



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



**CLAUDIO BALTAZAR DE SOUSA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS (*Crassostrea* sp.) E DE ÁGUAS  
COLETADAS EM CULTIVOS E EM BANCOS NATURAIS DA ILHA DE SÃO  
LUÍS, MA**

São Luís - MA  
2021

**CLAUDIO BALTAZAR DE SOUSA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE OSTRAS (*Crassostrea* sp.) E DE ÁGUAS  
COLETADAS EM CULTIVOS E EM BANCOS NATURAIS DA ILHA DE SÃO  
LUÍS, MA**

**Orientadora: Dra. Francisca Neide Costa**

**Coorientadora: Dra. Izabel Cristina da Silva Almeida Funo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Linha de Pesquisa: Epidemiologia, Patogênese e Controle de Doenças de Animais e Microbiologia de Alimentos.

São Luís - MA  
2021

Sousa, Claudio Baltazar de.

Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais da ilha de São Luís, MA / Claudio Baltazar de Sousa. – São Luís, 2021.

70 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Neide Costa.

Dissertação de mestrado defendida e aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Professora Dra. Izabel Cristina da Silva Almeida Funo – IFMA

Recursos Pesqueiros e Aquicultura

**1º Membro**

---

Professor Dr. Arlan Silva Freitas – IFMA

Ciência e Tecnologia de Alimentos

**2º membro**

---

Professora Dra. Francisca Neide Costa – UEMA

Medicina Veterinária Preventiva

**Orientadora**

## DEDICATÓRIA

*Dedico aos meus pais (Rosa Maria e Sudário Rocha) pelo imenso carinho e suporte em todos os momentos.*

## **AGRADECIMENTOS**

*À minha família, em especial a minha mãe Rosa Maria, por todo o carinho e suporte.*

*À professora Dr.<sup>a</sup> Francisca Neide Costa, pela oportunidade, atenção e orientação.*

*À professora Dr.<sup>a</sup> Izabel Cristina da Silva Almeida Funo, pela paciência, compreensão e coorientação.*

*À professora Dr.<sup>a</sup> Isabel Azevedo Carvalho, pela supervisão durante o estágio docente no Ensino Superior.*

*À UEMA por toda estrutura disponibilizada ao longo desta pesquisa.*

*Às Bolsistas de Iniciação Científica, Tatiana Magalhães Barros e Maria Isabel Ramos Castro pelo o empenho e comprometimento com a pesquisa.*

*Aos Laboratórios de Pesquisa em Controle de Qualidade de Alimentos e Água (LAMP) e de Microbiologia de Alimentos e Água pelo espaço, estrutura e equipamentos cedidos.*

*À Coordenação e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo auxílio financeiro à pesquisa.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do pela concessão da bolsa de estudos durante o período do mestrado.*

*Ao grupo de estudo em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, técnicos e estagiários de laboratório, pela colaboração, companheirismo e amizade.*

*Ao meu amigo Biólogo Flávio Chaves pelo suporte durante a fase de coletas*

*Aos marisqueiros que muito colaboraram e participaram realizando as coletas de ostras.*

*Por fim, sou grato a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desta pesquisa e ajudaram a concluir mais uma etapa importante da minha vida.*

"O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano."

(Sir Isaac Newton)

## RESUMO

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de águas e ostras de bancos naturais e ostreiculturas localizadas na Ilha de São Luís, MA. Para isso, foram analisadas no período de setembro de 2020 a fevereiro de 2021, 60 amostras, sendo 30 de água e 30 de ostras (*Crassostrea* sp.) coletadas diretamente com os marisqueiros e proprietários de cultivos nos municípios da Ilha de São Luís, MA. Para a determinação de coliformes totais e *E. coli* nas amostras de água foi utilizada a técnica recomendada pela APHA (2012) utilizando o método rápido Colilert®. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes em ostras foram realizadas pelo método do Número Mais Provável (NMP) e *E. coli* pela técnica descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992). A Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de ostras foi realizada de acordo com SILVA *et al.*, (2017). As pesquisas de *Salmonella* sp., *Aeromonas* sp. e *Vibrio* sp. em ostras foram realizadas segundo as metodologias preconizadas pela APHA (2012), CARNAHAN *et al.*, (1991) e Bacteriological Analytical Manual online ELLIOT, KAYSNER; TAMPLIN (2004). Os resultados em média geométrica contagem de *E. coli* nas amostras de água variaram entre 604,29 a 1130,79 NMP/100ml demonstrando qualidade microbiológica insatisfatória. Para as ostras, 8 (26,66%) das 30 amostras apresentaram estar impróprias para consumo, sendo 4 amostras (13,33%) pela presença de *Salmonella* sp. e 4 amostras (13,33%) pela contagem de *E. coli* acima dos limites da legislação vigente. Recomenda-se a implantação de Boas Práticas de Fabricação, a utilização do processo de depuração e o monitoramento regular da qualidade microbiológica da água na cadeia produtiva das ostras em São Luís, MA.

Palavras-chave: Ostreicultura; *Crassostrea* sp.; Saúde Pública; Micro-organismos.



## ABSTRACT

This research aimed to evaluate the microbiological quality of water and oysters from natural banks and oyster farms located on the Island of São Luís, MA. For this, 60 samples were analyzed from September 2020 to February 2021, 30 of water and 30 of oysters (*Crassostrea* sp.) collected directly from shellfish farmers and farm owners in the municipalities of the Island of São Luís, MA. For the determination of total coliforms and *E. coli* in the water samples, the technique recommended by APHA (2012) was used using the Colilert® rapid method. For the enumeration of total and thermotolerant coliforms in oysters were performed by the Most Probable Number (MPN) method and *E. coli* by the technique described by Vanderzant and Splittstoesser (1992). Enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* in oyster samples was performed according to SILVA *et al.*, (2017). Surveys for *Salmonella* sp., *Aeromonas* sp. and *Vibrio* sp. in oysters were performed according to the methodologies recommended by APHA (2012), CARNAHAN *et al.*, (1991) and Bacteriological Analytical Manual online ELLIOT, KAYSNER; TAMPLIN (2004). The results in geometric mean count of *E. coli* in the water samples ranged from 604.29 to 1130.79 NMP/100ml demonstrating unsatisfactory microbiological quality. For the oysters, 8 (26.66%) out of 30 samples were unsuitable for consumption, being 4 samples (13.33%) due to the presence of *Salmonella* sp. and 4 samples (13.33%) due to *E. coli* count above the limits of the current legislation. It is recommended the implementation of Good Manufacturing Practices, the use of the purification process and the regular monitoring of the microbiological quality of the water in the oyster production chain in São Luís, MA.

Keywords: Ostreiculture; *Crassostrea* sp.; Public health; Microorganisms.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Determinação do Número Mais Provável (média geométrica  $\pm$  desvio padrão e percentil 90%) de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.....45

**Tabela 2** - Valores de correlação de Pearson existentes entre a Temperatura, pH e perfil microbiológico das amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.....46

**Tabela 3** - Valores de correlação de Pearson existentes entre a Pluviometria, pH e perfil microbiológico das amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.....47

**Tabela 4** - Contagem (média geométrica e desvio padrão) de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase negativa e enumeração de *E. coli* em ostras provenientes de bancos naturais/cultivos da Ilha de São Luís, MA.....47

**Tabela 5** - Pesquisa de *Vibrio* sp.; *Aeromonas* sp. e *Salmonella* sp., em amostras de ostras provenientes de bancos naturais/cultivos da Ilha de São Luís, MA.....48

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Localização da ilha de São Luís do Maranhão.....40

**Figura 2** - Valores da média geométrica de pH em amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.....46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APWA – Água Peptonada Salina Alcalina

APHA – American Public Health Association

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BAM – Bacteriological Analytical Manual Online

BP – Ágar Baird Parker

BHI – Brain Heart Infusion

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

FAPEMA – Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão

g – Grama

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ISO/TS – The International Organization for Standardization/Technical Specification

IN – Instrução Normativa

Kcal – Quilocaloria

LIA – Agar Lisina Ferro

mg – Miligrama

mm – Milímetros

mL – Mililitro

NMP – Número Mais Provável

NaCl – Cloreto de Sódio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Reação em cadeia da polimerase

pH – Potencial Hidrogeniônico

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SS – Ágar *Salmonella Shigella*

TSA – Ágar Triptona de Soja

TCBS – Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose

TSB – Caldo Triptona Soja

TSI – Triple Sugar Iron Agar

UEMA – Universidade Estadual do Maranhão

UFC – Unidade Formadora de Colônias

μg – Micrograma

XLD – Ágar Xilose Lisina Desoxicolato

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
<b>3 CAPÍTULO I REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
3.1. Biologia e ecologia da <i>Crassostrea</i> sp.....	18
3.2. Atividade extrativista e cultivo de ostras .....	19
3.3. Características nutricionais de ostras .....	21
3.4. Qualidade microbiológica da água de extração e cultivo de ostras.....	22
3.5. Qualidade microbiológica de ostras.....	23
3.6. Legislação vigente .....	27
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	28
<b>4 CAPÍTULO II Qualidade microbiológica de ostras e de águas em manguezais de macromaré da costa amazônica (Ilha de São Luís, MA), Brasil</b> .....	37
4.1. Caracterização da área de estudo .....	40
4.2. Análises microbiológicas da água de extração e cultivo de ostras .....	41
4.3. Análises microbiológicas das amostras de ostras .....	42
4.3.1. Enumeração de coliformes totais, termotolerantes e <i>E. coli</i> .....	42
4.3.2. Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva .....	42
4.3.3. Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.....	43
4.3.4. Pesquisa de <i>Aeromonas</i> sp. ....	43
4.3.5. Pesquisa de <i>Vibrio</i> sp. ....	44
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	55
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	56

# **CAPÍTULO I**

---

## INTRODUÇÃO

De acordo com Oliveira (2009), a aquicultura é considerada uma atividade multidisciplinar, relacionada ao cultivo de diversos organismos aquáticos, compreendidos nesse contexto plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes, visto que o manejo do processo de criação é essencial para o aumento da produção. Em 2018, segundo a FAO (2020), a produção mundial de pescado atingiu o número de 178,5 milhões de toneladas, com 82,1 milhões de toneladas provenientes da aquicultura. No Brasil em 2019, foram produzidas 599,1 mil toneladas de pescado, avaliadas em R\$ 4,7 bilhões, um aumento de 2,6% em volume e 5% em valor, se comparado ao ano de 2018 (IBGE, 2020).

A maricultura é um ramo específico da aquicultura que engloba a produção de uma ampla variedade de organismos aquáticos marinhos e estuarinos, desde vegetais como as algas, invertebrados como crustáceos e moluscos, até vertebrados como peixes e répteis (FAO, 2013). Em 2019, a produção da malacocultura brasileira foi de 15,2 mil toneladas, com ênfase para as criações do mexilhão *Perna perna*, seguido da ostra do pacífico *Crassostrea gigas*, ostra do mangue *Crassostrea* spp. e a vieira *Nodipecten nodosus* (IBGE; MAPA, 2020).

Na costa do Estado do Maranhão, a atividade extrativista e o cultivo de moluscos bivalves possuem papel fundamental na geração de renda extra para os pescadores. Realizada, frequentemente de forma artesanal, a prática extrativista envolve a retirada de sarnambi, sururu, ostra, unha de velho e demais pescados de interesse comercial ou alimentício para essas famílias (PEREIRA *et al.*, 2017).

Ostras são moluscos bivalves pertencentes à família Ostreidae, que vivem em águas costeiras rasas, ocorrendo desde a faixa equatorial até aproximadamente às latitudes 64°N e 44°S na faixa de frio moderado. Os adultos se mantêm fixos aderidos em substratos formando bancos naturais (ERSE; BERNARDES, 2008).

Dentre as espécies de maior interesse econômico, pode-se destacar as ostras pertencentes ao gênero *Crassostrea*, em virtude do valor alimentício da “carne” e da utilização da concha como matéria prima na produção de artigos medicinais e industriais. A ostra é apontada como um organismo altamente nutritivo devido ao teor de minerais (fósforo, cálcio, ferro e iodo), glicogênio, vitaminas (A, B1, B2, C e D) e proteínas (CHRISTO, 2006).



A microbiota das ostras está diretamente associada ao ambiente onde ela se origina. O consumo desses moluscos representa um grande risco por serem filtradores e bioacumuladores de micro-organismos, razão pela qual são muito utilizados como bioindicadores (SILVA *et al.*, 2003).

Grande parte dos padrões que regulam a qualidade microbiológica da água de cultivo, empregam a quantificação de coliformes, visto que este grupo de micro-organismos é indicador de condições higiênico-sanitárias (MACHADO *et al.*, 2001). Em países como o Brasil, EUA e Chile, o cultivo e a extração de moluscos bivalves são fiscalizados por análises da qualidade de água (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006). Porém, o nível dos coliformes pode ser influenciado por determinantes ambientais como as chuvas, as correntes marinhas e os ventos que ocorrem nas proximidades do estuário (KOLM; MIQUELANTE, 2011); DOI; BARBIERI; MARQUES, 2014).

Segundo Huss (1997), existem dois grupos de bactérias de importância para a saúde humana que podem contaminar os produtos de origem animal marinho: a) o grupo das indígenas, as quais estão naturalmente distribuídas nos ambientes aquáticos (*Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* e *Listeria monocytogenes*); b) o grupo das não-indígenas, que podem contaminar o ambiente e/ou pescado por fatores antrópicos, como descarte incorreto de dejetos humanos (*Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, e *Escherichia coli*) e manipulação inadequada (*Staphylococcus aureus*).

A *Salmonella sp.* é uma bactéria entérica responsável por severas intoxicações alimentares, sendo um dos principais agentes envolvidos em surtos relatados em vários países. A sua presença em alimentos é um grave problema de saúde pública que não deve ser tolerado, porque os sinais e sintomas podem ser mal diagnosticados, sobrecarregando todo o sistema de saúde (SHINOHARA *et al.*, 2008).

A *E. coli* é uma bactéria que coloniza naturalmente o intestino de humanos e mamíferos em geral. A maioria das cepas de *E. coli* são inofensivas, porém, algumas podem causar graves doenças transmitidas por alimentos. A via de transmissão ao homem pode ocorrer pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente em produtos de origem animal crus ou mal cozidos (ROSA; BARROS; SANTOS, 2016).

Diante do exposto, justifica-se a necessidade de monitoramento da qualidade dos recursos hídricos maranhenses, associado ao elevado consumo de moluscos bivalves nas regiões litorâneas e considerando que o consumo *in natura* desse alimento pode trazer risco à

saúde dos consumidores. Portanto, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de águas e ostras obtidas em bancos naturais e cultivos da Ilha de São Luís, MA.

## 2 OBJETIVOS

### ❖ Geral

- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de amostras de ostras e águas extraídas de ostreiculturas e bancos naturais na ilha de São Luís, MA

### ❖ Específicos

- Correlacionar parâmetros ambientais (pH, Pluviometria e Temperatura) com a qualidade microbiológica da água;
- Determinar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água e de ostras extraídas de bancos naturais e de ostreiculturas;
- Enumerar *Escherichia coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de ostras extraídas de bancos naturais e de ostreiculturas;
- Pesquisar *Vibrio* sp., *Salmonella* sp., e *Aeromonas* sp. em amostras de ostras extraídas de bancos naturais e de ostreiculturas.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Biologia e ecologia da *Crassostrea* sp.

As ostras são animais invertebrados, pertencentes a classe Bivalvia, exclusivamente aquáticos, sendo considerados moluscos filtradores, por apresentarem estruturas morfológicas adaptadas, possibilitando a alimentação e trocas gasosas através das brânquias por processo de filtração (ROSÁRIO, 2019).

As populações de ostras mantêm íntima relação com as condições específicas de seu *habitat*. Uma vez que cada estuário possui suas próprias peculiaridades, as variantes ambientais influenciam no metabolismo do animal, alterando processos relacionados ao crescimento, maturação e reprodução das espécies (PAIXÃO, 2012).

As ostras de maior importância econômica pertencem ao gênero *Crassostrea*, as quais são dioicas, não apresentam dimorfismo sexual, e sua reprodução é sexuada com fecundação externa. As gônadas apresentam aspecto esbranquiçado e difuso e, quando atingem a maturação sexual envolvem totalmente a glândula digestiva, sendo necessária a utilização de técnicas histológicas para diferenciar entre machos e fêmeas (CHRISTO; ABSHER, 2008).

A fecundação e o desenvolvimento larval ocorrem na água, ocorrendo a liberação de 30 a 50 milhões de ovos. Cada ovo sofre clivagem e em 24h origina a larva “D”, e no 14º dia perde este formato e denomina-se véliger. No estágio pé-de-véliger, quando o pé se encontra bem desenvolvido as ostras procuram um substrato propício, costões rochosos ou raízes de mangue, para fixação e continuar o processo de metamorfose. Este ciclo possui duração de 21 dias (LIMA, 2015).

Assim como os demais moluscos, as ostras são organismos filtradores que bombeiam entre 0,5 a 4,0 litros de água por hora. Devido a esta característica, são capazes de reter contaminantes químicos e micro-organismos. Os micro-organismos sobrevivem no estômago das ostras por certo período de tempo, mantendo seu poder infectante, antes de serem atacados e digeridos por fagocitose. Este comportamento fisiológico causa uma concentração de micro-organismos patogênicos na parte comestível do bivalve (CARROZZO, 1994; BEIRÃO; TEIXEIRA; MEINERT, 2000).

No litoral brasileiro, existem pelo menos três espécies do gênero *Crassostrea*, as espécies nativas que habitam regiões estuarinas de baixa salinidade: *C. rhizophorae* e *C. brasiliiana* (sinonímia para *C. gasar*); e a terceira espécie é encontrada em áreas altamente salinas, *C. gigas*, espécie exótica introduzida na década de 1970 (CAVALEIRO, 2013).

Segundo Dué *et al.* (2010), *C. rhizophorae* coloniza as regiões do Caribe ao Uruguai e seus principais *habitats* são as raízes aéreas do *Rhizophorae mangle* e os substratos rígidos, como rochas no médio litoral, na região entre marés. A ostra-do-mangue *Crassostrea gasar* é naturalmente encontrada aderida em raízes aéreas de mangue ou fixas em rochas, tendo como *habitat* ambientes estuarinos (VARELA *et al.*, 2007). Esta espécie é amplamente distribuída, com relatos de ocorrência na costa ocidental da África, de Senegal até Angola (AFINOWI, 1984) e na América do Sul, da Guiana Francesa até o sul do Brasil (LAPÈGUE *et al.*, 2002).

A espécie *Crassostrea gasar* ocorre no infralitoral das regiões estuarinas e possui crescimento acentuado enquanto que *Crassostrea rhizophorae* ocorre predominantemente na região intermaré e apresenta menores taxas de crescimento quando comparada com *C. gasar*. Os adultos de ambas as espécies são sésseis, caracterizados por apresentarem grande plasticidade na morfologia da concha, dependendo do substrato onde estão fixadas (CHRISTO *et al.*, 2015).

### **3.2. Atividade extrativista e cultivo de ostras**

O extrativismo de moluscos bivalves é baseado no conhecimento tradicional transferido por gerações de familiares, grupos de vizinhos ou associações de pescadores. Sendo importante para geração de renda total ou complementar e contribui na alimentação das famílias ribeirinhas, devido ao seu alto valor nutricional. Estas comunidades praticam a catação a partir dos conhecimentos culturais e costumes estabelecidos por gerações sobre os ciclos naturais das espécies exploradas, visando manter o seu modo de vida, mas sem considerar o manejo sustentável ou a conservação dos recursos naturais (DIEGUES, 1983; SCHAEFFER-NOVELLI, 1999).

Os impactos da pesca predatória e a degradação ambiental em áreas costeiras acarretam na diminuição de renda dos pescadores artesanais e ameaçam fortemente a atividade produtiva dependente do extrativismo. A ausência de empregos nas regiões

litorâneas atraindo cada vez mais pessoas sem experiência ou qualificação para exercer atividades extrativas, aumentando a pressão sobre os recursos naturais (PEREIRA *et al.*, 2017).

Segundo Ribeiro *et al.* (2016), as condições higiênico-sanitárias adotadas pelos marisqueiros de ostras da Ilha de São Luís, MA, na atividade de extração até a comercialização são insatisfatórias, indicando falta de boas práticas em todas as etapas ao longo do processo de produção, o que pode representar riscos à saúde da população apreciadora do consumo *in natura* desse bivalve.

Garcia e Bernat (2019) também destacam as baixas condições higiênico-sanitárias relacionadas à atividade extrativista de ostras exercida na comunidade tradicional da região de Carnaubearas, MA, onde, é realizado de forma rudimentar, sem nenhum tipo de infraestrutura adequada para o armazenamento e conservação, ou mesmo para o beneficiamento do produto.

A ostreicultura é a prática em que se cultivam ostras para o consumo humano. Por se tratar de uma atividade que demanda baixo custo inicial e reduz os impactos da superexploração sobre os estoques naturais, o cultivo de ostras mostra-se como uma alternativa de renda e fonte de proteína animal para agricultores familiares e pescadores artesanais, os quais podem conciliar as atividades rotineiras com a manutenção do cultivo (MACEDO *et al.*, 2016).

Segundo Gradwohl (2014), a ostreicultura se aproxima de um modelo de aquicultura ecológica sustentável, uma vez que diminui a pressão sobre os estoques naturais. Além disso, o cultivo de ostra tem se destacado como uma alternativa de emprego e renda, à medida que o alimento ganha espaço no mercado, semelhante ao que vem acontecendo nas regiões sul e sudeste do Brasil (EVANGELISTA-BARRETO; SOUSA; VIEIRA, 2008).

A ostreicultura no estado do Maranhão encontra-se em estágio inicial, não tendo se difundido de forma expressiva no litoral maranhense. A falta de cultivos em larga escala e a baixa produtividade, devem-se à falta de uma linha de financiamento e de um programa eficiente de difusão tecnológica para as comunidades tradicionais, dentre outros fatores (GOMES; ROGÉRIO; MAXIMIANO, 2008; FUNO, 2016). Assim, apesar de existir um grande potencial para a ostreicultura no Estado do Maranhão, apenas 24 toneladas de ostras, vieiras e mexilhões foram cultivados no ano de 2018, de acordo com os dados estatísticos da aquicultura fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (SAGRIMA, 2019).

### 3.3. Características nutricionais das ostras

O valor nutricional da ostra sofre influência de diversos fatores ambientais, como: qualidade e quantidade de fitoplâncton, temperatura, presença de poluentes, fase do ciclo reprodutivo e da distribuição das reservas metabólicas nas diferentes etapas de crescimento e reprodução, assim os valores nutricionais variam sazonalmente (DESLOUS-PAOLI; HÉRAL, 1988; REN *et al.*, 2003; ORBAN *et al.*, 2004). A água é o principal composto da ostra, representando cerca de 82% do seu corpo. A quantidade de água presente na ostra depende do ciclo reprodutivo, aumentando sua concentração na época de desova (ZIMANN, 2017).

As ostras fornecem proteínas de alto valor biológico, possuindo quantidades significativas de aminoácidos, como a glicina (KIMURA; OHMINAMI; OKUDA, 1998). Entretanto, apresentam conteúdo proteico inferior, quando comparadas a outros moluscos bivalves, o qual varia em pequena escala ao longo do ano (MARTIN, 1990). O conteúdo de água geralmente aumenta e o de proteína diminui, à medida que o período de desova se aproxima (ANTUNES; ITO, 1968; MORAIS *et al.*, 1978).

Os lipídeos, também demonstram maiores concentrações no final da primavera, uma vez que se encontram acumulados nas gônadas. No verão quando a temperatura da água aumenta ocorrendo a desova, os teores de lipídeos diminuem, em função do elevado gasto energético dos gametas (DESLOUS-PAOLI; HÉRAL, 1988; DRIDI; ROMDHANE; ELCAFSI, 2007).

Os carboidratos nas ostras são encontrados basicamente sob a forma de glicogênio. Segundo Portella (2005), a concentração de glicogênio influencia a qualidade da ostra, ou seja, quanto maior o teor de glicogênio, maior a aceitabilidade pelo consumidor. A variação sazonal do carboidrato está diretamente relacionada com o ciclo reprodutivo. Como o glicogênio é o material de reserva das ostras, o aumento do seu teor coincide com a época do ano em que as células sexuais atingem a maturação.

De acordo com o United States Department of Agriculture (2019), ostras cruas possuem em 100 g: 51 kcal, 5,71 g de proteínas, 1,71 g de lipídios, dos quais, 0,474 g são saturados, 0,253 g são monoinsaturados, 0,528 g são poli-insaturados e 40 mg de colesterol. Possuem também 2,72 g de carboidratos, 59 mg de cálcio (Ca), 4,61 mg de ferro (Fe), 18 mg de magnésio (Mg), 97 mg de fósforo (P), 156 mg de potássio (K), 85 mg de sódio (Na) e 39,3 mg de zinco (Zn). Das vitaminas em 100 g possuem: 0,018 mg de tiamina; 0,09 mg de

riboflavina; 0,925 mg de niacina; 0,031 mg de vitamina B6; 8,75 µg de vitamina B12, 13 µg de vitamina A, 0,85 mg de vitamina E e 1 µg de vitamina K.

### 3.4. Qualidade microbiológica da água de extração e cultivo de ostras

A qualidade microbiológica da água é monitorada pela concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal, tais como a *Escherichia coli*. Este bioindicador está relacionado com o risco potencial de contrair doenças infecciosas pelo contato direto no uso para recreação e na ingestão de alimentos contaminados (TOURON *et al.*, 2007). O hábito de consumir ostras cruas ou levemente cozidas pode favorecer o aparecimento de diversos casos de doenças transmitidas por alimentos (POTASMAN; PAZ; ODEH, 2002; MENDES *et al.*, 2004). Logo, é essencial avaliar os contaminantes microbiológicos tanto para a água como para os moluscos frescos.

Entre as bactérias encontradas no ambiente, o grupo dos coliformes vem sendo amplamente utilizado como um indicador da qualidade da água. Entre os coliformes termotolerantes, a contagem de *E. coli* é destacada como uma das melhores técnicas para avaliar o grau de poluição fecal (YÁÑEZ; VALOR; CATALÁN, 2006).

A contagem de coliformes totais em amostras de água (cultivo ou extração) é utilizada como indicador das condições higiênico sanitárias do ambiente onde foi produzido o alimento. A presença de *E. coli* em moluscos bivalves indica que houve contato direto ou indireto com material fecal (SALES *et al.*, 2015).

O grupo dos coliformes foi definido pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* como todos micro-organismos aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, Gram-negativos, não esporulados, em forma de bastonete, os quais fermentam a glicose com produção de gás em 48h a 35 °C. Esse grupo inclui micro-organismos que diferem em características bioquímicas, sorológicas e de *habitat*, como os gêneros *Escherichia*, *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiela* e o gênero que raramente é encontrado em fezes, como *Serratia* (BARBIERI, 2012).

Embora grande parte das cepas de *E. coli* seja comensal, em indivíduos debilitados ou imunossuprimidos, ou ainda, quando as barreiras gastrointestinais são penetradas, cepas não patogênicas de *E. coli* podem causar infecção. Ademais, na população

de *E. coli* há diferentes linhagens que diversificam seu potencial patogênico e perfil de resistência aos antibióticos, o que proporciona potencial risco à saúde pública (SILVA, 2015).

Pesquisas realizadas em território nacional com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica da água de extração e cultivo de ostras, relatam contaminação por coliformes totais e termotolerantes. No entanto, quando comparadas as médias da densidade colimétrica com a legislação vigente, a maioria das áreas de estudo estão dentro dos limites permitidos (VIEIRA *et al.*, 2007; DOI; BARBIERI; MARQUES, 2014; FIGUEIREDO *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2017).

Ainda que exista o marco legal, o Brasil é um país com poucos sistemas de monitoramento de qualidade da água, particularmente em relação às suas dimensões continentais, diferenças geográficas regionais e amplitude dos problemas de poluição, carecendo de dados sobre a qualidade de seus recursos aquáticos (VASCO *et al.*, 2010).

### **3.5. Qualidade microbiológica de ostras**

A microbiota de pescados e da maioria dos moluscos bivalves é bastante diversa, podendo incluir: vírus, como o da Hepatite A (COELHO *et al.*, 2003), rotavírus (KITIGUL *et al.*, 2010), bactérias, como *Pseudomonas* sp., *Moraxella* sp., *Acinetobacter* sp., *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Clostridium* sp., *Bacillus* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Vibrio* sp., principalmente *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* (VIEIRA, 2004; BONNIN-JUSSERAND *et al.*, 2019). A maioria destes patógenos são veiculados do ambiente ao ser humano pela ingestão de moluscos bivalves contaminados (CRUZ-ROMERO; KERRY; KELLY, 2008).

Dentre os micro-organismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária frequentemente utilizados destacam-se o grupo dos coliformes termotolerantes e a *Escherichia coli*. Esses micro-organismos fazem parte da microbiota do trato digestivo dos humanos e dos animais homeotérmicos e são excretados em suas fezes. Por esta razão, a presença deles no ambiente sinaliza contaminação de origem fecal e risco da presença de micro-organismos patógenos (PITTA, 2002).

As variações de intensidade de contaminação por *E. coli* comumente encontradas nas ostras de cultivo apontam o nível de contaminação no momento da coleta e podem ser influenciadas por variações ambientais como marés, ventos, chuvas, posicionamento do



cultivo e até o posicionamento dos indivíduos dentro das balsas (YOUNGER; LEE; LEES, 2003).

A conexão entre a presença de bactérias indicadoras e de diversos agentes patogênicos na água e nos moluscos bivalves vem sendo bastante levantada. A concentração de micro-organismos nos moluscos filtradores varia de um indivíduo para outro e também sofre influência de condições meteorológicas, da temperatura e da atividade geral do molusco (HUSS; REILLY; EMBAREK, 2000).

O gênero *Salmonella* sp. está amplamente difundido na natureza, dentre os possíveis reservatórios destas bactérias destacam-se, o trato intestinal do homem e de animais de sangue quente e frio, com exceção dos moluscos, peixes e crustáceos, que podem contaminar-se após a pesca, extração ou cultivo (COSTA *et al.*, 2007). Lee e Younger (2003) analisaram 3200 amostras de ostras do litoral do Reino Unido e notaram que a presença de *Salmonella* sp. era fortemente influenciada pelo local de coleta. A influência mudava de acordo com a descarga de efluentes e o tipo de agricultura exercida na região. Esses fatores interferiram diretamente na quantidade de bactérias presente no ambiente marinho e conseqüentemente nas ostras. Rampersad *et al.* (1999) descreveram que o consumo de ostras em Trinidad e Tobago representa um sério risco à saúde pública, sendo responsável pela ocorrência de casos de salmoneloses e colibaciloses na população.

Os *Staphylococcus* coagulase positiva encontram-se amplamente distribuídos no meio ambiente e têm como principal *habitat* a pele, membranas mucosas e o trato intestinal de animais e do ser humano. Elevados índices de contaminação por *Staphylococcus aureus* em pescados estão frequentemente associados à participação de manipuladores portadores desse micro-organismo que contribuem para a contaminação cruzada do alimento (KOMATSU *et al.*, 2010).

O *S. aureus* é um patógeno humano, conhecido por ser o causador de um amplo espectro de doenças que variam de infecções cutâneas superficiais até doenças sistêmicas letais (BROOKS; BUTEL; MORSE, 2000). Este patógeno coloniza comumente as aberturas nasais, boca, pele e cabelos, a partir das quais ocorre contaminação das mãos e as superfícies de contato (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Os *Staphylococcus* são capazes de crescer em meio com até 20% de cloreto de sódio (VIEIRA, 2004), sendo caracterizados como resistentes aos estresses ambientais, fator que potencializa sua patogenicidade e propicia sua sobrevivência.

Cerca de 20 a 60% da população mundial é potencial portadora da bactéria de forma assintomática. O período de incubação médio da intoxicação estafilocócica é de duas a quatro horas (trinta minutos a oito horas). Os sintomas são geralmente agudos e são descritos por náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia (GERMANO; GERMANO, 2001).

O gênero *Vibrio* abrange mais de 30 espécies, sendo pelo menos 12 são patogênicas para o homem, tendo sido relacionadas a doenças transmitidas por alimentos. Dentre estas espécies, *Vibrio cholerae*, sorogrupos O1 e O139, são os mais relevantes, uma vez que são associados a surtos epidêmicos de diarreia (PRUZZO *et al.*, 2005; DALMASSO; CIVERA; BOTTERO, 2009). Contudo, outras espécies de vibrios também são capazes de ocasionar doenças diarreicas em humanos, e vêm sendo reconhecidos na última década. Podem ser citadas, *Vibrio parahaemolyticus*, o principal agente patogênico de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Japão e na Coreia (LEE *et al.*, 2001), *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio metschnikovii* e *Vibrio mimicus* (HOI *et al.*, 1997; ALTEKRUSE *et al.*, 2000).

O *Vibrio parahaemolyticus* é um agente patogênico humano que habita naturalmente os ambientes marinhos. É constantemente isolado a partir de peixes, polvos, camarões, caranguejos, lagostas, ostras e vieiras, sendo uma das principais espécies do gênero *Vibrio* e tem sido reconhecida como patógeno importante distribuído nas regiões litorâneas de clima temperado e tropical ao redor do globo. A presença deste patógeno nem sempre está associada à ocorrência de micro-organismos indicadores, mas está diretamente relacionada com as alterações físico-químicas do ambiente, como pH, salinidade e temperatura (RODRIGUES; CARVALHO FILHO, 2011).

O *Vibrio vulnificus* simboliza um risco significativo para a saúde pública, principalmente para pessoas imunodeprimidas, em especial o grupo de pessoas que consomem alimentos de origem animal marinha, crus ou mal cozidos, ou aquelas que contraem infecções de pele quando praticam atividades em águas estuárias ou costeiras. É responsável por causar três diferentes tipos de infecções humanas, sendo a gastroenterite e a septicemia primária geralmente consequência da ingestão de moluscos crus ou mal cozidos. Infecções de pele também podem ser causadas pelo contato direto com moluscos bivalves e águas marinhas em que o patógeno está presente (STROM; PARANJPYE, 2000; OLIVER, 2005).

O *Vibrio cholerae* é excretado em maior quantidade nas fezes de pacientes com cólera e convalescentes. A doença é disseminada principalmente pela via fecal-oral, ou de forma indireta por meio de água contaminada. Em vários países os surtos de cólera ocorrem em razão do consumo de produtos de origem animal marinho crus, mal cozidos, contaminados, ou contaminados pós-processamento. Evidências revelam que o sorogrupo O1 é um constituinte da microbiota autóctone de águas salinas e estuários, em zonas costeiras temperadas, o que pode configurar um perigo constante para a saúde pública (KAYSNER; DEPAOLA JUNIOR, 2004).

O gênero *Aeromonas* pertencente à família *Aeromonadaceae*, é constituído por bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, na sua maioria móveis e capazes de se multiplicar em temperaturas de refrigeração (IGBINOSA *et al.*, 2012). Apresenta distribuição mundial, sendo isolado nos mais diversos nichos, como ambiente aquático, peixes, alimentos, animais domésticos, invertebrados, pássaros, e insetos, além do solo (JANDA; ABBOTT, 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2002, e a Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos, em 2006, caracterizaram o gênero *Aeromonas* como micro-organismos patogênicos emergentes. Atualmente, esse gênero vem recebendo bastante notoriedade, por estar associado às várias doenças em animais e humanos, especialmente, devido à sua potencialidade de patógeno oportunista em indivíduos imunossuprimidos (MARTINS *et al.*, 2009).

As bactérias do gênero *Aeromonas* estão amplamente difundidas no meio ambiente, podendo ser encontradas em meios aquáticos, colonizando animais e alimentos. Seu isolamento em produtos de origem animal foi relatado na literatura (HIRSCH *et al.*, 2006; LANZARIN *et al.*, 2011; SUÁREZ; HERRERA, 2012), sendo que a grande maioria das espécies estão diretamente relacionadas ao pescado, dentre os quais destacam-se as ostras. Como patógenos oportunistas, *Aeromonas* têm sido consideradas como potenciais causadoras de gastroenterites e infecções extra intestinais, abrangendo as infecções de feridas, pneumonia, síndrome urêmica hemolítica, peritonites, sepses biliares e septicemias (SILVA *et al.*, 2014).

Pesquisas têm validado que *Aeromonas* sp. pode atuar como organismo infeccioso ou enterotoxigênico, resultando em sérios problemas para o ser humano, sendo apontado como agente emergente de origem alimentar (ISONHOOD; DRAKE, 2002; MARTINELLI *et al.*, 2010; IGBINOSA *et al.*, 2012). O gênero tem sido classificado como causador de

diferentes infecções, sendo as gastroenterites as mais comuns. *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veronii* biovar sobria são as espécies mais regularmente encontradas (PARKER; SHAW, 2011). Além de provocar patologias em seres humanos e animais, também é um considerável deteriorante que favorece a diminuição da vida de prateleira de diversos alimentos (carne, leite, ovos, pescados e alimentos cozidos) mesmo quando acondicionados sob refrigeração (KIROV, 1993).

### **3.6. Legislação vigente**

As análises microbiológicas da água são preconizadas pela Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005), que determina que para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 NMP por 100 ml, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 NMP coliformes termotolerantes por 100 ml. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. A *E. coli* poderá ser utilizada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Em relação às ostras, a Resolução nº 331 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2019A), dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação e a Instrução Normativa nº 60 (BRASIL, 2019B) estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Assim, é preconizado que 25 g de ostras devem apresentar ausência de *Salmonella* sp. enquanto, a cada cinco amostras analisadas, quatro devem apresentar valores máximos de 2,3 UFC de *E. coli*/g e uma amostra pode apresentar valores entre 2,3 e 7 UFC de *E. coli*/g.

## REFERÊNCIAS

- AFINOWI, M. A. The mangrove oyster, *Crassostrea gasar* cultivation and potential in the Niger Delta (Nigeria). **Nigerian Institute for Oceanography and Marine Research**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 1984.
- ALTEKRUSE, S.F.; BISHOP, R. D.; BALDY, L. M.; THOMPSON, S. G.; WILSON, S. A.; RAY, B. J.; GRIFFIN, P. M. *Vibrio* gastroenteritis in the US Gulf of Mexico region—the role of raw oysters. **Epidemiology and Infection**, v. 124, n. 3, p. 489–495, 2000.
- ANTUNES, S. A.; ITO, Y. Composição química da ostra de São Paulo e Paraná. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 17, n. 1, p. 77-88, 1968.
- BARBIERI, E.; BONDIOLI, A. C.; WOICIECHOVSKI, E.; ZAPOTOSKI, S. M. K. Qualidade microbiológica da água da cultura de ostras comercializadas em Cananeia-SP, Brasil. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 541-547, 2012.
- BEIRÃO, H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M. **Processamento e industrialização de moluscos**. In: Seminário e workshop tecnologias para o aproveitamento integral do pescado. Campinas: ITAL, Centro de Tecnologia de Carnes, p. 38-84, 2000.
- BONNIN-JUSSERAND, M.; COPIN, S.; CÉDRIC LE BRIS, C.; BRAUGE, T.; GAY, M.; BRISABOIS, A.; GRARD, T.; MIDELET-BOURDIN, G. *Vibrio* species involved in seafood-borne outbreaks (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*): review of microbiological versus recent molecular detection methods in seafood products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 4, p. 597-610, 2019.
- BRASIL. **Boletim da Maricultura em Águas da União 2017 - 2018 - 2019**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020.
- BRASIL(A). **Resolução - RDC N° 331, de 23 de dezembro de 2019**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.
- BRASIL(B). **Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.
- BROOKS G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia médica**. 21<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 142-143, 2000.
- CARROZZO, G. Contaminação Bacteriana em Bivalves comestíveis da enseada dos Tainheiros e comercializados em feiras livres de Salvador. **(Dissertação)** Mestrado em Ciências Biológicas, na modalidade Organismos Aquáticos – Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1994.
- CAVALEIRO, N. P. Ecologia molecular de ostras (*Crassostrea* sp.) do Atlântico Tropical. **(Tese)** Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 183 f., 2013.

COELHO, C.; HEINERT, A. P.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Hepatitis A virus detection in oysters *Crassostrea gigas* in Santa Catarina, Brazil, by RT-PCR. **Journal of Food Protection**, Estados Unidos, v. 66, n. 3, p. 507-511, 2003.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2005.

COSTA, R. A.; VIEIRA, G. H. F.; SILVA, G. C.; PEIXOTO, J. R. O.; BRITO, M. V. Bactérias de interesse sanitário em sushi comercializado em Sobral – Ceará. **Boletim Téc. Cient. CEPENE**. Tamandaré, v. 15, n. 1, p. 15-19, 2007.

CHRISTO, S. W.; ABSHER, T. M. CRESCIMENTO DA PRODISSOCONCHA DE OSTRAS DO GÊNERO *CRASSOSTREA* SACCO, 1897 (BIVALVIA, OSTREIDAE). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 1, p. 71-77, 2008.

CHRISTO, S. W. Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná-Brasil): um subsídio ao cultivo. (Tese) Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Brasil, 146 f., 2006.

CHRISTO, S. W.; IVACHUK, C. S.; VERONESE, F. C.; FERREIRA-JR, A. L.; ABSHER, T. M. Descrição alimentar e estágio de maturação de *Crassostrea brasiliiana* comercializadas no mercado municipal de Paranaguá, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 19, n. 2, p. 1-9, 2015.

CRUZ-ROMERO, M., KERRY, J. P., KELLY, A. L. Changes in the microbiological and physicochemical quality of high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*) during chilled storage. **Food Control**, v. 19, n. 12, p. 1139-1147, 2008.

DALMASSO, A.; CIVERA, T.; BOTTERO, M. T. Multiplex primer extension assay for identification of six pathogenic vibrios. **International Journal of Food Microbiology**, v. 129, n. 1, p. 21-25, 2009.

DESLOUS-PAOLI J. M.; HÉRAL, M. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. **Aquatic Living Resources**, v. 1, n. 4, p. 239-249, 1988.

DOI, S. A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananéia (SP). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 165-171, 2014.

DRIDI, S.; ROMDHANE, M. S.; ELCAFSI, M. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. **Aquaculture**, v. 263, n. 1-4, p. 238-248, 2007.

DIEGUES, A. C. S. **Pescadores, camponeses e trabalhadores do mar**. São Paulo: Ática, 1983.

DOI, S. A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H. L. DE A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananeia (SP). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 165-171, 2014.

DUÉ, A.; COSTA, M. M. S.; FILHO, E. A. S.; GUEDES, E. A. C. Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil. **Bioikos**, v. 24, n. 2, p. 83-93, 2010.

ERSE, E. B.; BERNARDES, M. A. Levantamento de estoques da ostra *Crassostrea* sp. em bancos naturais no litoral paranaense. **Biotemas**, v. 21, n. 2, p. 57-63, 2008.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SOUSA, O. V.; VIEIRA, R. H. S. F. Moluscos bivalves: organismos bioindicadores da qualidade microbiológica das águas: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p. 17-29, 2008.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2012** (FAO, 2013).

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome, 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FIGUEIREDO, J. F.; RIBEIRO, S. C. A.; PAULA, M. T.; PONTES, A. N. Determinação da concentração de coliformes totais e termotolerantes na água de cultivo de ostras do mangue (*Crassostrea rhizophorae*) em região estuarina. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 3488-3498, 2015.

FREITAS, F.; NEIVA, G. S.; CRUZ, E. S.; SANTANA, J. M.; SILVA, I. M. M.; MENDONÇA, F. S. Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas. **Revista Engenharia Sanitária**, v. 22, n. 4, p. 723-729, 2017.

FUNO, I. C. S. A. Avaliação de parâmetros produtivos e biológicos da ostra nativa *Crassostrea gasar* (ADANSON, 1757) como subsídio ao desenvolvimento da ostreicultura em ambientes estuarinos do estado do Maranhão. (Tese) Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, f. 122, 2016.

GARCIA, M. R.; BERNAT, I. G. Extrativismo marinho e desenvolvimento sustentável na Comunidade Tradicional de Carnaubearas (MA). **Revista brasileira de desenvolvimento regional**, v. 7, n. 2, p. 51-78, 2019.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 629 p., 2001.

GOMES, R. S.; ROGÉRIO, C. P. A.; MAXIMIANO, P. D. N. Contribuição da ostreicultura

para formação da renda familiar: estudo de caso do projeto de ostreicultura comunitário da fundação Alphaville, Eusébio – Ceará. In: XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, **Anais [...]** Rio Branco – Acre, 20 a 23 de julho, f. 21, 2008.

GRADVOHL, M. P. G. M. Avaliação técnico-financeira de um cultivo da ostra-do mangue *Crassostrea brasiliiana* (LAMARCK, 1818) na comunidade de Graciosa, município de Taperoá, Bahia. (**Dissertação**) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, p.73, 2014.

HIRSCH, D.; JÚNIOR, D. J. P.; LOGATO, P. V. R.; PICCOLI, R. H.; FIGUEIREDO, H. C. P. Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1211-1217, 2006.

HOI, L.; DALSGAARD, A.; LARSEN, J. L.; WARNER, J. M.; OLIVER, J. D. Comparison of ribotyping and randomly amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for characterization of *Vibrio vulnificus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 1674–1678, 1997.

HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. Roma: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, 176 p., 1997 (Documento Técnico sobre as Pescas, n. 334).

HUSS, H. H.; REILLY, A.; EMBAREK, P. K. B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, v. 11, n. 2, p. 149-56, 2000.

IGBINOSA, I. H.; IGUMBOR, E. U.; AGHDASI, F.; TOM, M.; OKOH, A. A. I. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance in Public Health. **The Scientific World Journal**, p.1-13, 2012.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. **Produção da Pecuária Municipal**, p. 1-12, 2020.

ISONHOOD, J. H.; DRAKE, M. *Aeromonas* species in foods. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 3, p. 575- 582, 2002.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 1, p. 35-73, 2010.

KAYSNER, C. A.; DEPAOLA JUNIOR, A. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and Other *Vibrio* spp. In: UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - US FDA; CENTER FOR FOOD SAFETY & APPLIED NUTRITION - CFSAN. **Bacteriological Analytical Manual Online**, chap 9, 2004.

KIMURA, I.; OHMINAMI, H.; OKUDA, H. Effects of extract of oyster on lipid metabolism in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 59, n. 3, p. 117-123, 1998.



KIROV, S. M. The public health significance of *Aeromonas* spp. in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 179-198, 1993.

KITTIGUL, L.; POMBUBPA, K.; TAWEEKATE, Y.; DIRAPHAT, P.; SUJIRARAT, D.; KHAMRIN, P.; USHIJIMA, H. Norovirus GII-4 2006b variant circulating in patients with acute gastroenteritis in Thailand during a 2006-2007 study. **Journal of Medical Virology**, v. 82, p. 854-860, 2010.

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A. OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus* coagulase positiva EM QUEIJOS MINAS FRESCAL PRODUZIDOS EM UBERLÂNDIA-MG. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 316-321, 2010.

KOLM, H. E.; MIQUELANTE, F. A. Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da Gamboa Olho D'Água, Paraná: Subsídio para o monitoramento da balneabilidade no Brasil. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saude**, v. 17, n. 1, p. 21-35, 2011.

LAPÈGUE, S.; BOUTET, I.; LEITÃO, A.; HEURTEBISE, S.; GARCIA, P.; THIRIOTUIE-VREUX, C.; BOUDRY, P. Trans-Atlantic distribution of a mangrove oyster species revealed by 16S mtDNA and karyological analyses. **Biological Bulletin**, v. 202, n. 3, p. 232-242, 2002.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTER, D. O.; MELLO, C. A.; CORRÊA, G. S. S.; IGNÁCIO, C. M. S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrótróficos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1541-1546, 2011.

LAZOSKI, C. Sistemática molecular e genética populacional de ostras brasileiras (*Crassostrea* spp.). (Tese) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 145 p., 2004.

LEE, R. J.; YOUNGER, A. D. Determination of the relationship between faecal indicator concentrations and the presence of human pathogenic micro-organisms in shellfish. **Molluscan Shellfish Safety**, Galicia: Grafinoval S.A., p. 247-252, 2003.

LEE, W. C.; LEE, M. J.; KIM, J. S.; PARK, S. Y. Foodborne illness outbreaks in Korea and Japan studied retrospectively. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 899–902, 2001.

LIMA, M. N. B. Biologia Reprodutiva, Crescimento Cultivo da Ostra-do-Mangue *Crassostrea gasar* Adanson (1757) (MOLLUSCA: BIVALVIA) em manguezais da Costa Amazônica (Curuçá e São Caetano de Odivelas), Brasil. (Tese) Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do Pará, 91 f., 2015.

MACEDO, A. R. G.; SILVA, F. L.; RIBEIRO, S. C. A.; TORRES, M. F.; SILVA, F. N. L.; MEDEIROS, L. R. Perfil da ostreicultura na comunidade de Santo Antônio do Urindeua, Salinópolis, nordeste do Pará/Brasil, **Revista Observatorio de la Economía**

**Latinoamericana**, Brasil, março, 2016.

MACHADO, I. C.; PAULA, A. M. R.; BUZZO, A.; JAKABI, M.; RISTORI, C.; SAKUMA, H. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliiana*). 2. Análise da ostra (tecidos moles e líquido intervalvar). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 83, p. 44-48, 2001.

MARTIN, R.E. **The seafood industry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 445p., 1990.

MARTINS, A. G. L. A.; NASCIMENTO, A. R.; VIEIRA, R. H. S. F.; SERRA, J. L.; ROCHA, M. M. R. M. Quantificação e identificação de *Aeromonas* spp. em águas de superfície do estuário do rio Bacanga em São Luís / MA (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 107-18, 2009.

MARTINELLI, T. M.; ROSSI JUNIOR, O. D.; CERESER, N. D.; CARDOZO, M. V.; KAMIMURA, B. A.; NESPOLO, N. M.; PINTO, F. R. Ocorrência de *Aeromonas* spp. em abatedouro bovino e sensibilidade a antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 195-202, 2010.

MENDES, E.S.; MENDES, P.P.; LOPES, C.A.M.; COELHO, M.I.S.; SOUZA, J.C.R.; CRUZ, M.C.S.; ASSIS, A.S. Sazonalidade dos micro-organismos em ostras consumidas na grande Recife, PE. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116, p. 79-87, 2004.

MORAIS, C.; FIGUEIREDO, I. B.; ANGELUCCI, E.; KAI, M. Contribuição ao estudo da ostra de cultivo de Cananéia; composição química aproximada. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 56, p. 115-126, 1978.

OLIVER, J. D. **Vibrio vulnificus**. In: BELKIN, S.S.; COLWELL, R.R. Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment. New York: Springer. p. 253-275, 2005.

OLIVEIRA, R. C. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 2, n. 1, p. 71-89, 2009.

ORBAN, E.; LENA, G. D.; MASCI, M.; NEVIGATO, T.; CASINI, I.; CAPRONI, R.; GAMBELLI, L.; PELLIZZATO, M. Growth, nutritional quality and safety of oysters (*Crassostrea gigas*) cultured in the lagoon of Venice (Italy). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 14, p. 1929-1938, 2004.

PAIXÃO, L. F. Estudo da Biologia reprodutiva de *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) no nordeste paraense. (**Dissertação**) Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará, 37 f., 2012.

PARKER, J. L.; SHAW, J. G. *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. **Journal of Infection**, v. 62, n. 2, p. 109-118, 2011.

PEREIRA, T. J. F.; CASTRO, A. C. L.; FERREIRA, H. R. S.; SOARES, L. S.; SILVA, M. H. L.; AZEVEDO, J. W. J.; FRANÇA, V. L.; MOREIRA, M. S. EXTRATIVISMO DE MARISCOS NA ILHA DO MARANHÃO (MA): implicações ecológicas e socioeconômicas. **Revista de Políticas Públicas**, v. 21, n. 2, p. 831-853, 2017.

PITTA, M. S. Tendência actual del estreptococo como indicador de contaminação fecal. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiología**, v. 40, n. 1, p. 38-43, 2002.

PRUZZO, C.; HUQ, A.; COLWELL, R. R.; DONELLI, G. **Pathogenic Vibrio Species in the Marine and Estuarine Environment**. In: BELKIN, S.S.; COLWELL, R.R. Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment. New York: Springer. p. 217-252, 2005.

PORTELLA, C. G. Avaliação da qualidade da ostra nativa *Crassostrea brasiliiana* congelada em concha em função da composição química e análise sensorial. (**Dissertação**) Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, 75 f., 2005.

POTASMAN, I.; PAZ, A.; ODEH, M. Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective. **Clinical Infectious Diseases**, v. 35, n. 8, p. 921-928, 2002.

RAMPERSAD, F. S.; LALOO, S.; LA BORDE, A.; MAHARAJ, K.; SOOKHAI, L.; TEELUCKSINGH, J.; REID, S.; MCDOUGALL, L.; ADESIYUN, A. A. Microbial quality of oysters sold in Western Trinidad and potential health risk to consumers. **Epidemiology and Infection**, v. 123, n. 2, p. 241-250, 1999.

REN, J. S.; MARSDEN, I. D.; ROSS, A. H.; SCHIEL, D. R. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 37, p. 171-182, 2003.

RIBEIRO, E. B.; BASTOS, L. S.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO NETA, R. N. F.; COSTA, F. N. Perfil socioeconômico dos marisqueiros e condições higiênicas adotadas na cadeia produtiva de ostra (Mollusca, Bivalvia). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 4, p. 209-214, out./dez. 2016.

RODRIGUES, L. A. P.; CARVALHO FILHO, C. D. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* nas Etapas de Beneficiamento de Ostras (*Crassostrea rhizophorae*), Cultivadas na Baía de Todos os Santos - BA, e Determinação dos Pontos Críticos de Controle. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 2, p.77-83, 2011.

ROSA, J. L.; BARROS, R. F.; SANTOS, M. O. Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). **Saúde & Ciência em ação**, v. 2, n. 1, p. 66-78, 2016.

ROSÁRIO, M. K. S. Investigação molecular de *Toxoplasma gondii* em ostras (*Crassostrea* sp.) comercializadas em praias do estado do Pará, Brasil. (**Dissertação**) Programa de Pós-graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará, 40 f., 2019.

SALES, W. B.; TUNALA, J. F.; VASCO, J. F. M.; RAVAZZANI, E. D. A.; CAVEIÃO, C. Ocorrência de Coliformes Totais e Termotolerantes em pastéis fritos vendidos em bares no centro de Curitiba-PR. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 10, n. 1, p. 77-85, 2015.

Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Pesca - SAGRIMA. **Boletim: Perfil da Agropecuária Maranhense**. Superintendência de Pesquisa e Geoprocessamento, 36 f., 2019.

SUÁREZ, Q. W.; HERRERA A. F. Determinación de factores de virulencia en cepas de *Aeromonas* spp., aisladas a partir de pescado. **Revista MVZ Córdoba**, v. 17, n. 1, p. 2846-2851, 2012.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha**. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, Relatório Técnico, 1999.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, A. I. M.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENEZES, F. G. R.; LIMA, L. N. G. C.; NASCIMENTO, S. M. M.; CARVALHO, F. C. T. Bactérias fecais em ostras, *Crassostrea rhizophorae*. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 36, n. 1-2, p. 63-66, 2003.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do Padrão de Coliformes a 45 °C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

SILVA, A. C. M. M.; NASCIMENTO, D. L.; MACHADO, R. Z.; COSTA, F. N. CARACTERIZAÇÃO DE *Aeromonas* spp. ISOLADAS DE AMOSTRAS DE OSTRAS E ÁGUA POR MÉTODO MICROBIOLÓGICO E MOLECULAR. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 362-368, 2014.

SILVA, V. F. V. Caracterização fenotípica e molecular de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água do mar da região costeira do Estado de São Paulo, Brasil. **(Dissertação)**. Programa de pós-graduação em Microbiologia, Universidade de São Paulo, 120 f., 2015.

STROM, M. S.; PARANJPYE, R. N. Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. **Microbes Infection**. v. 2, p. 177-188, 2000.

TOURON, A.; BERTHE, T.; GARGALA, G.; FOURNIER, M.; RATAJCZAK, M.; SERVAIS, P.; PETIT, F. Assessment of faecal contamination and the relationship between pathogens and faecal bacterial indicators in an estuarine environment (Seine, France). **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, n. 9, p. 1441-1450, 2007.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. **Microbiologia: Doenças Microbianas do**

**Sistema Digestivo.** Porto Alegre: Artmed Editora S/A, Ed 8, cap. 25, p. 705-709, 2005.

USDA – United States Department of Agriculture. **Nutrient database for Standard Reference.** Food Data Central, 2019. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171978/nutrients> Acesso: 30/07/2021.

VARELA, E. S.; BEASLEY, C. R.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I.; MARQUES-SILVA, N. S.; TAGLIARO, H. Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. **Journal of Molluscan Studies**, v. 73, n. 3, p. 229-234, 2007.

VASCO, A. N.; RIBEIRO, D. O.; SANTOS, A. C. A. S.; MELLO JÚNIOR, A. V.; TAVARES, E. D.; NOGUEIRA, L. C. Qualidade da água que entra no estuário do rio Vaza Barris pelo principal fluxo de contribuição de água doce. **Scientia Plena**, v. 6, n. 10, p. 1-10, 2010.

VIEIRA, R. H. S. F.; **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** São Paulo: Livraria Varela, 380 p., 2004.

VIEIRA, R. H. S. F.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. Quantificação de víbrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim-CE. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2007.

YÁÑEZ, M. A.; VALOR, C.; CATALÁN, V. A simple and cost-effective method for the quantification of total coliforms and *Escherichia coli* in potable water. **Journal of Microbiological Methods**, v. 65, n. 3, p. 608-611, 2006.

YOUNGER, A. D.; LEE, R. J.; LEES, D. N. Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas in England and Wales – rationale and approach. **Molluscan Shellfish Safety.** Galicia: Grafínova S.A., p. 265-277, 2003.

ZIMANN, A. P. T. Influência da atmosfera modificada no crescimento bacteriano em ostras (*Crassostrea gigas*). Universidade Federal de Santa Catarina, (**Monografia**) Graduação em Engenharia de Alimentos, 77 f., 2017.

## CAPÍTULO II

## Qualidade microbiológica de ostras e de águas em manguezais de macromaré da costa amazônica (Ilha de São Luís, MA), Brasil

**Abstract:** This research aimed to evaluate the microbiological quality of water and oysters from natural banks and oyster farms located on the Island of São Luís, MA. For this, 60 samples were analyzed from September 2020 to February 2021, 30 of water and 30 of oysters (*Crassostrea* sp.) collected directly from shellfish farmers and farm owners in the municipalities of the Island of São Luís, MA. For the determination of total coliforms and *E. coli* in the water samples, the technique recommended by APHA (2012) was used using the Colilert® rapid method. For the enumeration of total and thermotolerant coliforms in oysters were performed by the Most Probable Number (MPN) method and *E. coli* by the technique described by Vanderzant and Splittstoesser (1992). Enumeration of coagulase positive *Staphylococcus* in oyster samples was performed according to SILVA *et al.*, (2017). Surveys for *Salmonella* sp., *Aeromonas* sp. and *Vibrio* sp. in oysters were performed according to the methodologies recommended by APHA (2012), CARNAHAN *et al.*, (1991) and Bacteriological Analytical Manual online ELLIOT, KAYSNER; TAMPLIN (2004). The results in geometric mean count of *E. coli* in the water samples ranged from 604.29 to 1130.79 NMP/100ml demonstrating unsatisfactory microbiological quality. For the oysters, 8 (26.66%) out of 30 samples were unsuitable for consumption, 4 samples (13.33%) due to the presence of *Salmonella* sp. and 4 samples (13.33%) due to *E. coli* counts above the limits of the current legislation.

**Key-words:** Oyster farming; *Crassostrea* sp.; Public health; Microorganisms.

**Resumo:** Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de águas e ostras de bancos naturais e ostreiculturas localizadas na Ilha de São Luís, MA. Para isso, foram analisadas no período de setembro de 2020 a fevereiro de 2021, 60 amostras, sendo 30 de água e 30 de ostras (*Crassostrea* sp.) coletadas diretamente com os marisqueiros e proprietários de cultivos nos municípios da Ilha de São Luís, MA. Para a determinação de coliformes totais e *E. coli* nas amostras de água foi utilizada a técnica recomendada pela APHA (2012) utilizando o método rápido Colilert®. Para a contagem de coliformes totais e termotolerantes em ostras foram realizadas pelo método do Número Mais Provável (NMP) e *E. coli* pela técnica descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992). A Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras de ostras foi realizada de acordo com SILVA *et al.*, (2017). As pesquisas de *Salmonella* sp., *Aeromonas* sp. e *Vibrio* sp. em ostras foram realizadas segundo as metodologias preconizadas pela APHA (2012), CARNAHAN *et al.*, (1991) e Bacteriological Analytical Manual online ELLIOT, KAYSNER; TAMPLIN (2004). Os resultados em média geométrica contagem de *E. coli* nas amostras de água variaram entre 604,29 a 1130,79 NMP/100ml demonstrando qualidade microbiológica insatisfatória. Para as ostras, 8 (26,66%) das 30 amostras apresentaram estar impróprias para consumo, sendo 4 amostras (13,33%) pela presença de *Salmonella* sp. e 4 amostras (13,33%) pela contagem de *E. coli* acima dos limites da legislação vigente.

**Palavras-chave:** Ostreicultura; *Crassostrea* sp.; Saúde Pública; Micro-organismos.

## INTRODUÇÃO

O crescimento desenfreado de aglomerações urbanas, bem como as limitações dos sistemas de planejamento e saneamento básico vêm originando sérios efeitos sobre os ambientes costeiros ao redor do mundo (MENEZES *et al.*, 2019). Um dos principais impactos é o crescimento populacional nas cidades litorâneas, que nem sempre é assistido da infraestrutura de saneamento básico e produz efluentes domésticos que são despejados diretamente ao mar, sem qualquer tratamento prévio (BALLESTEROS *et al.*, 2016).

Os estuários são caracterizados como ecossistemas de grande importância devido aos serviços ecológicos que fornecem, de modo que seus recursos lhes confere a função de berçário para muitas espécies de peixes e invertebrados. Porém, os ambientes estuarinos apresentam suscetibilidade à pressão antrópica, resultando na destruição e perda imediata de *habitats* (SCHNACK *et al.*, 2018).

Os estados brasileiros, de forma geral, apresentam estrutura insatisfatória de saneamento. Em referência ao estado do Maranhão, apesar da grande riqueza de recursos hídricos, nos últimos anos, constataram-se o surgimento de diversos problemas ambientais nos corpos d'água das suas principais bacias hidrográficas. E, o principal indicador das alterações é o despejo de efluentes domésticos, que é relatado por 36 municípios, com quantidade significativa para ser apontado como fator de poluição dos rios e estuários (PIMENTA *et al.*, 2020).

A qualidade higiênico-sanitária, tanto da água do mar quanto dos organismos utilizados como fonte de alimento, é de extrema relevância, porquanto a ingestão de alimentos e/ou água contaminados por micro-organismos patogênicos causa ao consumidor diversos problemas, como as doenças diarreicas (GOMES *et al.*, 2017). Entre os anos de 2009 e 2018, pescados, frutos do mar e processados corresponderam por 2,1% dos alimentos incriminados envolvidos nos 4.499 surtos notificados (BRASIL, 2019A).

Os moluscos bivalves, tais como as ostras, as vieiras e os mexilhões, são organismos filtradores dinâmicos de água para a obtenção de oxigênio e nutrientes, reconhecidos como ótimos bioindicadores de poluentes marinhos costeiros (SALLES *et al.*, 2017; ARAÚJO *et al.*, 2020). Quaisquer contaminantes presentes na água, podendo ser de origem biológica (como vírus, bactérias, toxinas e parasitas) e de origem química (como

antibióticos, resíduos de pesticidas e até metais pesados), são filtrados e permanecem acumulados em seus tecidos (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Diversas pesquisas relatam a contaminação por micro-organismos patogênicos em tecidos moles de ostras, como: *Aeromonas* sp. (FIGUERAS *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2020), *Escherichia coli* (MIOTTO *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020), *Staphylococcus* coagulase positiva (SILVA *et al.*, 2020), *Salmonella* sp. (FANG *et al.*, 2015; CABRAL *et al.*, 2017) e *Vibrio* sp. (SHEN *et al.*, 2019; AUDEMARD *et al.*, 2018), evidenciando o risco à saúde pública.

O extrativismo de moluscos bivalves é uma prática de importância econômica em diversas comunidades costeiras no Nordeste brasileiro, dado que aproximadamente 50.000 pessoas vivem exclusivamente da retirada de moluscos como a ostra (*Crassostrea gasar*), o sarnambi (*Anomalocardia brasiliana*) e o sururu (*Mytella falcata* e *Mytella guyanensis*) em manguezais e estuários. (PEREIRA *et al.*, 2017).

A maricultura apareceu como alternativa que contribui para a minimização das desigualdades sociais, criação de novos postos de trabalhos e, conseqüentemente, geração de renda para essas comunidades. A aquicultura, por intermédio da maricultura sustentável, pode favorecer a diminuição da fome e a pobreza nas regiões litorâneas, tornando-se importante fonte de renda (SILVA *et al.*, 2021). Ressalta-se que as regiões de produção de moluscos estão frequentemente localizadas em águas costeiras e águas rasas de sistemas estuarinos, as quais sofrem influência de diversos fatores ambientais e antrópicos que apresentam variabilidade espacial e temporal (FREITAS *et al.*, 2017).

Os padrões microbiológicos da qualidade de alimentos inclusive de origem marinha, tais como peixes, moluscos e crustáceos são regulamentados pela Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 331/19 (BRASIL, 2019B) e a Instrução Normativa nº 60/19 (BRASIL, 2019C), baseando-se nas densidades de *Escherichia coli* e na presença/ausência de *Salmonella* sp. A qualidade de águas destinadas a criação de moluscos bivalves voltados à consumação humana, incluindo salobras e salgadas, é avaliada por meio da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 357/05, que considera como parâmetros os coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (CONAMA, 2005).

Diante do exposto, esta pesquisa objetivou avaliar a qualidade microbiológica de águas e ostras coletadas em bancos naturais e cultivos localizados em áreas de manguezais na



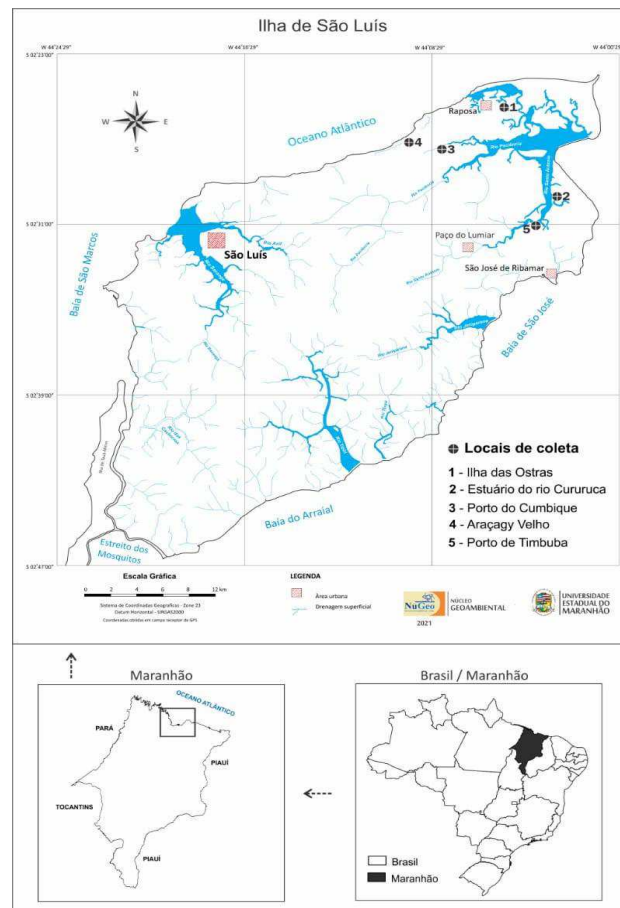
Ilha de São Luís, MA. Além de correlacionar parâmetros ambientais com a contaminação da água dos estuários por fatores antrópicos, considerando a grande importância ecológica das regiões de mangue e o desenvolvimento socioeconômico das comunidades costeiras.

## METODOLOGIA

### Caracterização da área de estudo

A Ilha de São Luís (Figura 1) está localizada entre as coordenadas de 02°24'09"S-02°46'13"S e 44°01'20"W- 44°29'47"W, tendo como limites a oeste, a baía de São Marcos; a leste a baía de São José; ao sul o Estreito dos Mosquitos e ao norte, o Oceano Atlântico. A divisão político-administrativa atual define a composição territorial da Ilha de São Luís em quatro municípios: Paço do Lumiar, São José de Ribamar, São Luís e Raposa (RIBEIRO; CASTRO, 2016).

**Figura 1** – Localização da ilha de São Luís do Maranhão



Fonte: Núcleo de Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão - NUGEO (2021)

A pesquisa foi realizada durante os meses de setembro de 2020 a março de 2021, foram realizadas visitas (via transporte terrestre e via embarcação a motor) nos municípios da Ilha de São Luís, para reconhecimento da área em estudo, localização das comunidades que cultivam ostras, assim como a identificação dos bancos naturais para extração dos moluscos bivalves.

Foram determinados cinco pontos de coleta, escolhidos com base em estudos anteriores e por conveniência logística, sendo três em bancos naturais e dois em ostreiculturas. Para bancos naturais, destacam-se os pontos: Porto do Cumbique (2°27.540'S e 44°07.524'W) e Porto do Timbuba (2°31.164'S e 44°04.165'W) do município de Paço do Lumiar; e Araçagy Velho (2°27.407'S e 44°09.249'W) do município de São Luís. Enquanto, os pontos de ostreiculturas foram: Estuário do Rio Cururuca (2°29'51.06''S e 44°3'14.67''O) do município de São José de Ribamar e Ilha das Ostras (2°25'40''S e 40°05'44''W) do município da Raposa.

Após as visitas aos cinco pontos de extração e cultivo das ostras, foram realizadas seis expedições, em intervalos mensais em cada local para a coleta das amostras de água e de ostras, totalizando 30 amostras de ostras e 30 de água. Cada amostra de água foi composta por 100 ml acondicionada em fracos de vidros estéreis graduados de 500 ml, enquanto a de ostra foi composta por 12 unidades de organismos maduros prontos para consumação, acondicionada em saco ziplock para alimentos, de acordo com Kaysner e De Paola (2001). Em seguida, as amostras de água e ostras foram armazenadas separadamente em caixas isotérmicas, sob refrigeração e transportadas para o Laboratório de Pesquisa em Controle de Qualidade de Alimentos e Água/LAMP da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, para imediata realização das análises microbiológicas.

### **Análises microbiológicas da água de extração e cultivo das ostras**

Para a determinação de coliformes totais e *E. coli* na água coletada dos locais de extração e cultivo de ostra, 10 mL de cada amostra foram diluídos em 90 mL de água destilada estéril, perfazendo 100 mL, segundo a metodologia recomendada pela American Public Health Association - APHA (2012). A análise foi realizada por meio do método rápido Colilert®, segundo as instruções do fabricante.

Para a medição de pH das amostras de água, foi utilizado o pHmetro mPA210 da marca MS TECNOPON®. Os dados de temperatura e pluviometria referentes aos meses (Set,

Out, Nov, Dez/2020 e Jan, Fev/2021) foram cedidos pelo Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão.

### **Análises microbiológicas das amostras de ostras**

Os exemplares coletados foram higienizados sob água corrente para a remoção de organismos incrustantes e sedimentos aderidos na região externa. Após a lavagem, as ostras foram abertas com auxílio de espátula estéril e acondicionadas em Beckers esterilizados para pesagem da carne e líquido intravalvar.

### **Enumeração de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli***

Para cada amostra foram pesados 25 g de tecido e adicionados 225 ml de água peptonada para homogeneização (diluição  $10^{-1}$ ) e diluições decimais a partir da diluição  $10^{-1}$  foram preparadas em tubos contendo 9,0 ml de água peptonada. Alíquotas de 1,0 ml de cada diluição foram transferidas para séries de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 e 48 h, e uma alçada de cada tubo apresentando crescimento e produção de gás foi semeada em tubos contendo 10 mL de Caldo Verde Bile Brillante 2% e E.C., com tubos de Durham invertidos (APHA, 2012).

Os tubos contendo Caldo VB foram incubados a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 e 48 h, enquanto tubos de E.C. foram incubados por 24 e 48 h a  $45^{\circ}\text{C}$  em banho Maria. A formação de gás nos tubos de Caldo VB indicou a presença de coliformes totais, sendo o resultado expresso em NMP de coliformes totais por grama de ostras. Para contagem de *E. coli*, os tubos de E.C. com gás foram repicados para placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno-EMB e incubadas a  $35^{\circ}\text{C}$ . Após 24 h, colônias negras com ou sem brilho metálico, suspeitas de *E. coli*, foram identificadas bioquimicamente conforme a técnica descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992).

### **Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva***

A partir das diluições decimais ( $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$ ), alíquotas de 0,1 ml de cada diluição foram semeadas sobre a superfície de placas contendo Ágar Baird-Parker (BP), adicionado de telurito de potássio e gema de ovo e distribuída em toda a placa com auxílio de alça de Drigalski e incubadas em estufa bacteriológica a 35°C durante 48 horas. Após este período, foi realizada a contagem do número de colônias típicas do gênero (circulares, pretas ou cinza escuras, com 2-3mm de diâmetro, lisas convexas, com bordas perfeitas e esbranquiçadas, rodeadas por uma zona opaca e, frequentemente, por um halo transparente se estendendo para além da zona opaca). As colônias típicas do gênero *Staphylococcus* foram submetidas à prova de catalase. As colônias catalase positivas foram transferidas para caldo cérebro-coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizado o teste de coagulase utilizando o plasma de coelho liofilizado (SILVA *et al.*, 2017).

#### **Pesquisa de *Salmonella* sp.**

Para a pesquisa de *Salmonella* sp. foram pesados 25 g de cada uma das amostras de ostras e adicionados à 225mL de água peptonada tamponada (pré-enriquecimento). Os frascos foram incubados a 36°C por 24 horas e, em seguida, realizou-se o enriquecimento seletivo utilizando os caldos Rappaport Vassiliadis e selenito cistina que foram incubados a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se o plaqueamento em meios seletivos (ágar *Salmonella-Shigella*– SS e ágar xilose lisina desoxicolato – XLD). As placas foram incubadas à 36°C. Após o período de incubação, foram realizados os testes bioquímicos utilizando os meios TSI e LIA, segundo a metodologia preconizada pela APHA, 2012.

#### **Pesquisa de *Aeromonas* sp.**

Foram pesados 25 gramas da amostra e adicionados em 225 ml do caldo tripticase soja (TSB), adicionados de ampicilina (30 mg/l). Os frascos foram incubados por 28°C por 24 h. Após este período, foram semeadas alíquotas do crescimento bacteriano em placas contendo ágar vermelho de fenol-amido-ampicilina (MAJEED *et al.*, 1990; PALUMBO *et al.*, 1991) e ágar dextrina-ampicilina, segundo Havelaar e Vonk (1988), adicionadas de ampicilina (10mg/l). As placas foram incubadas a 28°C por 24 horas.

Para identificação presuntiva do gênero a partir do isolamento, foram selecionadas até três colônias típicas (coloração amarelada com halo transparente em virtude da hidrólise do amido ou da dextrina), em cada um dos meios utilizados que foram inoculadas em tripticase soja (TSA). Os tubos foram incubados a 28°C por 24 h. Após incubação, foi realizada a coloração pelo método de Gram e foram selecionadas as culturas que se apresentaram na forma de bastonetes retos e curtos, aos pares, isolados ou em cadeias curtas e Gram negativas. Estas foram repicadas em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) (SAAD *et al.*, 1995) e os mesmos foram incubados a 28°C por 24 h, sendo consideradas positivas no TSI as culturas que apresentaram reação ácida, tanto na base como no bisel, com ou sem a formação de gás e H<sub>2</sub>S negativas. As culturas positivas foram submetidas à prova de oxidase e catalase.

O teste da oxidase foi realizado conforme as instruções do fabricante (NewProv). A prova de catalase consiste na transferência da colônia com a alça de níquel-cromo previamente flambada, para uma lâmina de vidro, sobre a qual adicionou-se uma gota de peróxido de hidrogênio. A reação positiva foi caracterizada pela observação do borbulhamento imediato, como resultado de liberação de oxigênio.

As cepas positivas nesses dois testes foram consideradas como pertencentes ao gênero *Aeromonas*, sem a realização dos testes complementares de motilidade e de resistência ao agente vibriostático O/129, adaptado de Silva *et al.* (2010). Em seguida, foram submetidas às provas bioquímicas para a identificação das espécies (*Aeromonas schubertii*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. hydrophila*, *A. jandaei*, *A. veronii biova rveronii*), segundo a chave de identificação Aerokey II (CARNARHAN *et al.*, 1991) composta dos seguintes testes: hidrólise da esculina, produção de indol, produção de gás a partir de glicose, Voges Proskauer, produção de ácido a partir da arabinose/sacarose e resistência à cefalotina (30µg).

### **Pesquisa de *Vibrio* sp.**

Para a pesquisa de *Vibrio* sp. foram utilizados métodos adaptados do Bacteriological Analytical Manual online (Elliot *et al.*, 2004), com modificações segundo a ISO/TS-21872-1, em relação a temperatura, sem a realização dos testes de sensibilidade (agente O/129 e gelatinase), fermentação (manose, ONPG e celobiose), descarboxilação da ornitina e hidrólise da arginina. Foram realizados os enriquecimentos homogeneizando-se 25 g de amostras de ostras em 225 ml de água peptonada salina alcalina (APWA 3% NaCl). Os

fracos foram incubados em estufa bacteriológica de 42°C/18-24h. A partir do crescimento bacteriano em APWA, coletou-se uma alçada do cultivo e a mesmo foi semeada em placas contendo ágar tiosulfato citrato bile sacarose (TCBS). As mesmas foram incubadas a 45°C/18-24h. Após o crescimento, foram selecionadas 3 a 4 colônias não fermentadoras de sacarose (caracterizadas por colônias verdes), as quais foram submetidas aos testes bioquímicos para confirmação. Dentre os testes bioquímicos realizados foram: Fermentação do manitol, arabinose e sacarose, motilidade, TSI sal 3%, oxidase, LIA, Voges Proskauer e urease.

### Análise Estatística

Todos os dados coletados foram compilados e analisados em planilhas do programa Microsoft Excel® 2019. Além disso, foram feitas análises de estatística básica descritiva e correlação de Pearson, entre as variáveis ambientais e bacteriológicas da água e ostras, utilizando-se o software Bioestat 5.3.

## RESULTADOS

Verificou-se que a quantidade (média geométrica) de coliformes totais na água oscilou de 1.587,75 até 2.302 NMP/100mL, enquanto o seu percentil 90% manteve-se constante em 2.420 NMP/100mL. Para a contagem de *E. coli* nas amostras de água, os valores encontrados foram de 604,29 até 1.130,79 NMP/100ml, já para o seu percentil variou entre 1.729 até 2420 NMP/100mL, conforme apresentado na Tabela 1.

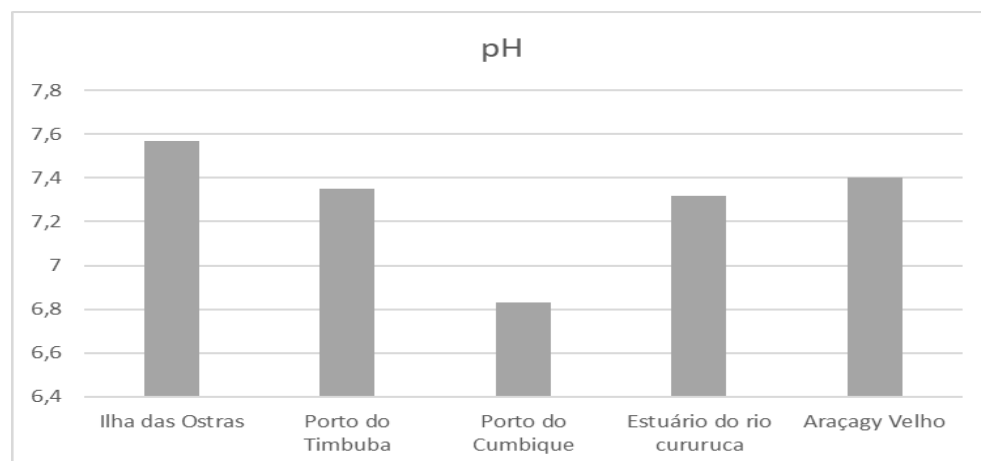
**Tabela 1.** Determinação do Número Mais Provável (média geométrica  $\pm$  desvio padrão e percentil 90%) de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.

Local de coleta	Coliformes totais NMP/100 ml <sup>-1</sup>	Percentil 90%	<i>E. coli</i> NMP/100 ml <sup>-1</sup>	Percentil 90%
Ilha das Ostras	1990,78 $\pm$ 681,77	2420	1130,79 $\pm$ 1029,46	2420
Porto do Timbuba	1587,71 $\pm$ 909,17	2420	961,99 $\pm$ 828,90	2227,5
Porto do Cumbique	2302,02 $\pm$ 255,97	2420	788,02 $\pm$ 697,78	1729
Estuário do rio cururuca	2260,38 $\pm$ 331,91	2420	820,99 $\pm$ 1056,96	2419,8

<b>Araçagy Velho</b>	2230,33 ± 382,53	2420	604,29 ± 1214,85	2420
----------------------	------------------	------	------------------	------

O pH foi aparentemente constante, evidenciando que a água de cultivo e de extração de ostras na área de estudo é neutra, variando de 6,83 até 7,57 (Figura 2). Verificou-se também, neste estudo, o nível de correlação existente entre os parâmetros ambientais e bacteriológicos da água. Os testes de correlação evidenciaram que a temperatura foi o parâmetro que apresentou correlação moderada com os valores de pH, baixa correlação com a concentração de coliformes totais, com exceção do ponto Araçagy velho que apresentou forte correlação negativa, e baixa correlação com a concentração de *E. coli*. Ressalta-se que as correlações com valores negativos é um indicativo de que quanto é maior a temperatura, menor tende ser o NMP de coliformes totais (Tabela 2).

**Figura 2.** Valores da média geométrica de pH em amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.



**Tabela 2.** Valores de correlação de Pearson existentes entre a Temperatura, pH e perfil microbiológico das amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.

Local da Coleta	Parâmetro	pH	Coliformes totais NMP/100mL	<i>E. coli</i> NMP/100mL
Ilha das Ostras	Temperatura	0.4605	0.1085	-0.4487
Porto do Timbuba		0.5614	0.1085	-0.0819
Porto do Cumbique		0.6062	0.1085	-0.2704
Estuário do rio cururuca		0.6325	0.1085	-0.2225
Araçagy Velho		0.6333	-0.8677	-0.3145

O parâmetro pluviometria apresentou alta correlação negativa com os valores de Ph para os pontos Porto do cumbique e Estuário do rio cururuca, demonstrando que quanto maior o índice pluviométrico, o pH tende a ser menor. E também, apresentou fraca correlação entre concentrações de coliformes totais e *E. coli* nas amostras de água analisadas, conforme indica a Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores de correlação de Pearson existentes entre a Pluviometria, pH e perfil microbiológico das amostras de água destinadas ao extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís, MA.

Local da Coleta	Parâmetro	pH	Coliformes totais NMP/100mL	<i>E. coli</i> NMP/100mL
Ilha das Ostras	Pluviometria	-0.239	-0.0448	0.2205
Porto do Timbuba		-0.4872	-0.0448	0.3584
Porto do Cumbique		-0.9394	-0.0448	0.0409
Estuário do rio cururuca		-0.8327	-0.0448	-0.3995
Araçagy Velho		-0.5577	0.2831	0.2901

Os resultados de coliformes totais e termotolerantes encontrados nas ostras *Crassostrea* sp. variaram entre 5,89 até 71,89 NMP/g e 2,74 até 12,39 NMP/g, respectivamente. A contagem de *E. coli* ocorreu em apenas uma das amostras de cada ponto de coleta, com exceção do Estuário do rio cururuca onde não houve o isolamento do micro-organismo. Além disso, nenhum dos isolados de *Staphylococcus* mostrou atividade para a enzima coagulase. Os dados da contagem de coliformes, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase negativa estão expressos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Contagem (média geométrica e desvio padrão) de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase negativa e enumeração de *E. coli* em ostras provenientes de bancos naturais/cultivos da Ilha de São Luís, MA.

Local Coleta	Ct NMP.g <sup>-1</sup>	CT NMP.g <sup>-1</sup>	<i>E. coli</i> UFC.g <sup>-1</sup>	<i>Staphylococcus</i> UFC.g <sup>-1</sup>
Ilha das Ostras	40,51 ± 52,79	3,89 ± 54,40	100 (dez/20)	74,07 ± 93,57
Porto do Timbuba	24,34 ± 57,69	12,39 ± 46,37	100 (out/20)	89,52 ± 76,59
Porto do Cumbique	5,89 ± 56,35	3,49 ± 42,95	12 (fev/21)	73,60 ± 74,01
Est. do rio cururuca	11,84 ± 59,96	2,74 ± 45,69	0	77,49 ± 110,35



Araçagy Velho 71,89 ± 43,14 5,80 ± 55,75 15 (nov/20) 51,98 ± 40,70

Ct: coliformes totais; CT: coliformes termotolerantes.

Para a pesquisa de *Vibrio* sp., nenhum dos isolados apresentaram características pertencentes ao gênero. Para a pesquisa de *Salmonella* sp., quatro isolados (13,33%) exibiram características sugestivas do gênero. Para a pesquisa de *Aeromonas* sp., foram isoladas e identificadas três espécies: *Aeromonas hydrophila* (56,66%), *Aeromonas caviae* (36,66%) e *Aeromonas trota* (3,33%) como indicado na Tabela 5.

**Tabela 5.** Pesquisa de *Vibrio* sp.; *Aeromonas* sp. e *Salmonella* sp., em amostras de ostras provenientes de bancos naturais/cultivos da Ilha de São Luís, MA.

Amostra	<i>Vibrio</i> sp.	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Aeromonas</i> sp.
(A) 1	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(B) 1	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(C) 1	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(D) 1	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(E) 1	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(A) 2	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(B) 2	Ausência	<b>Presença</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(C) 2	Ausência	Ausência	Ausência
(D) 2	Ausência	<b>Presença</b>	<i>Aeromonas caviae</i>
(E) 2	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(A) 3	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(B) 3	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(C) 3	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(D) 3	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(E) 3	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(A) 4	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(B) 4	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(C) 4	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(D) 4	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(E) 4	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(A) 5	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(B) 5	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas trota</i>
(C) 5	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(D) 5	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(E) 5	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(A) 6	Ausência	<b>Presença</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(B) 6	Ausência	<b>Presença</b>	<i>Aeromonas hydrophila</i>
(C) 6	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>

(D) 6	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas caviae</i>
(E) 6	Ausência	Ausência	<i>Aeromonas hydrophila</i>

A: Ilha das ostras; B: Porto do Timbuba; C: Porto do Cumbique; D: Estuário do rio cururuca; E: Araçagy velho;  
1: Setembro; 2: Outubro; 3: Novembro; 4: Dezembro; 5: Janeiro; 6: Fevereiro.

## DISCUSSÃO

Conforme a Resolução CONAMA n° 357/2005, alterada pela Resolução 410/2009 e pela 430/2011 as amostras de água dos cinco pontos de coleta deste estudo apresentaram qualidade microbiológica insatisfatória quando comparados os valores da média geométrica e percentil 90% de *E. coli* (Tabela 1) com os valores limites ( $\leq 43$  NMP/100 mililitros e  $\leq 88$  NMP/100 mililitros, respectivamente) da legislação vigente para águas salinas ou salobras de cultivo de moluscos bivalves destinados a consumação humana.

De acordo com a Resolução CONAMA n° 357 (2005), as águas salobras apresentam salinidade superior a 0,5 e inferior a 30, enquanto águas salinas possui valor igual ou superior a 30. Assim, as águas provenientes da Ilha das ostras, Porto do timbuba, Porto do cumbique e Araçagy velho, podem ser classificadas como salinas conforme descritas em pesquisas anteriores de Ribeiro *et al.*, 2016; Funo *et al.*, 2019 e Cardoso *et al.*, 2021. Enquanto, as águas do Estuário do rio cururuca podem ser classificadas como salobras de acordo com Fontes *et al.*, 2016.

As regiões costeiras que realizam o cultivo de moluscos bivalves no mundo estão cada vez mais alertas aos níveis microbiológicos da sua área de cultivo, assim como dos pescados ali cultivados, principalmente pelas altas densidades de coliformes termotolerantes encontrados nos monitoramentos, frequentemente associados à poluição de águas marinhas e ao despejo de água doce com presença de constituintes fecais (SHAPIRO *et al.*, 2018).

No Brasil, ao realizar o monitoramento das águas de cultivo e de extrativismo de ostras, os resultados são similares, principalmente quanto a alta densidade de coliformes encontrados na água, como descrito por Figueiredo *et al.* (2015), que ao avaliarem a concentração de coliformes totais e termotolerantes em águas de cultivo de ostras do mangue (*Crassostrea rhizophorae*) em região estuarina no município de Salinópolis – PA, na qual encontraram valores elevados de coliformes totais em que a média variou de  $4,5 \times 10^1$  a  $2,5 \times 10^3$  NMP/100ml e de 1,7 a 7,1 NMP/100ml para termotolerantes. Assim como, Ballesteros *et al.* (2016), em sua pesquisa com ostras *Crassostrea* sp. em Cananéia, São

Paulo, encontraram densidade de coliformes termotolerantes de até 458 NMP/100ml para água de extração.

Em contrapartida, Freitas *et al.* (2017) citam a qualidade microbiológica satisfatória de águas destinadas ao cultivo de ostras nativas realizada na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, no município de Cachoeira, estado da Bahia, em que obtiveram a densidade média para coliformes totais de 232,26 NMP/100ml e para coliformes termotolerantes de 36,81 NMP/100 ml. Ao avaliarmos a qualidade microbiológica da água de extração/cultivo de ostras nas demais localidades do Brasil, verifica-se que a densidade de coliformes totais e *E. coli* (coliformes termotolerantes) encontrada nesta pesquisa foi maior, ao compararmos com os resultados dos trabalhos descritos anteriormente, dessa forma, as águas dos estuários da Baía de São José sofrem influência do aporte de matéria orgânica provenientes dos rios e também do material originado por ação antrópica, os quais podem explicar os resultados encontrados.

Ressalta-se que os locais de produção de moluscos bivalves são muitas vezes localizados em águas costeiras e águas rasas de sistemas estuarinos, onde são influenciados por diversos fatores ambientais e humanos que apresentam variabilidade espacial e temporal (FREITAS *et al.*, 2017). Segundo Ramos *et al.* (2010) e Mignani *et al.* (2013), a qualidade microbiológica da água pode ser influenciada por diversos fatores ambientais, como marés, precipitação pluviométrica, salinidade, pH e turbidez. Estes fatores podem impactar na sobrevivência dos micro-organismos no ambiente estuarino, assim como na fisiologia e na adaptação do micro-organismo ao ambiente.

Em relação ao parâmetro pH, as médias variaram entre 6,83 a 7,57 estando em conformidade com a legislação CONAMA nº 357 (2005) para as águas salobras e salobras (pH: 6,5 a 8,5), como indica a Figura 2. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Silva *et al.* (2020), em que o pH das amostras de água de cultivo de ostras no estuário amazônico do estado do Pará, variou entre 6,7 e 7,2. Assim como, Santos *et al.* (2015) ao analisar amostras de água onde ocorre cultivo de ostras em Taperoá – BA, verificaram que o pH oscilou entre 6,6 a 7,8. O pH é um dos indicadores fundamentais para a interpretação da condição físico-química da água, permitindo a identificação de possíveis fontes geradoras de poluição. Valores extremos de pH podem afetar a biota aquática, e o pH básico pode estar associado à proliferação de algas (VASCO *et al.*, 2010).

Quanto à temperatura, a baixa correlação entre essa variável e dados de contaminação da água por coliformes totais e *E. coli* (Tabela 2) corrobora com os achados de Silva *et al.*, (2003), ao verificarem baixo coeficiente da correlação de Pearson entre os dados de temperatura e a concentração de coliformes totais e termotolerantes em tecidos moles de ostras do estuário do rio Cocó em Fortaleza – CE. Portanto, a variação de temperatura aparenta não ter efeito direto sobre a colimetria presente na coluna d'água, assim como os coliformes acumulados nos tecidos de ostras.

Sobre o parâmetro pluviométrico, a baixa correlação entre esse fator ambiental com os dados colimétricos das amostras de água (Tabela 3), contrapõe outros estudos realizados no Brasil que demonstram a relação direta entre a concentração de coliformes em águas com os níveis pluviométricos. Farias *et al.* (2010), Doi *et al.* (2014) e Barbieri *et al.* (2017) verificaram que os valores em NMP de coliformes tanto na água de cultivo ou extração como nos tecidos moles de moluscos bivalves, foram mais elevados principalmente na estação chuvosa. A precipitação pluviométrica é o parâmetro mais frequentemente associado a níveis elevados de micro-organismos indicadores de contaminação fecal graças à ressuspensão dos sedimentos contaminados na coluna de água, prevalecendo a distribuição desses micro-organismos em estuários rasos, especialmente durante a estação chuvosa (CAMPOS; KERSHAW; LEE, 2013).

Na contagem de *Staphylococcus* coagulase negativa (Tabela 4), foi observado valores elevados da média nos tecidos das ostras analisadas, o que pode provocar alterações nas características organolépticas e diminuir o tempo de prateleira desse alimento. Feitosa *et al.* (2017) citam que o grupo *Staphylococcus* coagulase positiva inclui *S. aureus* e outros estafilococos patogênicos enquanto que os *Staphylococcus* coagulase-negativa são considerados não patogênicos (*S. xylosus* e *S. carnosus*). Os resultados desta pesquisa corroboram com os achados de Trombeta e Normande (2017), em que não isolaram *Staphylococcus* coagulase positivo em nenhuma das amostras de ostras provenientes de 4 áreas de cultivo no litoral de Alagoas. Contudo, não concordam com Silva *et al.* (2020), os quais descreveram que a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva variou entre  $1,17 \times 10$  até  $3,51 \times 10^2$  UFC/g em amostras de ostras cultivadas em duas áreas de estuário amazônico no estado do Pará.

A presença de coliformes totais e termotolerantes não aponta necessariamente que exista contaminação de origem fecal, visto que esse grupo também inclui bactérias de origem

não fecal (*Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*). O grupo dos coliformes está diretamente relacionado com as condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e sua presença sugere provável contaminação por micro-organismos patogênicos nos alimentos. A contagem de coliformes (Tabela 4) deste trabalho está em consonância com a pesquisa realizada por Doi *et al.* (2015), ao determinarem a concentração de coliformes em tecidos de ostras de cultivo extraídas no município de Cananéia – SP, os resultados apresentaram os valores médios de 18,78 NMP/g para coliformes totais e 15,53 NMP/g para coliformes termotolerantes.

Para a enumeração de *E. coli* (Tabela 4) quatro amostras (13,33%) apresentaram contagem de *E. coli* acima dos limites estabelecidos pela RDC nº 331 e a Instrução Normativa nº 60 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual dispõe que a cada cinco amostras analisadas quatro devem exibir contagem limite de 2,3 UFC/g e uma amostra é permitido exceder esse valor até 7 UFC/g em 25 g de amostra. E para pesquisa de *Salmonella sp.* (Tabela 5), quatro amostras (13,33%) apresentaram características que sugerem a presença do gênero, a mesma legislação preconiza que moluscos bivalves consumidos crus devem apresentar ausência de *Salmonella sp.* em 25 g de amostra.

Deste modo, 8 das 30 amostras (26,66%) de ostras analisadas nesta pesquisa estão impróprias para o consumo humano. Todos os cinco pontos de coleta apresentaram eventualmente alguma amostra de ostras contaminadas por *E. coli* e/ou *Salmonella sp.* que inviabilizam o seu consumo e promovem risco a saúde dos consumidores. A presença de *E. coli* indica contaminação de origem fecal, provavelmente, em razão do despejo irregular de efluentes domésticos nos estuários próximos aos pontos de cultivo e extração dos moluscos bivalves. A *E. coli* é a única representante do grupo coliformes termotolerantes de origem exclusivamente fecal, encontrada apenas em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham sofrido contaminação de origem fecal (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

Os resultados desta pesquisa para a enumeração de *E. coli* e pesquisa de *Salmonella sp.* em ostras estão alinhados com dados descritos por Cabral *et al.* (2017), ao verificarem a presença tanto de *E. coli* como de *Salmonella sp.* em ostras *Crassostrea rhizophorae* extraídas de áreas de mangue na Ilha do Lameirão, ES. Em contramão, diverge dos achados por Santos *et al.* (2015), os quais observaram somente a presença de *E. coli* e a ausência de *Salmonella sp.* em ostras *Crassostrea rhizophorae* cultivadas em estuários de Taperoá, Bahia.

Em relação à pesquisa de *Vibrio* sp., a ausência das principais espécies de *Vibrios* patogênicos nas amostras desta pesquisa (Tabela 5) é um achado relevante, porém, vale ressaltar a importância da realização de todos os testes bioquímicos descritos pela metodologia. Sugere-se também a utilização de kits rápidos de provas bioquímicas, assim como métodos moleculares complementares para confirmação dos resultados em pesquisas futuras.

Os resultados da pesquisa de *Vibrio* sp., contrastam com os resultados encontrados por Araújo *et al.* (2019), os quais verificaram por sequenciamento do gene ribossomal 16S a presença predominante do gênero *Vibrio* em ostras (*Crassostrea gasar*) extraídas de cultivo no estuário do rio Mamanguape, Paraíba. Bem como, os resultados descritos por Cardoso *et al.* (2018) que também observaram por PCR a presença de *Vibrio* em amostras de ostras coletas em dois estuários do Baixo Sul da Bahia.

Sobre a pesquisa de *Aeromonas* sp., o alto percentual de presença (96,66%) desse micro-organismos nas amostras de ostras (Tabela 5) pode ser estar relacionado ao seu *habitat* aquático, o qual pode ser isolado tanto de água doce, como marinha ou salobra. Assim, a disponibilidade de matéria orgânica na água pode favorecer sua proliferação e conseqüentemente, a contaminação dos moluscos bivalves por filtração. A presença desse patógeno é preocupante, visto que o mesmo já foi responsável por surtos de gastroenterites veiculados por alimentos (Zhang *et al.*, 2012; Lopes *et al.*, 2015).

Os resultados desta pesquisa estão em acordo com Silva *et al.* (2014), ao caracterizar *Aeromonas* sp. em tecidos de ostras por métodos microbiológicos e moleculares provenientes dos municípios da Raposa e Humberto de Campos – MA, o qual cita a presença das espécies *A. hydrophila* (59,3%) e *A. caviae* (40%) nas amostras analisadas e confirmação a espécie *A. hydrophila* por PCR. Assim como, Ribeiro *et al.* (2020) que verificou por cultura e provas bioquímicas a presença de *A. hydrophila* em amostras de ostras coletadas em quatro portos da Ilha de São Luís, MA. Ressalta-se que a maior contaminação por esse patógeno ocorreu em período chuvoso no Porto 4 (Porto do Cumbique), referente ao mesmo ponto de coleta dessa pesquisa.

Dessa forma, as áreas de estudo desta pesquisa estão próximas a ambientes urbanos que impactam os ecossistemas aquáticos e, conseqüentemente a qualidade microbiológica das ostras. Além disso, falhas na cadeia produtiva do molusco, nas etapas de acondicionamento, transporte e beneficiamento do produto também contribuem para esse

cenário. Portanto, uma das alternativas que pode ser adotada é a utilização da técnica de depuração de moluscos bivalves antes da comercialização, assim como é recomendado pelo Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves (SOUZA; PETCOV; NOVAES, 2015).

#### 4. CONCLUSÕES

A água utilizada no extrativismo e cultivo de ostras na Ilha de São Luís apresenta qualidade microbiológica insatisfatória para utilização na cadeia produtiva desse molusco;

As ostras produzidas na Ilha de São Luís apresentam riscos de veicular microorganismos patogênicos para o consumidor, principalmente *A. hydrophila*, *A. caviae*, *E. coli* e *Salmonella* sp.;

Faz-se necessário a implantação das Boas Práticas de Fabricação, assim como o uso do processo de depuração na cadeia produtiva das ostras na Ilha de São Luís. E também, o monitoramento regular da qualidade microbiológica da água com o intuito de minimizar os riscos para a saúde pública.



## REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22. ed. Washington, D.C.: APHA, AWWA, WEF, p. 1120, 2012.
- ARAÚJO, C.F.S.; LOPES, M.V.; VASQUEZ, M.R.; PORCINO, T.S.; RIBEIRO, A.S.V.; RODRIGUES, J.L.G.; OLIVEIRA, S.S.P.; MENEZES-FILHO, J.A. Cadmium and lead in seafood from the Aratu Bay, Brazil and the human health risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 188, 2016. DOI: 10.1007/s10661-016-5262-y
- ARAÚJO, J.P.B.; FARIAS, S.T.; SOUSA, O.V.; MAGGIONI, R.; CARVALHO, F.C.T.; QUEIROGA, F.R.; SILVA, P.M. Oyster (*Crassostrea gasar*) gastrointestinal tract microbiota and immunological responses after antibiotic administration. *Latin American Journal of Aquatic Research*, v. 47, n.1, p.78-88, 2019. DOI: 10.3856/vol47-issue1-fulltext-9
- ARAUJO, M.E.; RAMALHO, C.W.N.; MELO, P.W. Pescadores artesanais, consumidores e meio ambiente: consequências imediatas do derramamento de óleo em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 1, p. 1-6, 2020. DOI: 10.1590/0102-311X00230319
- AUDEMARD, C.; KATOR, H.I.; REECE, K.S. High salinity relay as a post-harvest processing method for reducing *Vibrio vulnificus* levels in oysters (*Crassostrea virginica*). *International Journal of Food Microbiology*, v. 279, p. 70-79, 2018. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.043
- BALLESTEROS, E.R.; ANDRADE, V.C.; BARBIERI, E.; PINTO, A.B.; OLIVEIRA, R.S.; OLIVEIRA, A.J.F.C. Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais de Cananéia (SP). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 134-144, 2016. DOI: 10.5007/1678-2305.2016v42n1p134
- BARBIERI, E.; COLLAÇO, F.L.; DOI, S.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C.; REZENDE, K.F.O. Microbiologia como indicador da saúde ambiental das lagoas de Ilha Comprida – SP. *O Mundo da Saúde*, v. 40, p. 507-520, 2017.
- BRANDÃO, M.A.R., LOPES, A.T.S., NETA, M.T.S., OLIVEIRA, R.B.F., REZENDE, R.P., ALBUQUERQUE, G.R., GONÇALVES, V.D., RODRIGUES, D.P., BOEHS, G.; MECIEL, B.M. Microbiological quality and prevalence of  $\beta$ -lactam antibiotic resistance genes in oysters (*Crassostrea rhizophorae*). *Journal of Food Protection*, v. 80, n. 3, p. 488-496, 2017. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-16-098
- BRASIL(A). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). *Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil*. Brasília: SINAN, 2019. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/>. Acesso em: 10 junho 2021.

BRASIL(B). *Resolução - RDC N° 331, de 23 de dezembro de 2019*. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.

BRASIL(C). *Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019*. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.

CABRAL, D.S.; BARBIRATO, J.O.; ARPINI, C.M.; BARCELLOS, B.D.; RUAS, K.F.; DOBBS, L.B. Microbiological monitoring of water and *Crassostrea rhizophorae* in a mangrove ecosystem in Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, v. 11, n. 30, p. 1211-1217, 2017. DOI: 10.5897/ajmr2017.8592

CAMPOS, C.J.A.; KERSHAW, S.R.; LEE, R.J. Environmental influences on faecal indicator organisms in coastal waters and their accumulation in bivalve shellfish. *Estuaries and Coasts*, v. 36, n. 4, p. 834-853, 2013. DOI: 10.1007/s12237-013-9599-y

CARDOSO, V.L.; FERREIRA-GRISE, N.M.; MAFRA, J.F.; ALVES DUARTE, E.A.; SANTOS DE OLIVEIRA, T.A.; EVANGELISTA-BARRETO, N.S. Genes of virulence and antimicrobial resistance in *Vibrio parahaemolyticus* prevalent in areas of ostreiculture. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 44, n. 3, p. 1-10, 2018. DOI: 10.20950/1678-2305.2018.364

CARDOSO, R.L.; SILVEIRA, P.C.A.; COSTA, D.S.N. Comunidade ictioplânctônica da zona de arrebentação das praias do Araçagy e Panaquatira, ilha do Maranhão, Maranhão, Brasil. *Latin American Journal of Development*, v. 3, n. 4, p. 1783-1799, 2021.

CARNAHAN, A.M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S.W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, n. 12, p. 2843-2849, 1991.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. *Resolução nº 357, de 17 de março de 2005*. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2005.

DOI, S.A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H.L.A. Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananéia (SP). *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 19, n. 2, p. 165-171, 2014. DOI: 10.1590/S1413-41522014000200007

DOI, S.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C.; BARBIERI, E. Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 20, n. 1, p. 111-118, 2015. DOI: 10.1590/S1413-41522015020000125658

ELLIOT, E.L.; KAYSNER, C.A.; JACKSON, L.; TAMPLIN, M.L. - *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* spp. In: *Bacteriological Analytical Manual*. ed. 8, Chapter. 9, 2004.

FANG, T.; HUANG, L.; LIU, L.; MEI, F.; CHEN, J. Mathematical modeling of growth of *Salmonella* spp. and spoilage microorganisms in raw oysters. *Food Control*, v. 53, p. 140-146, 2015. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.12.03

FARIAS, M.F.D.; ROCHA-BARREIRA, C.D.A.; CARVALHO, F.C.T.D.; SILVA, C.M.; REIS, E.M.F.D.; COSTA, R.A.; VIEIRA, R.H.S.D.F. Condições microbiológicas de *Tagelus plebeius* (LIGHTFOOT, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) e da água no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2010.

FEITOSA, A.C., RODRIGUES, R.M., TORRES, E.A.T., SILVA, J.F.M. *Staphylococcus aureus* em alimentos. *Revista Desafios*, v. 4, n. 4, p. 15-31, 2017. DOI: 10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15

FIGUERAS, M.J.; LATIF-EUGENIN, F.; BALLESTER, F.; PUJOL, I.; TENA, D.; BERG, K.; HOSSAIN, M.J.; BEAZ-HIDALGO, R.; LILES, M.R. ‘*Aeromonas intestinalis*’ and ‘*Aeromonas enterica*’ isolated from human faeces, ‘*Aeromonas crassostreae*’ from oyster and ‘*Aeromonas aquatilis*’ isolated from lake water represent novel species. *New Microbes and New Infections*, v. 15, p. 74-76, 2017. DOI: 10.1016/j.nmni.2016.11.019

FIGUEIREDO, J.F.; RIBEIRO, S.C.A.; PAULA, M.T.; PONTES, A.N. Determinação da concentração de coliformes totais e termotolerantes na água de cultivo de ostras do mangue (*Crassostrea rhizophorae*) em região estuarina. *Enciclopédia Biosfera*, v. 11, n. 21, p. 3488-3498, 2015.

FONTES, K.A.; LISBOA, A.T.; CASTRO, R.S. Macroalgas aderidas em pneumatóforos de *avicennia germinans* (L.) Stearn na praia de Boa Viagem, São José de Ribamar – Maranhão. *ACTA TECNOLÓGICA*, v. 11, n. 1, p. 33-45, 2016.

FREITAS, F.; NEIVA, G.S.; CRUZ, E.S.; SANTANA, J.M.; SILVA, I.M.M.; MENDONÇA, F.S. Qualidade microbiológica e fatores ambientais de áreas estuarinas da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (Bahia) destinadas ao cultivo de ostras nativas. *Revista Engenharia Sanitária*, v. 22, n. 4, p. 723-729, 2017. DOI: 10.1590/S1413-41522016153707

FUNO, I. C.S.A.; MARINHO, Y.F.; MONTELES, J.M.; LOPES, R.G.P.S.; GALVEZ, A.O. Recruitment of oyster in artificial collectors on the Amazon macrotidal mangrove coast. *Ciência Rural*, v. 49, n. 3, p. 1-12, 2019. DOI: 10.1590/0103-8478cr20180482

GOMES, L.O.; MATOS, H.J.; SILVA, M.C.M.; LOUREIRO, E.C.B.; MACARENHAS, J.D.P.; GABBAY, Y.B.; ROCHA, D.C.C. Aspectos epidemiológicos das enteroinfecções bacterianas em menores de 5 anos de idade em Rio Branco, Estado do Acre, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, Ananindeua, v. 8, n. 4, p. 35-43, 2017. DOI: 10.5123/s2176-62232017000400008

HAVELAAR, A.H.; VONK, M. The preparation of ampicillin dextrin agar for the enumeration of *Aeromonas* in water. *Letters in Applied Microbiology*, v. 7, p. 169-171, 1988.

KAYSNER, C.A.; DEPAOLA JUNIOR, A. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and Other *Vibrio* spp. In: UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - US FDA; CENTER FOR FOOD SAFETY & APPLIED NUTRITION - CFSAN. *Bacteriological Analytical Manual Online*, chap 9, 2001.

LOPES, A.C.A.; MARTINS, L.M.; GATTI, M.S.V.; FALAVINA DOS REIS, C.M.; HOFER, E.; YANO, T. Diarrhea outbreak in Pernambuco, Brazil, associated with a heat-stable cytotoxic enterotoxin produced by *Aeromonas caviae*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 57, n. 4, p. 349-351, 2015. DOI: 10.1590/S0036-46652015000400013

MIGNANI, L.; BARBIERI, E.; MARQUES, H.L.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C. Coliform density in oyster culture waters and its relationship with environmental factors. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, n. 8, p. 833-840, 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000800004

MAJEED, K.N.; EGAN, A.F.; MACRAE, I.C. Enterotoxigenic aeromonads on retail lamb meat and offal. *Journal of Applied bacteriology*, v. 67, p. 165-170, 1990.

MENEZES, B.F.; CENI, G.; MARTINS, M.C.; VIRTUOSO, J.C. Percepção de Impactos Socioambientais e a gestão costeira: estudo de caso de uma comunidade de pescadores no litoral sul de Santa Catarina, Brasil. *Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental*, v. 8, n. 3, p. 457- 481, 2019. DOI: 10.19177/rgsa.v8e32019457-481

MIOTTO, M.; FONSECA JÚNIOR, A.A.; BARRETTA, C.; SILVA, H.S.; PELLIZZARO, T.; LINDNER, J.D.D.; VIEIRA, C.R.W.; PARVEEN, S.; PRUDENCIO, E.S. Development and application of a real-time polymerase chain reaction method for quantification of *Escherichia coli* in oysters (*Crassostrea gigas*). *Food Microbiology*, v. 77, p. 85-92, 2019. DOI: 10.1016/j.fm.2018.08.015

OLIVEIRA, A.M.S.; BARAUNA, R.A.; MARCON, D.J.; LAGO, L.A.B.; SILVA, A.; LUSIO, J.; TAVARES, R.D.S.; TACÃO, M.; HENRIQUES, I.; SCHNEIDER, M.P.C. Occurrence, antibiotic-resistance and virulence of *E. coli* strains isolated from mangrove oysters (*Crassostrea gasar*) farmed in estuaries of Amazonia. *Marine Pollution Bulletin*, v. 157, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111302

PALUMBO, S.A.; WILLIAMS, A.C.; BUCHANAN, R.L.; PHILLIPS, J.G. Model for anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. *Journal of Food Protection*. v. 55, n. 4, p. 260-265, 1991.

PEREIRA, T.J.F.; CASTRO, A.C.L.; FERREIRA, H.R.S.; SOARES, L.S.; SILVA, M.H.L.; AZEVEDO, J.W.J.; FRANÇA, V.L.; MOREIRA, M.S. EXTRATIVISMO DE MARISCOS NA ILHA DO MARANHÃO (MA): implicações ecológicas e socioeconômicas. *Revista de Políticas Públicas*, v. 21, n. 2, p. 831-853, 2017.

PIMENTA, J.B.C.; BEZERRA, N.P.C.; LOBATO, R.S.; SANTOS, R.P.; JESUS, G.S.; SILVA, C.M.; BEZERRA, D.C. Qualidade microbiológica da água em locais de pesca

artesanal no Rio Santo Antônio como subsídio de monitoramento costeiro no município de Paço do Lumiar – MA. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 14998-15009, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n3-394

RAMOS, R.J.; PEREIRA, M.A.; MIOTTO, L.A.; FARIA, L.F.B.; SILVEIRA JUNIOR, N.; VIEIRA, C.R.W. Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 69, n. 1, p. 29-37, 2010.

RIBEIRO, E.B.; BASTOS, L.S.; GALENO, L.S.; MENDES, R.S.; GARINOJR, F.; CARVALHO-NETA, R.N.F.; COSTA, F.N. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v. 113, n. 1-2, p. 182-186, 2016. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.09.013

RIBEIRO, I.; CASTRO, A.C.L. Pescadores artesanais e a expansão portuária na praia do Boqueirão, Ilha de São Luís – MA. *Revista de Políticas Públicas*, v. 1, p. 863-884, 2016. DOI: 10.18764/2178-2865.v20n2p863-884

RIBEIRO, E.B.; NOLETO, K.S.; OLIVEIRA, S.R.S.; JESUS, W.B.; SERRA, I.M.R.S.; ALMEIDA, Z.S.; ANDRADE, T.S.O.M.; SOARES, R.A.; ANTONIO, Í.G.; SANTOS, D.M.S.; JORGE, M.B.; NETA, R.N.F.C. Biomarkers (glutathione S-transferase and catalase) and microorganisms in soft tissues of *Crassostrea rhizophorae* to assess contamination of seafood in Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, v. 158, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111348

SAAD, S.M.; IARIA, S.T.; FURLANETTO, S.M.P. Motile *Aeromonas* spp. in retail vegetables from São Paulo, Brazil. *Revista Microbiologia*, v. 26, n. 1, p. 22-27, 1995.

SANTOS, S.S., BARRETO, L.M., DA SILVEIRA, C.S., REIS, N.A., LIMA, K.A., DE SOUZA, J.D.S.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Condições sanitárias de ostras produzidas e comercializadas em Taperoá, Bahia e o efeito da depuração na redução da carga microbiana. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, v. 3, n. 2, p. 49-60, 2015. DOI: 10.2312/ActaFish.2015.3.2.49-60

SALLES, P.B.D.; MACEDO, Y.B.; FIGUEIREDO, E.L. Caracterização físicoquímica e microbiológica da carne do molusco Bivalve Sarnambi (*Phacoides pectinitus*) coletado nas praias em Algodual e Salinópolis, no Pará. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 2245-2261, 2017. DOI: 10.3895/rbta.v11n1.2907

SHAPIRO, K.; SILVER, M.; BYRNE, B.A.; BERARDI, T.; AGUILAR, B.; MELLI, A.; SMITH, W.A. Fecal indicator bacteria and zoonotic pathogens in marine snow and California mussels (*Mytilus californianus*). *FEMS Microbiology Ecology*, v. 94, n. 11, 2018. DOI: 10.1093/femsec/fiy172

SCHNACK, C.E.; MENEZES, C.T.B. DE; CECI, G., MUNARI, B. Qualidade da água no estuário do rio Urussanga (SC, Brasil): um ambiente afetado pela drenagem ácida de mina. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 16, n. 3, p. 98-106, 2018.

SHEN, X.; SU, Y.C.; LIU, C.; OSCAR, T.; DEPAOLA, A. Efficacy of *Vibrio parahaemolyticus* depuration in oysters (*Crassostrea gigas*). *Food Microbiology*, v. 79, p. 35-40, 2019. DOI: 10.1016/j.fm.2018.10.005

SILVA, O.L.L.; VERÍSSIMO S.M.M.; ROSA, A.M.B.P.; IGUCHI, B.Y.; NUNES, E.D.S.C.D.L.; MORAES, C.M.D.; CORDEIRO, C.A.M.; XAVIER, D.D.A.; PINTO, A.S.O.; JOELE, M.R.S.P.; BRITO, J.D.S.; JUEN, L.; ROCHA, R.M.D. Effects of environmental factors on microbiological quality of oyster farming in Amazon estuaries. *Aquaculture Reports*, v. 18, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100437

SILVA, B.R.; MENEGARDO, S.B.; ARIDE, P.H.R.; LAVANDER, H. D.; SPAGO, F.R.; SOUZA, T. B. Qualidade microbiológica da água e dos mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) cultivados em Piúma, Espírito Santo, Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 26, n 1, p. 89-95, 2021. DOI: 10.1590/S1413-415220180169

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A. R.; OKAZAKI, M.M. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 5ª edição, São Paulo: Blucher, 2017.

SILVA, A.C.M.M.; NASCIMENTO, D.L.; MACHADO, R.Z.; COSTA, F.N. Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de amostras de ostras e água por método microbiológico e molecular. *Ciência Animal Brasileira*, v. 15, n. 3, p. 362-368, 2014. DOI: 10.1590/1809-6891v15i328351

SILVA, R. M. L.; ROSSI JUNIOR, O. D.; COSTA, F. N.; CHAVES, N. P.; NASCIMENTO, D. L.; KAMIMURA, B. A. *Aeromonas* spp. em água de pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 3, p. 245-249, 2010. Disponível em: <https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/920>. Acesso: 02/092021.

SILVA, A.I.M.; VIEIRA, R.H.S.M.; MENEZES, F.G.R.; FONTELES-FILHO, A.A.; TORRES, R.C.O.; SANT'ANNA, E.S. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó river estuary, Ceará State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, p. 126-130, 2003.

SOUZA, R.V.; PETCOV, H.F.D.; NOVAES, A.L.T. O Programa Nacional Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves e os caminhos para a regularização. *Agropecuária Catarinense*, v. 28, n. 1, p. 44-47, 2015.

TROMBETA, T.D.; NORMANDE, A.C.L. Avaliação microbiológica de ostras cultivadas no litoral de Alagoas submetidas a depuração em sistema fechado de recirculação. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, v. 5, n. 3, p. 48-53, 2017. DOI: 10.2312/ActaFish.2017.5.3.48-53

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, 3. ed., p. 1219, 1992.

VASCO, A.N.; RIBEIRO, D.O.; SANTOS, A.C.A.S.; MELLO JÚNIOR, A.V.; TAVARES, E.D.; NOGUEIRA, L.C. Qualidade da água que entra no estuário do rio Vaza Barris pelo principal fluxo de contribuição de água doce. *Scientia Plena*, v. 6, n. 10, p. 1-10, 2010.

ZHANG, Q.; SHI, G.; TANG, G.; ZOU, Z.; YAOC, G.; ZENG, G. A foodborne outbreak of *Aeromonas hydrophila* in a college, Xingyi City, Guizhou, China. *Western Pac Surveill Response J*, v. 3, p. 39-43, 2012. DOI: 10.5365/wpsar.2012.3.4.018

## **ANEXOS**



## Regulamento para apresentação de contribuições

### 1. Objetivo

O presente regulamento objetiva uniformizar a apresentação das contribuições a serem encaminhadas para publicação na Revista Engenharia Sanitária e Ambiental.

### 2. Formas de contribuição

2.1. As formas de contribuição são:

- Artigo Técnico
- Nota Técnica
- Revisão da Literatura
- Discussão de Nota Técnica, Artigo Técnico ou Revisão da Literatura

2.2. Artigo Técnico é uma exposição completa e original, totalmente documentada e interpretada, de um trabalho de relevância.

2.3. Nota Técnica é um trabalho sumário podendo corresponder a:

- artigo com resultados ainda parciais
- considerações sobre aspectos pouco abrangentes da área
- desenvolvimento de considerações técnicas relativas a algum aspecto da Engenharia Sanitária e Ambiental
- alguma outra abordagem sumária pertinente, a juízo dos Editores.

2.4. Revisão da Literatura corresponde a um artigo, no qual é levantado o estado da arte de algum tema relevante e inovador, na área de Engenharia Sanitária e Ambiental, cuja abordagem deve ser suficientemente crítica e capaz de identificar avanços, lacunas e desafios científicos, à luz da literatura nacional e internacional. Trabalhos de revisão sistemática e meta-análise podem ser incluídos nessa categoria de artigo.

2.5. Discussão é uma avaliação crítica ou ampliação do conteúdo de uma Nota Técnica, Artigo Técnico ou Revisão da Literatura publicado na Revista. As discussões serão publicadas, sempre que possível, conjuntamente com a resposta do(s) autor(es). A Revista tem como linha editorial o incentivo à publicação de artigos de discussão.

2.6. Não serão aceitos relatórios, traduções e nem artigos já publicados ou submetidos à publicação em outros veículos, ou que impliquem em promoção comercial de determinada marca, produto ou empresa.

### 3. Encaminhamento das contribuições

3.1. A inscrição das contribuições será feita pelo sistema da SCielo, através do link <http://submission.scielo.br/index.php/esa/index>. Não serão aceitas inscrições de artigos por fax, e-mail ou correio.

3.2. O primeiro passo para o acesso ao sistema é o Cadastro, bastando clicar em “Cadastrar-se” no link no canto superior direito. A partir daí, clicar em “Engenharia Sanitária e Ambiental”, que fará a vinculação do cadastro junto à Revista.

3.3. Feito isso, o próprio sistema mostrará, passo a passo, como submeter a sua contribuição.

3.4. Realizada a submissão, o autor receberá um e-mail acusando o recebimento da mesma. E a partir do código dado pelo próprio sistema que o autor poderá acompanhar o processo de avaliação do seu trabalho.

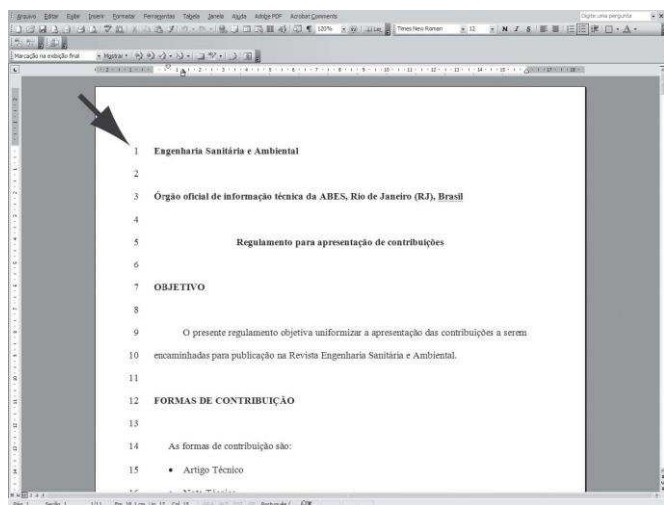
3.5. A Revista Engenharia Sanitária e Ambiental cobra taxa de submissão no valor de: **R\$ 100,00**.

A taxa destina-se a **não sócios** da ABES. Caso o autor principal seja sócio, enviar e-mail para [esa@abes-dn.org.br](mailto:esa@abes-dn.org.br) informando número de matrícula ABES para isentar-se da taxa. Observação: A taxa de submissão não será restituída caso o manuscrito seja recusado, e o pagamento da taxa não garante o aceite do artigo, que passará normalmente pelo processo de avaliação. Associe-se à ABES: <http://socio.abes-dn.org.br/>

3.6. Qualquer dúvida, favor enviar e-mail para [esa@abes-dn.org.br](mailto:esa@abes-dn.org.br).

## 4. Formato das contribuições

4.1. As contribuições devem ser preparadas pelos autores no formato “.doc” aberto para edição usando o recurso de numeração de linhas do Microsoft Word (Arquivo – Configurar página – Layout – Números de linha – Numerar linhas – Contínua – OK – OK).



4.2. As contribuições devem ser enviadas no formato “.doc” pelo Sistema de Envio de Artigos. Todos os demais formatos de arquivos, inclusive os compactados, serão bloqueados.

4.3. Após o processo avaliativo, as contribuições aprovadas para publicação deverão sofrer correções e ser enviadas em sua versão final para diagramação.

4.3. Os trabalhos submetidos devem estar de acordo com as normas da ABNT/NBR 14724:2011– Trabalhos Acadêmicos

4.4. Poderão ser incluídos figuras, gráficos e ilustrações, desde que o tamanho do arquivo não ultrapasse 10MB.

4.5. O texto integral do artigo não poderá exceder 20 (vinte) páginas para Artigo Técnico e Revisão da Literatura e 8 (oito) páginas para Nota Técnica e Discussão, atendendo ao formato estabelecido nos itens a seguir.

4.6. O Artigo Técnico e a Nota Técnica deverão seguir a seguinte seqüência de apresentação:

- Título do artigo em português (até 200 caracteres) e em inglês
  - Resumo em português e em inglês, de 100 a 250 palavras (conforme NBR 14724).
  - Palavras-chave em português e em inglês
  - Título resumido do artigo em português (até 60 caracteres) para o cabeçalho
  - Texto do artigo (sem divisão em colunas)
  - Referências
  - Anexos (se houver)
    - i. Agradecimentos, se houver, deverão ser incluídos somente na versão final do artigo aprovado para publicação.
    - ii. O Nome do(s) autor(es), Currículo resumido(s) do(s) autor(es), endereço para correspondência (profissional) devem constar somente nos metadados do Sistema Scielo, preenchidos no momento de cadastro. **IMPORTANTE:** não colocar estas informações no envio da contribuição original.
- 4.7. O texto deverá ser formatado para um tamanho de página A-4, margens 3 cm para esquerda e superior, e 2 cm inferior e direita (conforme NBR 14724). As páginas deverão ser devidamente numeradas. Deve ser empregada fonte Times New Roman, corpo 12, exceto no título que deverá ter corpo 16. O espaçamento entre as linhas deverá ser 1,5.
- 4.8. O corpo do artigo deve ser organizado segundo um encadeamento lógico, contendo subtítulos “Introdução”, “Metodologia”, “Resultados”, “Discussão”, (ou “Resultados e Discussão”), “Conclusões” e “Referências”. Na redação não deve ser empregada a primeira pessoa e o estilo a ser adotado deve ser objetivo e sóbrio, compatível com o recomendável para um texto científico.
- 4.10. Deverá ser evitada a subdivisão do texto em um grande número de subtítulos ou itens, admitindo-se um máximo de cabeçalhos de terceira ordem.
- 4.11. O conteúdo do trabalho deve ser submetido a criteriosa revisão ortográfica.
- 4.12. Termos grafados em itálico ou negrito poderão ser utilizados no corpo do artigo.
- 4.13. As discussões deverão ser submetidas no máximo até 6 (seis) meses após a publicação do Artigo, NotaTécnica ou Revisão da Literatura.
- 4.14. Somente serão aceitos trabalhos em português Brasil.

## 5. Figuras e ilustrações

As figuras e ilustrações devem observar os seguintes critérios:

- 5.1. Os arquivos das figuras e ilustrações, sem bordas ao redor, devem ser inseridas no arquivo do texto, de maneira que possam ser editados por meio do MS Word for Windows.
- 5.2. Os textos e legendas não devem ficar muito pequenos ou muito grandes em relação à figura.
- 5.3. As figuras devem ser intercaladas nos locais apropriados e apresentar um título.
- 5.4. A inclusão de fotografias não é aconselhável; porém, se os autores julgarem que são importantes para esclarecer aspectos relevantes do artigo, deverão ser inseridas em resolução mínima de 300 dpi.
- 5.5. Todos os gráficos, desenhos, figuras e fotografias devem ser denominados “Figura”, e numerados sequencialmente em algarismos arábicos. Toda figura deve ser mencionada no texto.
- 5.6 O número e título da Figura devem ser colocados centralizados, imediatamente abaixo da figura. O título deve ser claro e autoexplicativo.
- 5.7. As páginas internas da Revista são impressas em uma só cor, não sendo permitida, portanto, a adoção de cores na diferenciação das variáveis nos gráficos e diagramas.

## 6. Quadros e tabelas

Os quadros e tabelas deverão atender os seguintes critérios:

- 6.1. Os quadros e tabelas devem ser claros e objetivos, sem linhas de grade. As unidades correspondentes a todos os termos usados devem ser claramente identificadas.
- 6.2. Todos os quadros ou tabelas devem ser denominados “Quadro” ou “Tabela”, numerados sequencialmente em algarismos arábicos e mencionados no texto.
- 6.3. Cada quadro e tabela, além da numeração, deve possuir um título. O número e o título devem ser colocados centralizados, imediatamente acima do quadro ou tabela. O título deve ser claro e autoexplicativo.
- 6.4. Um quadro e uma tabela não poderão ser maiores do que uma folha A-4.
- 6.5. Quadros e tabelas devem aparecer, preferencialmente, intercalados nos locais apropriados do texto, a critério do autor.
- 6.6. As páginas internas da Revista são impressas em uma só cor, não sendo permitida, portanto, a adoção de cores na diferenciação das variáveis nos quadros e tabelas.

## 7. Equações

As equações podem ser editadas pela equipe responsável pela diagramação. Portanto, os seguintes critérios devem ser satisfeitos:

- 7.1. As equações devem ser claras e legíveis, e escritas com a mesma fonte do corpo do texto, sem a utilização de itálico ou negrito.
- 7.2. As equações e fórmulas devem ser denominadas “Equação” e numeradas sequencialmente em algarismos arábicos. A numeração à direita da equação deve ser entre parênteses. Todas as equações devem ser mencionadas no texto.
- 7.3. Todos os símbolos usados devem ser definidos imediatamente após a equação (caso não tenham sido definidos anteriormente), incluindo as suas unidades ou dimensões.

## 8. Unidades

- 8.1. Todas as unidades mencionadas no texto, tabelas, quadros e figuras devem ser expressas de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI).
- 8.2. Deve-se evitar o uso da barra de fração na expressão das unidades. Exemplo: Ao invés de mg/L ou m<sup>3</sup>/s, deve-se utilizar mg.L<sup>-1</sup> e m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.

## 9. Referências

As referências citadas no texto e listadas ao final do artigo deverão estar de acordo com a norma NBR 6023/2002. A título de esclarecimento são apresentadas algumas diretrizes:

- 9.1. As referências citadas no texto devem conter o sobrenome do(s) autor(es), em caixa alta, seguidos pelo ano da publicação, observando-se os seguintes critérios:
  - 9.1.1. Quando houver mais de um trabalho, as citações devem ser em ordem alfabética.
  - 9.1.2. Trabalhos com mais de três autores devem ser referenciados ao primeiro autor, seguido por “*et al.*” (em itálico e com ponto).
  - 9.1.3. Quando houver mais de uma publicação do mesmo autor, no mesmo ano, o ano da publicação deve ser seguido dos componentes “a, b, c...”, em ordem alfabética.  
Exemplos: ... estudos efetuados por Silva (1994a, 1994b) e por Machado *et al.* (1995a) revelaram...; ... estudos recentes (SOUZA,1993; SILVA, WILSON e OLIVEIRA, 1994; MACHADO *et al.*, 1995b) revelaram...
- 9.2. Ao final do trabalho deverá ser apresentada uma lista de todas as referências citadas no texto, de acordo com os seguintes critérios, entre outros:
  - 9.2.1. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, de acordo com o sobrenome do primeiro

autor.

9.2.2. Devem ser referenciados todos os autores (independentemente do número de autores) pelo sobrenome seguido pelas iniciais de cada autor, separados por vírgulas.

Exemplo: SMITH, P.J.; WATSON, L.R.M.; GREEN, C.M...

9.2.3. O título do periódico referenciado deverá ser apresentado em itálico. As indicações de volume, número e página deverão ser identificados pela letra inicial ("v", "n" ou "p"), seguida de ponto. Não devem ser utilizadas aspas antes e depois do título do trabalho.

Exemplo: JEWELL, W.J.; NELSON, Y.M.; WILSON, M.S. Methanotrophic bacteria for nutrient removal from wastewater: attached film systems. *Water Environment Research*, v. 64, n. 6, 1992, p. 756-65.

9.2.4. O título do livro deve ser apresentado em itálico. Devem ser incluídos a edição, o local, a editora, o número de páginas e a data.

Exemplo: FRANÇA, J.L.; VASCONCELOS A.C. *Manual para Normalização de Publicações Técnico-Científicas*. 8 ed. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2007, 255 p.

9.2.5. Em capítulos de livros e trabalhos de congressos, a obra principal (título do livro ou denominação do congresso) é referenciada em itálico e vem precedida da expressão "In".

Exemplos: Anais - CAIXINHAS, R.D. Avaliação do impacto ambiental de empreendimentos hidro-agrícolas. In: *Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 5 Anais...* Lisboa: APRH, 1992, p. 203-11.

Capítulo de Livro - KUKOR, J.J.; OLSEN, R.H.; IVES, K. Diversity of toluene degradation following exposure to BTEX in situ. In: KAMELY, D.; CHAKABARTY, A.; OLSEN, R.H. (Eds.) *Biotechnology and Biodegradation*. Portfolio Publishing Company, The Woodlands, E.U.A., 1989, p. 405-421.

## 10. Julgamento

10.1. Após avaliação prévia realizada pelos Editores da Revista, se considerado pertinente, cópias da contribuição, sem identificação dos autores, serão enviadas a pelo menos dois avaliadores, especialistas da área, indicados pelos Editores.

10.2. Em qualquer etapa de julgamento do trabalho, serão levados em consideração a obediência às disposições regulamentares, o relacionamento do tema à Engenharia Sanitária e Ambiental, adequação do título, do resumo e das palavras-chave, existência de encadeamento lógico, ineditismo e qualidade da contribuição.

10.3. Na análise dos editores e dos avaliadores a contribuição será classificada segundo uma das seguintes categorias:

- Aceito
- Revisões requeridas
- Rejeitar

## 11. Comunicação aos autores

O autor principal será comunicado do resultado da avaliação e no caso de artigos recusados, receberão as devidas justificativas.

## 12. Número de autores

O número de autores permitido para cada submissão é de até cinco. Casos excepcionais enviar email para [esa@abes-dn.org.br](mailto:esa@abes-dn.org.br) para consulta.

### **13. Responsabilidades e direitos**

O conteúdo dos artigos é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es), que declaram se responsabilizar por qualquer reclamação de terceiros quanto a conflitos envolvendo direitos autorais, assumindo e isentando a ESA/ABES de qualquer pendência envolvendo suas publicações. Os autores que encaminharem seus artigos cedem à ESA/ABES os respectivos direitos de reprodução e/ou publicação. Os casos omissos serão resolvidos pelos editores do periódico.