

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

Hygienic sanitary indicator microorganisms in oysters (*Crassostrea gigas*) and saline waters from sea farms in Baía Sul at Santa Catarina's Island, Brazil

RIALA6/1253

Roberta Juliano RAMOS^{1*}, Murilo Anderson PEREIRA¹, Leticia Adélia MIOTTO¹, Luiz Fernando Bleyer de FARIA¹, Nelson SILVEIRA JUNIOR², Cleide Rosana Werneck VIEIRA¹

*¹Endereço para correspondência: Núcleo de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil. CEP 88040-900; (48) 37215379. email: robertajulianoramos@yahoo.com.br

²Associação de Maricultores do Sul da Ilha (AMASI), Florianópolis, SC, Brasil

Recebido: 10.11.2009 – Aceito para publicação: 02.02.2010

RESUMO

Esta investigação teve como objetivo efetuar o monitoramento da qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, por meio de microrganismos indicadores, durante o período de um ano. As amostras de ostras e águas salinas foram submetidas a ensaios microbiológicos para enumeração de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli*. Foram avaliados os parâmetros físico-químicos de temperatura, salinidade, turbidez e pH nas águas e pH nas ostras. Foram observadas correlações positivas entre as contagens de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *E. coli* nas amostras de águas salinas e de carne das ostras; e diferenças estatísticas significativas foram verificadas entre as contagens de coliformes a 45°C nas amostras de águas salina provenientes da região E. Os parâmetros físico-químicos apresentaram pouca ou nenhuma correlação estatística com as contagens bacteriológicas. Considerando-se a Baía Sul em toda sua extensão, observou-se a influência do índice pluviométrico sobre as contagens bacteriológicas obtidas nas águas e nas ostras. As contagens de coliformes a 45°C observadas nas águas salinas estavam de acordo com os parâmetros descritos na legislação brasileira, contudo, ressalta-se a importância da implantação de saneamento básico em regiões de cultivo de moluscos bivalves, assim como o constante monitoramento bacteriológico de indicadores de qualidade nas águas e nos moluscos.

Palavras-chave. microrganismos indicadores, água salina, ostras, coliformes a 45°C, *Escherichia coli*

ABSTRACT

This investigation was conducted for one year in order to monitor the hygienic sanitary conditions of oysters (*Crassostrea gigas*) and saline waters from sea farms at the South Bay of Santa Catarina Island, by means of microorganism indicators. Oysters and saline waters samples were assayed by bacteria counting technique for coliforms at 35°C, coliforms at 45°C and *Escherichia coli*. Physical and chemical parameters were assessed in water samples (pH, salinity, turbidity and temperature) and oyster samples (pH). Positive correlations on coliform counts at 35°C and at 45°C, and *E. coli* were observed within saline waters and samples of oyster meat. Statistically significant differences on coliforms counting at 45°C were observed among saline water samples collected from the region E. Physical-chemical parameters showed somewhat no statistical correlation with microorganism counting. Nonetheless, the influence of rainfall indices in the Great Florianópolis region over the bacteriological counting in saline waters and oysters could be observed. The coliforms counting at 45°C in saline water samples complied with the parameters established by the Brazilian legislation, although the basic sanitation at bivalve shellfish growing sites and a regular bacteriological quality monitoring by using specific indicators are demanded for the culturing water and for growing oysters.

Key words. microorganisms indicator, saline water, oysters, coliforms at 45°C, *Escherichia coli*

INTRODUÇÃO

Face ao grande declínio dos recursos pesqueiros costeiros, ocasionado principalmente pela intensa exploração, aliada à degradação ambiental, os mexilhões e as ostras garantem a subsistência de parte da população ligada à pesca artesanal, tanto em termos de consumo como de comércio, em vários estados litorâneos brasileiros¹.

A maricultura vem sendo amplamente praticada no estado de Santa Catarina, e a liderança ocupada pelo estado na produção de ostras e mexilhões é justificada por dois fatores essenciais: existência de condições oceanográficas favoráveis aos cultivos, tais como: existência de inúmeras áreas protegidas formadas por baías, enseadas, estuários e íntima afinidade entre os produtores na grande maioria advindos da pesca artesanal².

O município de Florianópolis é o maior produtor de ostras de Santa Catarina e, por conseguinte, do Brasil³. A safra 2006 foi responsável pela produção de 51,26% do total de ostras produzido em todo Estado, sendo que a Baía Sul responde por cerca de 90% do total produzido em Florianópolis, estando a maioria destes cultivos localizados no distrito do Ribeirão da Ilha⁴.

Essa considerável produção vem sendo comercializada para diferentes regiões do Brasil, e apesar do inegável potencial socioeconômico contido nestas experiências, o atual padrão de desenvolvimento acelerado e intensivo das práticas de maricultura no Estado não está isento de riscos, dentre os quais, a ameaça à saúde pública pelo fato dos cultivos serem realizados na ausência de um sistema realmente eficaz de monitoramento da qualidade das águas e dos produtos cultivados⁵.

Para que possa ganhar novos mercados, é indispensável um controle sanitário eficiente, incluindo monitoramento constante das águas de cultivo e dos moluscos cultivados, principalmente devido à característica filtradora dos moluscos bivalves, os quais se alimentam através de filtração branquial da água do mar, de onde retiram seu alimento do plâncton⁶. Dessa forma, os microrganismos presentes na água do mar são acumulados no interior do molusco, o que pode vir a representar um perigo quando os moluscos são coletados ou cultivados em locais que recebem efluentes, já que as bactérias e vírus dessa fonte contaminante são acumulados e, no interior do corpo dos moluscos, a concentração desses microrganismos torna-se muitas vezes superior à da água em que se encontram⁷.

Dentre os indicadores de qualidade higiênico-sanitários mais utilizados destacam-se o grupo dos coliformes

fecais e a *Escherichia coli*. Esses microrganismos fazem parte da microbiota do trato digestivo do homem e dos animais de sangue quente e são excretados em suas fezes, por este fato, a presença desses no ambiente pode indicar contaminação de origem fecal e risco de aparecimento de microrganismos patógenos⁸. A correlação entre a presença de bactérias indicadoras e de diversos agentes patogênicos na água e nos moluscos bivalves tem sido bastante questionada. A concentração de microrganismos nos moluscos filtradores varia de um animal para outro e também depende de condições meteorológicas, da temperatura e da atividade geral do molusco⁹.

Esta pesquisa teve por objetivo monitorar microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Florianópolis, no estado de Santa Catarina, durante o período de um ano.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras

As amostras de ostras e de águas foram coletadas em seis diferentes regiões geográficas localizadas no distrito do Ribeirão da Ilha, onde está concentrado o maior número de cultivos de ostras: Caieira da Barra do Sul (27°48'84,9"S/48°33'98,1"W), Tapera do Ribeirão (27°46'98,9" S/48°34'31,8"W), Costeira do Ribeirão (27°44'35,0"S/48°33'89,0"W), Freguesia do Ribeirão (27°43'17,4"S/48°33'57,8"W), Barro Vermelho (27°42'11,1"S/48°33'33,7"W) e Tapera da Base Aérea (27°41'39,7"S/48°34'23,0"W), as quais foram identificadas, respectivamente, como pontos: A, B, C, D, E e F (Figura 1).



Figura 1. Localização dos pontos de coleta de ostras e águas nas seis diferentes regiões geográficas do distrito do Ribeirão da Ilha na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina

Foram coletadas 15 amostras de ostras e de água salina de cada região geográfica, sendo que 12 unidades de ostras e um litro de água constituíram cada amostra, respectivamente. As coletas foram realizadas entre os meses de março de 2006 e fevereiro de 2007. As amostras foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina em caixas isotérmicas contendo gelo potável, e as análises eram realizadas em até duas horas.

Preparo das amostras

As ostras foram lavadas com escova sob água potável corrente e todo material aderido às conchas foi raspado e escovado sob água corrente, para então serem secas ao ar livre em bandeja plástica previamente desinfetada com álcool 70%. Foram então abertas com faca estéril e, o líquido intervalvar e a carne, transferidos assepticamente para saco estéril, constituindo o *pool* de cada amostra, que foram desintegrados em Bagmixer® (Interscience, France).

Enumeração de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em ostras¹⁰

A enumeração de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* foi realizada segundo American Public Health Association (APHA) 2001. Em uma alíquota de 25 g de amostra foram adicionados 225 ml água peptonada 0,1% e, posteriormente, desintegrada em homogeneizador *Bagmixer*. A partir dessa diluição (10^{-1}), foram efetuadas as demais diluições decimais (10^{-2} , 10^{-3}), e 1 ml de cada diluição foi inoculado em cada tubo de uma série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST-Oxoid®), e incubou-se a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 48 horas. De cada tubo de LST com turvação e produção de gás, foram transferidos 100 μl para tubos de Caldo Verde Brilhante 2% lactose (BVB-Oxoid®) e para tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC-Oxoid®). Os tubos de BVB foram incubados a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 48 horas e os tubos de EC em banho-maria a 45,0°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$), por 48 horas. A partir dos tubos de EC com turvação e produção de gás, foi realizada inoculação em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EAM-Oxoid®), incubando-as a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 24 horas. As colônias típicas de *Escherichia coli* foram submetidas à série bioquímica: Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato (IMVIC). O resultado final de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C foi expresso a partir da tabela do Número Mais Provável (NMP). As contagens

de *E. coli* foram realizadas a partir da confirmação das colônias isoladas no EAM, na série bioquímica do IMVIC, também expressos pela combinação de isolados positivos, através da tabela do NMP.

Enumeração de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em águas salinas¹¹

Para as amostras de água salina provenientes dos cultivos foi utilizada a técnica de cinco tubos múltiplos, descrita no Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater - APHA (2005). Onde se utiliza uma série de 5 tubos com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST- Oxoid®) duplamente concentrado, seguida de duas séries de 5 tubos com LST em concentração normal, adicionando-se em cada série de 5 tubos 10, 1 e 0,1 mL da água salina, respectivamente. Os tubos de LST foram incubados a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 48 horas, e aqueles com turvação e produção de gás foram repicados para tubos de Caldo Verde Brilhante 2% lactose (BVB-Oxoid®) e para tubos com Caldo *Escherichia coli* (EC-Oxoid®). Os tubos de caldo BVB foram incubados a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 48 horas e os tubos de EC em banho-maria a 45,0°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) por 24 horas. A partir dos tubos de EC com turvação e produção de gás, foram realizadas inoculações em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EAM-Oxoid®), as quais foram incubadas a 35,0°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 24 horas. As colônias típicas de *Escherichia coli* foram submetidas à série bioquímica: Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer e Citrato (IMVIC). As contagens foram realizadas através da utilização da tabela do número mais provável (NMP) para séries de 5 tubos por diluição (10,0 ml, 1,0 ml e 0,1 ml).

Determinação do pH em ostras

O pH das ostras foi verificado no *pool* de 12 ostras remanescentes de cada amostra com um medidor digital de pH da Quimis®, modelo Q-400A, e as leituras foram realizadas em triplicata.

Parâmetros físico-químicos das águas salinas provenientes de cultivos

Os parâmetros físico-químicos das áreas de amostragem foram verificados *in situ*: temperatura (termômetro portátil de mercúrio com graduação de 0,5°C); turbidez (turbidímetro Plus Microprocessado Alkafit®), salinidade (salinômetro portátil modelo 211 Alkafit®). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

A determinação do pH das águas salinas foi realizada imediatamente após a chegada das amostras ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do CAL/

UFSC, em medidor digital de pH da marca Quimis®, modelo Q-400A, sendo esta realizada em triplicata.

Índice pluviométrico

O índice pluviométrico na Grande Florianópolis foi avaliado a partir dos dados enviados pelo Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia (CIRAM) da Epagri, da estação São José, que fica localizada a 27°35' S de latitude e 48°34' W de longitude, a uma altitude de 2 metros, próximo à Baía Norte da Ilha de Santa Catarina. Foi verificado tanto o acumulado pluviométrico mensal, como o acumulado pluviométrico na semana anterior a cada coleta, durante todo o período de monitoramento.

Análise estatística dos dados

As análises estatísticas dos dados foram realizadas através da utilização do programa *Statistica 6.0*®. Os resultados das análises de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli*, tanto das águas salinas, quanto das ostras, foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, para comparação do nível de contaminação nas diferentes regiões ao longo de um ano. Havendo diferença estatística a um nível de 5%, foram aplicados testes de comparações múltiplas¹², com $\alpha = 0,05$.

O estudo da existência de correlação entre os microrganismos da água de cultivo e da carne das ostras, assim como a correlação entre estes microrganismos e parâmetros físico-químicos, tanto nas águas salinas, como nas ostras, foi realizado através do teste não paramétrico de correlação de Spearman. A influência do acumulado pluviométrico mensal e acumulado pluviométrico da semana anterior à coleta nas contagens dos diferentes microrganismos nas águas salinas e carne de ostras, foram avaliados através da análise de regressão linear.

Para fins de cálculos estatísticos, sempre que os resultados obtidos na tabela do NMP foram < 3 NMP/g, estes foram substituídos pelo número inteiro imediatamente inferior, ou seja, 2 NMP/g. Quando os resultados obtidos foram $< 1,8$ NMP/100ml e $> 1,6 \times 10^3$ NMP/100ml, estes foram substituídos pelo número decimal imediatamente inferior e superior, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio bacteriológico águas salinas

As contagens de coliformes a 35°C nas águas salinas variaram de $< 1,8$ a $> 1,6 \times 10^3$ NMP/100 ml, nas diferentes regiões de cultivo, sendo que nas regiões E, D e F foram

observadas as maiores contagens, respectivamente, tanto em relação à média geométrica, quanto ao percentil 90. Foram encontradas diferenças estatísticas significativas nas contagens estimativas nas diferentes regiões, como mostra a tabela 1.

Embora o monitoramento de coliformes a 35°C não esteja contemplado na legislação brasileira em vigor, Resolução CONAMA 357/2005¹³, se avaliássemos as regiões de cultivo em estudo, com base no National Shellfish Sanitation Program (NSSP) do FDA/US¹⁴, onde a média geométrica de coliformes a 35°C de 15 amostras coletadas no mesmo ponto não deverá ultrapassar $7,0 \times 10$ NMP/100ml, com não mais de 10% das amostras excedendo a $2,3 \times 10^2$ NMP/100ml, teríamos todas as regiões deste estudo, aprovadas para o cultivo de moluscos bivalves.

Correlacionando as contagens de coliformes a 35°C com temperatura, salinidade, turbidez e pH, observamos que a temperatura e o pH não apresentaram correlação estatística com a contagem de coliformes a 35°C, enquanto a salinidade apresentou uma fraca correlação negativa (Spearman $R = -0,22$; $p = 0,036$), e a turbidez uma fraca correlação positiva (Spearman $R = 0,34$; $p = 0,001$).

Através da análise de regressão linear, foi possível observar que a contagem média de coliformes a 35°C nas águas, considerando a Baía Sul como um todo, foi influenciada, tanto pelo acumulado pluviométrico mensal ($\beta = 0,678$; $p < 0,05$), quanto pelo acumulado pluviométrico da semana anterior a coleta ($\beta = 0,612$; $p < 0,05$).

As contagens de coliformes a 45°C nas águas das diferentes regiões da Baía Sul oscilaram entre $< 1,8$ e $9,2 \times 10^2$ NMP/100 ml, sendo que as regiões E, D e F, assim como nas contagens de coliformes a 35°C, apresentaram as maiores médias geométricas de contaminação, e os maiores percentis 90, respectivamente (Tabela 1), embora todas as regiões tenham apresentado médias de contagens de coliformes a 45°C e percentis 90, abaixo dos limites máximos estabelecidos, atendendo a legislação em vigor no Brasil¹³, a qual estabelece que a média geométrica não deva exceder a $4,3 \times 10$ NMP/100mL, e o percentil 90% não deverá ultrapassar $8,8 \times 10$ NMP/100mL de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras. Estudo¹⁵ realizado na Costeira do Ribeirão, durante os anos de 2001 a 2006, encontraram médias geométricas de coliformes a 45°C bastante baixas, variando de 2,2 a 4,5 NMP/100mL e percentil 90% não ultrapassando $1,7 \times 10$ NMP/100mL. Em outro estudo¹⁶, monitorando a qualidade das águas em cultivos de moluscos no litoral de São Paulo, também foram encontradas contagens de coliformes a 45°C mais baixas que no presente estudo, as quais oscilaram entre $< 3,0$ e $4,6 \times 10^2$ NMP/100 ml.

Tabela 1. Contagens de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* nas águas salinas durante as 15 coletas nas diferentes regiões de cultivo da Baía Sul

REGIÃO CULTIVO	COLIFORMES A 35°C		COLIFORMES A 45°C		<i>Escherichia coli</i>	
	Média Geométrica (NMP/100 ml)*	Percentil 90 (NMP/100 ml)*	Média Geométrica (NMP/100 ml)*	Percentil 90 (NMP/100 ml)*	Média Geométrica (NMP/100 ml)*	Percentil 90 (NMP/100 ml)*
A	2,4 ^a	4,5	2,2 ^a	4,5	1,8 ^a	2,0
B	3,3 ^{ab}	17,0	2,9 ^{ab}	13,0 ^a	2,6 ^a	7,8
C	2,9 ^a	11,0	2,4 ^a	6,8	2,4 ^a	4,5
D	12,5 ^{bc}	130,0	5,3 ^{ab}	49,0	3,4 ^a	49,0
E	31,5 ^c	220,0	9,4 ^b	79,0	5,4 ^a	33,0
F	11,2 ^{abc}	130,0	3,5 ^{ab}	17,0	3,0 ^a	6,8

Nota: *NMP/100 ml = Número mais provável em 100 ml

Médias que não possuem letras em comum entre si na mesma coluna, apresentaram diferença estatística ao nível de 5% ($p < 0,05$)

Foi observada uma diferença estatística entre no nível de contaminação da região mais contaminada, região E, e regiões menos contaminadas, região A e C, a um nível de significância de 5%. É possível que a região E apresente contagens superiores tanto de coliformes a 35°C como a 45°C, por se encontrar em uma região geográfica que não permite uma circulação eficiente das águas onde os moluscos são cultivados, dificultando, caso estejam ocorrendo despejos de esgoto doméstico e outros dejetos, que estes se diluam rapidamente.

No mês de novembro de 2006 foram registradas as maiores contagens, tanto de coliformes a 35°C, quanto de coliformes a 45°C, sendo que neste mês foi registrado o maior acumulado pluviométrico mensal, totalizando 246 mm³, destes 101,3 mm³ registrados na semana anterior a coleta. Na análise de regressão linear, a média das contagens de coliformes a 45°C nas águas, considerando a Baía Sul como um todo, foi influenciada tanto pelo acumulado pluviométrico mensal ($\beta = 0,714$; $p < 0,05$), quanto pelo acumulado pluviométrico na semana anterior a coleta ($\beta = 0,657$; $p < 0,05$), conforme pode ser observado na Figura 2.

Correlacionando as contagens de coliformes a 45°C com temperatura, salinidade, turbidez e pH, observou-se que a salinidade e o pH não apresentaram correlação estatística com as contagens de coliformes a 45°C, enquanto a temperatura (Spearman $r = 0,20$; $p < 0,05$) e a turbidez (Spearman $r = 0,26$; $p < 0,05$) apresentaram uma fraca correlação positiva.

As contagens de *Escherichia coli* nas amostras de água de cultivo variaram entre $< 1,8$ e $7,9 \times 10$ NMP/100 ml, sendo que não houve diferença estatística entre as contagens nas diferentes regiões de estudo ($H=10,74573$;

$p > 0,05$). As regiões E, D e F apresentaram as maiores médias geométricas de *E. coli*, assim como foi observado para coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, e os maiores percentis 90 foram observados nas regiões D e E (tabela 1). Miotto, (2009)¹⁷, monitorando os mesmos pontos de coleta deste estudo, entre os anos de 2008 e 2009, obteve contagens de *E. coli* nas águas marinhas que variaram entre $< 1,8$ a $2,2 \times 10^2$ NMP/100mL, encontrando uma diferença estatística significativa entre as regiões com as maiores (E) e menores contagens (A), provavelmente devido a este ter sido um período atípico, com chuvas bem acima da média, aumentando, assim, a contaminação nas águas da Baía Sul.

Foram encontradas correlações positivas, tanto entre contagens de coliformes a 35°C e *E. coli* (Spearman $R = 0,66$; $p < 0,001$), como entre contagens de coliformes a 45°C e *E. coli* (Spearman $R = 0,86$; $p < 0,001$), o que já era esperado, visto que *E. coli* é principal bactéria do grupo dos coliformes a 45°C. Não foram observadas correlações estatísticas entre as contagens de *Escherichia coli* e temperatura, salinidade e pH das águas onde os moluscos são cultivados, apenas a turbidez apresentou uma fraca correlação positiva (Spearman $R = 0,28$; $p < 0,05$).

Ensaio bacteriológico ostras

As contagens de coliformes a 35°C nas amostras de ostras variaram de $< 3,0$ a $2,5 \times 10^2$ NMP/g, sendo que as ostras provenientes das regiões E, D e F apresentaram as maiores médias geométricas de contaminação (Tabela 2), respectivamente, assim como foi observado nas águas onde os moluscos são cultivados.

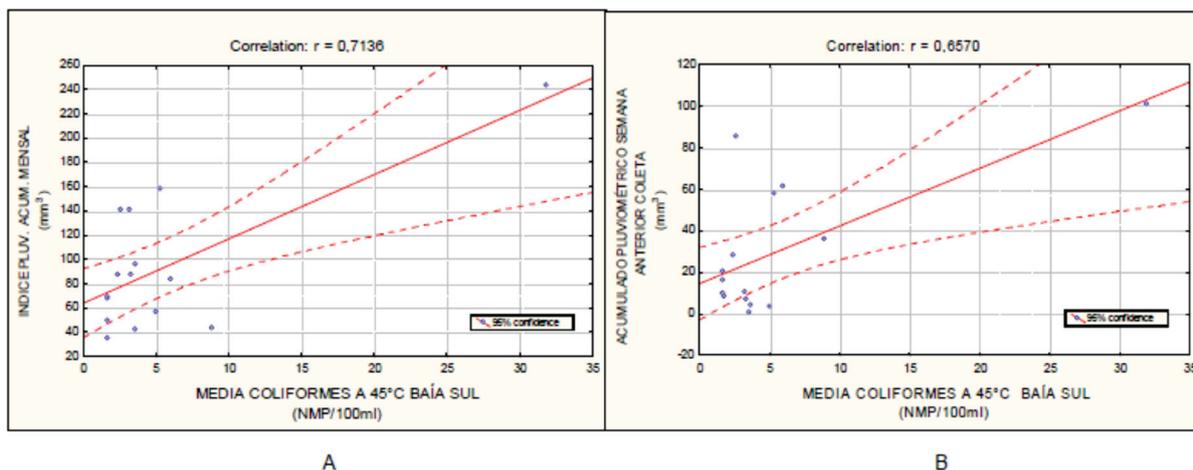


Figura 2. Correlação bivariada entre contagens de coliformes a 45°C nas águas da Baía Sul e: acumulado pluviométrico mensal na região da grande Florianópolis (A); acumulado pluviométrico na semana anterior a coleta na região da grande Florianópolis (B)

Outro estudo¹⁸, avaliando ostras *Crassostrea gigas* provenientes de três regiões de cultivo de Florianópolis, Santa Catarina, foram obtidas contagens entre $< 3,0$ e $> 1,1 \times 10^3$ NMP/g, no entanto, considerando apenas a região do Ribeirão da Ilha, mesma região deste estudo, as contagens foram mais baixas, oscilando entre $< 3,0$ e $1,5 \times 10^2$ NMP/g, valores estes, semelhantes aos encontrados neste estudo. Enquanto em estudo avaliando ostras *Crassostrea gigas* cultivadas no Alasca¹⁹, foi observada uma menor amplitude de contaminação, com contagens de coliformes a 35°C entre $< 3,0$ e $3,0 \times 10$ NMP/g.

Segundo Galvão²⁰, embora a atual legislação vigente no Brasil, RDC 12/2001 – ANVISA²¹ não apresente padrão de coliformes a 35°C para este tipo de alimento, a pesquisa deste grupo permite que se tenham dados sobre a qualidade higiênico-sanitária destes, visto que a contagem de coliformes totais corresponde ao total dos microrganismos Gram-negativos, fermentadores de lactose, da família *Enterobacteriaceae* encontrados em uma amostra.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre as médias de contaminação das ostras provenientes das diferentes regiões de estudo, embora as maiores médias de contaminação tenham sido observadas nas regiões E, D e F (tabela 2). Isto também pode ser observado em relação ao percentil 90.

Foi observada uma correlação positiva entre as contagens de coliformes a 35°C nas águas onde os moluscos são cultivados e nas ostras (Spearman $r = 0,51$; $p < 0,05$), o que ressalta a importância do monitoramento da qualidade das águas onde são cultivados os moluscos bivalves.

Não foi observada correlação estatística entre contagens de coliformes a 35°C nas ostras e parâmetros

físico-químicos de temperatura (Spearman $r = -0,01$; $p > 0,05$), salinidade (Spearman $r = -0,06$; $p > 0,05$) e turbidez (Spearman $r = 0,06$; $p > 0,05$).

As contagens de coliformes a 45°C nas ostras variaram de $< 3,0$ a $8,0 \times 10$ NMP/g, sendo que 77% das amostras apresentaram contagens de $< 3,0$ NMP/g. A maior contagem foi observada no mês de dezembro, na região B, no entanto, a região E apresentou a maior média geométrica de coliformes a 45°C em relação às outras regiões (Tabela 2).

Estudo monitorando a qualidade de mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral de São Paulo²⁰, encontrou contagens de coliformes a 45°C que variaram de $3,2$ a $3,3 \times 10^2$ NMP/g, valores estes superiores aos encontrados neste estudo. Em outro estudo¹⁸, considerando apenas a área de cultivo do Ribeirão da Ilha, mesma região deste estudo, foram observados níveis de contaminação em ostras *Crassostrea gigas* muito semelhantes aos obtidos neste estudo, com contagens que oscilaram entre $< 3,0$ e $9,3 \times 10$ NMP/g, sendo que 73% das amostras apresentaram contagens $< 3,0$ NMP/g.

Não foram observadas diferenças estatísticas nas médias de contaminação das diferentes regiões de cultivo da Baía Sul, como pode ser observado na Tabela 2. Assim como a maior média geométrica, a região E apresentou o maior percentil 90.

Foi observada uma correlação estatística positiva entre as contagens de coliformes a 45°C na água de cultivo e nas ostras (Spearman $r = 0,53$; $p < 0,001$). No entanto, nas coletas em que foram obtidas as maiores contagens de coliformes a 45°C nas ostras, as águas salinas apresentaram contagens inferiores às observadas na carne dos moluscos. A alimentação por filtração

Tabela 2. Contagens de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em ostras durante as 15 coletas nas diferentes regiões de cultivo da Baía Sul

REGIÃO CULTIVO	COLIFORMES A 35°C		COLIFORMES A 45°C		<i>Escherichia coli</i>	
	Média Geométrica (NMP/g)*	Percentil 90 (NMP/g)*	Média Geométrica (NMP/g)*	Percentil 90 (NMP/g)*	Média Geométrica (NMP/g)*	Percentil 90 (NMP/g)*
A	2,1 ^a	2,5	2,1 ^a	2,5	2,0 ^{**}	< 3,0
B	3,1 ^a	5,5	2,7 ^a	4,0	2,2 ^a	4,0
C	2,4 ^a	6,5	2,1 ^a	3,0	2,1 ^a	< 3,0
D	4,2 ^a	9,5	2,6 ^a	6,0	2,4 ^a	5,5
E	6,3 ^a	48,5	4,3 ^a	23,5	2,6 ^a	6,5
F	3,8 ^a	16,0	2,7 ^a	6,5	2,4 ^a	< 3,0

Nota: *NMP/g = Número mais provável por grama; **Não foi isolada nenhuma cepa de *E. coli*
Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não apresentam diferença estatística a um nível de 5% ($p > 0,05$)

efetuada pelas ostras concentra os coliformes presentes no ambiente marinho. Um fator que pode explicar este fato é que os patógenos e indicadores bacterianos podem sobreviver mais tempo em bivalves do que em água do mar, além disso, nos bivalves eles podem se reproduzir²².

Não foram observadas correlações estatísticas entre parâmetros físico-químicos e contagens de coliformes a 45°C nas ostras, como temperatura (Spearman $r = 0,12$; $p > 0,05$), salinidade (Spearman $r = -0,02$; $p > 0,05$) e turbidez (Spearman $r = -0,01$; $p > 0,05$). Em estudo²³, avaliando ostras e águas oriundas do estuário do Rio Cocó, no estado do Ceará, Brasil, também não foram encontradas correlações estatísticas significativas entre parâmetros físico-químicos (temperatura, salinidade e pH) e concentrações de coliformes totais (35°C) e coliformes fecais (45°C) em amostras de ostras. Segundo a análise de regressão linear múltipla, o acumulado pluviométrico mensal apresentou uma influência significativa ($\beta = 0,537$; $p < 0,05$) nas contagens de coliformes a 45°C nas ostras.

Visto que a bactéria *E. coli* é melhor indicador de contaminação fecal que os outros gêneros e espécies do grupo dos coliformes, é desejável a determinação de sua incidência em uma população de coliformes²⁴. As contagens de *E. coli* obtidas nas ostras provenientes das seis diferentes regiões foram baixas, variando entre < 3,0 e 2,6 x 10 NMP/g, sendo que 86% (77/90) das contagens tiveram como resultado < 3,0 NMP/g. Em estudo realizado no Alasca¹⁹ monitorando a qualidade de ostras *Crassostrea gigas* cultivadas naquela região dos EUA, a

contagem de *E. coli* nas ostras oscilou entre < 3,0 e 2,3 x 10 NMP/g, resultados muito semelhantes aos obtidos no presente estudo.

A maior contagem de *E. coli* nas ostras foi observada no mês de novembro, na região F, mesmo mês em que foram observados os maiores níveis de contaminação nas águas dos cultivos, e registrado o maior acumulado pluviométrico, tanto mensal como na semana anterior à coleta. A região que apresentou a maior média geométrica de *E. coli* nos moluscos, assim como para coliformes a 35°C e coliformes a 45°C, foi a região E, seguida da região D e F, enquanto na região A, todas contagens obtiveram como resultado < 3,0 NMP/g. Não foi observada diferença estatística entre as médias de contaminação por *E. coli* nas ostras provenientes das diferentes regiões de estudo (tabela 2). Assim como as médias geométricas, os maiores percentis 90 foram observados nas regiões E e D.

Foi observada uma correlação estatística positiva entre as contagens de *E. coli* nas águas e nas ostras provenientes das diferentes regiões de cultivo (Spearman $r = 0,41$; $p < 0,05$).

Em relação aos parâmetros físico-químicos não foi observada correlação estatística entre contagens de *E. coli* nas ostras e temperatura da água de cultivo (Spearman $r = -0,05$; $p > 0,05$), turbidez (Spearman $r = 0,10$; $p > 0,05$), no entanto foi observada uma fraca correlação negativa com o parâmetro salinidade (Spearman $r = -0,25$; $p < 0,05$), diferente do que foi observado nas águas onde os moluscos são cultivados, onde a salinidade não apresentou correlação com *E. coli*. Através da análise de regressão linear múltipla,

analisando a influência da chuva na contaminação por *E. coli* em ostras da Baía Sul, foi observada uma influência significativa, tanto do acumulado pluviométrico mensal ($\beta = 0,63$; $p < 0,05$), como do acumulado pluviométrico na semana anterior a coleta ($\beta = 0,62$; $p < 0,05$).

pH das ostras

A diminuição do pH da carne de ostras está diretamente relacionado ao processo de deterioração destes moluscos. Segundo Cook²⁵, um pH acima de 6,0 para carne das ostras é considerado adequado, e para ostras do Pacífico (*Crassostrea gigas*) vivas têm sido observado um pH de 6,5. Os valores de pH observados nas ostras deste estudo variaram entre 5,7 e 6,6, sendo o pH médio observado de 6,1. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA²⁶ não estabelece limites de pH para moluscos, apenas para peixes. Galvão²⁷ ressalta a necessidade de estudos específicos quanto aos limites de pH para moluscos bivalves, visto que estes apresentam composição centesimal diversificada quando comparada a outras espécies de pescado, apresentando um outro padrão de decomposição e alteração do pH.

Monitorando a qualidade de ostras (*Crassostrea gigas*) cultivadas no Alasca¹⁹, nos Estados Unidos, durante o período de um ano, foram observados valores de pH entre 6,6 e 6,9, apresentando uma alteração menor que 0,4, durante todo o ano, enquanto no presente estudo encontramos diferenças de até 0,9 ao longo do ano. Não foram observadas diferenças estatísticas, a um nível de significância de 5%, entre as médias de pH das ostras nas diferentes regiões de cultivo.

pH das águas salinas

A amplitude de pH observada nas águas da Baía Sul foi de 7,9 a 8,3, estando estes valores em acordo com os valores estabelecidos na legislação vigente, Resolução CONAMA 357/2005, para águas salinas de classe I, as quais devem ter um pH entre 6,5 - 8,5 não devendo ultrapassar 0,2 unidades¹³.

O pH médio nas águas da Baía Sul durante o período de monitoramento foi de 8,1, estando de acordo com os resultados encontrados em outro estudo³, que encontraram um pH em torno de 8,0 nas três regiões de estudo, sendo uma delas localizada nesta mesma baía. Não foi observada diferença estatística significativa entre as médias de pH nas seis diferentes regiões ($p > 0,05$).

Em outro estudo²⁸ que avaliou parâmetros físico-químicos em cinco diferentes regiões de cultivo

de moluscos da Grande Florianópolis (Sambaqui, Santo Antônio, Ribeirão da Ilha, Enseada e Pinheira), também foi encontrado um pH médio de 8,1 nas águas. Enquanto estudo avaliando águas de cultivos de ostras em Laguna Madre, no México²⁹, encontraram um pH constante e ligeiramente básico, em torno de 8,1 em todo estudo, mesma média obtida neste estudo.

CONCLUSÃO

As águas salinas destinadas ao cultivo de ostras (*Crassostrea gigas*), nas diferentes regiões da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, apresentaram contagens bacteriológicas de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Escherichia coli* pertinentes a águas destinadas ao cultivo de moluscos bivalves, ou seja, atendendo a legislação brasileira, estando, portanto, todas as regiões aptas, durante o período de estudo, para o desenvolvimento desta atividade.

A qualidade bacteriológica das ostras (*Crassostrea gigas*) refletiu a qualidade das águas, enfatizando a importância de um programa de monitoramento contínuo da qualidade bacteriológica das águas e moluscos cultivados. Cabe salientar que os indicadores higiênico-sanitários monitorados neste estudo, apresentam uma relação direta com bactérias patogênicas de origem fecal, no entanto, tratando-se de moluscos bivalves, deve-se considerar também o controle de algumas espécies de vibrios patogênicos, que podem estar naturalmente presentes em ambientes marinhos, sem que apresentem nenhuma relação com contaminação de origem fecal.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq SECIS/MCT, CT-Agro e CT-Hidro, pelo financiamento do Projeto: “Monitoramento higiênico-sanitário das águas de cultivo e de moluscos marinhos produzidos na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina” e pela concessão da bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

1. Valle RP, Proença CEM. Evolução e perspectivas da aqüicultura no Brasil. In: Valenti WC, Poli CR, Pereira JA, Borghetti JR editores. Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. c. 13. p. 383-98. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000.

2. Coelho C, Heinert AP, Simões CMO, Barardi CRM. Hepatitis A virus detection in oysters (*Crassostrea gigas*) in Santa Catarina State, Brazil, by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Food Prot*. 2003; 66(3): 507-11.
3. Souza Filho J. Custo de produção da ostra cultivada. Florianópolis: Instituto Cepa/SC. Cadernos de indicadores agrícolas, 2003: 23 p.
4. Oliveira Neto FM. Síntese informativa da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) no estado de Santa Catarina em 2006 – Epagri/Cedap. Florianópolis, 2007. [online] disponível na internet via <http://www.epagri.rct-sc.br/> Acesso em 05/05/2007.
5. Curtius AJ, Seibert EL, Fiedler HD, Ferreira FF, Vieira PHF. Avaliando a contaminação por elementos traço em atividades de maricultura: Resultados parciais de um estudo de caso realizado na Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Quím Nova*. 2003; 26: 44-52.
6. Rupp GS. Introdução à biologia das ostras. In: Ferreira, J.F. Cultivo de ostras. Laboratório de cultivo de moluscos marinhos. 1999. 64p.
7. Corrêa AA, Albarnaz JD, Moresco V, Poli CR, Teixeira AL, Simões CMO, Barardi CRM. Depuration dynamics of oysters (*Crassostrea gigas*) artificially contaminated by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Mar Environ Res*. 2007; 63: 479-89.
8. Pitta MS. Tendência actual del estreptococo como indicador de contaminação fecal. *Rev Cuba Hig Epidemiol*. 2002; 40(1): 38-43.
9. Huss HH, Reilly A, Embarek PKB. Prevention and control of hazards in seafood. *Food Control*. 2000; 11:149-56.
10. American Public Health Association (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington. 2001;1219p.
11. American Public Health Association (APHA). Microbiological Examination. In: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF; 2005. 1336p.
12. Campos H. Estatística Experimental Não paramétrica. 4a ed. Piracicaba: ESALQ-USP; 1983. 349 p.
13. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, 18 mar. 2005.
14. United States. Food and Drug Administration. Center of Food Safety & Applied Nutrition (US FDA/CFSAN). National shellfish sanitation program model ordinance. 2005; 4. Available from: www.cfsan.fda.gov/~ear/nss3-toc.html.
15. Silveira Jr N, Almeida MCC, Brognoli FF, Couto FR, Fischer CE. Classificação de águas de cultivo de moluscos marinhos quanto a coliformes termotolerantes a 45°C na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina. XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar, Florianópolis, 2007.
16. Furlan EF. Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. [dissertação de mestrado]. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz” - Universidade de São Paulo. 2004. 106 pp.
17. Miotto LA. Coliformes termotolerantes e *Enterococcus* sp em ostras e águas salinas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina – Brasil. [dissertação de mestrado]. Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina 2009. 106 pp.
18. Pereira MA, Nunes MM, Nuernberg L, Schulz D, Batista CRV. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianopolis-Brazil, Braz *J Microbiol*. 2006; 37(2):159-63.
19. Oliveira ACM et al. Quality of Alaskan mariculture oysters (*Crassostrea gigas*): a one-year survey. *J Food Sci*. 2006; 71(9): 532-43.
20. Galvão JA. Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba. [dissertação de mestrado]. São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz” - Universidade de São Paulo. 2004. 109 pp.
21. Brasil. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 jan. 2001.
22. Solic M, Krstulovic N, Jozic S, Curac D. The rate of concentration of termotolerant coliforms in shellfish under different environmental conditions. *Environ Int*. 1999; 25(8): 991-1000.
23. Silva AIM, Vieira RHSE, Menezes FGR, Fonteles-Filho AA, Torres RCO, Sant’Anna ES. Bactérias de origem fecal contaminantes de ostra *Crassostrea rhizophorae*, oriundas do estuário do Rio Cocó, Estado do Ceará, Brasil. *Braz J Microbiol*. 2003; 35(1-2): 126-30.
24. Jay JM. Microbiologia de Alimentos. 6º Ed.. Porto Alegre: Ed. Artmed. 2005. 711p.
25. Cook, DW. Microbiology of bivalves molluscan shellfish. In: Ward, D.R.; Hackney, C.(ed). Microbiology of marine food products. New York: Van Nostrand Reinhold, USA, 1991, p19-34.
26. Brasil. Ministério da Agricultura. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal RIISPOA. Brasília, DF, 1980. 165 p.
27. Galvão JA, Furlan EF, Salán EO, Porto E, Oetterer M. Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) da água e dos mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP. *Ciênc Agrotec*. 2006; 30(6): 1124-9.
28. Ferreira JF, Besen K, Wormsbecher AG, Santos RF. Physical-chemical parameters of seawater mollusc culture sites in Santa Catarina-Brazil. *J Coast Res*. 2004; 39(1): 1122-6.
29. Téllez SJ, Oliva M, Ramírez de Leon JA, Vázquez M. Evaluación de la calidad microbiológica del ostión de “La laguna madre” de Tamaulipas (México). *Cienc Tecnol Aliment*. 1999; 2(3): 152-7.