmbito de outras competências do GTP (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Trabalhos efectuados	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Apresentações	2	2,4
Formações	5	6,1
Newsletters	2	2,4
Outros	3	3,7
Perícias	3	3,7
Respostas	60	73,2
Reuniões	2	2,4
Reuniões subcomissão	3	3,7
Seminários	2	2,4
Total	82	100

**Distribuição da casuística no âmbito de outras competências do GTP (%):
18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010**

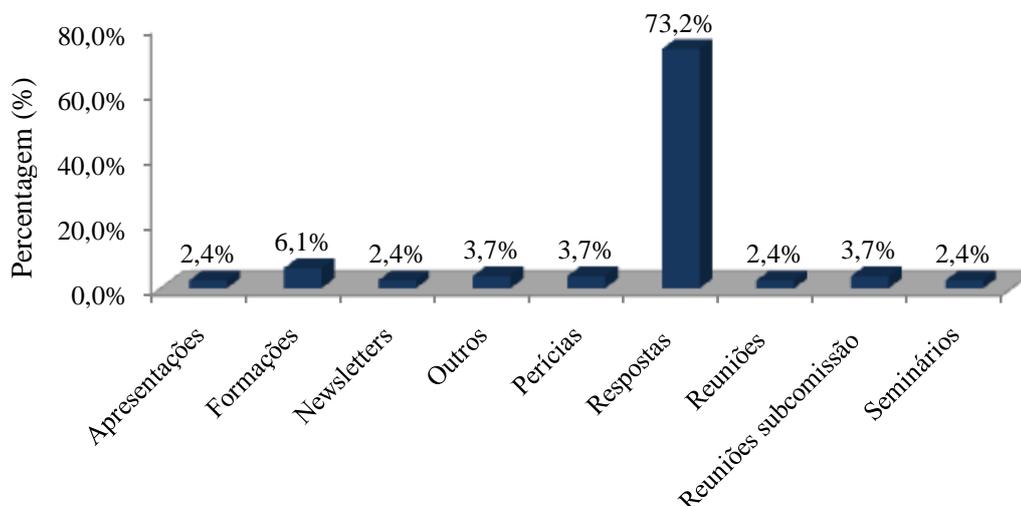


Gráfico 7 – Representação gráfica da distribuição da casuística no âmbito de outras competências do GTP (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

2.5.1. Respostas – Informação aos cidadãos

A tabela 12 apresenta a legislação consultada no âmbito da execução das respostas aos cidadãos (operadores económicos, consumidores, autoridades, entre outros). O diploma mais frequentemente usado foi o Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de Abril relativo à higiene dos géneros alimentícios (32,5%), seguido do Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de Dezembro, relativo às regras de rotulagem dos géneros alimentícios (16,2%). A frequência de utilização para a maioria dos diplomas foi de 1,1% (tabela 12 e gráfico 8).

Tabela 12 – Legislação consultada no âmbito da execução das respostas (frequências absolutas e frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

Legislação utilizada	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Regulamento (CE) nº 1774/2002 de 3 de Outubro	1	1,1
Regulamento (CE) Nº 852/2004 de 29 de Abril	30	32,5
Regulamento (CE) Nº 853/2004 de 29 de Abril	2	2,2
Regulamento (CE) Nº 882/2004 de 29 de Abril	1	1,1
Regulamento (CE) nº 1935/2004 de 27 de Outubro	1	1,1
Regulamento (CE) nº 2073/2005 de 15 de Novembro	1	1,1
Regulamento (CE) nº 1580/2007 de 21 de Dezembro	1	1,1
Regulamento (CE) nº 110/2008 de 15 de Janeiro	2	2,2
Decreto-Lei nº 3/74 de 8 de Janeiro	1	1,1
Decreto-Lei nº 363/98 de 19 de Novembro	1	1,1
Decreto-Lei nº 178/99 de 21 de Maio	1	1,1
Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de Dezembro	15	16,2
Decreto-Lei nº 41/2001 de 9 de Fevereiro	1	1,1
Decreto-Lei nº 110/2002 de 16 de Abril	5	5,3
Decreto-Lei nº 82/2003 de 23 de Abril	1	1,1
Decreto-Lei nº 105/2003 de 30 de Maio	1	1,1
Decreto-Lei nº 167/2004 de 7 de Junho	1	1,1
Decreto-Lei nº 142/2006 de 27 de Julho	1	1,1
Decreto-Lei nº 226-A/2007 de 31 de Maio	1	1,1
Decreto-Lei nº 234/2007 de 19 de Junho	1	1,1
Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto	2	2,2
Decreto-Lei nº 33/2008 de 25 de Fevereiro	1	1,1
Decreto-Lei nº 207/2008 de 23 de Outubro	2	2,2
Decreto-Lei nº 209/2008 de 29 de Outubro	4	4,3
Decreto-Lei nº 216/2008 de 11 de Novembro	1	1,1
Decreto Regulamentar nº 20/2008 de 27 de Novembro	4	4,3
Portaria nº 673/84 de 4 de Setembro	1	1,1
Portaria nº 283/85 de 13 de Maio	1	1,1
Portaria nº 1198/91 de 18 de Dezembro	1	1,1
Portaria nº 1631/2007 de 31 de Dezembro	1	1,1
Portaria nº 699/2008 de 29 de Julho	1	1,1
Despacho normativo nº 38/2008 de 13 de Agosto	2	2,2
Lei nº 37/2007 de 14 de Agosto	1	1,1
Lei nº 75/2009 de 12 de Agosto	1	1,1
Total	92	100

Legislação consultada no âmbito da realização das respostas aos cidadãos (%): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010

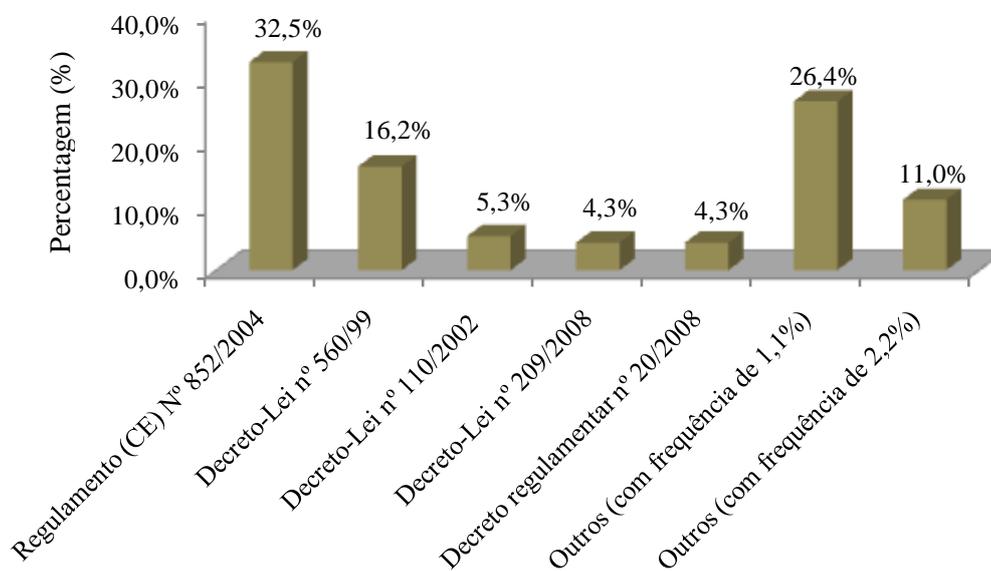


Gráfico 8 – Representação gráfica da legislação consultada no âmbito da realização das respostas aos cidadãos (frequências relativas em percentagem): 18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010.

3. Discussão

Após observação da casuística apresentada pode-se concluir que esta reflecte as competências do GTP (Portaria nº 821/2007) e do NEPAA (Despacho nº 9012/2010), na área alimentar da ASAE.

Assim, a maior representatividade obtida pelas actividades inerentes a alguns dos Planos/Programas Nacionais de Controlo por Amostragem (30,9% do PNCA, 22,4% do PNCR e 9,9% do PNCPI, tabela 3 e gráfico 1) evidencia a importância do papel do GTP a nível da sua coordenação técnica. No entanto as outras actividades fora desse âmbito e contempladas no Artigo 6º da Portaria 821/2007, são também relevantes tendo representado 36,8% da casuística total durante o período de estágio (18 de Fevereiro a 22 de Junho de 2010, tabela 3 e gráfico 1).

Contudo, ao longo de todo o trabalho, as frequências relativas apresentadas devem ser entendidas apenas como uma estimativa. Estas reflectem um determinado período de tempo e não todo o ano de actividades; representam a minha participação nas actividades a cargo da minha co-orientadora e orientadora, ambas veterinárias, omitindo assim o trabalho realizado pelos outros elementos do NEPAA, com outra formação e objectivos; reflectem o trabalho que realizei e não todo o trabalho efectuado no GTP, e os resultados apresentados são também resultado da minha organização pessoal.

Retomando ao final do parágrafo anterior e relativamente à análise de boletins analíticos do PNCA e PNCR, para o cálculo da frequência relativa total destas actividades optei por uma estimativa à frequência de análise de boletins (foi contabilizado o número de remessas analisadas) em vez de ser contabilizado o número de boletins analisados (149 boletins analíticos e respectivos rótulos dos géneros alimentícios no âmbito do PNCA e 870 boletins analíticos no âmbito do PNCR). O motivo principal por ter optado por esta abordagem foi uma tentativa de equilibrar as frequências relativas das várias actividades realizadas em termos do binómio número e tempo necessário para a sua execução. Embora em grande número, os boletins analíticos do PNCR, são mais simples de analisar e a sua análise é menos consumidora de tempo que algumas actividades que ocorreram com menor frequência, acabando assim por estar a sobrestimar esta actividade e a subestimar as outras.

Quanto à diferença nas frequências relativas entre os vários planos (o PNCA, o PNCR e os outros planos incluídos no PNCPI) de facto é possível que as actividades inerentes ao PNCA (30,9% da casuística global, tabela 3 gráfico 1) e ao PNCR (22,4% da casuística global, tabela 3 e gráfico 1) sejam as mais representativas no GTP. Este facto é justificado pelo objectivo inerente a cada um dos planos e que se traduz em diferentes planeamentos,

diferente quantitativo de amostras a colher (tabela 2), diferente execução e diferentes medidas a tomar face aos resultados obtidos (GTP, 2010_a).

Do mesmo modo, como a gestão do PNCA cabe plenamente à ASAE sendo o GTP que assegura o seu planeamento e execução (GTP, 2009; GTP, 2010_a), é plausível que este seja o plano mais representativo do GTP. Para os outros planos/programas de controlo tanto o seu planeamento e coordenação, como a execução e amostragem e a realização dos ensaios estão distribuídos por várias autoridades nacionais, tornando-os menos representativos no geral (GTP, 2010_a).

Mas a representatividade de cada plano dentro do GTP (e NEPA) varia consoante o objectivo predefinido para cada técnico e sua especialização profissional.

3.1. Plano Nacional de Colheita de Amostras

O Plano Nacional de Colheita de Amostras é um plano de controlo oficial que tem por objectivos verificar e assegurar que os géneros alimentícios colocados no mercado não põem em risco a segurança e saúde humana e defender os direitos e interesses dos consumidores (GTP, 2010_b).

Como já referido, este plano é da competência integral da ASAE, como entidade dotada de autonomia e que exerce funções de autoridade nacional de coordenação dos géneros alimentícios (Decreto-Lei nº 274/2007). Neste contexto, a sua estrutura base e cumprimento vão de encontro às normas estabelecidas pelo Regulamento (CE) nº 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril, que visa tornar uniforme em todos os Estados-Membros a aplicação de princípios gerais do controlo oficial dos géneros alimentícios e a definição das regras a que deve obedecer o seu exercício (GTP, 2009; GTP, 2010_b).

O fundamento base deste controlo oficial consiste na análise da conformidade dos géneros alimentícios face ao estipulado na legislação Comunitária e Nacional em termos de parâmetros microbiológicos, químicos, físicos e tecnológicos e em relação à sua rotulagem, apresentação e publicidade (GTP, 2010_a; GTP, 2010_b). A legislação base consiste no Regulamento (CE) nº 2073/2005 quanto aos critérios microbiológicos (e sua posterior alteração pelo Regulamento (CE) Nº 1441/2007), o Regulamento (CE) nº 1881/2006 quanto aos teores máximos de certos contaminantes e o Decreto-Lei nº 560/99 quanto às regras de rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios.

A abordagem global deste plano consiste na análise dos riscos (*“processo constituído por três componentes interligadas: avaliação, gestão e comunicação dos riscos”*, Regulamento (CE) nº 178/2002), a base dos procedimentos de segurança alimentar (CCE,

2000; Regulamento (CE) n° 178/2002; Regulamento (CE) n° 882/2004). Assim, o quantitativo de amostras e respectiva frequência de amostragem são definidos mediante um processo de avaliação dos riscos, “*um processo de base científica constituído por quatro etapas: identificação do perigo, caracterização do perigo, avaliação da exposição e caracterização do risco*” (Regulamento (CE) n° 178/2002; GTP, 2009).

Neste contexto, os géneros alimentícios são classificados no nível de risco estimado associado a cada um: de alto risco, de médio risco e de baixo risco. Os géneros alimentícios de risco 1 ou de alto risco, são muito susceptíveis de prejudicar a saúde humana representando por isso, 60% das amostras colhidas; os de risco 2 ou de médio risco, possuem alguma susceptibilidade de prejudicar a saúde humana, constituindo esta categoria, 30% das amostras colhidas e finalmente os géneros alimentícios de risco 3 ou baixo risco, não são susceptíveis de prejudicar a saúde humana mas, face à informação correcta e adequada ao consumidor e no cumprimento de práticas leais do comércio nacional e internacional, não cumprem os critérios legalmente estabelecidos, incidindo 10% das amostras colhidas (GTP, 2010_b).

O risco estimado associado a um género alimentício resulta da média aritmética de três indicadores, do grau de risco dos perigos identificados associados aos géneros alimentícios colocados no mercado (perigos de natureza biológica, química ou física), do grau de incumprimento do ano anterior (resultante do tratamento dos resultados obtidos no PNCA do ano anterior) e da capitação edível diária dos géneros alimentícios em Portugal (GTP, 2010_a; GTP, 2010_b).

Relativamente à pesquisa dos perigos associados aos géneros alimentícios colocados no mercado, esta incide apenas nos que se encontram identificados em diplomas legais e cuja não conformidade é passível de enquadramento legal, excluindo os já abrangidos por outros planos, como o PNCRP (referente à pesquisa de resíduos de pesticidas) e o PNCR (que incide na pesquisa de resíduos de produtos e medicamentos veterinários e substâncias proibidas) (GTP, 2010_b).

Assim, antes do início de cada ano é estabelecido o número mínimo de amostras a colher por grupo de géneros alimentícios e as determinações a efectuar (GTP, 2010_b). Contudo, com base numa análise de riscos ou, com o seu pressuposto, ao longo do ano podem ser incluídos outros géneros alimentícios susceptíveis de prejudicar a saúde humana: demonstrado em 2009 relativamente à pesquisa de *Campylobacter* (GTP, 2010_b) e durante o estágio em que foi discutida com o LSA a possibilidade de novas pesquisas (um dos motivos das reuniões realizadas, que representaram 4,4% da casuística global do PNCA, tabela 4 e gráfico 2).

É ao NEPAA que cabe o planeamento mensal e a coordenação deste plano, aos técnicos de colheita de amostras das Direcções Regionais de Lisboa e Vale do Tejo e Centro a sua execução semanal e ao LSA a realização dos ensaios laboratoriais. Os boletins analíticos são depois emitidos ao GTP, ficando a cargo do NEPAA a sua apreciação em termos de conformidade com os parâmetros legalmente estabelecidos e a proposta de medidas subsequentes à mesma (GTP, 2009; GTP, 2010_a).

Durante o estágio a análise de boletins analíticos e respectivos rótulos, actividade que incidiu sobre todos os grupos de géneros alimentícios, foi a mais representativa correspondendo a 31,9% do total da casuística no âmbito do PNCA (tabela 4 e gráfico 2).

Como seria de esperar, atendendo à casuística relativa à mesma actividade em anos anteriores (tabela 2), a generalidade dos boletins e dos rótulos analisados foi conforme e superior a 75% (gráfico 3). A percentagem de não conformidades apresentada na casuística (tabela 5 e gráfico 3): 3,4% para os boletins analíticos e 14,8% para a rotulagem dos géneros alimentícios, foi superior aos valores de taxa de não conformidade apresentados nos anos anteriores (tabela 2) contudo, não poderemos para já concluir que se verifica um maior incumprimento da legislação por parte dos operadores económicos pois estes valores são relativos a apenas quatro meses e não a todo um ano de actividades e porque a análise de rótulos dos géneros alimentícios está mais activa este ano, o que se traduz no aumento da percentagem de não conformidades.

Também em 2009 a maioria das não conformidades detectadas correspondeu a produtos cujas características não coincidiam com as inscritas nos rótulos, que apesar de poderem induzir em erro o consumidor, não apresentam perigo para a saúde pública (GTP, 2010_b).

As medidas tomadas face aos resultados obtidos são distintas. Se os boletins e os rótulos forem conformes, o procedimento de análise é dado como cumprido, os boletins são entregues a um dos técnicos do GTP que ficará encarregue das medidas subsequentes (como arquivar os boletins e notificar o operador da conformidade, ao abrigo do Regulamento (CE) nº 882/2004) e os rótulos são destruídos.

No caso de uma não conformidade é necessário proceder à elaboração do respectivo parecer técnico (14,5% da casuística global do PNCA, tabela 4 e gráfico 2), relatório onde é prescrito um enquadramento do produto, com a análise realizada, resultados obtidos e legislação específica (GTP, 2010_a). Nos casos em que a amostra tiver sido colhida em triplicado é necessário também notificar o operador económico responsável acerca da possibilidade de interpor recurso (4,4% da casuística global do PNCA, tabela 4 e gráfico 2).

Como todos os processos realizados são acompanhados de uma nota de remessa com atribuição de um número identificativo inerente a cada um, estas (10,2%, tabela 4 e gráfico 2) foram também subsequentes a não conformidades, nomeadamente da realização de pareceres técnicos.

Os ofícios emitidos no âmbito deste plano (8,7%, tabela 4 e gráfico 2) foram todos dirigidos ao Gabinete de Planeamento e Políticas (GPP) e vieram anteceder a realização de pareceres em situações pontuais de dúvidas na interpretação da legislação em causa.

Neste plano ficou oficialmente incluído o trabalho de investigação levado a cabo, relativo ao estabelecimento de critérios de higiene em carcaças de lagomorfos e que tive oportunidade de coordenar, sendo por isso contabilizados os respectivos 188 boletins analíticos (13,0%, tabela 4 e gráfico 2) e as idas aos matadouros em que foi possível o meu acompanhamento e direcção (7,2%, tabela 4 e gráfico 2).

Tal como objectivado no Regulamento (CE) nº 882/2004, o controlo oficial deve ser realizado por pessoal devidamente qualificado, explicando-se assim a elevada frequência das formações e apresentações ao longo de toda a casuística, das quais a apresentação realizada específica para este plano (1,4% da casuística, tabela 4 e gráfico 2) é elucidativa.

Também sob orientação do mesmo diploma, os controlos oficiais devem ser efectuados em conformidade com procedimentos documentados, a divulgar por todo o pessoal envolvido. Neste contexto, são elaborados pelo GTP diversos documentos, os “Normativos de Colheita de Amostras”, sendo que tive a oportunidade de cooperar na realização do Normativo PNCA de 2010 (1,4% da casuística, tabela 4 e gráfico 2).

Relativamente à análise de boletins e rótulos (tabela 5), os boletins analíticos classificados como não-conformes não cumpriam os requisitos de segurança dos géneros alimentícios estabelecidos pelo Regulamento (CE) nº 2073/2005 e sua alteração pelo Regulamento (CE) nº 1441/2007, quanto à pesquisa de *Salmonella* e de contagem de *Listeria monocytogenes*.

O Regulamento (CE) nº 2073/2005, parte integral da nova legislação alimentar, estipula quais os critérios microbiológicos e as regras de execução a cumprir pelos operadores das empresas do sector alimentar, quando da aplicação das medidas de higiene gerais ao abrigo do Regulamento (CE) nº 852/2004. Os critérios estabelecidos foram fundamentados numa análise de riscos com base em duas árvores de decisão, uma para os microrganismos patogénicos e outra para indicadores de higiene (Comissão Europeia [CE], 1999), resultando assim na aplicação de critérios de segurança e critérios de higiene para os géneros alimentícios.

Quanto aos critérios de segurança dos géneros alimentícios, *Salmonella* spp. é o microrganismo patogénico com maior representatividade para a globalidade de categorias de alimentos incluídas, variando os limites de amostragem entre a ausência deste microrganismo em 10g ou 25g, consoante se trate respectivamente, de um género alimentício com menor ou maior risco de contaminação (Regulamento (CE) nº 2073/2005).

Listeria monocytogenes constitui um risco imediato para a saúde do consumidor em alimentos que estão prontos a ser consumidos, sem necessitarem de nenhum tipo de confecção que elimine ou diminua essa contaminação para um nível aceitável (Regulamento (CE) nº 2073/2005).

Quanto à análise da rotulagem dos géneros alimentícios a sua não conformidade resultou na totalidade dos pareceres técnicos realizados (tabela 4 e 5). Embora os motivos de não conformidade tenham sido variados, o enquadramento legal dos pareceres foi na maioria das vezes fundamentado com o Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de Dezembro (excepto nos casos de existência de legislação específica como o Decreto-Lei nº 1/2007 e o Decreto-Lei nº 167/2004).

Embora já várias vezes alterado, este diploma constitui a base da legislação relativa à rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios. Veio consolidar, simplificar e harmonizar a legislação comunitária já existente sobre esta matéria e reforçar a informação ao consumidor nomeadamente quanto às regras relativas à natureza e às características do produto. Aplica-se aos géneros alimentícios, sejam ou não pré-embalados, a partir do momento em que se encontram no estado em que vão ser destinados a ser fornecidos directamente ao consumidor final (Decreto-Lei nº 560/99).

Neste contexto, de acordo com o diploma citado, as indicações a constar na rotulagem não podem ser susceptíveis de criar uma impressão errada no consumidor, nomeadamente quanto às características do género alimentício, sua natureza, identidade, qualidades, composição, quantidade, durabilidade, origem, modo de obtenção ou de fabrico. Dos rótulos classificados como não-conformes e sujeitos a realização de parecer técnico, 30% corresponderam a incorrecção na denominação de venda em preparados de carne picada (tabela 6 e gráfico 4). Os géneros alimentícios em questão não cumpriam o Regulamento (CE) nº 853/2004, no que concerne à definição de carne picada (“*carne desossada que foi picada e que contém menos de 1% de sal*”) e preparado de carne (“*carne fresca, incluindo carne que tenha sido reduzida a fragmentos, a que foram adicionados outros géneros alimentícios, condimentos ou aditivos (...)*”), sendo a denominação de venda e a lista de ingredientes não compatíveis e não estando de acordo com o Decreto-lei nº 560/99.

Concluindo, torna-se fundamental que a informação a indicar na rotulagem permita por um lado aos consumidores escolhas informadas, seguras, saudáveis e sustentáveis, e por outro, o bom funcionamento do mercado interno.

3.2. Plano Nacional de Controlo de Resíduos

O Plano Nacional de Controlo de Resíduos, abreviadamente designado de PNCR, consiste num sistema de vigilância que tem como fundamentos base a análise de riscos de resíduos nos géneros alimentícios de origem animal, procurando clarificar as razões da sua presença nos alimentos e responsabilizando todos os intervenientes na cadeia de produção de animais e de produtos alimentares de origem animal (Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária [DSHPV], 2009).

Partindo do real pressuposto que a presença de resíduos nos géneros alimentícios de origem animal pode ter diversas origens e distinta natureza, a legislação que este plano faz cumprir é abrangente.

Assim, dá cumprimento ao estabelecido no Decreto-Lei nº 148/99, de 4 de Maio que “*estabelece as medidas de controlo relativas às substâncias e aos grupos de resíduos referidos no anexo I*”; ao Decreto-Lei nº 185/2005 de 4 de Novembro que “*transpõe para a ordem jurídica nacional a Directiva nº 96/22/CE, do Conselho de 29 de Abril, relativa à proibição de utilização de certas substâncias com efeitos hormonais ou tireostáticos e de substâncias Beta-agonistas em produção animal (...)*” e sua posterior alteração pelo Decreto-Lei nº 148/2008, de 29 de Julho; pretende também verificar a conformidade dos resíduos de medicamentos veterinários com os limites máximos fixados no Regulamento (CEE) nº 2377/90 de 26 de Junho (actualmente no Regulamento (UE) Nº 37/2010 da Comissão de 22 de Dezembro de 2009); controlar a concentração dos contaminantes ambientais de acordo com o Regulamento (CE) nº 1881/2006 de Comissão de 19 de Dezembro e verificar a observância do Regulamento (CE) nº 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Fevereiro, quanto aos níveis máximos fixados de resíduos de pesticidas (DSHPV, 2009).

A pesquisa de resíduos incide em dois grandes grupos, o grupo das substâncias com efeito anabolizante e substâncias não autorizadas (os anabolizantes, incluindo os esteróides gestagénicos, os tireostáticos, os β -agonistas, os nitrofuranos, o cloranfenicol e os nitroimidazóis) e o grupo dos medicamentos veterinários e contaminantes ambientais (inibidores microbianos, as quinoxalinas, as avermectinas, o levamisol, os benzimidazóis, os anticocídios, os tranquilizantes, os anti-inflamatórios não esteróides, os corticosteróides, os organoclorados e as dioxinas, os organofosforados, metais pesados e as micotoxinas)

(DSHPV, 2009). Abrange as espécies pecuárias (os bovinos, os ovinos, os caprinos e os suínos), os equinos, as aves (frangos, galinhas, perus e patos), os coelhos, a caça de criação (codornizes), a caça selvagem (veados e javalis) e também os ovos, o leite, o mel e os produtos de aquacultura.

O tipo de matriz (fígado, rim, músculo, gordura, plasma, tiróide, ovos, leite, mel) e a quantidade a colher têm em conta os órgãos-alvo para a pesquisa e os métodos analíticos utilizados. Os níveis e as frequências de amostragem têm por base o número de animais abatidos e a produção do ano anterior, tendo a colheita de amostras uma distribuição a intervalos variáveis ao longo de todo o ano (Decreto-Lei nº 148/99; DSHPV, 2009).

Este plano resulta de uma parceria entre a DGV, responsável pelo seu planeamento e coordenação, a ASAE a quem compete a sua execução e análise dos boletins (alínea *i*) do número 2 do Artigo 3º do Decreto-Lei nº 274/2007) e o LNIV (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária) e o IPIMAR (Instituto de Investigação das Pescas e do Mar), responsáveis pela realização dos ensaios laboratoriais.

Anualmente a DGV informa a ASAE acerca do quantitativo de amostras estabelecido e sua distribuição geográfica, competindo depois ao GTP (NEPAA) o planeamento mensal dos controlos a realizar (GTP, 2010_a).

Assim, e de acordo com a casuística apresentada na tabela 7 e gráfico 5, das actividades mencionadas a cargo do GTP, foi possível durante o estágio proceder à análise de boletins (que representou 50% da casuística do plano); ficou sob a minha responsabilidade a actualização semanal da folha de dados do *Microsoft Office Excel* relativa às colheitas (36,0%); pude realizar os ofícios a remeter à DGV (6,0%); cooperar com os técnicos de colheita de amostras numa colheita específica para o plano num matadouro de coelhos (2,0%) e entre outras actividades, assistir a uma reunião entre três entidades envolvidas no plano – a DGV, a ASAE e o LNIV (2,0%).

O PNCR é o plano que inclui o maior quantitativo de amostras por ano (o que justifica os 870 boletins analisados) e a menor taxa de não conformidade (tabela 2), diferindo neste último parâmetro dos resultados apresentados na tabela 8. Contudo, o valor de não conformidade de 3,8% resulta da classificação em não-conformes de boletins analíticos relativos à pesquisa de mercúrio, contaminante ambiental cuja pesquisa em caça selvagem não está contemplada no Regulamento (CE) nº 1881/2006 mas cuja monitorização é estabelecida pela DGV apenas com o intuito de estudo. Os níveis elevados apresentados foram o motivo da elaboração dos ofícios e seu envio à DGV com os respectivos boletins anexados, para posterior inquérito epidemiológico.

Em caso de não conformidade com a legislação enunciada, é dado conhecimento imediato à DGV que iniciará um processo de contra-ordenação (GTP, 2010_a).

3.3. Plano Nacional de Controlo Plurianual Integrado

Das actividades a cargo do GTP relativas à globalidade dos planos do controlo oficial por amostragem (tabela 9 e gráfico 6) a maior representatividade foi assegurada pelas acções de formação (31,8%), dirigidas aos técnicos das brigadas de colheita de amostras de todas as direcções regionais e aos inspectores das brigadas especializadas em indústrias do sector alimentar.

As formações dirigidas às brigadas de colheita de amostras estavam incluídas no curso específico “Controlo Oficial por Amostragem – Atribuições do GTP”, cujo conteúdo programático objectivava dar a conhecer aos formandos, um conjunto de informação fundamental para desenvolverem o trabalho prático no âmbito do controlo oficial (GTP, 2010_a).

Já as acções de formação para os inspectores das brigadas das indústrias resultaram da realização periódica de diagnósticos de necessidades, visando a harmonização de competências, de critérios e de procedimentos e contribuindo para a eficácia do trabalho desenvolvido (GTP, 2010_a). Nestas, pude cooperar quer na realização das apresentações, quer na exposição oral de um trabalho. A formação que pude apresentar foi relativa à brucelose dos bovinos e pequenos ruminantes, inserida na formação sobre o estatuto sanitário das explorações, na qual se fez também referência à tuberculose e à leucose enzoótica bovina.

As acções de formação vêm assim cumprir os objectivos assumidos internamente no GTP e em consonância com o Regulamento (CE) nº 882/2004, de garantir a promoção continuada de formação destinada ao pessoal encarregue dos controlos oficiais (GTP, 2010_a).

Tal como citado pela Comissão Europeia [CE], (2006), “*melhor formação para uma maior segurança dos alimentos*”, esta actividade surge como uma garantia da correcta aplicação da legislação em vigor e logo, da manutenção do nível de protecção previsto na legislação alimentar.

Ao pessoal que executa os controlos oficiais é exigido um elevado nível de competência, especialização e uma abordagem multidisciplinar para que seja capaz de detectar o incumprimento da legislação alimentar e práticas fraudulentas. Assim, a formação deve assentar em prioridades, mas ser abrangente, primar pela excelência (com recurso a formadores altamente qualificados) e transparência, proporcionando aos formandos um conhecimento amplo dos diferentes tipos de riscos susceptíveis de sobrevir ao longo da cadeia

alimentar, das diversas origens que podem ter os alimentos e os seus ingredientes, dos métodos específicos de produção, tratamento, conservação, produção, tratamento, conservação e distribuição e, das regras de rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios (CE, 2006).

Para além das formações foram também realizadas reuniões de trabalho periódicas (com a frequência de 27,3%), entre os técnicos das brigadas de colheita de amostras, a directora de serviços, uma técnica do NEPAA especializada no controlo oficial e o chefe de equipa do já extinto NIT. Estas reuniões decorreram até à transferência dos técnicos de colheita de amostras para as Direcções Regionais de Lisboa e Vale do Tejo e Centro extinção do NIT.

Nas reuniões em causa, além de serem debatidos os vários problemas relativos à execução dos controlos oficiais, concluía-se acerca da sua possível solução. Era também transmitida informação adicional pertinente e lembrados procedimentos base a ter em conta tais como: os procedimentos indispensáveis à eficácia do trabalho executado e de atitude pessoal para abordagem ao operador. No fundo, permitiam um esclarecimento de ambas as partes (os superiores e os técnicos) para uma melhor compreensão e transparência necessários para atingir os objectivos.

3.4. Outras actividades da competência do gabinete técnico e pericial

O GTP, como unidade orgânica da ASAE, não visa somente o apoio desta entidade em termos do controlo oficial dos géneros alimentícios, tendo outras competências inerentes (tabela 11 e gráfico 7).

Como já ficou demonstrado, a formação está presente integralmente nas atribuições da ASAE e do GTP, representando durante o período de estágio 6,1% do total da casuística nesta área. As formações a que pude assistir estavam integradas no curso de acesso à carreira inspectiva, representando a quase totalidade de formações ministradas pelo GTP com esta finalidade. Para este curso pude cooperar na realização da apresentação “*Medicamentos veterinários e produtos de uso veterinário*”, incluída nos 2,4% da casuística relativa às apresentações.

Para além da formação, compete também a esta unidade a realização de perícias (alínea *a*) do Artigo 6º da Portaria nº 821/2007). Estas ocorrem de forma esporádica a pedido dos inspectores, ou no caso de denúncias ou de suspeitas. Durante o estágio decorreram com a frequência relativa de 3,7%, valor que inclui a globalidade de perícias executadas pela minha co-orientadora, técnica superior do GTP, durante esse período.

As perícias realizadas foram em resposta a denúncias, seguindo-se a fiscalização de uma instalação de importação e exportação de produtos da pesca e de um talho. Ambas resultaram em processos de contra ordenação pela presença de géneros alimentícios classificados como anormais com falta de requisitos e anormais avariados, de acordo com o Decreto-Lei nº 28/84.

Ao GTP compete também participar em reuniões onde se discutam matérias relacionadas com a segurança alimentar (alínea *e*) do Artigo 6º da Portaria 821/2007), incidindo aqui a sua participação nas reuniões da subcomissão (3,7%) e em seminários (2,4%). Num dos seminários, relativo à gestão de subprodutos, cooperei na realização da apresentação “*Subprodutos animais: Regulamento (CE) nº 1069/2009*”.

As reuniões da subcomissão em que participámos consistiram na aprovação, revisão e alteração de normas portuguesas da área alimentar.

As outras reuniões (2,4%), de carácter interno, tiveram como finalidade auditorias ou discussão de assuntos de trabalho com membros do GTP.

Todos os meses as várias unidades da ASAE têm uma participação mais ou menos activa na realização da *Newsletter*, revista em formato digital disponível a todos os cidadãos, onde são debatidas questões relevantes no âmbito da segurança alimentar e económica e que dão a conhecer as actividades mais relevantes desenvolvidas por esta entidade no âmbito da avaliação dos riscos da cadeia alimentar, da fiscalização e da formação. Durante os quatro meses de estágio participei em duas *Newsletters*: número 25 do mês de Junho e número 26 do mês de Julho, com os temas “*Análise da alteração ao Regulamento (CE) nº 2073/2005, quanto aos critérios microbiológicos para carne de aves, aplicado desde 1 de Janeiro de 2010*” e “*Rotulagem dos géneros alimentícios*”, respectivamente.

Da minha casuística pessoal as respostas aos cidadãos (operadores económicos, consumidores, autoridades, entre outros) foram a actividade com maior frequência relativa nesta área de trabalho (73,2%). Estas surgem do papel do GTP em prestar assessoria técnica especializada à ASAE (Portaria nº 821/2007), entidade nacional responsável pela avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, a quem compete assegurar a comunicação pública e transparente dos riscos e promover a divulgação da informação sobre segurança alimentar junto dos consumidores (Decreto-Lei nº 274/2007). Esta metodologia permite por um lado aumentar a confiança dos consumidores e por outro a protecção da saúde pública (Regulamento (CE) nº 178/2002).

Estas respostas são geralmente efectuadas por técnicos especializados em legislação alimentar, sendo ainda no final revistas e aprovadas pela directora de serviços, procurando-se assim o maior e melhor esclarecimento possível.

Tal como demonstrado na casuística (tabela 12), na sua globalidade, é necessário consultar um grande número de diplomas (no caso do estágio foram 34), não apenas a legislação comunitária como também a nacional.

O diploma com maior frequência relativa (32,5%) foi o Regulamento (CE) nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, que estabelece as regras gerais destinadas aos operadores das empresas do sector alimentar, principais responsáveis pela segurança alimentar, no que se refere à higiene dos géneros alimentícios. Daí que a maioria das questões tenham sido colocadas por estes operadores económicos, visando geralmente a criação de uma pequena empresa do ramo.

O segundo diploma mais frequentemente usado foi o Decreto-Lei nº 560/99 (16,2%), relativo às regras de rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios, do qual já foi efectuada análise e cujos principais interlocutores eram os mesmos que constam do parágrafo anterior.

4. Conclusão

Assim, embora a casuística apresentada não seja totalmente elucidativa das actividades levadas a cabo quer pela ASAE em geral, quer pelo GTP em particular, evidencia a variedade de acções implementadas no âmbito da segurança alimentar por esta entidade.

Começou-se por realçar a importância da execução dos Programas Oficiais de Controlo por Amostragem, que são a prova manifesta do objectivo da salvaguarda da saúde pública e dos direitos dos consumidores.

Também estes direitos estão salvaguardados na apreciação dos boletins analíticos e nos rótulos dos géneros alimentícios, actividades com maior relevo nas acções do GTP.

A execução correcta, equitativa e justa da legislação em vigor, quer pelas acções de fiscalização, quer pelas perícias que realiza, mostra a procura incessante pela aplicação da lei.

A formação, já descrita como uma das actividades de maior relevo no GTP, caracteriza esta unidade e todo o organismo em si, como uma entidade aberta à mudança, à novidade e à aquisição de novos conhecimentos.

Finalmente, esta partilha de conhecimento é também encaminhada para os consumidores, respondendo com exactidão às suas dúvidas, aumentando a confiança que estes nela depositam.

Deste modo a ASAE surge assim como uma entidade viva, actualizada e interventiva, com um papel fulcral na segurança alimentar e saúde pública.

Parte II – Dissertação Científica

Resumo

A carne de coelho constitui um item da dieta mediterrânica e o seu consumo em Portugal é significativo.

Porém, não foram estipulados critérios de higiene pelo Regulamento (CE) N° 2073/2005 a cumprir pelos estabelecimentos de abate de lagomorfos e também existem poucos estudos acerca da qualidade microbiológica de carcaças e carne de coelho, talvez porque não haja tradição de consumo deste tipo de carne na grande maioria dos Estados Membros.

Neste contexto, com este trabalho pretende-se estimar a prevalência de *Salmonella* em carcaças de lagomorfos e adicionalmente aferir acerca da sua contaminação durante o processo de abate quanto a mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*.

Os resultados obtidos foram relevantes.

Na amostra em estudo (n=188) não foi detectada *Salmonella*. Mas, os resultados obtidos quanto aos parâmetros mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*, a boa correlação entre estes ($r=0,724$) e a existência de diferenças significativas de contaminação microbiológica entre matadouros, evidenciam a possível contaminação cruzada das carcaças de coelho durante o processo de abate.

Assim, estes parâmetros deveriam ser incluídos nas análises rotineiras efectuadas pelos estabelecimentos de abate de lagomorfos, constituindo este trabalho o primeiro contributo para uma futura análise de riscos, com o objectivo de estabelecer critérios de higiene a cumprir pelos estabelecimentos de abate de lagomorfos, a nível nacional.

Palavras-chave – carne de coelho (*Oryctolagus cuniculus*), Regulamento (CE) N° 2073/2005, critérios de higiene, *Salmonella*, mesofilos totais, *Enterobacteriaceae*.

Abstract

Rabbit meat is a common item of the Mediterranean diet and its consumption in Portugal is significant.

However, Regulation (EC) No. 2073/2005 does not stipulate hygiene criteria to be performed by rabbit slaughterhouses and, in addition, there are few studies about the microbiological quality of rabbit meat and carcasses, possibly because the consumption of this meat is not a tradition in the majority of European Communities.

In this context, this work aims to calculate the prevalence of *Salmonella* in lagomorphs carcasses and, additionally, to evaluate their contamination during the slaughter process by the number of aerobic colonies and *Enterobacteriaceae*.

The obtained results were relevant.

All study samples (n=188) tested negative for *Salmonella*. However, the values obtained in the aerobic colonies and *Enterobacteriaceae* count, the good correlation between them ($r=0,724$) and the significant differences in microbiological contamination between slaughterhouses, demonstrate that the cross-contamination of the rabbit carcasses during the slaughter process is possible.

Thus, these indicators should be considered in routine analysis carried out by rabbit slaughterhouses, and this work constitutes the first step for a risk analysis, with the objective of establishing hygiene criteria to be met by rabbit slaughterhouses, at a national level.

Key-words: rabbit meat (*Oryctolagus cuniculus*), Regulation (EC) n° 2073/2005, hygiene criteria, *Salmonella*, aerobic colony, *Enterobacteriaceae*.

5. Revisão Bibliográfica

5.1. Segurança alimentar e doenças de origem alimentar

Hoje em dia, a segurança alimentar é reconhecida mundialmente como um domínio essencial da saúde pública (Schlundt, 2002). Nas últimas décadas, a segurança alimentar motivou algumas mudanças na política mundial, sobretudo da União Europeia. De facto, casos como a BSE nos bovinos e os nitrofuranos nas aves, vieram alertar as autoridades competentes para a necessidade de estabelecer legislação de forma a prevenir as graves e mediáticas questões alimentares, entretanto ocorridas, e sensibilizar a opinião pública para a necessidade de uma melhor segurança alimentar (Kleter & Marvin, 2009).

Neste âmbito foram implementadas medidas importantes com vista a produzir alimentos seguros e prevenir a ocorrência de doenças de origem alimentar (Schlundt, 2002). Assim, novas estratégias de prevenção, com base no princípio orientador “do prado ao prato”, foram adoptadas com um triplo objectivo: incentivar todos os sectores da cadeia alimentar para as boas práticas agrícolas, para as boas práticas de higiene e, para incorporar abordagens estruturadas na segurança dos alimentos, tais como, o sistema de análise de riscos e pontos de controlo críticos (HACCP) (Newell *et al.*, 2010). Deste modo, a responsabilidade pela segurança alimentar é distribuída por toda a cadeia alimentar e não só pelo consumidor final (Tauxe, 2002).

Reconhece-se, actualmente, a necessidade de investigação científica, do recurso a novos instrumentos de vigilância e de dados epidemiológicos para orientar as acções que protegem a saúde pública (Tauxe, 2002; Kleter & Marvin, 2009; Newell *et al.*, 2010).

Contudo, apesar de todos os progressos que se têm verificado, a garantia da segurança alimentar continua a ser um importante desafio para todos (Tauxe, 2002).

Existe um grande número de agentes microbianos, químicos e físicos responsáveis por causar doenças de origem alimentar. Contudo, as doenças de etiologia microbiana (bactérias, parasitas, vírus e príões) são as que maiores preocupações representam para a saúde pública e por consequência, a nível socioeconómico (Mataragas *et al.*, 2008; Newell *et al.*, 2010).

De facto, os géneros alimentícios constituem um excelente veículo para muitos agentes patogénicos. De uma maneira geral, estes agentes sobrevivem a períodos, mais ou menos longos, de intervenção no ambiente externo. E, após a sua ingestão, evitando as defesas naturais do intestino humano, multiplicam-se rapidamente antes de serem eliminados novamente para o ambiente exterior (Newell *et al.*, 2010).

O verdadeiro impacto das doenças de origem alimentar é difícil de quantificar quer a nível económico e social quer a nível político e cultural (Schlundt, 2002). Não obstante,

anualmente contabilizam-se mundialmente milhões de mortes por doenças diarreicas de origem alimentar (Newell *et al.*, 2010). Na Europa estima-se que em cada ano 130 milhões de europeus sejam afectados por episódios de doenças de origem alimentar, variando de uma afecção gastrointestinal suave a uma severa gastroenterite (CE, 1999).

Antes da década de 60, os principais agentes patogénicos identificados como causadores de doença de origem alimentar foram: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus*. Posteriormente, foram adicionados: *Clostridium perfringens* e *B. cereus* e, em 1970, rotavírus e norovirus. Nas décadas de 80 e 90, passam a incluir-se um grande número de agentes dos quais: *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria monocytogenes*, novas estirpes de *Escherichia coli* como a O157:H7, *Cryptosporidium* e *Cyclospora* (Newell *et al.*, 2010).

Actualmente, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. constituem os agentes patogénicos mais frequentemente envolvidos nos surtos de origem alimentar (Jorgensen *et al.*, 2002; Mataragas *et al.*, 2008). De facto, dos surtos reportados em 2005 (um total de 5355), a grande maioria foi causada por: *Salmonella* (64%), *Campylobacter* (9%), toxinas bacterianas (5,9%, entre as quais de *Staphylococcus* spp. (3,0%), de *Clostridium* spp. (1,5%) e de *Bacillus* spp. (1,4%)) e origem vírica (5,8%). As doenças com maior incidência foram também a campylobacteriose e a salmonelose com, respectivamente, 197.363 e 176.395 casos reportados (Mataragas *et al.*, 2008).

Porém, a importância de uma doença a nível da saúde pública depende não só da sua incidência na população mas também da sua severidade e taxa de mortalidade. Neste sentido, há que destacar a importância de *Listeria monocytogenes*, que tem sido relacionada com uma elevada taxa de letalidade (Mataragas *et al.*, 2008).

A tabela 13 apresenta o número de casos declarados (em número absoluto e relativo em percentagem) e a taxa de hospitalização de vários agentes patogénicos causadores de doença alimentar no ano de 2005. O maior número de casos declarados foi por *Salmonella* spp., em seguida pelos vírus e *Campylobacter*. No entanto, os valores da taxa de hospitalização por estes agentes não são os mais elevados, reflectindo a importância de outros agentes, principalmente de *Yersinia enterocolitica*, com a percentagem de hospitalização mais elevada, 31,8% (Mataragas *et al.*, 2008).

Tabela 13 – Número de casos declarados e taxa de hospitalização de vários agentes patogénicos causadores de doença de origem alimentar em 2005.

Agente Patogénico	2005			
	Nº de casos declarados ^a	Percentagem (%) ^a	Taxa de Hospitalização ^b	Percentagem (%) ^b
<i>Listeria monocytogenes</i>	26	0,05	3	11,5
<i>Escherichia coli</i> patogénica	796	1,7	125	15,7
<i>Salmonella</i> spp.	25.760	53,9	3554	13,8
<i>Campylobacter</i> spp.	2478	5,2	150	6,1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	22	0,05	7	31,8
<i>Clostridium perfringens</i>	1323	2,8	8	0,6
<i>Bacillus cereus</i>	1177	2,5	28	2,4
Enterotoxina de <i>Staphylococcus aureus</i>	1410	3,0	314	22,3
Vírus	6812	14,3	255	3,7

Legenda: (a) Número de pessoas afectadas com base nos casos declarados; % = (Nº de pessoas afectadas * 100) / número total de pessoas afectadas por agentes com origem alimentar: total de pessoas afectadas em 2005, 47.783; (b) Número de pessoas hospitalizadas com base nos casos declarados; % = (Nº de pessoas hospitalizadas * 100) / número total de pessoas afectadas pelo agente específico (b). Adaptado de Mataragas *et al.* (2008).

Contudo, desconhecem-se todos os microrganismos causadores de doença alimentar. A única certeza é que a lista de agentes e de doenças infecciosas de origem alimentar continua a crescer tendo em conta o reconhecimento de novos microrganismos, as alterações no processamento dos alimentos e as mudanças nos hábitos alimentares. É provável que novos agentes sejam descobertos no século XXI (Newell *et al.*, 2010), e que possam ter maior virulência, baixa dose infecciosa e maior resistência aos antibióticos (Sofos, 2008). Provavelmente, a maior parte destes novos agentes será de origem zoonótica, dado que têm maior probabilidade de causar novas doenças emergentes que os agentes não zoonóticos (Newell *et al.*, 2010).

Há vários factores que podem contribuir para a evolução das doenças de origem alimentar. Entre esses factores destacam-se os seguintes:

- mudanças na produção animal, nas práticas de processamento e distribuição dos géneros alimentícios (Sofos, 2008);
- aumento do comércio internacional de alimentos (Sofos, 2008);
- mercado global cada vez mais diversificado, onde os alimentos são muitas vezes provenientes de países sem procedimentos adequados de segurança microbiológica (Newell *et al.*, 2010);
- rápido crescimento populacional e uma evolução demográfica para o seu envelhecimento, sobretudo nos países desenvolvidos (Newell *et al.*, 2010);

- mudanças de hábitos alimentares, tais como o consumo de matérias-primas ou alimentos com pouco processamento térmico (Newell *et al.*, 2010);
- maior proporção de indivíduos imunologicamente comprometidos (maior número de consumidores em situação de risco para infecção) (Sofos, 2008; Newell *et al.*, 2010);
- mudanças nas práticas agrícolas (Newell *et al.*, 2010);
- alterações climáticas (novos vectores em regiões temperadas ou alterações da temperatura associada aos níveis de contaminação) (Newell *et al.*, 2010).

A segurança microbiológica dos alimentos é uma condição dinâmica, fortemente influenciada por múltiplos factores ao longo da cadeia alimentar.

Para identificar os agentes patogénicos emergentes, de forma a compreender as suas vias de transmissão, de modo a desenvolver estratégias de controlo eficazes e garantir a segurança alimentar, é necessário um diálogo constante e transparente entre todos os elementos de saúde pública, os vários especialistas em segurança alimentar, entre os quais os médicos veterinários (Newell *et al.*, 2010).

5.2. A carne como veículo de microrganismos

Entende-se por carne as partes comestíveis e sangue dos ungulados domésticos (bovinos, suínos, ovinos, caprinos domésticos e solípedes domésticos), das aves de capoeira (aves de criação), dos lagomorfos (coelhos, lebres e roedores), da caça selvagem, da caça de criação, da caça miúda selvagem e da caça grossa selvagem (Regulamento (CE) nº 853/2004).

O sector das carnes é um dos mais importantes da agricultura da União Europeia. Os quatro principais tipos de carne – bovino, suíno, aves de capoeira e caprino – representam no seu todo, cerca de um quarto do valor total da produção agrícola da União Europeia e mais de 16% da produção de carne a nível mundial (Direcção Geral da Agricultura [DGA], 2004).

A carne representa uma parte importante do regime alimentar europeu, o que se reflecte na preocupação das políticas da União Europeia em incentivar a sua produção de forma segura e nutritiva (Mataragas *et al.*, 2008). De facto, não só a nível da Europa como também a nível mundial, a segurança da carne tem estado na vanguarda das preocupações políticas e sociais nos últimos anos. Essas preocupações incluem vários desafios, tais como: o controlo de microrganismos patogénicos na carne e a possibilidade de contaminação cruzada de outros alimentos; a presença de certos aditivos alimentares; a presença de resíduos de

produtos químicos e de medicamentos veterinários; a problemática da identificação animal e da rastreabilidade da carne (Sofos, 2008).

Mas tal como acontece na globalidade dos géneros alimentícios, o principal desafio para a saúde pública é a possível presença na carne de microrganismos potencialmente patogénicos para o ser humano (Sofos, 2008; EFSA, 2010).

A carne, pelo seu elevado valor de actividade da água ($a_w \sim 0,99$), pH neutro (Mataragas *et al.*, 2008) e grande disponibilidade de componentes de baixo peso molecular (carboidratos, lactato e aminoácidos), representa um substrato ideal para o crescimento de grande parte dos microrganismos (ICMSF, 2005).

As principais bactérias potencialmente presentes na carne e produtos derivados, causadoras de doença de origem alimentar, são: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli* enterohemorrágica (serótipo O157), alguns serovares de *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (ICMSF, 2005).

Entre estas, as mais frequentemente detectadas e que mais preocupações têm causado na saúde pública, são *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. (Hugas & Tsigarida, 2008; Sofos, 2008; EFSA, 2010) detectadas, sobretudo, na carne de frango e de porco fresca, por serem, essencialmente, as mais consumidas (Hugas & Tsigarida, 2008).

As principais fontes de contaminação inicial da carne / carcaça (corpo de um animal após o abate e a preparação (Regulamento (CE) nº 853/2004)) estão directamente relacionadas com o abate e seus procedimentos (Vieira-Pinto *et al.*, 2003). Entre essas fontes de contaminação estão o conteúdo do tracto digestivo, a água e os utensílios utilizados, bem como os próprios manipuladores, especialmente se forem portadores assintomáticos (Arroyo & Arroyo, 1995).

A microflora contaminante é composta principalmente por microrganismos patogénicos oportunistas (*Pseudomonadaceae* e *Enterobacteriaceae*) e por potenciais agentes patogénicos (*Salmonella* spp., entre outros) (Arroyo & Arroyo, 1995).

Para prevenir a contaminação das carcaças é fundamental que os operadores das empresas do sector alimentar assegurem a execução de todos os requisitos específicos para a produção de carnes seguras e de qualidade, tal como estipula o Regulamento (CE) nº853/2004.

A gestão da higiene nos matadouros envolve um conjunto de regras básicas que passam por (EFSA, 2010):

- enviar para abate só animais saudáveis;

- o abate ocorrer em instalações adequadas tanto ao nível de divisórias e de equipamentos suficientes como ao nível higiénico;
- existir separação espacial e temporal das operações de abate;
- estas serem executadas por pessoal treinado e qualificado;
- ser utilizada apenas água potável;
- existir supervisão tanto dos procedimentos de abate como das carcaças por parte da corpo de inspecção sanitária;
- serem aplicadas boas práticas de higiene e os princípios HACCP.

Nos matadouros, a avaliação da contaminação bacteriológica das carcaças torna-se necessária para determinar a preservação da qualidade higiénica dos vários procedimentos (Vieira-Pinto, *et al.*, 2003).

5.3. Critérios Microbiológicos

Um critério microbiológico é

(...) um critério que define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou na presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabólitos, por unidade(s) de massa, volume, área ou lote (CE, 1999; Regulamento (CE) N° 2073/2005).

Atendendo às alterações a que foi sujeita a legislação alimentar e com base nos novos princípios legislados, foi necessário rever os critérios microbiológicos, procurando harmonizar a sua aplicação em todos os Estados Membros (CE, 1999), e garantir assim um nível elevado de saúde pública bem como uma maior liberdade de comércio. Esta revisão teve como fundamento a avaliação de riscos, considerando a relevância e a eficácia que a sua aplicação teria para a protecção da saúde pública (CE, 1999; Hugas & Tsigarida, 2008).

Neste contexto, surge o Regulamento (CE) N° 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) N° 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro, que estabelece os critérios microbiológicos e as regras de execução a cumprir pelos operadores do sector alimentar na aplicação das medidas de higiene estipuladas pelo Regulamento (CE) n° 852/2004.

Os critérios microbiológicos estabelecidos no presente regulamento são de dois tipos: critérios de segurança dos géneros alimentícios (que definem a aceitabilidade dos produtos colocados no mercado) e critérios de higiene dos processos (que enquadram o processo de produção aceitável) (Regulamento (CE) N° 2073/2005; EFSA, 2010).

Os operadores das empresas do sector alimentar devem respeitar estes critérios ao abrigo do disposto no artigo 4º do Regulamento (CE) nº 852/2004. Para isso, devem efectuar testes relativamente aos valores fixados para os critérios. Este regulamento estabelece também vários procedimentos, nomeadamente, quanto: aos métodos de análise a usar, ao plano de amostragem, aos limites microbiológicos e ao número de unidades analíticas (que devem estar em conformidade com esses limites), à fase da cadeia alimentar em que o critério se aplica e às medidas a tomar em caso de resultados insatisfatórios (Todd, 2003; Regulamento (CE) Nº 2073/2005; EFSA, 2010).

Como se verifica, a aplicação de critérios microbiológicos proporciona não só orientações quanto à aceitabilidade dos géneros alimentícios e seus processos de fabrico, manuseamento e distribuição, mas também devem fazer parte integrante da aplicação de procedimentos baseados nos princípios de Análise de Perigos e Pontos de Controlo Críticos (HACCP) e de outras medidas de controlo da higiene (CE, 1999; Regulamento (CE) nº 2073/2005; EFSA, 2010).

Os operadores das empresas do sector alimentar devem criar, aplicar e manter processos baseados nos princípios HACCP (Regulamento (CE) nº 852/2004). Além destes princípios terem sido incluídos na legislação comunitária, como requisito obrigatório, são aplicados também por muitos outros países (Motarjemi & Kaferstein, 1999). Pelo exposto, facilmente se conclui que os princípios HACCP são instrumentos de auxílio fundamentais para se alcançar padrões mais elevados de segurança alimentar (Regulamento (CE) nº 852/2004), para orientar o seu controlo (Motarjemi & Kaferstein, 1999) e assegurar uma vigilância mais estruturada sobre determinados perigos para a saúde pública. E, como exigem uma abordagem multidisciplinar, estes princípios impõem: a responsabilidade dos operadores das empresas do sector alimentar; o controlo e registo de documentos; e, uma acção rápida no caso de serem detectadas não conformidades (Jevsnik *et al.*, 2008).

No entanto, a eficácia destes princípios HACCP na prevenção de doenças de origem alimentar depende essencialmente:

- da sua completa e correcta aplicação, isto é, serem aplicados em todas as etapas da cadeia alimentar (Motarjemi & Kaferstein, 1999; Jevsnik *et al.*, 2008; Sofos, 2008);
- da sua combinação com outros sistemas de gestão da segurança (Motarjemi & Kaferstein, 1999; Jevsnik *et al.*, 2008; Sofos, 2008);

- da aplicação de boas práticas de higiene (Motarjemi & Kaferstein, 1999; Jevsnik *et al.*, 2008; Sofos, 2008);
- da interiorização dos seus princípios por parte dos operadores. É importante que estes tenham formação acerca da importância da segurança alimentar, de regras de higiene, dos perigos microbiológicos que podem conter os géneros alimentícios e seu controlo em todas as fases da cadeia alimentar (Jevsnik *et al.*, 2008; Sofos, 2008).

5.3.1. Critérios de higiene dos processos – carne e produtos derivados

Os critérios de higiene indicam se o processo de produção funciona de modo aceitável e definem um valor de contaminação indicativo acima do qual se tornam necessárias medidas correctivas para manter a higiene do processo em conformidade com a legislação (Regulamento (CE) N° 2073/2005; EFSA, 2010).

No que se refere ao abate de ungulados domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, suínos e equídeos), os critérios de higiene incluem o número de mesofilos totais (colónias aeróbias), de *Enterobacteriaceae* e a pesquisa de *Salmonella*. Para as aves (frangos de carne e perus), incluem somente a pesquisa de *Salmonella* (Regulamento (CE) N° 2073/2005; Regulamento (CE) N° 1441/2007; EFSA, 2010).

Vários estudos têm demonstrado que os mesofilos totais e *Enterobacteriaceae* podem fornecer um registo da performance da higiene ao longo dos procedimentos de abate e preparação, constituindo assim, uma abordagem suficientemente sensível para detectar falhas nas práticas de higiene (EFSA, 2010).

Estes parâmetros surgem como indicadores de higiene definindo limites microbiológicos apenas para as amostras obtidas pela técnica de amostragem destrutiva (Vieira-Pinto *et al.*, 2003; Zweifel *et al.*, 2005; EFSA, 2010). Esta técnica de amostragem é mais sensível quando comparada com as técnicas não destrutivas, mas por questões de ordem prática são muitas vezes preferíveis pela indústria das carnes (Zweifel *et al.*, 2005).

A família *Enterobacteriaceae* foi no início considerada indicador de contaminação fecal. Contudo, como a sua existência não se restringe à colonização do aparelho gastrointestinal, permanece a sua relevância como indicador de higiene (EFSA, 2010).

O controlo de *Enterobacteriaceae* é importante porque elevados níveis são indicadores de contaminação fecal, podendo deste modo, aumentar o risco e a incidência de

agentes patogénicos para o ser humano (Arroyo & Arroyo, 1995), como *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* enterotoxigénica e *Klebsiella* (Badr, 2004).

Para finalizar, os métodos de análise estipulados pelo Regulamento (CE) N° 2073/2005 para a detecção destes microrganismos, são de referência, validados internacionalmente e descritos em normas ISO: para o número de mesófilos totais a NI ISO 4833:2003; para *Enterobacteriaceae* a NI ISO 21528-2:2004 e para *Salmonella* a NI ISO 6579:2002 (Regulamento (CE) N°2073/2005; Regulamento (CE) N° 1441/2007).

Relativamente à pesquisa de *Salmonella* spp. nos géneros alimentícios a norma utiliza os métodos de cultura bacteriana tradicionais. Também estão disponíveis métodos recentes considerados alternativos como os imunológicos (ELISA) e os moleculares (PCR) (CE, 2002; CE, 2003; EFSA, 2010).

O PCR é descrito como um método rápido, específico e sensível, e os resultados obtidos são comparáveis aos da cultura bacteriana (Lax *et al.*, 1995; CE, 2003). Aliás, vários estudos demonstram a eficácia da combinação do PCR com métodos de cultura, a fim de maximizar a detecção de *Salmonella* (Whyte *et al.*, 2002).

5.4. Mesófilos totais e *Enterobacteriaceae*

Os mesófilos totais representam a flora total de microrganismos - bactérias, bolores e leveduras, que se desenvolvem formando colónias em condições de aerobiose e à temperatura referida (NP 4405:2002). São constituídos pelos microrganismos aeróbios: aeróbios estritos (necessitam de oxigénio) ou facultativos (toleram tanto a presença como a ausência de oxigénio), cuja temperatura óptima são os 30°C a 45°C. Para os microrganismos mesófilos, a temperatura mínima varia entre 5°C e 20°C e a temperatura máxima entre 40°C e 50°C (GA).

As bactérias mesófilas constituem o grupo de bactérias que predominantemente contamina as carcaças (EFSA, 2010). O número destas bactérias é indicador da qualidade sanitária e do grau de salubridade dos alimentos (EFSA, 2010).

Contagens elevadas de mesófilos em alimentos não perecíveis são indicadoras do uso de matérias-primas contaminadas ou de processamentos insatisfatórios. Em alimentos perecíveis pode indicar um armazenamento inadequado em termos do binómio tempo e temperatura (Filho *et al.*, 2006).

As *Enterobacteriaceae* (enterobactérias) são uma família de bactérias Gram-negativas (Carter & Cole, 1990), com as seguintes características (Carter & Cole, 1990; Grimont *et al.*,

2000): forma de bacilos; geralmente móveis; aeróbias ou anaeróbias facultativas; fermentam a glucose; reduzem os nitratos a nitritos; não formam esporos; crescem em meios de agar; o teste oxidase é negativo e o da catalase positivo (existindo no entanto algumas exceções).

As enterobactérias são ubiqüitárias, podendo ser encontradas facilmente no meio ambiente. Embora que algumas espécies possam ser encontradas livres no solo e na água, a grande maioria faz parte da flora intestinal normal de animais (Carter & Cole, 1990).

Assim, a sua presença em alimentos resulta para além da contaminação fecal, de deficiências na limpeza e desinfecção das instalações, superfícies e utensílios (EFSA, 2010).

Relativamente à sua capacidade de resistência ao meio externo, não são muito resistentes às influências físicas e químicas, morrendo com a luz solar e a dissecação. Contudo, são resistentes à congelação (Carter & Cole, 1990).

Esta família é composta por mais de 28 géneros e mais de 82 espécies. Muitos dos géneros são patogénicos para o ser humano e animais (*Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., entre outros), tendo grandes implicações para a saúde pública (Carter & Cole, 1990). No entanto, além das espécies patogénicas, as *Enterobacteriaceae* incluem também espécies ambientais que não constituem um risco para a saúde pública (Regulamento (CE) Nº 2073/2005; EFSA, 2010).

5.5. *Salmonella* spp.

5.5.1. Importância em saúde pública

Os membros do género *Salmonella* são reconhecidos mundialmente como agentes zoonóticos de grande importância (Uyttendaele *et al.*, 1998; Whyte *et al.*, 2002; Pendergast *et al.*, 2009). De facto, a salmonelose é incluída no grupo das doenças de origem alimentar mais frequentes e amplamente distribuídas (OMS, 2005; Ben-Barak *et al.*, 2006; Hugas *et al.*, 2009; Lianou *et al.*, 2010), que conduz a elevadas taxas de morbilidade (Humphrey, 2000; Kaufmann *et al.*, 2001) e custos significativos em muitos países, tanto em tratamento médico e perdas de produtividade como em programas de controlo (OMS, 2005; Dunkley *et al.*, 2009).

Em cada ano, milhões de casos desta doença são relatados por todo o mundo (OMS, 2005). No ano 2000, 150.165 casos de salmonelose humana foram reportados em 17 regiões da Europa, abrangendo 14 países da União Europeia e a Noruega (CE, 2003).

Nos Estados Unidos da América contabilizam-se anualmente cerca de 1,4 milhões de infecções por ano por *Salmonella* spp. não tifóide (OMS, 2005; Dunkley *et al.*, 2009),

resultando em 15.000 hospitalizações (OMS, 2005) e 580/600 mortes por ano (OMS, 2005; Dunkley *et al.*, 2009).

A infecção por membros do género *Salmonella* é principalmente associada ao consumo de alimentos contaminados de origem animal, entre os quais, as carnes, os ovos e o leite. No entanto, outros alimentos, como os gelados, as saladas e os molhos, estiveram já implicados na sua transmissão (CE, 2003; OMS, 2005; Dunkley *et al.*, 2009; Lianou *et al.*, 2010).

Até 2004 foram identificados 2500 serotipos de *Salmonella* spp., a maior parte dos quais com implicações na saúde pública (OMS, 2005).

Enquanto alguns serotipos de *Salmonella* spp., como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, mantêm o seu papel dominante, pelo menos na Europa e nos Estados Unidos (Humphrey, 2000; CE, 2003; Dunkley *et al.*, 2009; Lianou *et al.*, 2010), outros serotipos vão emergindo e outros ainda rareando (Uyttendaele *et al.*, 1998; CE, 2003). Em 2001, aproximadamente 60% dos casos humanos de salmonelose foram causados por 4 serotipos: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport* e *S. Heidelberg* (Dunkley *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, o aumento da resistência de *Salmonella* spp. (incluindo *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*) aos antimicrobianos usados, representa mais uma preocupação em saúde pública (Antunes *et al.*, 2003; CE, 2003; OMS, 2005). Como a maioria das infecções por *Salmonella* spp. são adquiridas pela ingestão de alimentos de origem animal contaminados, uma causa provável para o aumento da prevalência de *Salmonella* spp. resistente é o uso intensivo de agentes antimicrobianos nos animais de produção (Antunes *et al.*, 2003).

5.5.2. Patogenicidade humana e animal

O principal habitat dos membros do género *Salmonella* é o tracto digestivo dos humanos e de outros animais – répteis, aves e mamíferos - e o habitat de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* é o tracto intestinal de humanos e de animais de sangue quente (Grimont *et al.*, 2000; Antunes *et al.*, 2003). Por isso, a presença desta bactéria no solo, na água, nos alimentos e noutros meios, é devida a contaminação fecal (Grimont *et al.*, 2000).

Os membros do género *Salmonella* possuem grande capacidade de sobreviver no ambiente externo durante a transmissão de um hospedeiro para outro (CE, 2003; Dunkley *et al.*, 2009). São capazes de se multiplicar em alimentos em condições aeróbias ou anaeróbias e em temperaturas que variam de 5°C a 46°C, com um óptimo de crescimento entre 35°C e 43°C. O seu crescimento é diminuído a temperaturas inferiores a 15°C e inibido a valores de

pH superiores a 9 e inferiores a 4 e a valores de actividade da água inferiores a 0,94 (CE, 2003).

A infecção por *Salmonella* spp. ocorre geralmente por via fecal-oral (Carter & Cole, 1990; Lax *et al.*, 1995), embora por via respiratória também seja possível (Lax *et al.*, 1995).

Após a ingestão, *Salmonella* spp. dissemina-se rapidamente ao longo de todo o intestino (Eckmam & Kagnoff, 2001). A primeira fase da infecção é a invasão do epitélio gastrointestinal (Lax *et al.*, 1995; Kaufmann *et al.*, 2001). Neste processo de invasão ao epitélio, predomina o papel importante dos enterócitos e das células M, que constituem as principais portas de entrada (Eckmam & Kagnoff, 2001; Kaufmann *et al.*, 2001).

Após a invasão, estas bactérias atravessam a barreira do epitélio intestinal e colonizam a lâmina própria e as placas de Peyer (Eckmam & Kagnoff, 2001). A sua adesão e subsequente colonização das células epiteliais intestinais constituem um pré-requisito para o desenvolvimento de doença gastrointestinal (Alwan *et al.*, 1998).

Os membros do género *Salmonella* são agentes intracelulares facultativos (Carter & Cole, 1990; Lax *et al.*, 1995; CE, 2003), que rapidamente invadem as células do hospedeiro, especialmente, os macrófagos. Se as defesas locais do hospedeiro são insuficientes para limitar a infecção ao tracto intestinal, podem disseminar-se aos linfonodos mesentéricos, baço e fígado (Eckmam & Kagnoff, 2001; CE, 2003).

O resultado da infecção por *Salmonella* spp. é determinado por factores dependentes da bactéria (a virulência do serotipo de *Salmonella* spp. implicado na infecção) e por factores dependentes do hospedeiro (a sua capacidade de formar uma resposta inflamatória e imune adequada, capaz de destruir o agente) (Eckmam & Kagnoff, 2001; CE, 2003).

Os factores mais relevantes para a patogénese dos membros do género *Salmonella* são os plasmídeos de virulência (Lax *et al.*, 1995; CE, 2003) e a endotoxina (um lipopolissacarídeo) (Carter & Cole, 1990). Outros factores contribuem para o desenvolvimento da infecção, nomeadamente, as fímbrias de adesão, a colicina, os sideróforos, a enterotoxina, a citoxina e as porinas (Carter & Cole, 1990).

A dose infecciosa de *Salmonella* spp. varia com o seu serotipo envolvido, a imunocompetência do hospedeiro e o tipo de alimento que funciona como veículo (Humphrey, 2000; CE, 2003).

Todos os serotipos de *Salmonella* spp. podem causar doença nos seres humanos, embora sejam frequentemente classificados de acordo com a sua adaptação às espécies hospedeiras (CE, 2003).

Alguns serotipos desenvolveram uma grande adaptação às espécies hospedeiras tais como *Salmonella* Typhi em primatas, *Salmonella* Dublin em bovinos, *Salmonella* Abortusovis em ovinos, *Salmonella* Choleraesuis em suínos ou *Salmonella* Gallinarum em aves de capoeira (Grimont *et al.*, 2000; CE, 2003; OMS, 2005). A maioria dos serotipos tem, no entanto, um amplo espectro de hospedeiros (Kaufmann *et al.*, 2001; CE, 2003; OMS, 2005), levando no caso da infecção humana, a portadores assintomáticos ou a uma gastroenterite autolimitante (Rhoads *et al.*, 2009).

Apesar disso, e como já referido, esta infecção pode assumir um carácter grave em crianças, idosos e pacientes imunodeprimidos (Humphrey, 2000; CE, 2003; OMS, 2005). Os portadores assintomáticos (humanos e animais) não reconhecidos como tal, representam um risco de eliminar *Salmonella* spp. no ambiente (CE, 2003).

Vários estudos têm demonstrado que a dose infecciosa dos serotipos não adaptados a um hospedeiro específico (que é baixa para os humanos) varia também com o (s) tipo (s) de alimento (s) que funciona (m) como veículo para a infecção. Nestes casos, a dose infecciosa do serotipo envolvido, é menor se a bactéria se encontra protegida pela matriz de alimentos. Alimentos com alto teor de gordura ou de proteínas ou com boa capacidade de tamponamento podem proteger o agente durante a sua passagem nas regiões ácidas do estômago (Humphrey, 2000; CE, 2003).

A salmonelose humana engloba várias síndromes clínicas que incluem: a febre tifóide ou febre entérica, causada por *S. Typhi*; as gastroenterites, causadas pela maioria dos serotipos de *Salmonella* spp. como a *S. Typhimurium* e a *S. Enteritidis*; e as infecções sistémicas, causadas por outros serotipos não tifóides (Carter & Cole, 1990; Eckmam & Kagnoff, 2001; Kaufmann *et al.*, 2001; CE, 2003).

Os surtos humanos de origem alimentar por *Salmonella* spp. são frequentemente observados. São o reflexo da baixa dose infecciosa do serotipo envolvido e da sua capacidade de crescer no ambiente externo, o que inclui, produtos alimentares não transformados. Estas características permitem, para além, do seu desenvolvimento, a sua sobrevivência a longo prazo, o que facilita a contaminação de outros alimentos (Newell *et al.*, 2010).

Apesar de só se ter discriminado a salmonelose humana ela é também um problema para a saúde animal. Dos vários serotipos e *Salmonella*, respectivas doenças e espécies susceptíveis, referem-se as seguintes (Carter & Cole, 1990):

- *S. Abortus-equi*: aborto em éguas;
- *S. Abortusbovis*: aborto em vacas;

- *S. Abortusovis*: aborto em ovelhas;
- *S. Choleraesuis*: enterite em suínos;
- *S. Gallinarum*: doença intestinal aguda em frangos e perus recém nascidos;
- *S. Dublin*: Infecções severas em vitelos.

5.5.3. Os alimentos de origem animal e, nomeadamente, a carne como veículos de *Salmonella* spp.

A ubiquidade de *Salmonella* spp. e a sua capacidade de sobrevivência ao meio externo, são duas das suas características que favorecem a contaminação cruzada dos alimentos. Isto significa que qualquer género alimentício cru ou cozinhado, que não propriamente manuseado e protegido da contaminação cruzada (mesmo aqueles em que o risco é geralmente baixo) pode causar infecção humana (Uyttendaele *et al.*, 1998; CE, 2003).

A salmonelose humana é contraída sobretudo através do consumo de alimentos contaminados de origem animal (Uyttendaele *et al.*, 1998; Humphrey, 2000; OMS, 2005).

A carne crua, e principalmente de aves, tem sido frequentemente identificada como um dos principais veículos nos surtos humanos de origem alimentar por *Salmonella* spp. (Arroyo & Arroyo, 1995; Uyttendaele *et al.*, 1998; Whyte *et al.*, 2002; Antunes *et al.*, 2003; Hugas *et al.*, 2009).

Contudo, a carne de outros animais de produção, nomeadamente a de porco, é também referida como um importante veículo de membros do género *Salmonella* (Swanenburg *et al.*, 2001; Pinto *et al.*, 2006; Hugas *et al.*, 2009; Pendergast *et al.*, 2009).

Vários estudos apontam diferentes valores de prevalência desta bactéria nos diferentes tipos de carne vermelha.

No estudo efectuado por Pendergast *et al.* (2009) a prevalência de *Salmonella* spp. em amostras de carne de porco crua, recolhidas já na fase de venda, foi de 2,6%. O serotipo mais frequente foi *S. Typhimurium*. Estudos semelhantes realizados em anos anteriores pelos mesmos autores, mostraram prevalências ligeiramente inferiores (2,3%, 2,0%, 2,1%) (Pendergart *et al.*, 2009).

Já Rhoades *et al.* (2009) referiu um valor de prevalência de *Salmonella* spp. de 3,8% em carne crua de vaca e o de Little *et al.* (2008), de 1,1% em carne de vaca, de 1,9% em carne de porco, de 1,7% em carne de cordeiro e de 2,0% noutras carnes (na qual se fazia representar a carne de coelho, a única positiva).

5.5.4. A contaminação das carcaças por *Salmonella* spp.

O abate de animais infectados por *Salmonella* spp. representa um potencial risco de contaminação das suas carcaças e da introdução desta bactéria na cadeia alimentar (CE, 2003; Pinto *et al.*, 2006).

A contaminação das carcaças resulta da infecção dos animais em vida, devido a um maneio intensivo, ao uso de alimento e/ou água contaminados, e/ou à contaminação cruzada durante as operações de abate (Arroyo & Arroyo, 1995; Humphrey, 2000; Woldemarian *et al.*, 2005).

Infecções latentes nos animais podem ser activadas pelo stress associado tanto ao seu transporte para o matadouro, como a um longo período de privação de água e de alimento antes do abate (Uyttendaele *et al.*, 1998; Humphrey, 2000; Woldemarian *et al.*, 2005; Pinto *et al.*, 2006). Os animais saudáveis estão frequentemente infectados com *Salmonella* spp. sem demonstrarem qualquer sinal clínico. Também as suas carcaças infectadas não serão reconhecidas durante o acto de inspecção sanitária (Swanenburg *et al.*, 2001; CE, 2003).

Para além do abate de animais assintomáticos excretores, infectados por *Salmonella* spp., predispor para a contaminação das suas carcaças, a contaminação por esta bactéria também está associada à contaminação cruzada que ocorre por falta de boas práticas de higiene e contaminação dos equipamentos, superfícies, utensílios, água e manipuladores (Humphrey, 2000; Woldemarian *et al.*, 2005).

Com o objectivo de avaliar a contaminação das carcaças das várias espécies animais por *Salmonella* spp. e assim, questionar as medidas de higiene dos matadouros, têm sido realizados vários estudos nacionais e internacionais. Por exemplo:

- Uyttendaele *et al.* (1998) refere uma prevalência de *Salmonella* spp. de 27,3% em carcaças de frangos;
- Swanenburg *et al.* (2001) de 1,4% em carcaças de suínos;
- Woldemarian *et al.* (2005) de 7,4% em carcaças de ovinos e 7,5% de caprino
- Rhoades *et al.* (2009) de 0,3% em carcaças de bovinos.

Em alguns destes estudos os serotipos de *Salmonella* mais frequentes têm sido a *S. Enteritidis* e a *S. Typhimurium*, importantes agentes patogénicos para o ser humano.

A contaminação das carcaças não está apenas confinada ao seu exterior mas também ao interior das cavidades, ao músculo e órgãos (Humphrey, 2000, Vieira-Pinto *et al.*, 2003). Os resultados de vários estudos são diferentes, dependendo do tipo de amostra, da fase de amostragem e do método analítico usado (Swanenburg *et al.*, 2001).

Porém, a contaminação das carcaças por membros do género *Salmonella* é sempre de especial relevo para a saúde pública, pelo seu grande potencial para contaminação cruzada no ambiente das cozinhas e em países onde é tradicional o consumo de carne mal cozinhada (Humphrey, 2000; Woldemarian *et al.*, 2005).

É importante referir que de forma geral só um pequeno número de bactérias está presente nas carcaças, o qual aumentará se não forem tomadas certas medidas. Considerando a amplitude térmica de crescimento desta bactéria (5,5/7°C a 49,5°C), uma inadequada temperatura de refrigeração no armazenamento ou no transporte, permite o seu crescimento (Humphrey, 2000; Rhoades *et al.*, 2009). Também a *Salmonella* spp. consegue sobreviver por longos períodos em alimentos sob o armazenamento refrigerado ou congelado (Rhoades *et al.*, 2009).

A não completa cozedura da carne permite a sua sobrevivência, aliado ao facto de que este organismo é capaz de aderir aos tecidos musculares recém expostos, aumentando assim a sua tolerância ao calor (Humphrey, 2000).

5.5.5. Controlo e prevenção da salmonelose

O controlo e a prevenção da salmonelose, como em qualquer zoonose, devem incidir em todas as fases da cadeia alimentar, “do prado ao prato” (Humphrey, 2000; Hugas & Tsigarida, 2008).

De acordo com o parecer da OMS de 1980, a primeira linha de controlo da *Salmonella* spp. deve ter como base os animais vivos. Assim, nas explorações devem ser aplicadas medidas de biossegurança, de boas práticas de higiene, de identificação e isolamento dos animais infectados e de vacinação (CE, 2003; Hugas & Tsigarida, 2008).

A segunda linha de controlo deve ser no matadouro, com a prevenção e redução da contaminação das carcaças (CE, 2003; Hugas & Tsigarida, 2008). No matadouro o grau de contaminação cruzada é influenciado pelo número de animais infectados e pela higiene das operações de abate (Humphrey, 2000).

Neste sentido, a redução do número de animais infectados ao abate passa pela diminuição do tempo e do stress durante o transporte para o matadouro e da estabulação antes do abate. É fundamental que sejam abatidos apenas animais devidamente limpos (Humphrey, 2000; Hugas & Tsigarida, 2008).

Durante as várias operações de abate devem ser tomadas medidas que garantam a aplicação de boas práticas de higiene em associação com o cumprimento dos princípios HACCP (Swanenburg *et al.*, 2001; Hugas & Tsigarida, 2008).

Relativamente à descontaminação das carcaças, é importante referir que têm sido estudados e aprovados vários métodos para reduzir não só a sua contaminação, como também a das outras superfícies dos matadouros (CE, 2003). Estes métodos subdividem-se em métodos físicos (como a água quente (a 80°C ou 85°C), o único método permitido na União Europeia, o vapor e a radiação ionizante (Badr, 2004)), métodos químicos (o cloro e os polifosfatos) e tratamentos biológicos (os bacteriófagos e as bacteriocinas) (Humphrey, 2000; Hugas & Tsigarida, 2008).

Vários estudos e em diferentes tipos de carne mostraram a eficácia destes métodos tanto na redução da prevalência de vários agentes patogénicos, como na redução de microrganismos a 30°C e de *Enterobacteriaceae*. No entanto, estes métodos, acarretam algumas desvantagens entre as quais, o recurso desproporcionado a esta etapa com a consequente redução da higiene dos processos, a selecção de estirpes resistentes e as alterações da qualidade das carnes. Assim, estes métodos apenas devem ser utilizados como medida adicional após a aplicação de boas práticas de higiene durante todo o processo de abate (Hugas & Tsigarida, 2008).

Por último, a terceira linha de defesa é a prevenção da contaminação dos alimentos, pela indústria, restauração e consumidores, durante a sua preparação final (Humphrey, 2000; Hugas & Tsigarida, 2008).

As medidas de controlo a seguir pela indústria devem incluir a aplicação de boas práticas de higiene e dos princípios HACCP durante o processamento, a manutenção da cadeia de frio dos alimentos e a aplicação correcta das técnicas de tratamento (Hugas & Tsigarida, 2008).

Os consumidores devem aplicar não só, boas práticas de higiene na manipulação e no armazenamento dos géneros alimentícios, a manutenção das correctas temperaturas de refrigeração e a cozedura completa dos alimentos, como devem também, ter consciência da importância da *Salmonella* spp. para a saúde pública (Humphrey, 2000; CE, 2003; Hugas & Tsigarida, 2008).

5.6. A carne de coelho

A carne de coelho é considerada um alimento muito saudável para o ser humano, sendo recomendada especialmente para crianças e idosos (FAO, 1999; Zotte, 2002).

É uma carne com elevado valor alimentar, baixo teor calórico e elevada digestibilidade (FAO, 1999). O seu valor alimentar deriva de elevado teor proteico, minerais e vitaminas, baixos níveis de gordura, colesterol e sódio (FAO, 1999; Zotte, 2002)

Para além das suas características nutricionais e dietéticas (Zotte, 2002), é também apreciada em muitos países pela sua cor, textura e sabor (Liu *et al.*, 2009).

Associado a estas qualidades alimentares, nutricionais e dietéticas, a carne de coelho não foi ainda associada a qualquer incidente alimentar (Zotte, 2002).

5.6.1. Produção e consumo de carne de coelho

O coelho possui características que tornam a sua produção em larga escala possível. Entre essas características salientam-se (FAO, 1999; Badr, 2004):

- elevada eficiência produtiva, com curtos períodos de gestação e de lactação;
- elevada eficiência alimentar;
- pequena área produtiva;
- não competir com os humanos por alimento (herbívoros);
- baixo investimento para a produção e reduzidos custos de trabalho;
- elevada produção de carne (até 40 nascimentos/ano), pêlo, pele e até excrementos, utilizados no fabrico de adubos.

A FAO (1999) tem aconselhado a produção de coelho e o consumo da sua carne, sobretudo, nos países em desenvolvimento. Aliás, refere que a sua produção tem potencial para emergir como uma resposta barata e sustentável à fome, desnutrição e pobreza humana.

Em parceria com outras organizações governamentais e não governamentais, a FAO, tem suportado e desenvolvido a produção de coelho em várias partes do mundo, incluindo no Egipto, na Guiné-Bissau, na Guiné Equatorial, no Haiti, no México, em São Tomé e Príncipe, no Ruanda e na República do Congo (FAO, 1999).

Apesar disso, aponta ainda algumas limitações pontuais para a produção em massa de carne de coelho. Essas limitações são sobretudo de carácter cultural e prendem-se com o facto de se considerar os coelhos animais de estimação, de os associar a pragas agrícolas e ecológicas (tal como acontece na Austrália) e da maior dificuldade em aceitar o seu consumo por parte de povos com alimentações monótonas (FAO, 1999).

Como se verifica, o consumo de carne de coelho tem sido influenciado pela evolução histórica, económica e social da humanidade estando, nalguns países, dependente de valores culturais e religiosos (Zotte, 2002).

5.6.1.1. Distribuição da produção e do consumo de carne de coelho no mundo

A produção de carne de coelho representa 1,2% da produção total de carne da União Europeia e 0,4% da produção mundial de carne (EFSA, 2005). A tendência, a nível mundial, é de continuar a aumentar devido, principalmente, ao incremento da sua produção em regiões de África e da América Latina (FAO, 1999).

De facto, segundo a FAO, entre os anos de 2000 e 2009 tem-se registado um aumento da produção mundial de carne de coelho, verificando-se apenas um decréscimo no ano de 2008 talvez devido à produção recorde registada em 2007 (gráfico 9, ver tabela correspondente em anexo 1).

**Produção mundial de carne de coelho (toneladas):
2000/2009**

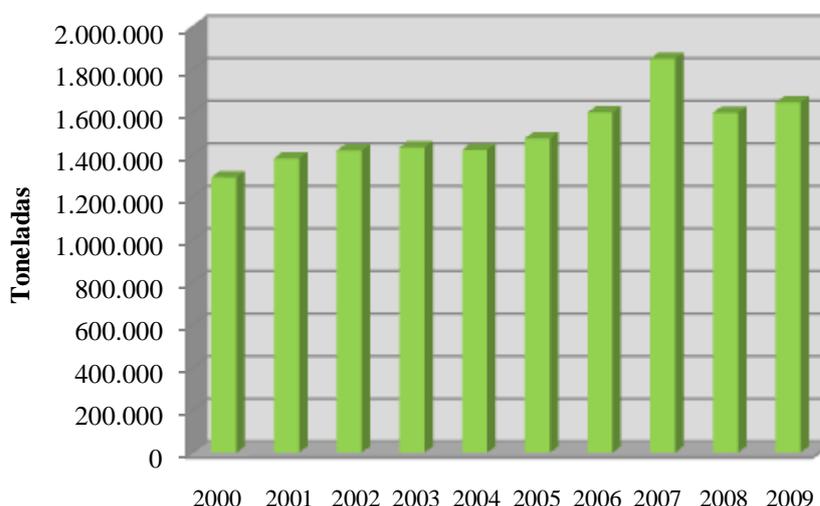


Gráfico 9: Evolução da produção mundial de carne de coelho (toneladas): 2000/2009.

Fonte: FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>

A Ásia é, actualmente, o maior produtor de carne de coelho devido, sobretudo, à produção registada na China, o maior produtor mundial. Na produção de carne de coelho nos anos de 2008 e 2009 a Ásia representou quase metade da produção mundial (47,4% e 48,5%, respectivamente) (tabela 14).

O continente Europeu foi já o maior produtor de carne de coelho (EFSA, 2005). Presentemente, ocupa a segunda posição com 30% da produção mundial registada em 2008 e 29,6% em 2009 (tabela 14). Possíveis causas para esta diminuição estão relacionadas não só com o aumento da produção noutros continentes mas também com a inevitável redução do preço que favorece a importação em detrimento da produção europeia.

Tabela 14: Produção de carne de coelho por continente (em toneladas e respectivo valor de percentagem): 2008/2009
 Fonte: FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>

Continentes	Produção 2008		Produção 2009	
	Toneladas	Percentagem (%)	Toneladas	Percentagem (%)
África	94.385	5,9	94.505	5,8
América	266.552	16,7	266.537	16,2
Ásia	757.296	47,4	797.166	48,5
Europa	478.361	30,0	486.729	29,6
Oceânia	0	0,0	0	0,0
Total	1.596.594	100,0	1.644.937	100,0

Considerando a produção de carne de coelho por países verifica-se que a China ocupa o primeiro lugar, com 660.000 toneladas produzidas em 2008. Seguem-se a Venezuela e a Itália que em 2008 produziram 244.000 e 240.000 toneladas, respectivamente (tabela 15).

A produção de carne de coelho tem uma forte tradição e implantação na região Mediterrânica (Sul da Europa e Norte de África) fazendo parte integrante da reconhecida dieta desta região (Rodríguez-Calleja *et al.*, 2005, 2006; Kohler *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009), como se pode comprovar na tabela 15. Aí se constata que se juntarmos as produções registadas na Itália, Egipto, Espanha, França o volume de produção atingiria um total de 429.926 toneladas, o que colocaria esta região mediterrânica destacadamente no segundo lugar logo atrás da China.

Tabela 15: Principais produtores de carne de coelho (resultados em toneladas): 2008.
 Fonte: FAOSTAT.

Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>

Posição	País	Toneladas
1º	China	660.000
2º	Venezuela	244.000
3º	Itália	240.000
4º	Coreia do Norte	91.000
5º	Egipto	69.840
6º	Espanha	68.686
7º	França	51.400
8º	República Checa	38.500
9º	Alemanha	33.600

Relativamente ao comércio internacional de carne de coelho, verifica-se que o mesmo está em crescimento (ver tabela em anexo 2). Segundo os dados da FAOSTAT de 2008, os três maiores exportadores de carne de coelho são a China com 8538 toneladas exportadas, a França com 6297 toneladas e a Bélgica com 4613 toneladas. Portugal encontra-se na vigésima posição com apenas 21 toneladas de carne de coelho exportadas.

Quanto à importação, os oito maiores importadores são europeus de acordo com os dados da FAOSTAT de 2008. Os três maiores importadores europeus são a Alemanha com 7179 toneladas, a Bélgica com 5121 e a Itália com 2897. Portugal ocupa a sétima posição com 1462 toneladas importadas. Como se constata, Portugal regista um défice na balança comercial de carne de coelho pois importa 1462 toneladas e exporta somente 21. Este défice deve ser motivo suficiente para esperar um aumento efectivo da produção nacional de carne de coelho.

Relativamente ao consumo de carne de coelho, os maiores consumidores europeus são Malta com 8,9Kg/habitante, Chipre com 4,4, Itália com 4,0, Bélgica com 2,7, Portugal com 1,9 e Espanha com 1,8 (EFSA, 2005). Mais uma vez se verifica que a bacia mediterrânica é a região europeia não só com a maior produção, mas também maior consumo de carne de coelho por habitante. Dos seis países europeus onde ocorre maior consumo apenas a Bélgica não faz parte desta região.

Esta visão geral à produção, consumo e comércio internacional de carne de coelho permite retirar algumas conclusões:

- que em todos os continentes, com excepção da Oceânia se produz e consome carne de coelho;
- que a FAO tem razões ao recomendar um incremento da produção de carne de coelho em África e na América Latina (continentes em desenvolvimento com evidentes problemas de fome, desnutrição e pobreza);
- que há um comércio internacional cada vez mais activo e mais extenso desta carne;
- que este comércio internacional coloca problemas de inspecção sanitária e saúde pública;
- que Portugal regista um défice na balança comercial de carne de coelho, e como importador, está ainda exposto às regras sanitárias de outros mercados.

5.6.1.2. Produção e consumo em Portugal

Em Portugal, de acordo com os dados de 2009 relativos à produção de carne (em peso limpo) e ao total de reses, aves e coelhos abatidos e aprovados para consumo (por cabeças e toneladas) as carnes mais consumidas são: a suína, a de frangos e a bovina (INE, 2010). Como já foi referido, este consumo não se afasta do padrão da União Europeia (DGA, 2004).

Especificando, as carnes mais produzidas em Portugal são a suína (395.970 toneladas), a de frangos (251.546 toneladas) e a bovina (102.995 toneladas), seguindo-se a carne de peru (40,222 toneladas) e outras carnes (23,377 toneladas) na qual se inclui a carne de coelho (INE, 2010).

Relativamente às reses, aves e coelhos abatidos e aprovados para consumo, o maior número de cabeças abatidas e aprovadas para consumo foi: de frangos, 172.356.435 cabeças, de coelhos, 5.890.160 cabeças, e de codornizes, 3.620.633 cabeças. Porém, em relação às toneladas produzidas, a espécie suína é a mais representativa com 367.147 toneladas, seguindo-se os frangos com 228.833 toneladas e os bovinos com 90.099 toneladas. Quanto à produção de carne de coelho são somente 7.407 toneladas produzidas (INE, 2010).

Para além dos dados nacionais do INE (2010), a Associação Portuguesa de Cunicultura [ASPOC] (2008) refere para o ano de 2008 uma produção anual de 7.300.000 coelhos e cerca de 9.500 toneladas de carne.

Quanto à evolução da produção de carne de coelho, de 2001 a 2009 registaram-se algumas oscilações no número de toneladas produzidas (gráfico 10, ver tabela correspondente em anexo 3). Essas oscilações são o resultado de o mercado Português ser deficitário e aberto ao comércio internacional. No entanto, convém realçar que essas oscilações não registam consumos inferiores a 6.000 toneladas/ano.

**Produção de carne de coelho (toneladas) em Portugal:
2001/2009**

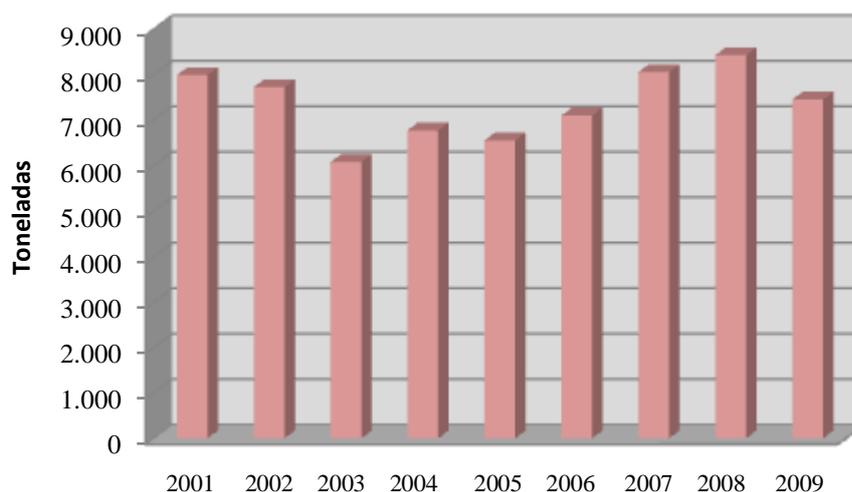


Gráfico 10: Evolução da quantidade (em toneladas) de carne de coelho produzida em Portugal, 2001/2009. Adaptado de INE (2003; 2004; 2005; 2007; 2010).

Assim, embora a carne de coelho não seja das mais consumidas relativamente a outras carnes, pelos números expressos anteriormente, tem um consumo significativo e faz parte da dieta alimentar em Portugal. Apesar do consumo de carne de coelho rondar 10.000.000 kg/ano, ainda não existem critérios microbiológicos de higiene estabelecidos para esta espécie. Cabe aos operadores seguindo o sistema HACCP, a tarefa de regular o seu processo de produção.

6. Apresentação do trabalho

Os perigos microbiológicos (microrganismos, suas toxinas ou metabolitos) presentes nos géneros alimentícios são uma importante fonte de doenças, de origem alimentar, para o ser humano. A consciencialização destes perigos e a necessidade de assegurar, pela legislação alimentar, um elevado nível de protecção da saúde pública (Regulamento (CE) nº 178/2002), constituíram as bases para a criação do Regulamento (CE) Nº 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

O supracitado diploma estabelece não só os critérios microbiológicos para certos microrganismos, mas também as regras de execução a cumprir pelos operadores das empresas do sector alimentar aquando da aplicação das medidas de higiene gerais, ao abrigo do artigo 4º do Regulamento (CE) nº 852/2004 (Regulamento (CE) Nº 2073/2005).

Os critérios microbiológicos são subdivididos em critérios de segurança dos géneros alimentícios e em critérios de higiene dos processos. Os critérios de segurança são aplicados no produto acabado destinado ao consumidor final e colocados no mercado. Os critérios de higiene são aplicados durante as fases de processamento (CE, 1999; Regulamento (CE) Nº 2073/2005). Nestes últimos, e nomeadamente quanto à carne e produtos derivados, apenas são instituídos critérios para as carcaças de ungulados e aves (pesquisa de *Salmonella*, de mesófilos totais e *Enterobacteriaceae*), não sendo incluídas as de lagomorfos.

Com a entrada em vigor deste diploma, cada Estado Membro passou a adoptar medidas comunitárias que substituíram os critérios nacionais anteriormente usados. Contudo, existe a possibilidade de se estabelecer critérios próprios, em caso de omissão, a nível nacional (Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária [DSHPV], 2007).

Por tal facto, os serviços de assessoria de qualidade dos vários estabelecimentos de abate de lagomorfos contactaram a Direcção Geral de Veterinária (DGV), no sentido de estabelecer critérios nacionais para esta espécie, já que não existem critérios a nível comunitário (DSHPV, 2007).

Foi assim que surgiu a ideia, por parte da DGV, de realizar um estudo com o objectivo de estabelecer critérios microbiológicos a cumprir pelos operadores da área alimentar que efectuem abate de lagomorfos a nível nacional. Porém, este estudo acabou por não ser executado.

6.1. Objectivos

Considerando que:

- não existem critérios microbiológicos estabelecidos para as carcaças de lagomorfos, capazes de regular de forma satisfatória o seu processo de produção;
- existe pouca informação disponível acerca da qualidade microbiológica destas carnes (Badr, 2004; Rodríguez-Calleja *et al.*, 2005, 2006; Kohler *et al.*, 2008);
- a carne de coelho pode representar um potencial veículo de microrganismos patogénicos, de origem alimentar, para o ser humano (Badr, 2004; Kohler *et al.*, 2008);
- o consumo de carne de coelho, em Portugal, não deixa de ser relevante,

a ASAE, concretamente o GTP, considerou necessário implementar critérios microbiológicos, retomando o anterior estudo pensado pela DGV.

Assim, este estudo tem por objectivos:

- estimar a prevalência de *Salmonella* em carcaças de coelho;
- aferir da sua contaminação microbiológica quanto a mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*;
- analisar os resultados obtidos, procurando encontrar termos de referência de aceitabilidade.

Os dados obtidos serão posteriormente sujeitos a uma avaliação de risco, a executar pela Direcção de Avaliação e Comunicação de Riscos (DACR) da ASAE, podendo habilitar a Autoridade Nacional Competente (DGV) de dados suficientes para estabelecer critérios microbiológicos, a nível nacional, a carcaças de lagomorfos.

7. Materiais e Métodos

7.1. Dimensão da amostra e processo de amostragem

Para estimar a prevalência de *Salmonella* em carcaças de coelho a dimensão da amostra necessária (n=188) foi calculada com base nos seguintes critérios: uma prevalência esperada (p) de 2% (Little *et al.*, 2008), um erro-padrão (L) de 2% e um nível de confiança de 95% ($Z_{1-\alpha/2}=1,96$ com 95% de IC), em que $n = (Z_{1-\alpha/2}^2 p (1-p)) / L^2$ (Houe *et al.*, 2004). Adicionalmente, na mesma amostra, foi também avaliada a contaminação das carcaças quanto a mesófilos totais e *Enterobacteriaceae*.

Como nem o Regulamento (CE) N° 2073/2005 nem o Regulamento (CE) N° 1441/2007 estabelecem critérios de higiene para as carcaças de coelhos, neste estudo foi feita uma aproximação aos critérios estabelecidos para os mamíferos e para as aves. De facto, embora os coelhos sejam mamíferos, tanto a dimensão da carcaça como as características da linha de abate se assemelham às das aves.

Assim, procedeu-se à colheita de cerca de 100g (quantidade fixada pelo laboratório) de músculo de coelho, sendo a pesquisa em grama e não em área.

Foram preferidos os músculos abdominais e utilizado o método destrutivo. Os músculos abdominais foram os seleccionados pois os pontos a amostrar devem poder controlar os locais com maior probabilidade de ocorrência de contaminação – neste caso, a evisceração. Desta forma, pretende-se aferir acerca da higiene ao abate ao ter em conta os locais da carcaça mais susceptíveis de contaminação (Castelo, 2008).

O trabalho prático decorreu de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010, uma vez por semana. Apesar de o Regulamento (CE) N° 2073/2005 estabelecer que a amostragem deva ocorrer em dias alternados da semana, as colheitas foram realizadas preferencialmente às segundas-feiras por ser o dia com maior volume de abate de coelhos.

No estudo foram incluídos todos os matadouros de lagomorfos activos em Portugal, no momento, apenas quatro. Relativamente ao número de colheitas a realizar por matadouro, efectuou-se uma estimativa entre o volume de abate anual de cada um e a dimensão da amostra (n=188).

As carcaças foram escolhidas de forma aleatória, para assegurar a representatividade da população em estudo (Houe *et al.*, 2004; Maroco, 2007), após a inspecção sanitária e antes do processo de refrigeração (tal como estipulado pelo Regulamento (CE) N° 2073/2005 e sua posterior alteração pelo Regulamento (CE) N° 1441/2007, para as carcaças dos outros mamíferos).

A amostra em estudo compreende 188 colheitas de músculo de coelho, em que cada colheita é feita numa carcaça.

7.2. Material e procedimento de colheita

Procedeu-se à colheita de 100g de músculo de coelho, de forma asséptica e utilizando uma faca própria destas operações (material específico dos Técnicos de Colheita de Amostras da ASAE).

A quantidade colhida era imediatamente colocada num saco de plástico esterilizado, posteriormente selado e devidamente identificado. Entre cada dois procedimentos de colheita, a faca era limpa com algodão embebido em álcool a 70° e passava sobre a chama de um maçarico. O técnico que manipulava as colheitas mudava de luvas por lote.

No final, as colheitas foram conservadas refrigeradas na arca frigorífica das carrinhas da ASAE em saco de plástico único (a temperatura de 0 a 5°C), procedendo-se ao seu registo em documentos específicos dos procedimentos do Controlo Oficial por Amostragem: “auto de colheita de amostras” e “requisição para análise laboratorial”.

O transporte das colheitas ao laboratório era feito nesse dia e assegurando de forma continuada a referida temperatura.

7.3. Análise laboratorial

A análise laboratorial foi realizada no laboratório de segurança alimentar da ASAE (LSA). Para além deste laboratório fazer cumprir a norma ISO 7218:2007 (“Microbiologia de alimentos e alimentação animal – requisitos gerais e de orientação para exames microbiológicos”), para as pesquisas foram utilizados os métodos de referência.

O número de mesófilos totais foi estimado a partir dos procedimentos descritos no método ISO 4833:2003; o de *Enterobacteriaceae* a partir dos procedimentos descritos no método ISO 21528-2:2004 e a pesquisa de *Salmonella* decorreu sob os procedimentos descritos no método ISO 6579:2002.

7.4. Análise estatística

Os resultados obtidos em unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g) foram convertidos em logaritmos na base 10 (ver anexo 4).

Foi desenvolvida uma base de dados relacional do *Microsoft Office Access* e criadas duas tabelas. Uma das tabelas contém a informação relativa às colheitas (com os campos “data da colheita”, “código da colheita”, “código dicofre”, “matadouro”, “lote” e “número do boletim analítico”) e a outra os respectivos resultados laboratoriais. Foi adicionada uma terceira tabela com um código que relaciona cada freguesia do país ao respectivo concelho e distrito, o código dicofre. Este código permite localizar geograficamente cada matadouro. Depois foram estabelecidas associações entre as três tabelas.

Em seguida, procedeu-se à caracterização da amostra, mediante a criação de consultas que permitiram a contagem e o agrupamento dos dados (incluindo os valores das frequências absolutas e relativas).

A amostra (considerando apenas os resultados relativos a mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*) foi sujeita a uma análise estatística descritiva quanto: às medidas de tendência ou de localização central (média e mediana), medidas de localização relativa (valor mínimo, máximo e quartis) e medidas de dispersão (desvio-padrão e variância) (Pina, 2005; Maroco, 2007).

Com o objectivo de aferir a possibilidade de associação linear entre o número de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae* na amostra em estudo, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre as duas variáveis (mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*) (Houe *et al.*, 2004).

Para testar se o número de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae* é ou não idêntico entre os quatro matadouros em estudo recorreu-se à análise de variância - ANOVA *one-way* (testa a igualdade entre médias), seguida pelo teste de Tukey (testa qual ou quais dos pares de médias são diferentes) (Houe *et al.*, 2004; Maroco, 2007). O pressuposto da distribuição normal das variáveis dependentes (colónias aeróbias e *Enterobacteriaceae*) nos quatro grupos (matadouros) foi avaliado pelo teste de Shapiro-Wilk. O pressuposto de homogeneidade de variância foi validado com o teste de Levene (Maroco, 2007).

Embora, nos testes dos pressupostos, para os quatro grupos se tenha obtido um p -value $< 0,05$, preferiu-se optar pela ANOVA (método paramétrico potente) em vez de um método não paramétrico. Para esta decisão foi considerado: a robustez da ANOVA à não verificação dos dois pressupostos acima citados; a elevada potência da ANOVA como teste estatístico e a dimensão considerável da amostra e dos grupos em estudo.

As análises estatísticas descritivas, gráficas e inferenciais foram executadas com o *software* estatístico R (www.r-project.org/). Consideraram-se estatisticamente significativos os efeitos cujo *p-value* foi inferior ou igual a 0,05. No anexo 5 apresentam-se os *outputs* da estatística descritiva e inferencial.

7.5. Colheitas - ilustrações



Ilustração 1: Linha de abate de coelhos: Esfola. Foto: Original.



Ilustração 2: Linha de abate de coelhos: Evisceração. Foto: Original.



Ilustração 3: Colheitas. Foto: Original.



Ilustração 4: Materiais utilizados nas colheitas: maçarico, algodão, álcool a 70°C e sacos esterilizados. Foto: Original.

8. Resultados

8.1. Caracterização da amostra

A tabela 16 apresenta a distribuição da amostra (colheitas realizadas, em número absoluto e relativo em percentagem) pelos quatro matadouros em estudo. Procede-se também à caracterização de cada um dos matadouros por número de controlo veterinário e localização geográfica: concelho e região do país a que pertence.

O matadouro de Torres Vedras foi o que contabilizou maior percentagem de colheitas (40,4%). Em seguida foi o matadouro de Estarreja, o único na região centro, contabilizando 37,2% das colheitas (tabela 16).

A região de Lisboa e Vale do Tejo é a que engloba a quase totalidade dos matadouros (Torres Vedras, Mafra e Bombarral), sendo por isso a com maior percentagem de amostras colhidas (62,8%) (tabela 16).

Tabela 16 – Distribuição do número de colheitas por matadouros (n=188): de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Resultados apresentados em número absoluto e relativo.

Distribuição do número de colheitas por matadouros				
Matadouro	Localização		Número de colheitas	
	Nº de controlo veterinário	Concelho	Região	Absoluto
PT-B 802-CE	Estarreja	Centro	70 (70)	37,2 (37,2)
PT-R 801-CE	Torres Vedras	Lisboa e Vale do Tejo	76	40,4
PT-R 803-CE	Mafra	Lisboa e Vale do Tejo	22	11,7
PT-R 804-CE	Bombarral	Lisboa e Vale do Tejo	20 (118)	10,6 (62,8)
Total			188	100

A tabela 17 apresenta a distribuição da amostra (colheitas realizadas, em número absoluto e relativo em percentagem) por data de realização das colheitas, por matadouros e por lotes. Como o intuito do estudo é científico, a partir desta fase apenas se procede à identificação de cada matadouro pela atribuição de uma letra (W, X, Y, Z).

As colheitas foram feitas uma vez por semana, tendo início a 4 de Maio e término a 21 de Junho do presente ano. Em cada visita pretendia-se realizar 20 colheitas. Contudo, este objectivo nem sempre foi conseguido. Nas últimas duas semanas o número de colheitas aumentou (46 e 38, respectivamente) (tabela 17).

No primeiro mês as 20 colheitas semanais eram subdivididas igualmente por lote. Depois iniciou-se uma amostragem mais representativa do número de animais por lote (tabela 17).

Tabela 17 – Distribuição da amostra por data de colheitas, matadouros e lotes a abater: 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Número de colheitas realizadas em número absoluto e relativo (%).

*Duas colheitas prejudicadas

Data	Matadouro	Lote	Nº de animais por lote	Nº de colheitas	
				Absoluto	Relativo (%)
04/05/2010	Y	B1	820	2	0,2
10/05/2010	W	A1	1962	5	0,3
		A2	720	5	0,7
		A3	1988	5	0,3
		A4	470	5	1,1
		Total/média (%)	5140	20	0,4
17/05/2010	Z	C1	1600	5	0,3
		C2	402	5	1,2
		C3	2300	10	0,4
		Total/média (%)	4302	20	0,5
27/05/2010	Y	D1V	860	5	0,6
		D1A	675	5	0,7
		D2V	530	5	0,9
		D3V	500	5	1,0
		Total/média (%)	2565	20	0,8
31/05/2010	W	A2	340	5	1,5
		A3	980	5	0,5
		A4	2269	5	0,2
		A5	1226	5	0,4
		Total/média (%)	4815	20*	0,4
07/06/2010	X	L0367	1363	2	0,1
		L0368	3328	10	0,3
		L0369	3423	12	0,4
		Total/média (%)	8114	24	0,3
14/06/2010	X	L0381	1230	5	0,4
		L0382	1362	6	0,4
		L0383	3318	15	0,5
		L0384	561	5	0,9
		L0385	940	5	0,5
		L0386	1900	10	0,5
Total/média (%)	5993	46	0,8		
21/06/2010	W	A1	1100	10	0,9
		A2	960	8	0,8
		A3	138	4	2,9
		A4	483	5	1,0
		A5	1440	11	0,8
		Total/média (%)	4121	38	0,9

8.2. Prevalência de *Salmonella* na amostra em estudo

Na amostra em estudo (n=188) a pesquisa de *Salmonella* em 25g foi sempre negativa.

8.3. Análise estatística gráfica, descritiva e inferencial ao número de mesófilos totais e *Enterobacteriaceae* na amostra

Os gráficos 11 e 12 apresentam o número de mesófilos totais e de *Enterobacteriaceae*, em log ufc/g, nas colheitas efectuadas, respectivamente. Em cada gráfico está também patente a distribuição das colheitas (n=188) pelos quatro matadouros em estudo.

Em ambos gráficos é visível que existem diferenças, no número de mesófilos totais e de *Enterobacteriaceae*, entre as colheitas efectuadas nos quatro matadouros. Como se verifica, as colheitas efectuadas no matadouro X obtiveram não só as contagens mais elevadas de mesófilos totais e de *Enterobacteriaceae* (em log ufc/g), como há maior variabilidade nos valores apresentados. As colheitas efectuadas no matadouro Y obtiveram as contagens mais baixas (gráficos 11 e 12).

Os matadouros que foram sujeitos a um maior número de colheitas foram o W e o X (gráficos 11 e 12).

Na totalidade de colheitas (n =188), o número de mesófilos totais foi sempre superior a 2 log ufc/g (gráfico 11).

No gráfico 11 observa-se alguma semelhança entre os resultados das colheitas realizadas nos matadouros Y e Z.

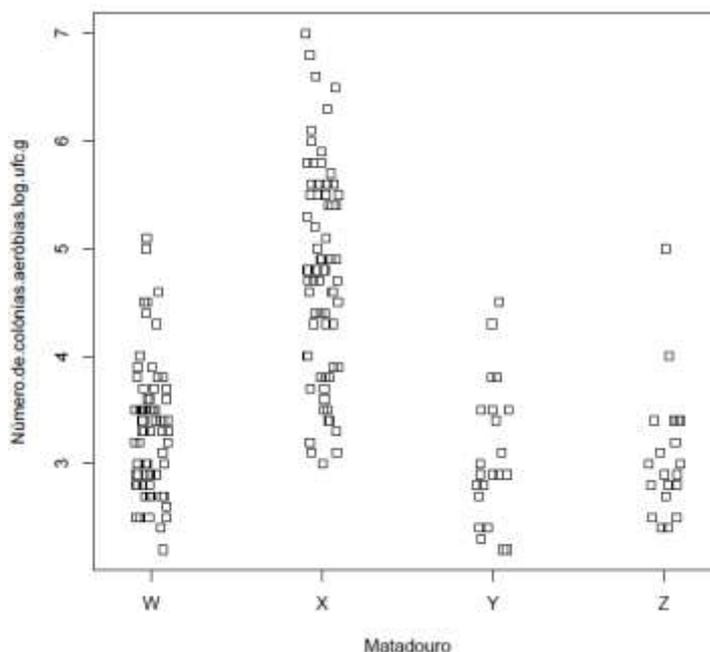


Gráfico 11: Número de mesófilos totais, em log ufc/g, nas colheitas efectuadas nos quatro matadouros em estudo (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010.

Quanto ao número de *Enterobacteriaceae*, nos matadouros W, Y e Z, foi frequentemente inferior a 1 log ufc/g (valor abaixo do nível de detecção do teste). No matadouro Y as colheitas efectuadas tiveram, na totalidade, valores de *Enterobacteriaceae* inferiores a 1 log ufc/g (gráfico 12).

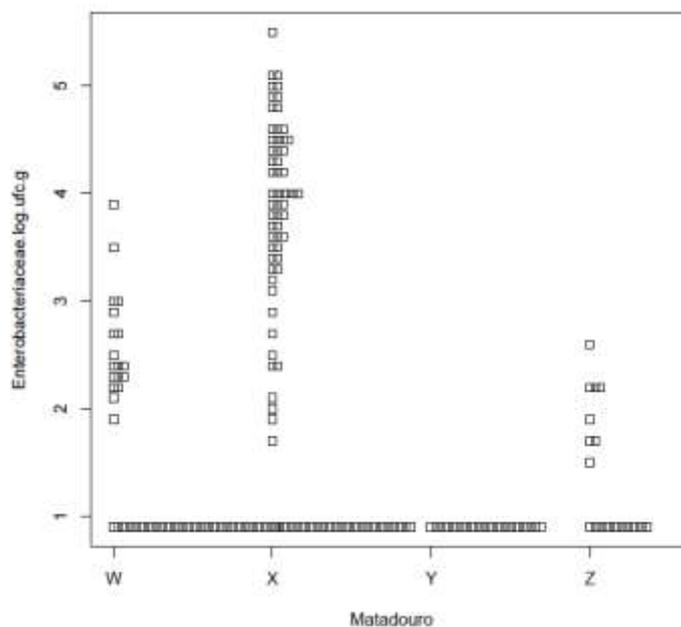


Gráfico 12: Número de *Enterobacteriaceae*, em log ufc/g, nas colheitas efectuadas nos quatro matadouros em estudo (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010.

As tabelas 18 e 19 apresentam os resultados da análise estatística descritiva da amostra e respectivas quatro sub-amostras, para o número de mesófilos totais e de *Enterobacteriaceae*, respectivamente.

Nesta análise, para além de se calcular a média aritmética e o desvio-padrão que lhe está associado, recorreu-se também ao cálculo da mediana e dos quartis, por serem medidas robustas à variação dos dados e com interesse para a caracterização de uma amostra (Pina, 2005; Maroco, 2007).

Quanto ao número de mesófilos totais nas carcaças de coelho, este variou de 2,2 a 7,0 log ufc/g. A média global registada foi de $3,8 \pm 1,1$ log ufc/g e a mediana 3,5 log ufc/g (tabela 18).

Na amostra (n=188) 25% dos valores obtidos, para o número de mesófilos totais, são inferiores ou iguais a 3,0 log ufc/g (primeiro quartil – representa o valor que está a meio da 1ª metade da fila ordenada de valores (Pina, 2005)) e 75% dos valores são

inferiores ou iguais a 4,5 log ufc/g (terceiro quartil – representa o valor que está a meio da 2ª metade da fila ordenada de valores (Pina, 2005)) (tabela 18).

A representação gráfica da distribuição ordenada do número de mesofilos totais na amostra é feita no gráfico 13, uma boxplot. A boxplot realça a informação importante sobre os dados: a mediana (barra horizontal na caixa), os quartis (os extremos da caixa), o mínimo e o máximo e, neste caso, um *outlier* (valor superior ao $3^{\circ}Q+1,5* (3^{\circ}Q-1^{\circ}Q)$ e que se afasta do padrão da distribuição dos dados (Pina, 2005)).

Tabela 18 – Análise estatística descritiva da amostra quanto ao número de mesofilos totais (em log ufc/g): Média, Desvio-Padrão, Variância, Mínimo, Máximo, Mediana ou Segundo Quartil, Primeiro Quartil e Terceiro Quartil.

Matadouro	Média	Desvio-Padrão	Variância	Mínimo	Máximo	Mediana	1º Quartil	3º Quartil
W (n=76)	3,3	0,6	0,4	2,2	5,1	3,4	2,9	3,6
X (n=70)	4,8	1,0	1,0	3,0	7,0	4,8	3,9	5,5
Y (n=22)	3,1	0,6	0,4	2,2	4,5	2,9	2,7	3,5
Z (n=20)	3,1	0,6	0,4	2,4	5,0	3,0	2,8	3,4
Total (n=188)	3,8	1,1	1,2	2,2	7,0	3,5	3,0	4,5

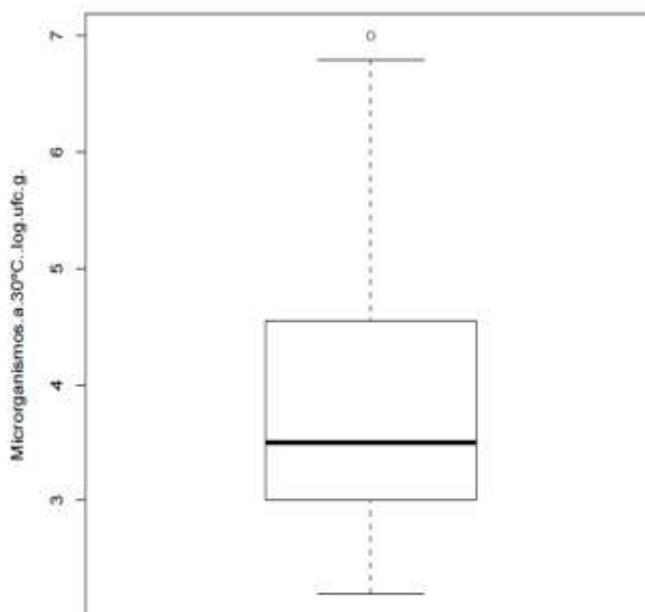


Gráfico 13 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de mesofilos totais na amostra (n=188). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g.

Comparando os resultados obtidos para o número de mesófilos totais na sub-amostra de cada matadouro, a média mais elevada foi obtida nas colheitas realizadas no matadouro X, $4,8 \pm 1,0$ log ufc/g. As colheitas realizadas nos matadouros Y e Z obtiveram a mesma média de mesófilos totais, $3,1 \pm 0,6$ log ufc/g (tabela 18). A média de mesófilos totais da sub-amostra relativa ao matadouro W foi um pouco superior, $3,3 \pm 0,6$ log ufc/g (tabela 18).

O gráfico 14 ilustra a distribuição ordenada do número de mesófilos totais na sub-amostra relativa a cada matadouro.

Apenas a sub-amostra relativa ao matadouro X tem uma distribuição aproximadamente simétrica. A dos outros matadouros é ou ligeiramente enviesada à direita (matadouros Y e Z) ou à esquerda (matadouro W), mas as três têm uma distribuição semelhante. Na sub-amostra dos matadouros W e Z há presença de *outliers* (gráfico 14).

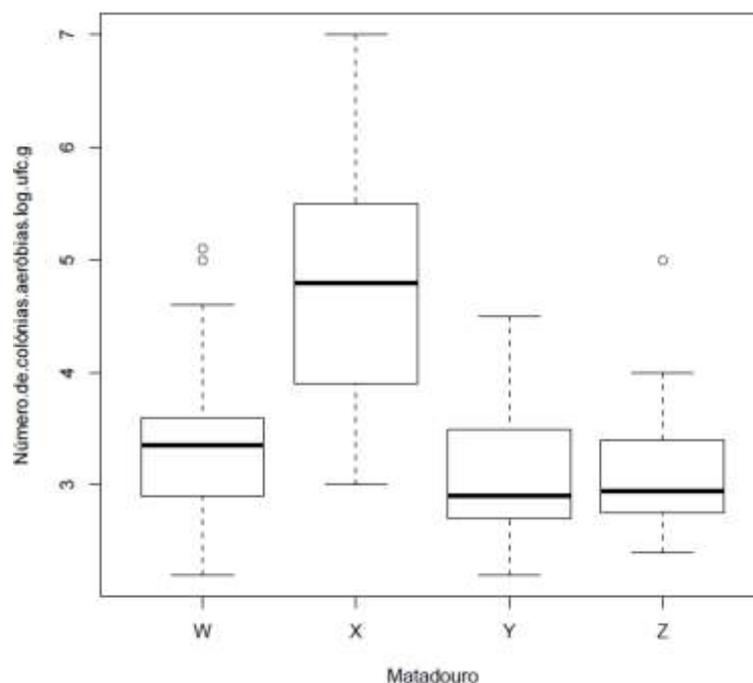


Gráfico 14: Representação gráfica da distribuição ordenada do número de mesófilos totais nas sub-amostras relativas a cada matadouro (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g.

Relativamente às *Enterobacteriaceae*, na amostra em estudo ($n=188$), os valores das contagens variaram de <1 log ufc/g (valor abaixo do limite de detecção do teste) e $5,5$ log ufc/g (tabela 19).

A média global registada foi de $2,0 \pm 1,4$ log ufc/g e a mediana inferior a 1 log ufc/g. Verifica-se uma grande diferença entre os valores destas duas medidas de tendência central. O valor da mediana é baixo e indica que na amostra, 50% dos resultados obtidos foram inferiores a 1 log ufc/g (tabela 19).

Na amostra (n=188) 25% dos valores obtidos são iguais ou superiores a 3,3 log ufc/g (terceiro quartil) (tabela 19).

A representação gráfica da distribuição ordenada do número de *Enterobacteriaceae* na amostra é feita no gráfico 15. Nesta, pode observar-se uma assimetria para a direita da distribuição ordenada dos valores.

Tabela 19 – Análise estatística descritiva da amostra quanto ao número de *Enterobacteriaceae* (em log ufc/g): Média, Desvio-Padrão, Variância, Mínimo, Máximo, Mediana ou Segundo Quartil, Primeiro Quartil e Terceiro Quartil.

Matadouro	Média	Desvio-Padrão	Variância	Mínimo	Máximo	Mediana	1º Quartil	3º Quartil
W (n=76)	1,3	0,8	0,6	<1	3,9	<1	<1	<1
X (n=70)	3,4	1,4	2,0	<1	5,5	3,8	2,4	4,4
Y (n=22)	<1	0,0	0,0	<1	<1	<1	<1	<1
Z (n=20)	1,3	0,6	0,4	<1	2,6	<1	<1	1,8
Total (n=188)	2,0	1,4	2,0	<1	5,5	<1	<1	3,3

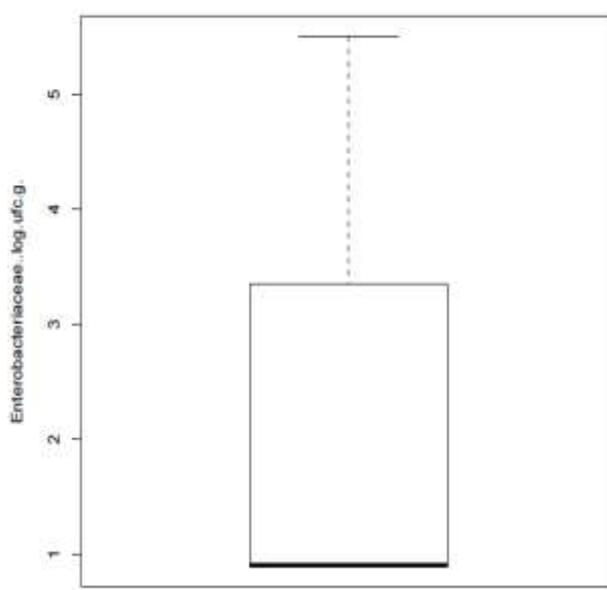


Gráfico 15 – Representação gráfica da distribuição ordenada do número de *Enterobacteriaceae* na amostra (n=188). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g.

Comparando os resultados obtidos para a contagem de *Enterobacteriaceae* em cada matadouro, a média mais elevada foi obtida nas colheitas realizadas no matadouro X, $3,4 \pm 1,4$ log ufc/g (tabela 19).

As colheitas efectuadas nos matadouros W e Z apresentaram idêntico valor de média, $1,3 \pm 0,8$ log ufc/g para o matadouro W e $1,3 \pm 0,6$ log ufc/g para o Z. O matadouro Y obteve o mesmo valor de média e mediana, <1 log ufc/g (tabela 19).

O gráfico 16 ilustra a distribuição ordenada do número de *Enterobacteriaceae* na sub-amostra relativa a cada matadouro.

Também quanto às contagens de *Enterobacteriaceae*, os valores da sub-amostra relativa ao matadouro X têm uma distribuição ordenada diferente das restantes sub-amostras, tal como é evidente por análise do gráfico 16.

O conjunto dos valores das contagens de *Enterobacteriaceae* na sub-amostra dos matadouros W e Z não forma a típica caixa da boxplot. Nessas sub-amostras o valor da mediana e dos dois quartis é o mesmo, sendo a amplitude inter-quartis (diferença entre o terceiro e o primeiro quartil) igual a zero e representando-se somente a mediana (gráfico 16).

Como na sub-amostra relativa ao matadouro W o valor máximo é $3,9$ log ufc/g, há valores que se encontram representados como *outliers*, afastando-se da distribuição do conjunto de dados (gráfico 16).

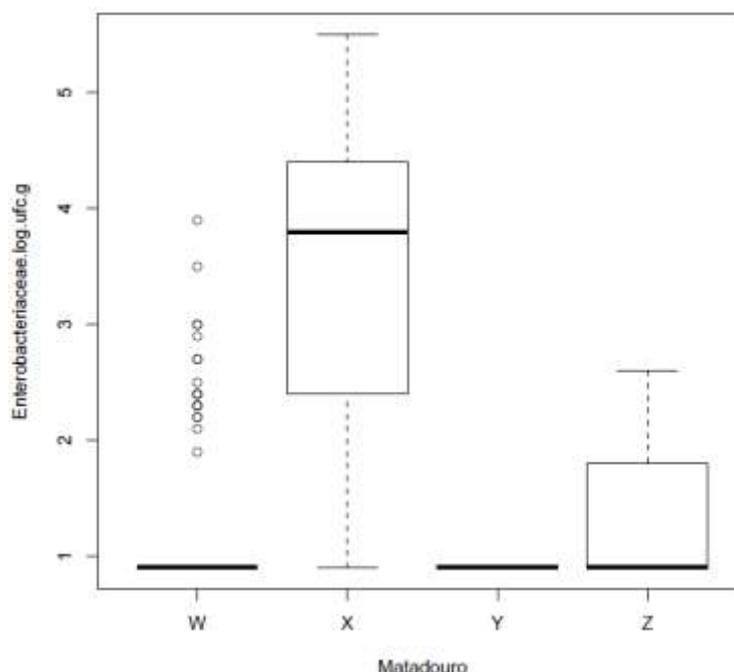


Gráfico 16: Representação gráfica da distribuição ordenada do número de *Enterobacteriaceae* nas sub-amostras relativas a cada matadouro (W:76; X:70; Y:22; Z:20). Colheitas realizadas de 4 de Maio a 21 de Junho de 2010. Valores em log ufc/g.

O coeficiente de correlação de Pearson entre o número de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae*, na amostra, foi de 0,724 (com 95% de IC [0,647;0,785] e p -value <0,01), indicando uma associação linear positiva notória entre as duas variáveis. Elevados valores de mesofilos totais correspondem também a elevados valores de *Enterobacteriaceae* e vice-versa.

Com o objectivo de testar se o número de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae* é ou não idêntico entre os quatro matadouros em estudo, recorreu-se à ANOVA *one-way*. Na análise estatística descritiva realizada verificou-se que existiam diferenças nas sub-amostras relativas a cada matadouro. O que se pretende demonstrar agora é se as diferenças encontradas entre essas quatro sub-amostras são significativas e representativas das diferenças reais na população de origem (Pina, 2005).

Depois de obtidos os resultados (ver em anexo 5 os respectivos outputs) pode concluir-se, com uma probabilidade de erro de 5%, que existem pelo menos dois matadouros em que o número de mesofilos totais é significativamente diferente ($F=58,4$ e p -value < $2,2*10^{-16}$, o que leva a rejeitar H_0 em detrimento de H_1). De acordo com o teste post-hoc HSD de Tukey, as diferenças estatisticamente significativas ocorrem entre os matadouros X e W (com 95% de IC [1,1; 1,8]), entre os matadouros X e Y (com 95% de IC [-2,2;-1,2]) e entre os matadouros X e Z (com 95% de IC [-2,2; -1,2]).

Quanto ao número de *Enterobacteriaceae*, também há diferenças estatisticamente significativas entre matadouros ($F=67,9$ e p -value < $2,2*10^{-16}$). Os pares de matadouros com diferenças estatisticamente significativas foram os mesmos: matadouros X e W (com 95% de IC [1,6;2,5]), os matadouros X e Y (com 95% de IC [-3,1;-1,8]) e os matadouros X e Z (com 95% de IC [-2,7; -1,4]).

9. Discussão

9.1. Prevalência de *Salmonella* spp. na amostra em estudo

Na amostra em estudo (n=188) não foi detectada *Salmonella* spp. (ausência em 25g de cada carcaça). Tendo encontrado zero positivos na amostra mas considerando que, de facto, a bactéria está presente na população em estudo (carcaças de coelho no final da linha de abate mas antes do processo de refrigeração) e um teste de detecção perfeito (100% de sensibilidade e especificidade), a prevalência real é inferior à prevalência esperada (2%) (Houe *et al.*, 2004).

Não ter sido detectado *Salmonella* spp. não significa que esta bactéria não esteja presente. Encontra-se a um nível baixo na população em estudo. Este facto, aliado a boas práticas de higiene durante o processo de abate, faz com que a prevalência seja frequentemente menor que 5%, o que reduz a probabilidade da sua detecção pelo teste usado e possa dar uma falsa indicação de “ausência” (CE, 2002; EFSA, 2010).

A presença de *Salmonella* spp. nas carcaças depende essencialmente de dois factores: da existência de animais infectados para abate e, da contaminação cruzada das carcaças (influenciada pela higiene das operações de abate) (Humphrey, 2000).

A ausência de *Salmonella* spp. pode indicar que não foram abatidos animais infectados e, se foram, não houve contaminação cruzada das carcaças. Este facto resulta da aplicação de procedimentos para prevenir e reduzir a contaminação. Entre esses procedimentos deve constar: a redução do tempo e do stress dos animais durante o transporte para o matadouro; o tempo de espera antes do abate; o abate incidir apenas em animais limpos; e, a aplicação de boas práticas de higiene durante os procedimentos de abate (CE, 2003; Hugas & Tsigarida, 2008).

No entanto, em qualquer trabalho de investigação, é necessário considerar a possibilidade de ocorrência de erros que possam ter diminuído a representatividade da amostra (Maroco, 2007). Estes erros podem ter derivado: do elevado valor de prevalência esperada considerado, do erro padrão definido para o cálculo do tamanho da amostra, da amostragem efectuada, do curto período para a realização das colheitas.

Relativamente ao elevado valor de prevalência esperada, foi considerado um valor de 2%. Este valor foi calculado por Little *et al.* (2008), num estudo realizado para a pesquisa desta bactéria em 25g de músculo, utilizando um método destrutivo e tendo a fase da amostragem decorrido nos postos de venda. Porém, ao passar a pesquisa de *Salmonella* spp. do matadouro para os postos de venda, Little *et al.* aumentaram a possibilidade de maior

contaminação da carne de coelho (Arroyo & Arroyo, 1995; Kohler *et al.*, 2008; Little *et al.*, 2008; Rhoades *et al.*, 2009).

Ao ter-se utilizado, neste estudo, o valor de prevalência de 2%, corre-se o risco de se sobrestimar o valor de prevalência real dado que a amostragem decorreu no matadouro (Houe *et al.*, 2004), fonte inicial de possível contaminação e não nos postos de venda, como fez Little. Correu-se este risco por ausência de outros dados científicos.

Quanto ao erro padrão definido para o cálculo do tamanho da amostra, definiu-se um valor igual ao da prevalência esperada, ou seja, 2%. Se tivesse sido assumido um erro padrão de menor valor (1%), o tamanho da amostra seria necessariamente maior (Houe *et al.*, 2004). Este facto, poderia conduzir a uma maior probabilidade de detecção de *Salmonella* mas tornaria o presente estudo inexecutável.

No que concerne à amostragem efectuada, seguiu-se a aleatória de modo a permitir maior fidedignidade na extrapolação dos resultados obtidos para a população (Houe *et al.*, 2004; Regulamento (CE) N° 2073/2005). No entanto, o número de colheitas realizado em cada visita aos matadouros, deveria ter sido mais representativo do número de animais a abater por lote (tabela 17).

Finalmente, quanto ao curto período de colheitas (cerca de dois meses), o risco de a amostra ser pouco representativa do abate de lagomorfos e de os resultados obtidos serem apenas casuais, é maior. Esta situação seria contornável se o período de colheitas fosse alargado e, em cada semana fosse realizado um número menor de colheitas (por exemplo 10 por semana).

Embora possam ter ocorrido erros, o resultado obtido não é diferente do de outros estudos idênticos, em que *Salmonella* spp. ou não foi detectada ou foi detectada em pequena prevalência em carne de coelho (Cerrone *et al.*, 2004; Rodríguez-Calleja *et al.*, 2006; Kohler *et al.*, 2008; Little *et al.*, 2008). Ao contrário do que ocorre com a carne de outras espécies animais, *Salmonella* spp. é raramente encontrada na carne coelho (Kohler *et al.*, 2008), pelo menos, até à presente data.

No entanto, este facto não significa que *Salmonella* spp. não deva ser monitorizada pelos operadores que efectuem abate de lagomorfos. Há razões para que tal aconteça:

- *Salmonella* constitui um dos principais agentes patogénicos envolvidos nos surtos humanos de origem alimentar (Mataragas *et al.*, 2008);

- a salmonelose é uma zoonose, sendo esta bactéria frequentemente detectada nas carcaças e carne dos animais destinados à alimentação humana (Hugas & Tsigarida, 2008);
- a pesquisa de *Salmonella* spp. é critério de higiene para a produção de carcaças de outros animais (Regulamento (CE) N° 2073/2005), evidenciando a sua relevância para a saúde pública;
- embora seja frequentemente detectada na carne de frango e porco, as mais consumidas (Arroyo & Arroyo, 1995; Uyttendaele *et al.*, 1998; Whyte *et al.*, 2002; Pinto *et al.*, 2006; Hugas *et al.*, 2009), as carcaças e carne de qualquer animal podem ser contaminadas;
- situações de stress para os animais como um longo tempo de transporte para o matadouro e um longo período de privação de água e alimento antes do abate, podem activar infecções latentes. Nesta situação, nem os animais infectados nem as suas carcaças serão reconhecidos no acto de inspecção sanitária (Uyttendaele *et al.*, 1998; Humphrey, 2000; Swanenburg *et al.*, 2001 ; CE, 2003 ; Woldemarian *et al.*, 2005; Pinto *et al.*, 2006);
- a contaminação das carcaças introduz esta bactéria na cadeia alimentar, potenciando a contaminação cruzada das superfícies e outros alimentos (Humphrey, 2000; CE, 2003);
- nos coelhos, a salmonelose é considerada uma doença de cuniculturas rurais (EFSA, 2005), sendo rara nas cuniculturas industriais (Boucher & Nouaille, 1996; EFSA, 2005). No entanto, na presença de determinadas condições e factores de risco (a introdução de animais infectados em estado latente, a contaminação da ração ou da água de bebida, a presença de outros roedores ou aves, a falta de higiene e de vazio sanitário) aumentam a possibilidade de doença (Boucher & Nouaille, 1996; EFSA, 2005);
- nos coelhos infectados por *Salmonella* spp. o estado de latência é possível (EFSA, 2005);
- entre os serotipos de *Salmonella* frequentemente responsáveis por causar doença ao coelho encontram-se *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis (EFSA, 2005) - serotipos frequentemente associados a surtos humanos.

Como se verifica, a contaminação das carcaças de coelho por *Salmonella* spp. e a sua introdução na cadeia alimentar humana, é possível. Por isso, esta bactéria deveria ser incluída nas pesquisas rotineiras efectuadas pelos estabelecimentos de abate de lagomorfos, com critérios microbiológicos de higiene claramente definidos.

9.2. Análise estatística gráfica, descritiva e inferencial ao número de mesofilos totais e *Enterobacteriaceae* na amostra

Os resultados obtidos nas análises realizadas a mesofilos totais e *Enterobacteriaceae* foram relevantes. Podem ser comparados com resultados de outros estudos internacionais e com os limites dos critérios estabelecidos para as outras espécies animais.

Os estudos de investigação internacionais que vão servir de termo de comparação com o presente estudo foram levados a cabo em países onde o consumo de carne de coelho é significativo. Estes estudos mencionam a falta de atenção dada à possível contaminação microbiológica da carne de coelho e a ausência de critérios de higiene estabelecidos a nível comunitário para o seu processo de produção.

Sobressaem nestes estudos os trabalhos de investigação de Badr, (2004), egípcio, de Cerrone *et al.*, (2004), italianos, de Rodríguez-Calleja *et al.*, (2005; 2006), espanhóis e de Kohler *et al.*, (2008), suíços.

Além de se comparar os dados obtidos neste trabalho com os dados dos estudos internacionais já mencionados, comparar-se-ão igualmente com os limites fixados por lei para as carcaças de bovinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos. O objectivo desta última comparação é encontrar termos de referência de qualidade com critérios já estabelecidos.

No entanto, como os valores a comparar são diferentes, quer nos estudos de investigação quer nos critérios de higiene, poderão existir algumas margens de erro, perfeitamente admissíveis quando se comparam realidades distintas. Essas divergências derivam da utilização de diferentes métodos de amostragem (método não destrutivo ou método destrutivo) e de diferentes unidades (grama ou centímetro quadrado).

9.2.1. Mesofilos totais

Relativamente à contaminação da amostra (n=188) por mesofilos totais, a análise gráfica inicial evidencia a existência de diferenças nas sub-amostras de cada matadouro. Os matadouros com maior número de colheitas realizadas foram os que demonstraram maior variabilidade nos dados (gráfico 11).

Quanto à caracterização da amostra para o número de mesofilos totais, os valores oscilaram entre um mínimo de 2,2 e um máximo de 7,0 log ufc/g. A média obtida foi de $3,8 \pm 1,1$ log ufc/g e a mediana 3,5 log ufc/g, um valor ligeiramente inferior (tabela 18).

No estudo realizado por Cerrone *et al.* (2004), 87% das carcaças de coelho obtiveram valores de mesofilos totais inferiores a 3,5 log ufc/cm². Neste estudo, apenas 45% das colheitas efectuadas tiveram valores de mesofilos totais inferiores a 3,5 log ufc/g.

Kohler *et al.* (2008) obtiveram no seu estudo, valores de mesofilos totais nas carcaças de coelho que variaram entre 1,8 e 5,3 log ufc/cm², com um valor de média de $3,3 \pm 0,5$ log ufc/cm². No presente estudo, os valores obtidos foram mais elevados tendo oscilado entre um mínimo de 2,2 e um máximo de 7,0 log ufc/g e com média de $3,8 \pm 1,1$ log ufc/g (tabela 18).

No entanto, as diferenças encontradas entre os dois estudos internacionais e o presente resultam da sensibilidade do método de amostragem utilizado. Enquanto nos estudos internacionais foi utilizado um método não destrutivo, no presente estudo optou-se por um método destrutivo. As diferenças entre os dois métodos residem na menor sensibilidade dos não destrutivos em resultado da menor recuperação de microrganismos na superfície da área de carcaça amostrada, obtendo-se assim valores de contaminação mais baixos. Por tal facto, antes desta comparação deve ser utilizado um factor de correcção que compense a menor sensibilidade de um método face a outro (Vieira-Pinto *et al.*, 2003; Castelo, 2008; EFSA, 2010).

Já no estudo realizado por Rodríguez-Calleja *et al.* (2005), que utilizou um método destrutivo, o número de mesofilos totais em carcaças de coelho foi mais elevado, oscilando entre uma média de 4,0 e 5,0 log ufc/g.

Comparando os resultados obtidos no presente estudo com os limites fixados por lei para as carcaças de bovinos, ovinos, caprinos, equinos e suínos, a avaliação da amostra quanto ao parâmetro “mesofilos totais” é aceitável.

De facto, o Regulamento (CE) N° 2073/2005, e a sua alteração pelo Regulamento (CE) N° 1441/2007, estabelecem para as carcaças de bovinos, ovinos, caprinos e equinos, um limite mínimo de mesofilos totais de 3,5 log ufc/ cm² e um limite máximo de 5,0 log ufc/ cm² e para as carcaças de suínos, um limite mínimo de 4,0 log ufc/ cm² e um limite máximo de 5,0 log ufc/ cm². A avaliação do processo de produção é considerada satisfatória quando a média logarítmica diária for inferior ou igual ao limite mínimo; aceitável quando se encontrar entre o limite mínimo e o máximo; e, não aceitável quando for superior ao limite máximo (Castelo, 2008).

Na amostra em estudo, se considerarmos o valor da mediana, 3,5 log ufc/g, a avaliação é satisfatória. Se considerarmos o valor da média, $3,8 \pm 1,1$ log ufc/g (tabela 18), a avaliação é aceitável.

Na caracterização da amostra, a média e a mediana são ambas medidas de tendência central. Contudo, como a média é uma medida mais sensível a erros ou a valores extremos (*outliers*), a mediana representa melhor a distribuição global dos dados quando há grande dispersão (Pina, 2005; Maroco, 2007).

Quanto aos resultados obtidos para as quatro sub-amostras correspondentes a cada matadouro, a sub-amostra do matadouro X foi a que obteve maior número de mesofilos totais. De facto, a média obtida (igual à mediana) foi de $4,8 \pm 1$ log ufc/g, um valor elevado. O valor máximo obtido nesta sub-amostra, 7,0 log ufc/g, foi não só o valor máximo da amostra global como também considerado um *outlier* (tabela 18 e gráfico 13). A média obtida nesta sub-amostra aproxima-se dos resultados obtidos por Rodríguez-Calleja *et al.* (2005), 4,0 a 5,0 log ufc/g.

Se utilizássemos os critérios de higiene estabelecidos, ainda assim a sub-amostra do matadouro X seria classificada como aceitável, embora o seu valor seja elevado (aproxima-se do limite máximo estabelecido, 5,0 log ufc/cm²).

Nos outros três matadouros, o número de mesofilos totais na respectiva sub-amostra foi mais baixo. Os valores das médias e medianas foram semelhantes e, quando comparadas com os limites estabelecidos para as outras espécies, o processo é considerado satisfatório (na sub-amostra do matadouro W a média foi de $3,3 \pm 0,6$ log ufc/g e na sub-amostra dos matadouros Y e Z, $3,1 \pm 0,6$ log ufc/g) (tabela 18).

Pelo exposto conclui-se que o número de mesofilos totais revelou, nos quatro matadouros, valores de contaminação aceitáveis e satisfatórios.

9.2.2. *Enterobacteriaceae*

Quanto ao número de *Enterobacteriaceae* a média obtida na amostra foi de $2,0 \pm 1,4$ log ufc/g e a mediana inferior a 1 log ufc/g. Os limites oscilaram entre <1 e 5,5 log ufc/g (tabela 19).

Kohler *et al.* (2008) referem que nem todas as carcaças de coelho foram positivas a *Enterobacteriaceae* e que estas tiveram mais frequentemente valores inferiores a 1,5 log ufc/cm². No entanto, há que considerar a menor sensibilidade do seu método de amostragem. No presente estudo, os valores na amostra foram mais elevados, registando 50%, valores

superiores a 1 log ufc/g (o valor da mediana) e 75% valores inferiores ou iguais a 3,3 log ufc/g (o terceiro quartil) (tabela 19 e gráfico 15).

Por outro lado, Badr (2004) registou altas contagens de mesofilos totais, 6,0 log ufc/g, e de *Enterobacteriaceae*, 4,8 log ufc/g, em carne de coelho nos matadouros e comparou os valores obtidos com os de outras carnes cruas.

Quanto ao número de *Enterobacteriaceae*, o Regulamento (CE) N° 2073/2005 e sua posterior alteração pelo Regulamento (CE) N° 1441/2007 estipulam para as carcaças de bovinos, ovinos, caprinos e equinos, um limite mínimo de 1,5 log ufc/cm² e um limite máximo de 2,5 log ufc/cm². Para as carcaças de suínos, os valores dos limites são superiores, 2,0 log ufc/cm² como limite mínimo e 3,0 log ufc/cm² como limite máximo.

Assim, ao considerar-se o valor da média obtida na amostra em estudo quanto a *Enterobacteriaceae*, 2,0±1,4 log ufc/g, o valor é elevado, mas ainda se situa no nível aceitável dos limites estabelecidos para o primeiro grupo (2,5 log ufc/cm²). Relativamente aos limites estipulados para as carcaças de suínos é considerada uma avaliação satisfatória. Ao comparar-se os limites estabelecidos com o valor da mediana, <1 log ufc/g, a avaliação da amostra é sempre satisfatória.

As quatro sub-amostras em estudo, também apresentaram diferenças no número de *Enterobacteriaceae*. Enquanto na sub-amostra do matadouro Y, todos os valores foram inferiores a 1 log ufc/g (valor abaixo do nível de detecção do teste), a sub-amostra do matadouro X voltou a apresentar os resultados mais elevados, com uma média de 3,4±1,4 log ufc/g e uma mediana de 3,8 log ufc/g. O valor máximo das contagens de *Enterobacteriaceae* foi elevado, 5,5 log ufc/g (tabela 19 e gráfico 16). Comparando com os limites estabelecidos para as carcaças das outras espécies animais, tanto a média como a mediana são não aceitáveis.

Nas restantes sub-amostras, o número de *Enterobacteriaceae* é satisfatório.

9.2.3. Análise estatística inferencial

O coeficiente de correlação de Pearson ($r = 0,724$, com 95% de IC [0,647;0,785] e $p < 0,01$) evidencia que existe uma relação positiva forte e significativa entre as duas variáveis, mesofilos totais e *Enterobacteriaceae* (quanto mais próximo de 1, mais forte é a relação positiva entre duas variáveis) (Houe *et al.*, 2004).

De facto, as colheitas com valores mais elevados de mesofilos totais também o eram para *Enterobacteriaceae* e vice-versa. A sub-amostra do matadouro X foi a que teve valores

mais elevados de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae* e a sub-amostra do matadouro Y foi a que teve as contagens mais baixas (tabelas 18 e 19, gráficos 14 e 16).

Extrapolando os resultados obtidos na amostra para a população em estudo (carcaças de coelho no final da linha de abate mas antes do processo de refrigeração), há uma associação linear positiva entre os dois parâmetros em estudo, mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*, ambos indicadores da higiene nos procedimentos de abate.

Finalmente, mediante o teste ANOVA *one-way* e o teste post-hoc HSD de Tukey, verificou-se que existem diferenças significativas entre os quatro matadouros, quanto à contaminação por mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*, nomeadamente, entre os matadouros X e W, X e Y e X e Z.

Assim, os valores encontrados, tanto de mesofilos totais como de *Enterobacteriaceae*, a boa correlação entre eles e a existência de diferenças na contaminação entre matadouros, reflectem a possível contaminação cruzada durante os procedimentos de abate, do músculo inicialmente estéril (Badr, 2004; Rhoades *et al.*, 2009; EFSA, 2010).

Os resultados demonstraram não existir um nível homogéneo na qualidade microbiológica das carcaças entre os quatro matadouros.

Entre os quatro matadouros, o X foi o que obteve sempre níveis mais elevados de contaminação, e significativamente diferente dos outros três, que obtiveram sempre avaliações satisfatórias ou aceitáveis, tendo como referência os critérios estabelecidos para as outras espécies. Na contagem de *Enterobacteriaceae* a sub-amostra do matadouro X teve uma avaliação não satisfatória. Este dado é preocupante pois elevados níveis de *Enterobacteriaceae* são indicadores de contaminação fecal, o que pode aumentar o risco e a incidência de alguns agentes patogénicos para o ser humano, entre os quais, membros do género *Salmonella* spp. (Arroyo & Arroyo, 1995; Badr, 2004).

As diferenças encontradas entre sub-amostras evidenciam possíveis discrepâncias entre os matadouros na execução das boas práticas de higiene.

De facto, o número de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae* fornece um registo da performance da higiene ao longo dos procedimentos de abate e preparação, constituindo uma abordagem sensível para detectar falhas de higiene. A sua presença nas carcaças, em números elevados, resulta de falhas na limpeza e desinfecção das instalações, superfícies e utensílios. As *Enterobacteriaceae*, em números elevados, são também indicadores de contaminação fecal (EFSA, 2010).

Não obstante, durante a realização das colheitas, as normas relativas à execução de boas práticas de higiene e à manutenção da temperatura adequada, foram cumpridas.

De acordo com a legislação em vigor, os operadores que executam o abate de lagomorfos a nível nacional são obrigados a cumprir medidas que garantam a aplicação de boas práticas de higiene em associação com os princípios HACCP (Swanenburg *et al.*, 2001; Hugas & Tsigarida, 2008).

Porém, embora o cumprimento das normas previstas pelos princípios HACCP seja um requisito essencial para se alcançar padrões elevados de higiene e garantia de segurança alimentar, a sua eficácia está dependente de vários factores, muitas vezes difíceis de controlar. Entre estes factores destacam-se: a necessária combinação com outros sistemas de gestão de segurança, a aplicação de boas práticas de higiene, e a interiorização do cumprimento escrupuloso desses princípios por parte dos operadores (Motarjemi & Kaferstein, 1999; Jevsnik *et al.*, 2008; Sofos, 2008).

Na verdade, sem objectivos claramente definidos que garantam um mesmo nível de qualidade microbiológica das carcaças de coelho, é impossível não haver diferenças entre matadouros.

Para que exista um mesmo nível de qualidade microbiológica entre matadouros é necessário considerar: o tipo de equipamentos e superfícies; a formação dos operários e a sua concentração no processo produtivo; o grau de sanidade dos animais abatidos; o controlo da temperatura ambiente; o volume de abate e a velocidade da linha de abate (Arroyo & Arroyo, 1995; Humphrey, 2000).

É de salientar, a este propósito, que o matadouro que registou os valores mais elevados de contaminação (o matadouro X) era o que tinha maior volume de abate por dia, maior velocidade na linha de abate e menor concentração dos operários no processo de abate.

Esta situação, observada durante a visita para recolha de colheitas, tornou evidente que a não observância de certos procedimentos de higiene pode contribuir para a contaminação das carcaças e afectar a qualidade microbiológica das mesmas.

10. Conclusão

Com este trabalho pretendeu-se avaliar a qualidade microbiológica das carcaças de coelho produzidas em Portugal, nomeadamente quanto à prevalência de *Salmonella* spp. e à contaminação por mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*, com o objectivo final de estabelecer critérios microbiológicos para o seu processo de produção.

Considerando que:

- a produção, a comercialização e o consumo de carne de coelho estão a aumentar a nível mundial;
- a FAO recomenda a produção e o consumo de carne de coelho de forma a combater a pobreza e a desnutrição nos países em desenvolvimento;
- a carne de coelho faz parte da dieta alimentar dos países da bacia mediterrânica e de Portugal;
- o seu consumo, em Portugal, regista um incremento significativo levando o país a importar grande quantidade desta carne, anualmente;
- à medida que aumenta o comércio internacional aumentam os riscos de incidentes de origem alimentar;
- a contaminação das carcaças de coelho por *Salmonella* spp. e a entrada desta bactéria no circuito alimentar é possível. Embora não haja tradição do consumo desta carne pouco cozinhada, existe sempre o risco de contaminação cruzada das superfícies e outros alimentos;
- os resultados obtidos neste trabalho, tanto ao nível de mesofilos totais como de *Enterobacteriaceae*, a boa correlação entre eles e a existência de diferenças na contaminação entre matadouros, reflectem a possível contaminação cruzada durante os procedimentos de abate, do músculo inicialmente estéril;
- é necessário ter em conta, entre outros, o tipo de equipamentos e superfícies, a formação dos operários e a sua concentração no processo produtivo, a qualidade sanitária dos animais abatidos, o controlo da temperatura ambiente, o volume de abate e a velocidade da linha de abate, para que exista um mesmo nível de qualidade microbiológica entre matadouros;
- a inexistência de critérios microbiológicos para esta carne se poder explicar pelo facto de não se terem registado ainda incidentes alimentares, com origem na carne de coelho e, o seu consumo não ser ainda comparável, em termos absolutos, ao de outras espécies de animais destinadas ao consumo humano.

Por todas estas considerações, torna-se necessário:

- definir claramente objectivos microbiológicos para a carne de coelho, de forma a manter a higiene do processo de produção e evitar potenciais riscos para a saúde humana;
- prevenir e reduzir a contaminação das carcaças, nomeadamente, ao nível *Salmonella* spp., de mesofilos totais e de *Enterobacteriaceae*;
- aplicar os critérios microbiológicos de higiene estabelecidos para as carcaças de outras espécies animais, enquanto não forem definidos critérios específicos para a carne de coelho;
- incluir nas pesquisas rotineiras efectuadas pelos estabelecimentos de abate de lagomorfos, *Salmonella* spp., mesofilos totais e *Enterobacteriaceae*;
- alertar as autoridades sanitárias para o facto de a carne de coelho não ser e não estar imune, como qualquer carne, à contaminação por potenciais agentes patogénicos de origem alimentar para o ser humano.

Assim, propõe-se que os dados obtidos neste estudo sejam levados à Direcção de Análise e Comunicação de Riscos (DACR) da ASAE, para sua avaliação. E, se assim for entendido, que sejam posteriormente encaminhados para a Direcção Geral de Veterinária, de modo a serem estabelecidos critérios Nacionais.

Conclusão geral

Efectuando uma retrospectiva face a este estágio verifico como, de facto, as expectativas e os objectivos que identifiquei não foram gorados. Com efeito, tanto no desenvolvimento das actividades desenvolvidas, quer ao nível do GTP como no trabalho de investigação, tive oportunidade de aplicar e desenvolver competências adquiridas ao longo do curso, nomeadamente – Inspeção Sanitária, Higiene e Saúde Pública, Medicina Preventiva, Técnicas de produção Alimentar, Epidemiologia e Estatística.

Além disso, considero que, apesar do tempo de estágio estar condensado a apenas quatro meses, as experiências efectuadas, pela sua variedade e profundidade, possibilitaram um elevado conhecimento de algumas funções a desempenhar no GTP, o que me permitiria iniciar a vida profissional nesta vertente.

Bibliografia

- Alwan, A., Deignan, T., O'Sullivan, M., Kelly, J. & O'Farrelly, C. (1998). Quantitative assay of *Salmonella* adherence to intestinal epithelial cells: a new method for assessing novel intervention products. *Journal of Microbiological Methods*, 33, 163-170.
- Antunes, P., Réu, C., Sousa, J., Peixe, L. & Pestana, N. (2003). Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 97-103.
- Arroyo, G. & Arroyo, J. (1995). Detection of *Salmonella* serotypes in edible organ meats from markets in Madrid, Spain. *Food Microbiology*, 12, 13-20.
- ASPOC, Associação Portuguesa de Cunicultura (2008). Apresentação. Acedido em Jul. 22, 2010, disponível em: http://www.google.pt/#hl=pt-PT&expIds=17259,27758,27868,27937&xhr=t&q=ASPOC+APRESENTA%C3%87%C3%83O&cp=18&pf=p&sclient=psy&rlz=1R2ADFA_pt-PTPT365&aq=f&aqi=&aql=&oq=ASPOC+APRESENTA%C3%87%C3%83O&gs_rfai=&pbx=1&fp=b82bc71c43c94959
- Badr, H., (2004). Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Science*, 67, 541-548.
- Ben-Barak, Z., Streckel, W., Yaron, S., Cohen, S., Prager, R. & Tschape, H. (2006). The expression of the virulence-associated effector protein gene *avrA* is dependent on a *Salmonella* enterica-specific regulatory function. *International Journal of Medical Microbiology*, 296, 25-38.
- Boucher, S. & Nouaille, L. (1996). *Maladies des lapins*. Paris : Editions France Agricole (CEP).
- Carter, G.R. (Ed.) & Cole, J.R. (Ed.). (1990). *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. (5ªEd.). San Diego: Academic Press.
- Castelo, D. (2008). Harmonização de procedimentos de amostragem em carcaças. Segurança e qualidade alimentar. Acedido em 22 de Jul. de 2010, disponível em: <http://www.infoqualidade.net/SEQUALI/PDF-SEQUALI-04/n4-sequali-09.pdf>
- Cerrone, A., Mariani, F., Ciabrelli, M., Galiero, G., De Carlo, E., Fioretti, A., Baiano, A. & Bartoli, M. (2004). A survey of zoonotic agents in Italian rabbit slaughterhouses. In: *Proceedings of the Eighth World Rabbit Congress*, Puebla City, Mexico. Acedido em 27 de Ago. de 2010, disponível em: <http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2004-Puebla/Papers/Pathology/P-Cerrone-1.pdf>
- CCE, Comissão das Comunidades Europeias (2000). Livro branco sobre a segurança dos alimentos. Bruxelas. pp 62. Acedido em Jul. 20, 2010, disponível em: http://edbl.drapc.min.agricultura.pt/base/documentos/comissao_europeia/lb_seguranca_alimentos.pdf

CE, Comissão Europeia (1999). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on the evaluation of microbiological criteria for food products of animal origin for human consumption. Bruxelas: CE.

CE, Comissão Europeia (2002). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on criteria for evaluation of methods of *Salmonella* detection. Bruxelas: CE.

CE, Comissão Europeia (2003). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on Salmonellae in foodstuffs. Bruxelas: CE.

CE, Comissão Europeia (2006). Comunicação da comissão ao conselho e ao parlamento europeu: melhor formação para uma maior segurança dos alimentos. Bruxelas: CE.

ICMSF, Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas dos Alimentos (2005). Microrganismos em alimentos 6: ecologia microbiana de produtos alimentares (v6). Acedido em Ago. 2, 2010, disponível em: www.icmsf.iit.edu/pdf/.../GuiaSimplificadoPO.pdf

Decreto-Lei nº 560/99, de 18 de Dezembro. Diário da República n.º 293/1999 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Decreto-Lei nº 237/2005 de 30 de Dezembro, Diário da República nº - 250 - I Série. Ministério da Economia e da Inovação. Lisboa.

Decreto-Lei nº 274/2007 de 30 de Julho, Diário da República nº - 145 - I Série. Ministério da Economia e da Inovação. Lisboa.

Despacho nº 20143/2007 de 4 de Setembro, Diário da República nº 170, II Série. Ministério da Economia e da Inovação. Lisboa.

Despacho nº 23912/2008 de 23 de Setembro, Diário da República nº 184, II Série. Ministério da Economia e da Inovação. Lisboa.

Despacho nº 9012/2010 de 26 de Maio, Diário da República nº 102, II Série. Ministério da Economia, da Inovação e do Desenvolvimento. Lisboa.

DGA, Direcção Geral de agricultura (2004). O sector da carne da União Europeia. Comissão Europeia. Acedido em Jul. 25, disponível em: http://ec.europa.eu/agriculture/publi/fact/meat/2004_pt.pdf

DSHPV, Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária (2007). Estudo para estabelecimento de critérios microbiológicos de higiene para carnes de lagomorfos. Lisboa: Direcção Geral de Veterinária.

DSHPV, Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária (2009). PNPR – Normativo de colheitas de amostras em matadouros. Lisboa: Direcção Geral de Veterinária.

Dunkley, K., Callaway, T., Chalova, V., McReynolds, J., Hume, M., Dunkley, C., Kubena, L., Nisbet, D. & Ricke, S. (2009). Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe*, 15, 26–35.

Eckmann, L. & Kagnoff, M. F. (2001). Cytokines in host defense against *Salmonella*. *Microbes and Infection*, 3, 1191-1200.

Europa. Síntese da legislação: segurança alimentar. Acedido em Jul. 20, 2010, disponível em: http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/geral/files/seguranca_alimentar.pdf

Europa: o portal da União Europeia (2007). Síntese da legislação da união europeia: higiene dos géneros alimentícios. Acedido em Jul. 23, 2010, disponível em: http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/veterinary_checks_and_food_hygiene/f84001_pt.htm

Europa: o portal da União Europeia (2008). Síntese da legislação da união europeia: princípios gerais da legislação alimentar – autoridade europeia para a segurança dos alimentos – procedimentos de segurança dos géneros alimentícios. Acedido em Jul. 23, 2010, disponível em: http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/general_provisions/f80501_pt.htm

EFSA, European Food Safety Authority (2005). Scientific report of EFSA: the impact of the current housing and husbandry systems on the health and welfare of farmed domestic rabbits. *EFSA journal*. 267, 1-31.

EFSA, European Food Safety Authority (2010). Technical report of EFSA: the assessment of the comparison of the Australian monitoring programme for carcass to requirements in Regulation (EC) N° 2073/2005 on microbiological criteria on foodstuffs. *EFSA journal*. 8(3): 1452.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (1999). FAO recognizes the increasingly important role of rabbit breeding: global rabbit production exceeds 1 million tones. Acedido em Nov. 27, 2010, disponível em: http://www.fao.org/WAICENT/OIS/PRESS_NE/PRESSENG/2001/pren0157.htm

FAOSTAT. Trade: Trade STAT. Acedido em Nov. 22, 2010, disponível em <http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>

FAOSTAT. Production: Livestock primary. Acedido em Nov. 22, 2010, disponível em <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>

Filho, A.T.F., Mesquita, A.J., Oliveira, J.P., Bueno, C.P., Lopes, J.H., Couto, M.V. & Borges N.M.F. (2006). Qualidade bacteriológica de meias-carcaças bovinas oriundas de matadouros frigoríficos do Estado de Goiás habilitados para exportação. *Ciência Animal Brasileira*, 7(3), 315-325.

GA, Guia de alimentação – Microbiología alimentaria. San Sebastián, España. Acedido em Agost. 26, 2010, disponível em: <http://www.ikerlarre.e.telefonica.net/paginas/microbiologia.htm>

Grimont, P.A.D., Grimont, F. & Bouvet, P. (2000). Taxonomy of the genus *Salmonella*. In Wray, C. & Wray, A. (Eds.), *Salmonella in domestic animals* (pp. 1-15). New York: Cabi Publishing

GTP, Gabinete Técnico e Pericial (2009). Plano nacional de colheita de amostras (PNCA). Lisboa: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.

GTP, Gabinete Técnico e Pericial (2010_a). Plano integrado de controlo oficial por amostragem (PICOA). Lisboa: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.

GTP, Gabinete Técnico e Pericial (2010_b). Relatório: plano nacional de colheita de amostras (PNCA). Lisboa: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.

Houe, H., Ersboll, A. K., Toft, N., (2004). Introduction to veterinary epidemiology. Division of Epidemiology, Department of Large Animal Sciences, The Royal Veterinary and Agricultural University. Frederiksberg, Denmark

Hugas, M. & Tsigarida, E. (2008). Pros and cons of carcass decontamination: the role of the european food safety authority. *Meat Science*, 78, 43-52.

Hugas, M., Tsigarida, E., Robinson, T. & Calistri, P. (2009). The EFSA scientific panel on biological hazards first mandate: may 2003 - may 2006. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 188-193.

Humphrey, T. Public-health aspects of *Salmonella* Infection (2000). In Wray, C. & Wray, A. (Eds.). *Salmonella* in domestic animals (pp. 245-259). New York: Cabi Publishing.

INE, Instituto Nacional de Estatística (2003). Estatísticas Agrícolas de 2002, Dados do Instituto Nacional de Estatística, Edição de 2003. Acedido em Nov. 30, 2010, disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_pesquisa&frm_acciao=PESQUISAR&frm_show_page_num=1&frm_modulo_pesquisa=PESQUISA_SIMPLES&frm_texto=estatisticas+agricolas&frm_modulo_texto=MODO_TEXTO_ALL&frm_data_ini=&frm_data_fim=&frm_tema=QUALQUER_TEMA&frm_area=o_ine_area_Publicacoes

INE, Instituto Nacional de Estatística (2004). Estatísticas Agrícolas de 2003, Dados do Instituto Nacional de Estatística, Edição de 2004. Acedido em Nov. 30, 2010, disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_pesquisa&frm_acciao=PESQUISAR&frm_show_page_num=1&frm_modulo_pesquisa=PESQUISA_SIMPLES&frm_texto=estatisticas+agricolas&frm_modulo_texto=MODO_TEXTO_ALL&frm_data_ini=&frm_data_fim=&frm_tema=QUALQUER_TEMA&frm_area=o_ine_area_Publicacoes

INE, Instituto Nacional de Estatística (2005). Estatísticas Agrícolas de 2004, Dados do Instituto Nacional de Estatística, Edição de 2005. Acedido em Nov. 30, 2010, disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_pesquisa&frm_acciao=PESQUISAR&frm_show_page_num=1&frm_modulo_pesquisa=PESQUISA_SIMPLES&frm_texto=estatisticas+agricolas&frm_modulo_texto=MODO_TEXTO_ALL&frm_data_ini=&frm_data_fim=&frm_tema=QUALQUER_TEMA&frm_area=o_ine_area_Publicacoes

INE, Instituto Nacional de Estatística (2007). Estatísticas Agrícolas de 2006, Dados do Instituto Nacional de Estatística, Edição de 2007. Acedido em Nov. 30, 2010, disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_pesquisa&frm_acciao=PESQUISAR&frm_show_page_num=1&frm_modulo_pesquisa=PESQUISA_SIMPLES&frm_texto=estatisticas+agricolas&frm_modulo_texto=MODO_TEXTO_ALL&frm_data_ini=&frm_data_fim=&frm_tema=QUALQUER_TEMA&frm_area=o_ine_area_Publicacoes

INE, Instituto Nacional de Estatística (2010). Estatísticas Agrícolas de 2009, Dados do Instituto Nacional de Estatística, Edição de 2010. Acedido em Jun. 20, 2010, disponível em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_pesquisa&frm_accao=PESQUISAR&frm_show_page_num=1&frm_modulo_pesquisa=PESQUISA_SIMPLES&frm_texto=estatisticas_agricolas&frm_modulo_texto=MODO_TEXTO_ALL&frm_data_ini=&frm_data_fim=&frm_tema=QUALQUER_TEMA&frm_area=o_ine_area_Publicacoes

Jevsnik, M., Hlebec, V. & Raspor, P. (2008). Food safety knowledge and practices among food handlers in Slovenia. *Food Control*, 19, 1107-1118.

Jorgensen, F., Bailey, R., Williams, S., Henderson, P., Wareing, D.R.A., Bolton, F.J., Frost, J.A., Ward, L. & Humphrey, T.J. (2002). Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *International Journal of Food Microbiology*, 76, 151-164.

Kaufmann, S.H.E., Raupach, B. & Finlay, B.B. (2001). Introduction: microbiology and immunology: lessons learned from *Salmonella*. *Microbes and Infection*, 3, 1177-1181.

Kleter, G.A. & Marvin, H.J.P. (2009). Indicators of emerging hazards and risks to food safety. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1022-1039.

Kohler, R., Krause, G., Beutin, L., Stephan, R. & Zweifel, C. (2008). Shedding of food-borne pathogens and microbiological carcass contamination in rabbits at slaughter. *Veterinary Microbiology*, 132, 149-157.

Lax, A.J., Barrow, P.A., Jones, P.W. & Wallin, T.S. (1995). Current perspectives in salmonellosis. *British veterinary journal*, 151, 351.

Lianou, A., Konstantinos & Koutsoumanis, K. (2010). Effect of the growth environment on the strain variability of *Salmonella enterica* kinetic behavior. *Food Microbiology*, xxx, 1-10.

Little, C., Richardson, J., Owen, R., Pinna, E. & Threlfall, E. (2008). *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003–2005. *Food Microbiology*, 538-543.

Liu, H., Gai, F., Gasco, L., Brugiapaglia, A., Lussiana, C., Guo, K., Tong, J. & Zoccarato, I. (2009). Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. *Meat Science*, 83, 678-683.

Maroco, J. (2007). *Análise estatística com utilização do SPSS*. (3ªEd.). Lisboa: Edições Sílabo.

Mataragas, M., Skandamis, P. & Drosinos, E. (2008). Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 1-12.

Motarjemi, Y. & Kaferstein, F. (1999). Food safety, hazard analysis and critical control point and the increase in foodborne diseases: a paradox? *Food Control*, 10, 325-333.

Newell, D., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., Giessen, J. & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases — the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139, S3-S15.

NI ISO 6579 (2002). Norme Internationale: Microbiologie des aliments – méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Organisation internationale de normalisation. Suisse.

NI ISO 4833 (2003). International Standard: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for enumeration of microorganisms – colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization.

NI ISO 21528-2 (2004). Norme Internationale: Microbiologie des aliments – Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* – Partie 2 : Méthode par comptage des colonies. Organisation internationale de normalisation. Suisse.

NI ISO 7218 (2007). Norme Internationale: Microbiologie des aliments – Exigences générales et recommandations. Organisation internationale de normalisation. Suisse.

NP 4405 (2002). Norma Portuguesa: Microbiologia alimentar. Regras gerais para a contagem de microrganismos. Contagem de colónias a 30°C. Instituto Português da Qualidade. Caparica.

OMS, Organização Mundial de Saúde (2002_a). Future trends in veterinary public health: report of a WHO study group. Genève: OMS. Acedido em Jul. 21, 2010, disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_907.pdf

OMS, Organização Mundial de Saúde (2002_b). Global strategy for food safety: safer food for better health. Genève: OMS. Acedido em Jul. 21, 2010, disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/general/global_strategy/en/index.html

OMS, Organização Mundial de Saúde (2005). *Salmonella*: drug-resistant *Salmonella*. Acedido em Ago. 4, 2010. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>

OMS, Organização Mundial de Saúde (2007). Food safety and foodborne illness. Genève: OMS. Acedido em Jul. 21, 2010, disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>

Pina, A.P.B. (2005). Investigação e estatística com o epiinfo. Acedido em Fev. 23, 2010, disponível em: <http://www.saudepublica.web.pt/03-investigacao/031-epiinfoinvestiga/descritiva.htm>

Pinto, M., Tenreiro, R. & Martins, C. (2006). Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* spp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macro restriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 77–84.

Portaria nº 821/2007 de 31 de Julho, Diário da República nº 146, Série I. Ministérios das Finanças e da Administração Pública e da Economia e da Inovação. Lisboa

Pendergast, D., Duggan, S., Gonzales-Barron, U., Fanning, S., Butler, F., Cormican, M. & Duffy, G. (2009). Prevalence, numbers and characteristics of salmonella spp. on irish retail pork. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 233-239.

Regulamento (CE) nº 178/2002 de 28 de Janeiro de 2002. *Jornal Oficial da União Europeia*, L31. Parlamento Europeu e do Conselho. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de Abril de 2004. *Jornal Oficial da União Europeia*, L139. Parlamento Europeu e do Conselho. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 853/2004 de 29 de Abril de 2004. *Jornal Oficial da União Europeia*, L139. Parlamento Europeu e do Conselho. Estrasburgo.

Regulamento (CE) nº 854/2004 de 29 de Abril de 2004. *Jornal Oficial da União Europeia*, L139. Parlamento Europeu e do Conselho. Estrasburgo

Regulamento (CE) nº 882/2004 de 29 de Abril de 2004. *Jornal Oficial da União Europeia*, L191. Parlamento Europeu e do Conselho. Estrasburgo

Regulamento (CE) nº 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 338. Parlamento Europeu e do Conselho. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 322. Parlamento Europeu e do Conselho. Bruxelas

Regulamento (CE) nº 1881/2006 de 19 de Dezembro de 2006, *Jornal Oficial da União Europeia*, L 364. Comissão Europeia. Bruxelas

Rhoades, J.R., Duffy, G. & Koutsoumanis, K. (2009). Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food Microbiology*, 26, 357-376.

Rodríguez-Calleja, J.M., García-López, M.L., Santos, J.A. & Otero, A. (2005). Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. *Meat Science*, 70, 389-394.

Rodríguez-Calleja, J.M., García-López, M.L., Santos, J.A. & Otero, A. (2006). Rabbit meat as a source of bacterial foodborne pathogens. *J. Food Prot*, 69, 1106-1112.

Schlundt, J. (2002). New directions in foodborne disease prevention. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 3-17.

Sofos, J.N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, 78, 3-13.

Swanenburg, M., Urlings, H., Snijders, J., Keuzenkamp, D. & Knapen, V. (2001). *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 243-254.

Tauxe, R. (2002). Surveillance and investigation of foodborne diseases; roles for public health in meeting objectives for food safety. *Food Control*, 13, 363-369.

The R project for statistical computing. www.r-project.org/

Todd, E. (2003). Microbiological safety standards and public health goals to reduce foodborne disease. *Meat Science*, 66, 33–43.

Uyttendaele, M., Debevere, J., Lips, R. & Neyts, K. (1998). Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 1–8.

Vieira-Pinto, M., Silva, M., Esteves, A., Martins, C. (2003). Comparação entre o método da dupla zaragatoa e o da excisão na determinação de contagens e microrganismos totais e viáveis e de *Enterobacteriaceae* na superfície interna e externa de carcaças de suíno. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 98 (546), 89-94.

Whyte, P., Gill, K., Collins, J. & Gormley, E. (2002). The prevalence and PCR detection of *Salmonella* contamination in raw poultry. *Veterinary Microbiology*, 89, 53-60.

Woldemariam, E., Molla, B., Alemayehu, D. & Muckle, A. (2005). Prevalence and distribution of *Salmonella* in apparently healthy slaughtered sheep and goats in Debre Zeit, Ethiopia. *Small Ruminant Research*, 58, 19–24.

Zotte, A. (2002). Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 75, 11-32.

Zweifel, C., Baltzer, D. & Stephan, R. (2005). Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU Decision 2001/471/EC. *Meat Science*, 69, 559–566.

Anexos

Anexo 1

Tabela 1: Evolução da produção mundial de carne de coelho (toneladas): 2000/2009. Fonte:

FAOSTAT, disponível em: <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#ancor>

Ano	Produção (toneladas)
2009	1.644.937
2008	1.596.594
2007	1.850.732
2006	1.598.710
2005	1.476.156
2004	1.422.763
2003	1.434.159
2002	1.418.901
2001	1.382.698
2000	1.293.688

Anexo 2

Tabela 2: Consumo internacional de carne de coelho (2008). Fonte: FAOSTAT, disponível em:

<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>

Posto	Importação de carne de coelho		Exportação de carne de coelho	
	País	Quantidade (toneladas)	País	Quantidade (toneladas)
1	Alemanha	7179	China	8538
2	Bélgica	5121	França	6297
3	Itália	2897	Bélgica	4613
4	Federação Russa	2383	Hungria	3634
5	Suíça	2168	Argentina	3499
6	França	1728	Espanha	2841
7	Portugal	1462	Itália	1784
8	Holanda	1149	República Checa	953
9	Estados Unidos da América	980	Alemanha	308
10	Espanha	887	Holanda	266
11	Grécia	720	Uruguai	245
12	Gâmbia	558	Canadá	151
13	Nâmbia	386	Croácia	138
14	Qatar	356	Polónia	132
15	Luxemburgo	337	Chile	119
16	República Checa	335	Estados Unidos da América	88
17	Bulgária	263	Arábia Saudita	37
18	Malta	181	Eslovénia	30
19	Áustria	167	Líbano	28
20	Bahreïn	120	Portugal	21

Anexo 3

Tabela 3: Coelhos abatidos e aprovados para consumo em Portugal
(por cabeças e toneladas abatidas e aprovadas para consumo), 2001-2009.

Ano	Cabeças	Toneladas	Fonte
2009	5.925.537	7.42	(INE, 2010)
2008	6.514.033	8.429	(INE, 2010)
2007	6.630.341	8.055	(INE, 2010)
2006	5.928.026	7.101	(INE, 2007)
2005	5.528.004	6.554	(INE, 2007)
2004	5.124.151	6.778	(INE, 2005)
2003	4.635.136	6.078	(INE, 2004)
2002	5.823.318	7.725	(INE, 2003)
2001	6.135.015	7.989	(INE, 2003)

Anexo 4

Tabela de resultados

Número de colónias aeróbias log ufc/g	<i>Enterobacteriaceae</i> log ufc/g	Matadouro
4,3	0,9	Y
3,5	0,9	Y
4,5	0,9	W
2,8	0,9	W
3,3	0,9	W
2,5	0,9	W
3,9	0,9	W
3,5	0,9	W
3,5	0,9	W
2,7	0,9	W
3,4	0,9	W
3,6	0,9	W
3,5	0,9	W
2,7	0,9	W
3,8	0,9	W
2,9	0,9	W
3	0,9	W
2,8	0,9	W
2,7	0,9	W
4,3	0,9	W
3	0,9	W
3,3	0,9	W
3	0,9	Z
3,1	0,9	Z
2,8	0,9	Z
5	0,9	Z
4	0,9	Z
3,4	0,9	Z
3,4	2,6	Z
2,5	0,9	Z
3,2	2,2	Z
2,4	2,2	Z
2,7	1,9	Z
2,5	1,7	Z
2,9	2,2	Z
3,4	1,5	Z
3,4	0,9	Z
3	1,7	Z
2,8	0,9	Z
2,8	0,9	Z
2,4	0,9	Z
2,9	0,9	Z
2,9	0,9	Y
2,8	0,9	Y
2,4	0,9	Y
2,8	0,9	Y
2,9	0,9	Y
2,2	0,9	Y
2,2	0,9	Y
2,9	0,9	Y
2,4	0,9	Y
2,3	0,9	Y
3,8	0,9	Y
3,1	0,9	Y
2,7	0,9	Y

3	0,9	Y
3,5	0,9	Y
3,5	0,9	Y
3,4	0,9	Y
3,8	0,9	Y
4,5	0,9	Y
2,9	0,9	Y
3,5	2,4	W
3,2	2,5	W
3,4	2,2	W
4,4	0,9	W
3,5	0,9	W
4,5	0,9	W
4,4	3	W
3,3	0,9	W
3,6	0,9	W
3,9	2,4	W
3	0,9	W
3,5	0,9	W
3,5	0,9	W
4	3,5	W
2,7	0,9	W
2,7	0,9	W
3,3	0,9	W
2,4	0,9	W
4,8	0,9	X
3,5	0,9	X
5,6	3,3	X
5,5	2,4	X
5,9	2,9	X
4	0,9	X
5,2	0,9	X
3,4	0,9	X
3,4	1,7	X
3,6	1,9	X
3,7	2,1	X
3,3	0,9	X
3,5	2,7	X
3,8	0,9	X
3,1	0,9	X
3,1	2	X
4,6	2,5	X
5,8	5,1	X
4,9	3,4	X
3,2	5,5	X
4,3	3,8	X
3,8	3,6	X
4,3	4	X
4	3,9	X
3,5	0,9	X
7	5,1	X
6,8	5	X
6,6	4	X
6	4,8	X
6,3	4,6	X
5,8	4,5	X

5,6	4,5 X
5,3	3,8 X
5,6	4,6 X
5,5	0,9 X
6,1	4,9 X
5,7	4,2 X
5,5	4,2 X
5,4	4 X
5,8	4,4 X
3	3,2 X
4,7	3,6 X
4,8	4,4 X
5,4	4,6 X
6,5	5 X
4,9	4,5 X
5,6	4,9 X
4,9	4,3 X
5,4	4,8 X
4,7	3,7 X
4,4	3,4 X
4,4	3,6 X
4,7	4 X
4,8	3,5 X
4,4	3,8 X
4,8	3,1 X
5	4,3 X
5,5	4,4 X
3,9	3,5 X
4,7	3,9 X
4,8	4,5 X
5,1	3,9 X
4,3	4,2 X
4,9	3,7 X
4,5	4 X
3,7	0,9 X
3,8	0,9 X
3,9	2,4 X
4,6	4 X
4,6	3,3 X
2,5	0,9 W
2,9	0,9 W
4,6	0,9 W
2,8	0,9 W
3,7	0,9 W
3,5	0,9 W
3,8	0,9 W
2,9	0,9 W
2,5	0,9 W
3	0,9 W
2,8	0,9 W
3,4	0,9 W
3,3	2,7 W
3	2,1 W
2,9	2,3 W
2,5	2,4 W
5	3,9 W

3,8	2,3	W
3,4	0,9	W
3,7	2,7	W
3,5	2,3	W
3,6	0,9	W
3,4	2,2	W
5,1	0,9	W
3,6	1,9	W
2,9	0,9	W
2,6	0,9	W
2,2	2,9	W
3,2	0,9	W
3,7	3	W
2,7	0,9	W
3	0,9	W
3,5	0,9	W
3,4	0,9	W
2,9	0,9	W
3,1	0,9	W
3,2	0,9	W
3,5	0,9	W

Anexo 5

Output estatístico:

1. Caracterização da amostra global e das sub-amostras de cada matadouro:

summary(output)

Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g Enterobacteriaceae.log.ufc.g Matadouro

Min.: 2.200	Min.: 0.900	W:76
1st Qu.: 3.000	1st Qu.: 0.900	X:70
Median : 3.500	Median : 0.900	Y:22
Mean : 3.811	Mean :2.022	Z:20
3rd Qu.: 4.525	3rd Qu.: 3.325	
Max. : 7.000	Max. : 5.500	

Colónias aeróbias:

mean	sd	0%	25%	50%	75%	100%	n
W 3.336842	0.6012968	2.2	2.900	3.35	3.6	5.1	76
X 4.764286	0.9744617	3.0	3.925	4.80	5.5	7.0	70
Y 3.081818	0.6433812	2.2	2.725	2.90	3.5	4.5	22
Z 3.080000	0.6074970	2.4	2.775	2.95	3.4	5.0	20

Enterobacteriaceae:

mean	sd	0%	25%	50%	75%	100%	n
W 1.301316	0.7644594	0.9	0.900	0.9	0.90	3.9	76
X 3.352857	1.3751123	0.9	2.425	3.8	4.40	5.5	70

```

Y 0.900000 0.000000 0.9 0.900 0.9 0.90 0.9 22
Z 1.340000 0.5950674 0.9 0.900 0.9 1.75 2.6 20

```

2. Cálculo do coeficiente de correlação de Pearson:

```

Pearson's product-moment correlation
t = 14.2934, df = 186, p-value < 2.2e-16
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval: 0.6474187 0.7852964
cor: 0.7234954

```

3. Teste de normalidade de Shapiro-Wilk:

```

Shapiro-Wilk normality test
data: output$Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g
W = 0.933, p-value = 1.245e-07
Shapiro-Wilk normality test
data: output$Enterobacteriaceae.log.ufc.g
W = 0.7619, p-value = 3.669e-16

```

4. Teste de homogeneidade das variâncias de Levene:

```

      W      X      Y      Z
0.3615579 0.9495756 0.4139394 0.3690526
> leveneTest(output$Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g, output$Matadouro,
+ center=mean)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
      Df F value Pr(>F)
group 3  7.2656 0.0001242 ***
      184

```

```

      W      X      Y      Z
0.5843982 1.8909337 0.0000000 0.3541053
> leveneTest(output$Enterobacteriaceae.log.ufc.g, output$Matadouro,
+ center=mean)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = mean)
      Df F value Pr(>F)
group 3  26.3 3.332e-14 ***
      184

```

5. Análise de variância (ANOVA):

```

> AnovaModel.1 <- aov(Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g ~ Matadouro,
+ data=output)
> summary(AnovaModel.1)
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Matadouro  3 103.08  34.361  58.357 < 2.2e-16 ***
Residuals 184 108.34   0.589
---
> numSummary(output$Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g ,
+ groups=output$Matadouro, statistics=c("mean", "sd"))
      mean      sd      n
W 3.336842 0.6012968 76
X 4.764286 0.9744617 70
Y 3.081818 0.6433812 22
Z 3.080000 0.6074970 20

```

```
> .Pairs <- glht(AnovaModel.1, linfct = mcp(Matadouro = "Tukey"))
> confint(.Pairs) # confidence intervals
      Simultaneous Confidence Intervals
Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts
Fit: aov(formula = Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g ~ Matadouro,
  data = output)
Estimated Quantile = 2.5731
```

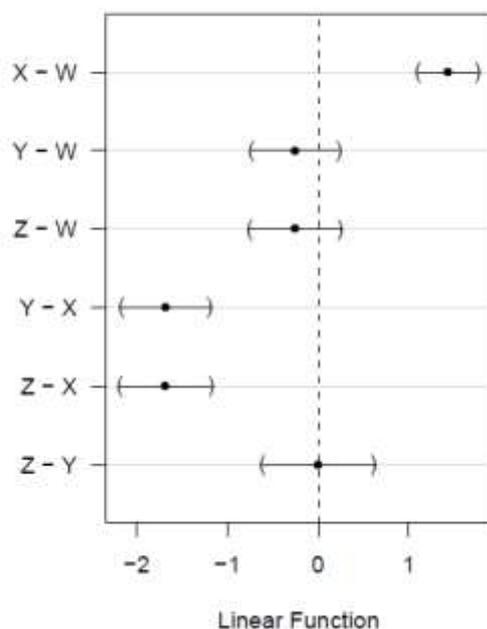
95% family-wise confidence level

Linear Hypotheses:

	Estimate	lwr	upr
X - W == 0	1.427444	1.100359	1.754528
Y - W == 0	-0.255024	-0.733031	0.222984
Z - W == 0	-0.256842	-0.753039	0.239354
Y - X == 0	-1.682468	-2.165052	-1.199883
Z - X == 0	-1.684286	-2.184893	-1.183679
Z - Y == 0	-0.001818	-0.611830	0.608193

```
X Y Z W
"a" "b" "b" "b"
```

95% family-wise confidence level



```
AnovaModel.2 <- aov(Enterobacteriaceae.log.ufc.g ~ Matadouro, data=output)
> summary(AnovaModel.2)
      Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
Matadouro  3 200.45  66.818  67.913 < 2.2e-16 ***
Residuals 184 181.03   0.984
```

```
> numSummary(output$Enterobacteriaceae.log.ufc.g , groups=output$Matadouro,
+ statistics=c("mean", "sd"))
      mean      sd      n
W 1.301316 0.7644594 76
X 3.352857 1.3751123 70
Y 0.900000 0.0000000 22
Z 1.340000 0.5950674 20
```

```
> .Pairs <- glht(AnovaModel.2, linfct = mcp(Matadouro = "Tukey"))
> confint(.Pairs) # confidence intervals
      Simultaneous Confidence Intervals
Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts
Fit: aov(formula = Enterobacteriaceae.log.ufc.g ~ Matadouro, data = output)
Estimated Quantile = 2.5742
```

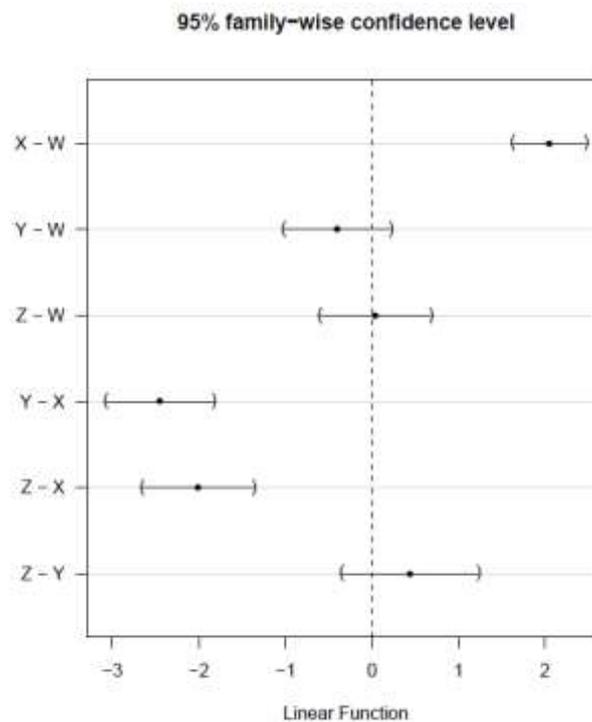
95% family-wise confidence level

Linear Hypotheses:

	Estimate	lwr	upr
X - W == 0	2.05154	1.62854	2.47454
Y - W == 0	-0.40132	-1.01949	0.21686
Z - W == 0	0.03868	-0.60301	0.68038
Y - X == 0	-2.45286	-3.07695	-1.82876
Z - X == 0	-2.01286	-2.66026	-1.36545
Z - Y == 0	0.44000	-0.34889	1.22889

X Y Z W

"a" "b" "b" "b"



6. Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis:

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Número.de.colónias.aeróbias.log.ufc.g by Matadouro

Kruskal-Wallis chi-squared = 89.4155, df = 3, p-value < 2.2e-16

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Enterobacteriaceae.log.ufc.g by Matadouro

Kruskal-Wallis chi-squared = 92.71, df = 3, p-value < 2.2e-16

