

**Secretaria de Estado da Saúde  
Coordenadoria de Controle de Doenças  
Instituto Adolfo Lutz**

**Gisele Cristina Sanches da Silva**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ESPÉCIES MARINHAS ASSOCIADAS AOS  
COSTÕES ROCHOSOS NA BAÍA DE SANTOS, SP, BRASIL.**

**SANTOS  
2019**

**Gisele Cristina Sanches da Silva**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ESPÉCIES MARINHAS ASSOCIADAS AOS  
COSTÕES ROCHOSOS NA BAÍA DE SANTOS, SP, BRASIL.**

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto Adolfo Lutz – Unidade do Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP – Doutor Antônio Guilherme de Souza como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública.

*Orientadora:* Tatiana Caldas Pereira

**SANTOS**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©Reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Silva, Gisele Cristina Sanches da

Avaliação microbiológica de espécies marinhas associadas aos costões rochosos da baía de Santos, SP, Brasil/Gisele Cristina Sanches da Silva – Santos, 2019.

35 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização: Vigilância Laboratorial em Saúde Pública) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, CEFOR/SUS-SP, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2019.

Área de concentração: Vigilância Sanitária em Laboratório de Saúde Pública

Orientação: Tatiana Caldas Pereira

1- Microbiologia; 2- Mexilhão; 3- Saquiratá; 4- Ouriço-do-mar; 5- Pepino-do-mar.

SES/CEFOR/IAL-22/2019

## **AGRADECIMENTO**

É clichê, porém impossível não começar agradecendo a Deus. Aquele que sempre está no meu caminho, me dando força, sabedoria e coragem.

Agradeço a meus pais e irmãos por todo suporte na vida, pelas orações e torcida. Agradeço meu namorado pelo incentivo, pelo suporte emocional e por sempre estar ao meu lado.

Aos amigos, fica o agradecimento por suportarem minha ausência, por entenderem que nem sempre pude estar presente. Agradeço também aqueles que tornaram isto possível. Agradeço minhas colegas de aprimoramento que se tornaram minhas amigas. Sem sua alegria, companheirismo, revisões e puxões de orelha, nada faria sentido. Obrigada!

Não posso deixar de citar meus queridos tutores e amigos do Instituto Adolfo Lutz por todo ensinamento passado. Pelas conversas, pelos conselhos, pelo cházinho para acalmar minhas dores estomacais e renais.

Por fim, agradeço a oportunidade de ter feito parte desse programa.

**“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”.**

**(Simone de Beauvoir)**

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Coleta de amostras de espécies marinhas x período .....	21
<b>Quadro 2</b> – Amostras de Saquarité .....	24
<b>Quadro 3</b> – Amostras de Mexilhão .....	25
<b>Quadro 4</b> – Amostras de Ouriço-do-mar .....	27
<b>Quadro 5</b> – Amostras de Pepino-do-mar .....	28

## LISTA DE SIGLAS

- A-EPEC – *Escherichia coli* atípica.
- Ágar BG – Ágar Brilliant Green.
- Ágar BP – Ágar Baird Parker.
- Ágar EMB – Ágar eosina azul de metileno.
- Ágar SS – Ágar *Salmonella Shigella*.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Caldo EC – Caldo *Escherichia coli*.
- DAEC – *Escherichia coli* de adesão difusa.
- DTA – Doenças transmitidas por alimentos.
- EAEC – *Escherichia coli* enteroagregativa.
- EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica.
- EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasiva.
- EPEC – *Escherichia coli* enteropatogênica.
- ETEC – *Escherichia coli* enterotoxigênica.
- NMP – Número Mais Provável.
- OMS – Organização Mundial de Saúde.
- RDC – Resolução de Diretoria Colegiada.
- SSP – Solução Salina Peptonada.
- TBT – Tributilestanho.
- UFC – Unidades formadoras de colônia.

## LISTA DE SÍMBOLOS

g – grama.

h – hora.

mL – mililitro.

°C – graus Celsius.

pH – potencial Hidrogênio.

## RESUMO

A qualidade microbiológica dos alimentos visa fornecer segurança do ponto higiênico-sanitário. Muitas espécies são exploradas do ambiente marinho, com finalidade alimentícia, porém, nem sempre estas estão aptas para consumo. *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e estafilococos coagulase positiva são alguns microorganismos que podem ser encontrados em produtos da pesca e contaminar o homem. Neste trabalho foi avaliada a qualidade microbiológica do mexilhão (*Perna perna*), saquirita (*Stramonita haemastoma*), ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*) e pepino-do-mar (*Holothuria* spp.) *in natura*, e do mexilhão (*Perna perna*) e saquirita (*Stramonita haemastoma*) processados pelos extrativistas para o comércio informal. As coletas foram realizadas nos costões rochosos da Baía de Santos, SP, nos períodos de verão, outono e inverno, de fevereiro/2018 a setembro/2018. Foram realizadas contagem de coliformes totais e termotolerantes, contagem de estafilococos coagulase positiva, pesquisa de *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella* spp. Existem parâmetros microbiológicos somente para o mexilhão (*Perna perna*), contemplados na RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Não há dados disponíveis na literatura e nem especificações microbiológicas para as espécies *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* e *Holothuria* spp. Desta forma, os parâmetros microbiológicos utilizados para as espécies sem especificação foram os mesmos do *Perna perna*. Seria importante uma atualização da legislação, incluindo pepino do mar, ouriço do mar e saquirita, além da pesquisa de *Escherichia coli*, coliformes totais e coliformes termotolerantes.

**Palavras-chave:** análise microbiológica, *Echinometra lucunter*, *Holothuria* spp, *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*.

## ABSTRACT

The microbiological quality of food aims to provide security. Many species are removed from the marine environment but not always these are suitable for consumption. *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus* are some microorganisms that can be found in fishes and contaminate the man. In this study, we evaluated the microbiological quality of the *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* and *Holothuria* spp. *in natura* harvested in summer, autumn and winter and of the *Perna perna* and *Stramonita haemastoma*. The collections were made in the rocky shores of the Bay of Santos, SP, in periods of summer, autumn and winter, from February/2018 to September/2018. There is only microbiological parameter for the mussel (*Perna perna*). There is no data available in the literature and not microbiological specifications for *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* and *Holothuria* spp. In this way, the microbiological parameters used for the species without the same specification of the *Perna perna*. It would be important to an update of the legislation, including *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* and *Holothuria* spp, in addition to the research of *Escherichia coli*, total coliforms and others.

**Keywords:** microbiological analysis, *Echinometra lucunther*, *Holothuria* spp, *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 Objetivo geral .....	13
2.2 Objetivos específicos .....	13
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
3.1 Espécies marinhas.....	14
3.2 Doenças transmitidas por alimentos .....	15
3.3 Contaminantes microbiológicos.....	16
3.3.1 Coliformes totais e Coliformes termotolerantes .....	16
3.3.2 <i>Escherichia coli</i> .....	17
3.3.3 <i>Salmonella</i> spp.....	17
3.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	20
4.1 Amostras .....	20
4.1.1 Coleta de amostras.....	20
4.2 Análise das amostras .....	21
4.2.1 Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes.....	22
4.2.2 Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....	22
4.2.3 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
4.2.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	23
4.3 Análise de dados.....	23
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	29
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os ambientes marinhos, os costeiros estão entre os mais produtivos do planeta (DEUS et al., 2013). O pescado sempre fez parte da dieta alimentar do homem (SANTIAGO et al., 2013) e hoje em dia, é cada vez mais consumido como alternativa mais saudável, já que tem uma facilidade na digestão, se comparado a carnes bovinas, suínas e de frango (DUARTE et al., 2010). O pescado apresenta em sua composição excelente valor nutritivo, principalmente pelos altos teores de vitaminas A e D, cálcio, ômega-3 e fósforo, baixa quantidade e considerada qualidade de lipídios, além da presença de proteínas de elevado valor biológico. Conseqüentemente, o consumo de pescados vem aumentando nas últimas décadas, tanto pela maior demanda, quanto pelas mudanças no hábito alimentar da população, que vem, cada vez mais, buscando produtos com perfil nutricional adequado (SANTIAGO et al., 2013).

O ambiente marinho da Baía de Santos é margeado por parcelas de quatro municípios: Guarujá, Santos, São Vicente e Praia Grande. É considerado um berçário e produtor de recursos pesqueiros marinhos, abriga comunidades de pescadores que vivem da extração desses recursos. (SILVA et al., 2009)

“Os costões rochosos na baía de Santos estão entre os maiores bancos naturais de mexilhões *Perna perna* do estado de São Paulo.” (FIPERJ e INSTITUTO DE PESCA, 1989, citado por HENRIQUES & CASARINI, 2009). Nos costões da Baía de Santos ocorre formação de bancos naturais de mexilhões em locais de fácil acesso, facilitando a captura de animais marinhos, ocasionando extensa exploração dos bancos pela população litorânea (CASARINI e HENRIQUES, 2011).

Machado et al. (2013) observou que a contribuição da pesca artesanal para a produção pesqueira nacional tem apresentado uma tendência de aumento desde 1980. Pessoas de diferentes origens que migraram para a Baixada Santista entre os anos de 1983 a 1996, pescadores artesanais descendentes de famílias tradicionais caiçaras e moradores da Baixada Santista que não tinham relação com a pesca passaram a extrair mexilhões. (SILVA et al., 2009)

As praias são os principais espaços destinados ao lazer de baixo custo, acessível a todas as camadas sociais, tornando-se alvo de uma acentuada exploração comercial, sobretudo de natureza informal (ARAUJO, 2012).

Espécies associadas aos costões rochosos vêm sendo capturadas na Baía de Santos. Há uma informalidade na captura, processamento e comercialização das espécies, porém, trata-se de fonte alimentar com potencial aumento de exploração, especialmente devido à alta demanda do mercado asiático. (MUNHOZ, 2018a)

Foram observadas na Baía de Santos captura, eventual processamento e comercialização informal do pepino do mar (*Holothuria* spp.) e do saquirá (*Stramonita haemastoma*), tornando-os vulneráveis aos riscos de contaminação devido à manipulação inadequada no aspecto higiênico-sanitário e podendo gerar situação de insegurança alimentar. (MUNHOZ, 2018b)

Um exemplo do comércio informal é a venda de *Holothuria* spp para restaurantes. O pepino-do-mar é considerado uma fina iguaria na China, Japão e outros países orientais (FRAGA, 2018).

Sousa (2006) cita que a qualidade microbiológica tem o objetivo de fornecer alimentos seguros, do ponto de vista higiênico-sanitário. Segundo SANTIAGO et al. (2013), o pescado pode tanto estar contaminado enquanto vivo, quanto pode ser contaminado na captura, transporte ou manipulação.

O projeto é de suma importância, uma vez que possibilitará conhecer os riscos higiênicos sanitários na cadeia de produção das espécies extraídas na região da Baía de Santos/SP, onde a extração, beneficiamento e comercialização na informalidade podem gerar riscos à saúde do consumidor.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade microbiológica das espécies marinhas *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* e *Holothuria* spp., associadas aos costões rochosos da Baía de Santos/SP.

### 2.2 Objetivos específicos

Realizar contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes e estafilococos coagulase positiva em *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* e *Holothuria* spp. coletados nos costões rochosos da Baía de Santos.

Realizar pesquisa de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em *Perna perna*, *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* e *Holothuria* spp. coletados nos costões rochosos da Baía de Santos.

Analisar os parâmetros microbiológicos de cada espécie em relação a estação do ano.

Avaliar a qualidade microbiológica das espécies de *Perna perna* e *Stramonita haemastoma* processadas pelos extrativistas para o comércio informal.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Espécies marinhas

O mexilhão *Perna perna* é um bivalve da família *Mytilidae* amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais dos Oceanos Atlântico, Índico e Mediterrâneo. São organismos filtradores e bioacumuladores de bactérias, vírus, fitoplâncton e metais pesados. (PASSOS et al., 2011; PIERRI, FOSSARI e MAGALHÃES, 2016). É um molusco comum e uma das espécies mais abundantes nos bancos naturais na baía de Santos, litoral de São Paulo e apresenta grande importância no ambiente que se habita, estruturando a comunidade em litorais rochosos. É utilizado na dieta humana como fonte de proteína animal, devido seu baixo custo e alto valor nutritivo (PASSOS et al., 2011; CASARINI et al., 2010; PIERRI, FOSSARI e MAGALHÃES, 2016).

*Echinometra lucunter* é uma espécie comum de ouriço do mar e ocorre em densidades bastante elevadas nos costões rochosos ao longo da costa brasileira, sobretudo nas regiões sudeste e sul. Possui um alto potencial bioerosivo, o que lhe confere grande importância ecológica modificando a arquitetura do ecossistema e da estrutura da comunidade. Por ser herbívoro, exerce significativo controle na população de várias espécies de algas. No Brasil, suas gônadas são utilizadas como alimento e sua carapaça, como artesanato (MARIANTE et al., 2009; LIMA, GOMES e SOUZA, 2009).

*Stramonita haemastoma* é um molusco conhecido popularmente como sauaritá. É um gastrópode, se alimenta de cracas, mexilhões e outros invertebrados. Exerce importante papel na estrutura da biota (BIASI, TOMÁS e IMPARATO, 2010). Ocorre em litorais rochosos, preferencialmente na zona entre marés, em águas de temperatura quente. O sauaritá vem sofrendo grande ação antrópica pela pesca, com os menores exemplares utilizados como isca para pesca amadora e, os maiores, como alimentação. Possui baixa tolerância a elevadas temperaturas e exposição excessiva ao ar. É considerado bioindicador de TBT (tributilestanho), pois apresenta dimorfismo nas estruturas reprodutoras das fêmeas. (BIASI, TOMÁS e IMPARATO, 2010; BRASIL, 2006)

*Holothuria* spp., o pepino do mar, é um invertebrado marinho da classe *Holothuroidea*, encontrado no fundo do mar. Possui corpo cilíndrico, sem braços, e

com o eixo oral-aboral horizontalmente posicionado, sugerindo superficialmente uma simetria bilateral. É uma importante fonte de alimento marinho para o homem, especialmente em algumas partes da Ásia. Tem alta porcentagem de proteínas. (FARJAMI et al., 2013; QUEIROZ et al., 2013)

### **3.2 Doenças transmitidas por alimentos**

As DTA, doenças transmitidas por alimentos, são resultados da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou produtos químicos. Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), abrangem enfermidades do mais amplo espectro e são um problema crescente de saúde pública no mundo (FLORES e MELO, 2015).

Os sintomas mais comuns das DTA são vômitos e diarreias, podendo também apresentar dores abdominais, dor de cabeça, febre, alteração de visão, entre outros. Estes sintomas variam de acordo com o organismo ou toxina encontrados no alimento e quantidade do alimento ingerido (BRASIL, 2006).

Em pessoas mais susceptíveis, como crianças, idosos, gestantes e enfermos, as consequências podem ser mais graves, levando à morte. Em adultos saudáveis, a maioria das DTA dura alguns dias e não deixa sequelas (BRASIL, 2006).

Microrganismos patogênicos estão presentes naturalmente no ambiente aquático, enquanto outros podem ser introduzidos a partir de esgotos contaminados com fezes humanas e de animais (SANTIAGO et al, 2013). Sendo assim, os produtos da pesca podem veicular grande quantidade desses patógenos para o homem (DUARTE et al, 2010). Como exemplo, podemos citar os corpos de água onde os mexilhões *Perna perna* se localizam, que são impactados com lançamento de esgoto (PASSOS et al., 2011).

Alimentos contaminados com patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* vêm sendo considerados como uma causa comum de casos de gastroenterite em diversos países do mundo, e em vários estados brasileiros, na maioria das vezes, associados ao consumo de pescados (SANTIAGO et al, 2013).

### 3.3 Contaminantes microbiológicos

*Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* são patógenos humanos comuns e distribuídos nos mais diversos ambientes. São encontrados com frequência em peixes, camarões, moluscos bivalves, caranguejos, sushis e sashimis. Estes geralmente não alteram a aparência do pescado. Ou seja, são prejudiciais à saúde do homem, porém, não deterioram o produto (SANTIAGO et al, 2013).

O pescado vivo apresenta contaminação bacteriana na pele, brânquias e escamas, passando aos demais tecidos após a morte do animal. Assim, a manipulação indevida e a não observância de medidas higiênicas no transporte e manuseio podem facilitar o desenvolvimento microbiano. Após captura, a contaminação pode se dar através do gelo produzido com água de má qualidade, nos porões dos barcos pesqueiros sem condições de higiene, no transporte, entre outros (SANTIAGO et al., 2013).

#### 3.3.1 Coliformes totais e Coliformes termotolerantes

O grupo dos coliformes totais e termotolerantes destacam-se entre aqueles que colonizam o trato intestinal de animais de sangue quente, incluindo o homem, sendo, portanto, empregados como indicadores de qualidade higiênica. Sua presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (FLORES e MELO, 2015).

“Algumas bactérias (*Klebsiella* e *Enterobacter*) podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal. Portanto, não é correta a relação direta da presença de coliformes termotolerantes em alimentos e água com contaminação de origem fecal, o que levou à necessidade de modificar na legislação brasileira, a denominação de coliformes fecais para coliformes a 45 °C” (FENG et al., 2002 citado por FLORES e MELO, 2015).

Coliformes totais são compostos por um grupo de bactérias constituído por bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares ou outros compostos ativos de superfície (surfactantes), com propriedades similares de inibição de crescimento, e que fermentam a lactose com produção de aldeído, ácido e gás a 35 °C em 24-48 horas (FLORES e MELO, 2015).

Coliformes a 45 °C (ou coliformes termotolerantes) são coliformes capazes de se desenvolver e fermentar a lactose com produção de ácido e gás à temperatura de  $44,5 \pm 0,2$  °C em 24 a 48 horas (SOUSA, 2006).

### **3.3.2 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* é o principal microrganismo gram-negativo anaeróbio facultativo presente na microbiota intestinal normal (SOUSA, 2006).

Atua como organismo comensal, colonizando o intestino humano algumas horas após o nascimento, construindo uma interação benéfica com as células epiteliais. A *Escherichia coli* atua por competição, impedindo a colonização intestinal por patógenos. Pode atuar como organismo oportunista, ocasionando doenças em hospedeiros susceptíveis e infecções em órgãos ou tecidos normalmente estéreis. Ela ainda pode agir como patógeno extremamente especializado, ocasionando doenças em hospedeiros sadios (SOUSA, 2006).

Cepas patogênicas de *Escherichia coli* são associadas com doença no intestino (enterite) e com septicemias do recém-nascido ou de animais jovens e com a doença no trato respiratório de aves (FLORES e MELO, 2015).

*Escherichia coli* pode ser classificada por mecanismos de patogenicidade (toxinas, adesinas, invisibilidade), danos a animais de laboratório e padrões de adesão a células eucarióticas em cultura, e seus patótipos incluem: a) *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC); b) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); c) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); d) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); e) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); f) *E. coli* de adesão difusa (DAEC); g) *E. coli* enteroagregativa (EAEC). (SOUSA, 2006; SOUZA, 2016)

### **3.3.3 *Salmonella* spp.**

As bactérias do gênero *Salmonella* são bactérias entéricas, em forma de bastonetes gram-negativos, móveis, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. São frequentemente associadas às enfermidades transmitidas por alimentos, podendo ser encontradas no trato intestinal de diversos animais de sangue quente e frio, incluindo pássaros e homens (SANTIAGO et al., 2013; FLORES e MELO, 2015).

O controle de infecções de origem alimentar causadas por *Salmonella* é objetivo fundamental de saúde pública em quase todos os países europeus (FLORES e MELO, 2015).

A salmonelose é uma das mais problemáticas DTA e um grande problema socioeconômico.

A presença de *Salmonella* spp. em frutos do mar é um fator potencial de risco à saúde, pois geralmente esses alimentos são consumidos sem cocção ou cozidos insuficientemente. Esses frutos podem ser contaminados pela exposição a mãos e ambientes contaminados (PASSOS et al., 2011; SANTOS e VIEIRA, 2013).

A legislação vigente no Brasil, relacionada a análise microbiológica de alimentos, estabelece que a simples presença de *Salmonella* em 25g de pescado fresco é suficiente para descartá-lo como alimento. Desta forma, vê-se que a detecção desse grupo de bactérias em alimentos é importante por várias razões. Serve como indicador geral da higiene do alimento por ser importante agente contaminador de muitos produtos e constituir um risco para a saúde de consumidores. (SANTIAGO et al., 2013)

No ambiente, esses microrganismos se multiplicam devido à presença de proteínas (esgoto) e temperaturas favoráveis. Sendo assim, os pontos de maior importância na transmissão de *Salmonella* ocorrem em regiões tropicais e subtropicais, bem como em locais onde exista grande concentração de animais e pessoas. Esta pode ser encontrada, também, em produtos refrigerados a 2 °C, além de permanecer viável em produtos congelados por longos períodos. (SANTIAGO et al., 2013)

### **3.3.4 *Staphylococcus aureus***

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria esférica, do grupo dos cocos gram-positivos. Apesar de ser encontrado na pele e fossas nasais de pessoas saudáveis, pode provocar doenças, que vão desde uma simples infecção, como espinhas e furúnculos, até infecções graves, como meningite, endocardite e septicemia (SANTOS et al., 2017).

As cepas de *Staphylococcus aureus* crescem em meios de cultura como caldo ou ágar simples, pH = 7, à temperatura de 37 °C (SANTOS et al., 2017) é uma

bactéria capaz de produzir enterotoxinas, as quais são responsáveis pelas intoxicações alimentares (DUARTE et al., 2010).

A produção da coagulase, uma enzima extracelular, é uma das provas mais amplamente utilizadas para correlacionar a cepa isolada com a produção de enterotoxina (E.E), embora a relação entre a produção da coagulase e a de E.E. não seja absoluta (SANTANA et al., 2010).

*S. aureus* é um indicador das condições de higiene e sanitização, quando presente em alimentos pode indicar que durante o processo e estocagem tenha ocorrido algum tipo de falha ou contaminação cruzada (DUARTE et al., 2010).

A presença de estafilococos em alimentos crus contaminados oferece pouco risco, mas se os frutos do mar pré-cozidos forem recontaminados com água em condições favoráveis de tempo e temperatura, mesmo um número muito pequeno de estafilococos proliferará rapidamente e produzirá enterotoxinas prejudiciais (SANTOS e VIEIRA, 2013).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas das amostras *in natura* foram realizadas nos costões rochosos da Baía de Santos, SP, nos períodos de verão, outono e inverno, de fevereiro/2018 a setembro/2018. A periodicidade das coletas foi estabelecida de acordo com a época em que ocorrem a maior exploração e captura das espécies em larga escala para o comércio ilegal.

### 4.1 Amostras

Foram realizadas coletas de amostragem em três períodos distintos: verão, outono e inverno do ano de 2018. No total foram treze amostras divididas nas espécies *Perna perna* (mexilhão), *Stramonita haemastoma* (saquaritá), *Echinometra lucunter* (ouriço do mar) e *Holothuria* sp. (pepino do mar). Dez foram coletados nos costões rochosos da Baía de Santos, SP e três foram obtidos no comércio informal, já processados.

#### 4.1.1 Coleta de amostras

A periodicidade das coletas foi estabelecida de acordo com a época em que ocorre a maior exploração e captura das espécies para o comércio ilegal. Foram feitas três coletas em cada período de estação, obtendo-se uma distribuição das amostras por espécie de acordo com o quadro 1.

**Quadro 1.** Coleta de amostras de espécies marinhas x período.

Período	Espécie(s)	Origem	Quantidade
Verão	<i>P. perna</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>E. lucunther</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>S. haemastoma</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>Holonthuria</i> spp.	<i>In natura</i>	1
	<i>P. perna</i>	Processado	1
	<i>S. haemastoma</i>	Processado	1
Outono	<i>P. perna</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>E. lucunther</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>S. haemastoma</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>Holonthuria</i> spp.	<i>In natura</i>	1
Inverno	<i>P. perna</i>	<i>In natura</i>	1
	<i>Holonthuria</i> spp.	<i>In natura</i>	1
	<i>P. perna</i>	Processado	1
Total			13

Fonte: Do Autor (2019).

As espécies “*in natura*” foram removidas vivas dos costões rochosos com o auxílio de raspadeira metálica e acondicionada em sacos plásticos estéreis. As espécies processadas foram compradas dos extrativistas do comércio informal.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas ao laboratório com temperatura de 2 a 8 °C. No laboratório, as amostras foram abertas em cabine de segurança biológica e através de técnicas assépticas e utilizando materiais estéreis, alíquotas de 25g foram pesadas para a realização dos ensaios microbiológicos.

#### 4.2 Análise das amostras

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os protocolos do Instituto Adolfo Lutz, baseados no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (SALFINGER e TORTORELO, 2015), com critérios de interpretação de resultados de acordo com a RDC nº 12/2011 (BRASIL, 2011). Todas as análises foram realizadas no Centro de Laboratório Regional de Santos do Instituto Adolfo Lutz.

#### 4.2.1 Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes

As contagens de coliformes totais e coliformes termotolerantes foram realizadas por meio da técnica do número mais provável (NMP) através da diluição de 25g de amostra em 225mL de diluente SSP (Solução Salina Peptonada). A partir desta diluição inicial ( $10^{-1}$ ), foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-5}$ , e alíquotas de 1 mL semeadas em caldo Lauryl concentração simples com tubos de Durhan e incubados a  $35 \pm 0,5$  °C por 24/48 horas.

Os tubos positivos, com formação de gás nos tubos de Durhan, foram semeados em caldo Brilliant Green, para confirmação de coliformes totais, bem como em caldo *Escherichia coli* (EC), para confirmação de coliformes termotolerantes, sendo incubados, respectivamente, a  $35 \pm 0,5$  °C por 48 horas e  $45,5 \pm 0,2$  °C por 24 horas. Os tubos de caldo verde brilhante e EC com formação de gás e turvação foram considerados positivos.

#### 4.2.2 Pesquisa de *Escherichia coli*

Os tubos positivos de caldo EC foram semeados em ágar EMB para pesquisa de *Escherichia coli*, sendo incubados a  $35 \pm 0,5$  °C por 24h a 48h. As colônias características foram isoladas em ágar nutriente, incubado a  $35 \pm 0,5$  °C por 24h a 48h. A identificação da espécie foi realizada por provas bioquímicas, através do kit BBL Crystal Enteric/No fermenter ID (Becton, Dickinson and Company®). A pesquisa positiva foi considerada com a identificação da espécie em um ou mais isolados (presença).

#### 4.2.3 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Realizou-se uma diluição de 25g de amostra em 225mL de Solução Salina Peptonada (SSP). A partir desta diluição inicial ( $10^{-1}$ ), foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-5}$ . Em seguida, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas em placas de ágar Baird Parker (BP), por técnica de semeadura de espalhamento em superfície. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1$  °C por 48 horas.

Realizou-se contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) das placas que apresentaram colônias suspeitas de *Staphylococcus aureus*. As placas

que apresentaram 20 – 200 UFC foram submetidas ao isolamento de colônias em ágar nutriente, incubado a  $35 \pm 0,5$  °C por 24h a 48h. A identificação da espécie foi realizada por provas bioquímicas, sendo realizado teste de coagulase, onde os isolados com resultados positivos foram submetidos a identificação de espécie através do kit BBL Crystal Gram Positive ID (Becton, Dickinson and Company®).

#### **4.2.4 Pesquisa de *Salmonella* spp.**

Realizou-se uma diluição de 25g de amostra em 225mL de caldo lactose, sendo incubados a  $35 \pm 0,2$  °C por 24h. Em seguida, foram semeadas alíquotas de 1mL em 10mL de caldo tetrionato e 0,1 mL em 10mL caldo Rappaport-Vassilidis, incubados, respectivamente, a  $43 \pm 0,2$  °C por 24 horas e a  $42 \pm 0,2$  °C por 24 horas.

Após a incubação, alíquotas de cada um dos meios foram semeadas em placas de ágar *Salmonella Shigella* (SS) e ágar Brilliant Green (BG), sendo incubadas a 35 °C por 24 horas. As colônias suspeitas foram isoladas em ágar nutriente, incubado a  $35 \pm 0,5$  °C por 24h a 48h. A identificação da espécie foi realizada por testes sorológicos com antígeno somático e flagelar, onde os isolados com resultados positivos foram submetidos a identificação por provas bioquímicas, através do kit BBL Crystal Enteric/No fermenter ID (Becton, Dickinson and Company®). A pesquisa positiva foi considerada com a identificação da espécie em um ou mais isolados (presença).

#### **4.3 Análise de dados**

Os resultados obtidos foram transferidos para planilhas de Excel e verificados de acordo com os parâmetros estabelecidos na Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. (BRASIL, 2001).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas efetuadas conforme a resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Sanitária – ANVISA, estão apresentadas em quadros.

O quadro 2 demonstra as amostras de saquarité *in natura* colhidas no verão e outono, amostra processada comprada no verão e valores indicados na legislação para moluscos bivalves *in natura* e processado – parâmetros utilizados para análise. Não houve extração de saquarité *in natura* no inverno, pois os poucos que haviam nos costões, estavam com tamanho reduzido. Também não houve compra no outono e inverno, pois não foram encontrados no comércio informal.

**Quadro 2.** Amostras de Saquarité.

Ensaio realizado	Verão		Outono		
	Saquarité <i>in natura</i>	Saquarité processado	Saquarité <i>in natura</i>	Legislação <i>in natura</i>	Legislação processado
Contagem de coliformes totais (NMP/g)	9,3 x 10	4,6 x 10 <sup>2</sup>	2,1 x 10	-	-
Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/g)	3,6	< 3,0	6,2	-	5x10
Pesquisa de <i>E. coli</i>	Ausência	Ausência	Ausência	-	-
Contagem de estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	< 10	7,4 x 10 <sup>2</sup>	< 10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i> (Ausência em 25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Do Autor (2019).

Podemos observar que não houve mudança significativa dos índices analisados entre verão e outono. A contagem de coliformes totais, termotolerantes e estafilococos coagulase positiva mantiveram-se estáveis e, segundo legislação RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, dentro dos padrões microbiológicos sanitários. A pesquisa para *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* demonstrou ausência em 25 gramas de amostra.

Analisando a amostra de saquarité processada, comprada no verão, foi observado que houve aumento de alguns parâmetros em relação à amostra colhida *in natura* no verão. A contagem de coliformes totais aumentou de 9,3 x 10 NMP para 4,6 x 10<sup>2</sup> e a contagem de estafilococos coagulase positiva aumentou de < 10 UFC/g

para  $7,4 \times 10^2$ . A pesquisa para *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. manteve ausência em 25 gramas de amostra.

O aumento de coliformes totais e de estafilococos coagulase positiva no saquirá processado em relação ao *in natura* pode se dar pela manipulação incorreta da amostra após processamento. Segundo Santiago et al. (2013), a contaminação pós captura pode ocorrer em contato com o gelo produzido a partir de água de má qualidade e em toda manipulação até que chegue nas mãos do consumidor final.

O quadro 3 estão as amostras de mexilhão *in natura*, colhidas no verão, outono e inverno e amostras processadas compradas no verão e inverno. No outono não foi encontrado mexilhão para compra no comércio informal. No mesmo quadro estão os valores indicados na legislação para moluscos bivalves *in natura* e processado.

**Quadro 3.** Amostras de Mexilhão.

Ensaio realizado	Verão		Outono	Inverno		Legislação <i>in natura</i>	Legislação processado
	Mexilhão <i>in natura</i>	Mexilhão processado	Mexilhão <i>in natura</i>	Mexilhão <i>in natura</i>	Mexilhão processado		
Contagem de coliformes totais (NMP/g)	$2,4 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^4$	$< 3,0$	$2,3 \times 10$	-	-
Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/g)	$9,3 \times 10$	$< 3,0$	$1,1 \times 10^4$	$< 3,0$	$< 3,0$	-	$5 \times 10$
Pesquisa de <i>E. coli</i>	Presença	Ausente	Presença	Ausência	Ausente	-	-
Contagem de estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	$< 10$	$3,6 \times 10^2$	$< 10$	$< 10^2$	$< 10^2$	$10^3$	$10^3$
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp (Ausência em 25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Do Autor (2019).

Analisando as amostras *in natura* das três estações do ano, percebemos que no outono houve aumento na contagem de coliformes totais ( $1,1 \times 10^4$ ) em relação ao verão ( $2,4 \times 10^2$ ) e ao inverno ( $< 3,0$ ). A contagem de coliformes termotolerantes também foi maior no outono ( $1,1 \times 10^4$ ) do que no verão ( $9,3 \times 10$ ) e inverno ( $< 3,0$ ). A contagem de estafilococos coagulase positiva, por sua vez, foi maior no inverno ( $<$

10<sup>2</sup>) do que nas outras estações (< 10 em ambas). Pela legislação, todas estão de acordo com os parâmetros microbiológicos. A bactéria *Escherichia coli* foi detectada tanto na amostra *in natura* do verão como na do outono. Não foi encontrada *Salmonella* spp em nenhuma das amostras.

Em geral, o outono foi a estação do ano em que ocorreu maior contaminação, seguido pelo verão, exceto na contagem de estafilococos coagulase positiva.

A poluição nas águas é maior no verão, onde a população da Baixada Santista aumenta consideravelmente, aumentando a produção de esgoto, conseqüentemente. Além do aumento populacional, o verão é uma época de chuvas mais intensas. Sabe-se que as chuvas influenciam na qualidade da água do mar, visto que a drenagem da água da chuva em direção à praia lava as ruas, carregando a sujeira presente para o mar, prejudicando a qualidade da água (SOS Mata Atlântica, 2015).

Os mexilhões são organismos filtradores e bioacumuladores (PASSOS et al.,2011; PIERRI, FOSSARI e MAGALHÃES, 2016). É possível que estes filtrem a poluição que chega nos mares no verão e acumulem estas até o outono, período em que a contaminação foi maior.

A presença de *Escherichia coli* se deu no verão e outono, estações que, como já explicamos, recebem maior poluição no mar.

No outono, a população tende a frequentar menos as praias, fazendo com que as águas voltem a ficar limpas e, assim, diminuindo a contaminação dos mexilhões para o inverno.

Dessa mesma forma, podemos explicar a diferença na contagem de microrganismos termotolerantes e presença de *Escherichia coli*: verão e outono, aumento da população, presença de *Escherichia coli*. Inverno, queda da população, ausência de *Escherichia coli*.

Nas amostras processadas, os índices se mantiveram muito parecidos nas duas estações (verão e inverno), exceto pela contagem de coliformes totais (2,1 x10<sup>2</sup> no verão e 2,3 x 10 no inverno) e de estafilococos coagulase positiva (3,6 x 10<sup>2</sup> no verão e < 10<sup>2</sup> no inverno). Em ambas as amostras processadas a contagem de coliformes termotolerantes foi < 3,0. Todas as amostras apresentaram ausência de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em 25 grama de amostra.

No verão, aumenta a procura desses organismos pela população, assim como sua exploração. É possível que como haja maior volume de organismos

capturados, a manipulação seja feita de forma mais rápida e com menos cuidado, por isso o aumento de coliformes totais e estafilococos coagulase positiva nas amostras processadas nesta estação do ano.

O quadro 4 diz respeito às amostras de ouriço-do-mar *in natura* colhidas no verão e outono. No inverno, os estoques estavam muito baixos e, quando encontradas, as amostras estavam muito pequenas. Há também valores indicados na legislação para moluscos bivalves *in natura*, parâmetro utilizado para análise.

**Quadro 4.** Amostras de Ouriço-do-mar.

	Verão	Outono	
<b>Ensaio realizado</b>	Ouriço-do-mar <i>in natura</i>	Ouriço-do-mar <i>in natura</i>	Legislação <i>in natura</i>
<b>Contagem de coliformes totais (NMP/g)</b>	2,4 x 10 <sup>3</sup>	4,3 x 10 <sup>3</sup>	-
<b>Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/g)</b>	3,6	9,2	-
<b>Pesquisa de <i>E. coli</i></b>	Ausência	Presença	-
<b>Contagem de estafilococos coagulase positiva (UFC/g)</b>	< 10	< 10	10 <sup>3</sup>
<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp (Ausência em 25g)</b>	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Do Autor (2019).

Ao analisarmos as amostras de ouriço-do-mar tanto do verão quanto do outono, percebemos que a maioria dos índices se mantiveram estáveis e dentro da legislação para moluscos bivalves *in natura*, quando mencionados na mesma, exceto na pesquisa de *Escherichia coli*, que houve presença apenas no outono.

A contagem de coliformes totais foi de 2,4 x 10<sup>3</sup> no verão e no e 4,3 x 10<sup>3</sup> outono. A contagem de coliformes termotolerantes no verão e outono foram de 3,6 e 9,2 NPM/g respectivamente. Já a contagem de estafilococos coagulase positiva foi de < 10 nas amostras das duas estações. Para pesquisa de *Salmonella* spp. não houve presença em 25 grama de cada amostra.

Analisando os resultados das amostras de ouriço-do-mar colhidos tanto no verão quanto no outono, a única diferença relevante foi a presença de *Escherichia coli*. O ouriço-do-mar alimenta-se raspando com os dentes em algas e outros organismos fixos no substrato. Sugere-se que no outono haja acúmulo de poluentes que chegaram ao oceano no verão, assim como acontece com os mexilhões.

O quadro 5 demonstra as amostras de pepino-do-mar *in natura* colhidas no verão, outono e inverno.

**Quadro 5.** Amostras de Pepino-do-mar.

	<b>Verão</b>	<b>Outono</b>	<b>Inverno</b>	
<b>Ensaio realizado</b>	Pepino do mar <i>in natura</i>	Pepino do mar <i>in natura</i>	Pepino do mar <i>in natura</i>	Legislação <i>in natura</i>
<b>Contagem de coliformes totais (NMP/g)</b>	< 3,0	< 3,0	< 3,0	-
<b>Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/g)</b>	< 3,0	< 3,0	< 3,0	-
<b>Pesquisa de <i>E. coli</i></b>	Ausência	Ausência	Ausência	-
<b>Contagem de estafilococos coagulase positiva (UFC/g)</b>	< 10	< 10	< 10	10 <sup>3</sup>
<b>Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp (Ausência em 25g)</b>	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Do Autor (2019).

A *Holothuria* spp. (pepino do mar), foi a única espécie que não apresentou contaminação. O extrato de pepino do mar foi demonstrado em vários estudos como potenciais agentes antimicrobianos (FARJAMI et AL., 2013).

JAMALI et al. (2011), citado por FARJAMI et al, 2013 investigaram o efeito antibacteriano do pepino do mar *Holothuria* spp. em três cepas de *E.coli*. Seus resultados demonstraram morte em algumas cepas bacterianas.

Estudos demonstraram alguma atividade antimicrobiana em extratos de *Holothuria leucospilota* (PRINGGENIES, 2013).

## 6 CONCLUSÃO

Existem parâmetros microbiológicos somente para o mexilhão (*Perna perna*), contemplados na RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Não há dados disponíveis na literatura e nem especificações microbiológicas para as espécies *Stramonita haemastoma*, *Echinometra lucunter* e *Holothuria* spp., isso porque, apesar da captura indiscriminada, são relativamente novas na comercialização. Desta forma, os parâmetros microbiológicos utilizados para as espécies sem especificação foram os mesmos do *Perna perna*.

Nas amostras de saquiritá, houve aumento na contagem de coliformes totais e estafilococos coagulase positiva e diminuição de coliformes termotolerantes na amostra processada em relação às duas amostras *in natura*. Não foi encontrada presença de *Escherichia coli* ou *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras desta espécie.

Para as amostras de mexilhão *in natura*, houve aumento de coliformes totais e termotolerantes no outono. Manteve-se estável a contagem de estafilococos coagulase positiva e dentro dos padrões microbiológicos da legislação brasileira. Houve presença de *Escherichia coli* nas amostras *in natura* no verão e outono e ausência de *Salmonella* spp. em 25 grama de todas as amostras *in natura*.

Nas amostras de mexilhão processadas houve aumento de coliformes totais e estafilococos coagulase positiva no verão, em relação ao inverno. Ambas as amostras não apresentaram *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.

Foi encontrada presença de *Escherichia coli* na amostra de ouriço-do-mar coletada no outono. Demais parâmetros não apresentaram diferença significativa.

As amostras de pepino-do-mar não apresentaram contaminação.

Apesar de estarem dentro dos padrões próprios para consumo, segundo a legislação, das treze amostras analisadas, três amostras apresentaram, em sua forma *in natura*, presença de *Escherichia coli*. O mexilhão *Perna perna* é um organismo filtrador e bioacumulador de bactéria. Tanto o *P. perna* quanto o *Echinometra lucunter* podem ter seus tecidos externos contaminados por microrganismos pelo ambiente ainda vivos e, caso não haja manipulação e transporte corretos, o consumidor final pode acabar se contaminando também.

A comercialização em situação de informalidade pode gerar riscos aos consumidores.

É recomendado ações de higiene pessoal, principalmente a lavagem correta das mãos, entre as pessoas que processem alimentos (FLORES e MELO, 2015).

Considerando os resultados obtidos, seria importante uma atualização da legislação, incluindo pepino-do-mar, ouriço-do-mar e saquiritá, além da pesquisa de *Escherichia coli*, coliformes totais e coliformes termotolerantes. *E. coli* é uma bactéria do grupo dos coliformes termotolerantes e a principal causadora de doenças diarréicas via ingestão de água e alimentos contaminados. (SANTIAGO et al., 2013)

## REFERÊNCIAS

BIASI, J.B.D.; TOMÁS, A.R.G.; IMPARATO, L. **Imposex em saquarité *Stramonita haemastoma* (Neogastropoda Muricidae) na Baixada Santista.** Bioikos, Campinas, 24(1):5-12, jan./jun., 2010.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDC Nº 12, 02 de janeiro de 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 02 de jan. de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável.** 2006.

CASARINI, L.M.; HENRIQUES, M.B.; GRAÇA-LOPES, R.; SOUZA, M.R. **Chemical and bacteriological evaluation of the water and mussels from Santos bay, São Paulo, Brazil.** Revista Instituto Adolfo Lutz. 2010.

CASARINI, L.M.; HENRIQUES, M. B. **Estimativa de estoque do mexilhão *Perna perna* e da espécie invasora *Isognomom bicolorem* nos bancos naturais da Baía de Santos, São Paulo, Brasil.** Boletim do Instituto de Pesca (Online), 37(1): 1-11. 2011

DEUS, S.R.F.; COSTA, J.A.; MOTTA, N.S.; CASARINI, L. M. **Densidade populacional dos moluscos *Perna perna* e *Stramonita haemastoma* e do equinóide *Echinometra lucunter* em recifes rochosos da Baía de Santos.** UNISANTA BioScience – p.1-9; Vol. nº2. 2013.

DEUS, S.R.F.; COSTA, J.A.; CASARINI, L.M. **Estimativa da densidade de *Stramonita haemastoma* em recifes rochosos na baía de Santos.** Revista Ceciliana Dez 6 (2): 24-27, 2014.

DUARTE, D.A.M.; RIBEIRO, A.R.; VASCONCELOS, A.M.M.; SILVA, J.V.D.; ANDRADE, P.L.A. de; SANTANA, A.A.P. **Ocorrência de *Salmonella* spp. e**

***Staphylococcus coagulase positiva em pescado no Nordeste, Brasil.*** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.77, n.4, p.711-713, out/dez, 2010.

FARJAMI, B.; NEMATOLLAHI, M.A.; MORADI, Y.; IRAJIAN, G.; NAZEMI, M.; ARDEBILI, A., POURNAJAF, A. **Antibacterial activity of sea cucumber *Holothuria leucospilota*.** International Journal of Molecular and Clinical Microbiology 1 (2013) 225-230.

FLORES, A.M.P.C.; MELO, C.B. **Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 37 (1):65-72, jan/mar 2015.

FRAGA, F. **PRF apreende 220kg de iguaria destinada à culinária oriental.** Agência Brasil, Rio de Janeiro, 01 de out. de 2018. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2018-10/prf-apreende-220-kg-de-iguaria-destinada-culinaria-oriental>>. Acesso em: 16 de jan. de 2019.

HENRIQUES, M.B.; PEREIRA, O.M.; MARQUES, H.L.A. **Resistência do mexilhão *Perna perna* a altas temperaturas e sua relação com a contaminação bacteriológica.** Arquivos de Ciências do Mar, Fortaleza, 2007, 40 (1): 52-57.

HENRIQUES, M.B.; CASARINI, L.M. **Avaliação do crescimento do mexilhão *Perna perna* da Ilha das Palmas, Baía de Santos, estado de São Paulo, Brasil.** B. Inst. Pesca, São Paulo, 35(4): 577 - 586, 2009.

LIMA, E.J.B., GOMES P.B., SOUZA, J.R.B. **Reproductive biology of *Echinometra lucunter* (Echinodermata: Echinoidea) in a northeast Brazilian sandstone reef.** Anais da Academia Brasileira de Ciências (2009) 81(1): 51-59.

MACHADO, T.M.; COSTA, J.A.; MOTTA, N.S.; PASSOS, E.C.; CASARINI, L. M. **ANÁLISE SENSORIAL DAS OVAS DE OURIÇO-DO-MAR (*Echinometra lucunter*).** XI Reunião Científica do Instituto de Pesca. 2013.

MARIANTE, F.L.F.; LEMOS, G.B.; EUTRÓPIO, F.J.; GOMES L.C. **Biologia reprodutiva de *Echinometra lucunter* (Echinodermata: Echinoidea) na Praia da Costa, Vila Velha, Espírito Santos.** ZOOLOGIA 26 (4): 641-646, December, 2009.

MUNHOZ, R.R.; TORRES, G.; FURLAN, É.F.; TOMITA, R.Y.; PEREIRA, T.C.; CASARINI, L.M. **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E NUTRICIONAL DO PEPINO-DO-MAR (*Holothuria grisea*) ORIUNDO DA BAÍA DE SANTOS-SP.** VIII SIMPÓSIO DE CONTROLE DE QUALIDADE DO PESCADO. INSTITUTO DE PESCA – SÃO PAULO – SP. 2018a.

MUNHOZ, R.R.; CASARINI, L.M.; TOMITA, R.Y. **CARACTERIZAÇÃO DO VALOR NUTRICIONAL DE *Holothuria grisea* E *Stramonita haemastoma* DA BAÍA DE SANTOS FRENTE AO MERCADO CONSUMIDOR INFORMAL.** Resumos XIII Seminário de Iniciação Científica do Instituto de Pesca, 7 de agosto de 2018, São Paulo/SPb.

PASSOS, E.C.; MELLO, A.R.P.; SOUSA, C.V.; OLIVEIRA, M.A.; CASARINI, L.M.; MOTTA, N.S.; HENRIQUES, M.B.; MACHADO, I.C.; DE ROSSO, V.V.; RIVERA, I.N.G. **Deteccção de *Salmonella* spp. em mexilhões *Perna perna* dos bancos naturais de baía densamente urbanizada.** Revista Instituto Adolfo Lutz. 2011.

PIERRI, B. S.; FOSSARI, T. D.; MAGALHÃES, A. R. M. **O mexilhão *Perna perna* no Brasil: nativo ou exótico?** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.68, nº2, p.404-414, 2016.

QUEIROZ, V.; SALES, L.; NEVES, E.; JOHNSON, R. **HOLOTHURIA DO LITORAL DA BAHIA (ECHINODERMATA: HOLOTHUROIDEA): INVENTÁRIO E NOVOS REGISTROS.** Arquivos de Ciências do Mar, 2013.

SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. L. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** American Public Health Association. 2015.

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M.B.O.C. de. **Estafilococos em alimentos**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.77, n.3, p.545-554, jul./set., 2010.

SANTIAGO, J.A.S.; ARAÚJO, P.F.R.; SANTIAGO, A.P.; CARVALHO, F.C.T.; VIEIRA, R.H.S.F. **Bactérias Patogênicas relacionadas à ingestão de pescados – revisão**. Arquivos de Ciências do Mar, Fortaleza, 2013, 46(2): 92-103.

SANTOS, A.L.; SANTOS, D.O.; FREITAS, C.C.; FERREIRA, B.L.AI.; AFONSO, I.F.; RODRIGUES, C.R.; CASTRO, H.C. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar**. J Bras Patol Med Lab. v.43, n.6, p.413-423. 2017.

SANTOS, C.A.M. L.; VIEIRA, R.H.S.F. **Bacteriological hazards and risks associated with seafood consumption in Brazil**. Revista Instituto Medicina Tropical São Paulo. 2013.

SILVA, N.J.R.; RENO, S.F.; HENRIQUES, M.B. **ATIVIDADE ESTRATIVA DO MEXILHÃO *Perna perna* EM BANCOS NATURAIS DA BAÍA DE SANTOS, ESTADO DE SÃO PAULO**. Informações Econômicas, SP, v.39, n.9, set. 2009.

SOS MATA ATLÂNTICA. **Balneabilidade: atenção à qualidade das águas do mar é essencial para saúde**. SOS Mata Atlântica, São Paulo, 14 de dez. de 2015. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/blog/balneabilidade-atencao-qualidade-das-aguas-mar-e-essencial-para-saude/>>. Acesso em: 18 de jan. de 2019.

SOUSA, C.P. **Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos**. Revista APS, v.9 n.1, p. 83-88, jan./jun.2006.

SOUZA, C.O. **Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreiogênica versátil**. Revista Pan-Amazônica de Saúde 2016; 7 (2):79-91.