



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA AQUÁTICA E PESCA

DANIELA MAYUMI KIYATAKE

AVALIAÇÃO SANITÁRIA DE ÁGUA DE CULTIVO E DE OSTRAS DA ZONA  
DO SALGADO, NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ- BRASIL

BELÉM

2011

DANIELA MAYUMI KIYATAKE

AVALIAÇÃO SANITÁRIA DE ÁGUA DE CULTIVO E DE OSTRAS DA ZONA DO SALGADO, NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ- BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ecologia Aquática e Pesca.

Orientador (a): Prof. Dr. Rosildo Santos Paiva.

Co-orientadora: Prof. Dra. Karla Tereza Silva Ribeiro.

BELÉM

2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFPA

---

Kiyatake, Daniela Mayumi, 1984-

Avaliação sanitária de água de cultivo e de ostras da zona do salgado, nordeste do estado do Pará- Brasil / Daniela Mayumi Kiyatake. - 2011.

Orientador : Rosildo Santos Paiva;  
Coorientadora: Karla Tereza Silva Ribeiro.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca, Belém, 2011.

1. Ostra Criação Pará. 2. Água Qualidade Avaliação. 3. Ostra Criação Efeito da qualidade da água. I. Título.

CDD 22. ed. 639.41098115

---

DANIELA MAYUMI KIYATAKE

AVALIAÇÃO SANITÁRIA DE ÁGUA DE CULTIVO E DE OSTRAS DA ZONA DO SALGADO, NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ- BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia Aquática e Pesca da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre. Aprovada pela banca examinadora:

---

Prof. Dr. Rosildo Santos Paiva- UFPA

Orientador

---

Prof. Dra. Karla T. Silva Ribeiro- UFPA

Co-Orientadora

**Banca Examinadora**

---

Prof. Dra. Hedda Elisabeth Kolm- Membro Titular  
Universidade Federal do Paraná (CEM-UFPR, Paraná)

---

Prof. Dr. Eduardo Tavares Paes- Membro Titular  
Universidade Federal Rural do Pará (ISARH-UFRA, Belém)

---

Prof. Dra. Rossineide Martins da Rocha- Membro Titular  
Universidade Federal do Pará (ICB-UFPA, Belém)

BELÉM

2011

Dedico aos meus pais Augusto e Satiko e ao meu irmão Adriano, que deram apoio incondicional para que eu pudesse me dedicar a esse trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais e ao meu irmão por tudo.

Agradeço à Professora Karla Ribeiro, que me acompanha desde a graduação e sempre teve paciência incondicional, sem contar o carinho e o interesse em saber se estava tudo bem. Sou grata por todo o conhecimento adquirido no laboratório, pelos conselhos nos momentos de preocupação, pelas oportunidades, sem dúvida é parte fundamental na minha formação acadêmica.

Ao Professor Rosildo pela oportunidade e por sempre estar disposto a tirar as dúvidas; pelo esforço em resolver os problemas que surgiram ao longo de algumas coletas; por participar dessa importante etapa da minha vida.

Aos amigos do laboratório de Microbiologia Cira, Raquel, Rodrigo e Alison.

À Fabricia, Maria e Átila que fizeram parte do grupo de coletas.

A todos os colaboradores das comunidades que nos ajudaram tanto durante as coletas.

Ao Programa de Ecologia Aquática e Pesca e a todo o corpo discente.

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O cultivo de espécies de ostras do gênero *Crassostrea* está em expansão no nordeste do estado do Pará, Brasil. Este estudo analisa a qualidade sanitária das ostras e da água em que são cultivadas nos municípios de São Caetano de Odivelas e Curuçá. As coletas foram realizadas mensalmente entre junho de 2009 e maio de 2010. As amostras de águas foram coletadas nas marés enchente e vazante, e cerca de 15 ostras foram obtidos a cada mês durante a maré vazante. Concentrações de coliformes foram determinadas usando a Técnica de Fermentação de Tubos Múltiplos, seguida pela identificação bioquímica das bactérias e determinação do perfil de suscetibilidade de *Escherichia coli* isoladas a partir de amostras de águas e ostras. A média geométrica das concentrações de coliformes termotolerantes na água foi de 119 mL MPN/100 em São Caetano de Odivelas e 163,21 MPN/100 mL em Curuçá, valores bem acima do limite de 43 mL MPN/100 estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente Brasileiro (CONAMA). Como a legislação brasileira relacionada à qualidade sanitária dos moluscos bivalves destina-se apenas ao produto processado, foi adotada a legislação da União Europeia, que classifica as ostras para o consumo cru em três classes sanitárias. Em São Caetano de Odivelas, apenas duas das amostras coletadas durante este estudo foram atribuídas para a classe A, sete amostras para a classe B e três amostras para a classe C. Enquanto em Curuçá três amostras foram atribuídas à classe A, sete amostras para a classe C e duas amostras para a classe C. Os resultados sugerem a necessidade de medidas mitigatórias para garantir a qualidade sanitária das ostras, tais como a aplicação de métodos de depuração.

Palavras-chave: Ostras, Qualidade da Água, São Caetano de Odivelas, Curuçá

## ABSTRACT

The cultivation of oyster species of the genus *Crassostrea* is expanding in the northeast of the Brazilian state of Pará. This study analyzes the sanitary quality of the oysters and the water in which they are cultivated in the local municipality of São Caetano de Odivelas and Curuçá. Samples were collected monthly between June, 2009, and May, 2010. Water samples were collected from the flood and the ebb tides, and approximately 15 oysters were obtained each month. Coliform concentrations were determined using the multiple-tube fermentation technique, followed by the biochemical identification of the bacteria and determination the susceptibility profile of *Escherichia coli* isolated from oysters and water samples. The geometric mean concentration of thermotolerant coliforms in the water was 119 MPN/100 mL in São Caetano de Odivelas and 163,21 MPN/100 mL in Curuçá, well above the limit of 43 MPN/100 mL established by the Brazilian National Environment Council (CONAMA). As Brazilian legislation on the sanitary quality of bivalve mollusks covers only the processed product, the European Union legislation, which assigns oysters for raw consumption to three sanitary classes, was adopted for the evaluation of the results of the present study. In São Caetano de Odivelas only two of the samples collected during this study were assigned to class A, seven samples to class B and three samples to class C. While in Curuçá three samples were assigned to class A, seven samples to class C and two samples to class C. The results suggest the need for mitigation measures to ensure the health quality of the oysters, such as the application of methods of depuration.

Key words: Oysters, Water Quality, São Caetano de Odivelas, Curuçá.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Travesseiros sobre as mesas de cultivo em Lauro Sodré, município de Curuçá-Pará. Foto: Maria P.S.P Villena, 2010.....	23
<b>Figura 2:</b> Coletor de semente feito de garrafa pet utilizado no cultivo de ostras em Pererú de Fátima, município de São Caetano de Odivelas-Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake.....	23
Figura 3: Mapa de localização das áreas de estudos na comunidade Lauro Sodré, Município de Curuçá e comunidade Pererú de Fátima, Município de São Caetano de Odivelas, Pará. ....	31
Figura 4: Área de cultivo em Lauro Sodré, Município de Curuçá, Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake.....	32
Figura 5: Área de cultivo em Pererú de Fátima, Município de São Caetano de Odivelas, Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake. ....	33
Figura 6: Coleta de água superficial. Foto: Paulo M. O. Lins.....	34
Figura 7: Pré-tratamento das amostras de ostras: lavagem e abertura. Foto: Daniela. M. Kiyatake.....	35
Figura 8: Homogeneização de solução contendo amostra de ostra (A) e inoculação da amostra em Caldo Lauril Sulfato Triptose (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.....	36
Figura 9: vasilhame utilizado para a coleta de água (A) e meio de cultura Caldo Lactosado (B). Foto: Daniela M. Kiyatake. ....	37
Figura 10: Meios de cultura CLVBB (A) e Caldo EC (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.....	38
Figura 11: Meio de cultura TSI (A) e testes de identificação bioquímica (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.....	39

Figura 12: Discos embebidos com antibióticos (A), isolados de <i>E. coli</i> em Ágar TSA (B), água de diluição (C), escala McFarland (D), placas de petri com Ágar Mueller-Hinyon (E e F). Foto: Daniela M. Kiyatake.....	40
Figura 13: Valores de temperatura obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em um cultivo de ostras localizado em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	42
Figura 14: valores de temperatura obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em cultivo de ostras localizado em Lauro Sodré, Curuçá, Pará. ....	42
Figura 15: Valores de pH obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.....	43
Figura 16: valores de pH obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.....	44
Figura 17: Valores de salinidade obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.....	45
Figura 18: Valores de salinidade obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.....	45
Figura 19: valores de OD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.....	47
Figura 20: valores de OD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.....	47
Figura 21: valores de STD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.....	48
Figura 22: Valores de STD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.....	49

Figura 23: Dados de precipitação obtidos 1 dia anterior a coleta e volume total de 6 dias anteriores a coleta em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	50
Figura 24: Dados de precipitação obtidos 1 dia anterior a coleta e volume total de 6 dias anteriores a coleta em Lauro Sodré, Curu�a, Pará. ....	51
Figura 25: Concentra�o de coliformes totais de amostras de água, coletadas em Perer� de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	52
Figura 26: Concentra�o de coliformes termotolerantes de amostras de água coletadas em Perer� de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	52
Figura 27: Concentra�o de coliformes totais de amostras de água coletadas em Lauro Sodré, Curu�a, Pará. ....	53
Figura 28: Concentra�o de coliformes termotolerantes de amostras de água coletadas em Lauro Sodré, Curu�a, Pará. ....	53
Figura 29: Concentra�o de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas em Perer� de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. .	60
Figura 30: Concentra�o de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas em Lauro Sodré, Curu�a, Pará. ....	60
Figura 31: Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados de <i>E. coli</i> presentes nas amostras de águas obtidas em Perer� de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	64
Figura 32: Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos de <i>E. coli</i> presentes nas amostras de ostras obtidas em Perer� de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará. ....	65
Figura 33: Perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos de <i>E. coli</i> presentes nas água de cultivo em Lauro Sodré, Curu�a, Pará. ....	65

Figura 34: Perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de <i>E. coli</i> presentes nas amostras de ostras obtidas em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.....	66
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em São Caetano de Odivelas: precipitação x parâmetros físico-químicos. ....	55
Tabela 2: Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá: precipitação x parâmetros físico-químicos. ....	55
Tabela 3: Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em São Caetano de Odivelas: coliformes x parâmetros físico-químicos. ....	57
Tabela 4: Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá: coliformes x parâmetros físico-químicos. ....	57
Tabela 5: Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá e São Caetano de Odivelas: coliformes presentes em ostras x parâmetros físico-químicos. ....	62

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Aquicultura no Brasil e no Estado do Pará.....	19
1.2 Importância da Qualidade Microbiológica das Ostras .....	24
2 OBJETIVOS .....	29
2.1 Geral .....	29
2.2 Específicos.....	29
3. METODOLOGIA.....	30
3.1 Áreas de Estudos.....	30
3.2 Metodologia de Coleta .....	33
3.2.1 Coleta de água e ostras para análises microbiológicas .....	33
3.2.2 Parâmetros Físico-Químicos.....	34
3.2.3 Dados de Precipitação .....	35
3.3 Análise das Amostras .....	35
3.4 Análise Microbiológica das Amostras.....	35
3.4.1. Determinação da Concentração de Coliformes Através da Técnica dos Tubos Múltiplos.....	35
3.6.3 Análise Estatística dos Dados.....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 Parâmetros físico-químicos.....	41
4.1.1 Temperatura.....	41

4.1.2 pH .....	43
4.1.3 Salinidade .....	44
4.1.4 Oxigênio Dissolvido (OD).....	46
4.1.5 Sólidos Totais Dissolvidos (STD).....	48
4.1.6 Precipitação .....	50
4.2 Concentração de coliformes em água de cultivo.....	51
4.3 Resultados Estatísticos.....	54
4.3.1 Teste de Correlação de Spearman entre os Valores de Precipitação e os Parâmetros Físico-Químicos.....	54
4.3.2 Teste de Correlação de Spearman entre Coliformes e Parâmetros Físico-Químicos.....	56
4.3.3 Teste de Mann-whitney .....	59
4.4 Concentração de Coliformes em Ostras de Cultivo. ....	59
4.4.1 Resultados Estatísticos das Análises em Ostras. ....	62
4.5 Comparação Entre Concentração de Coliformes Presentes em Água e Ostras. ....	63
4.6 Perfil de suscetibilidade de <i>Escherichia coli</i> presentes em água e ostras de cultivo.....	63
5 CONCLUSÕES GERAIS.....	67
6 REFERÊNCIAS.....	69

## 1. INTRODUÇÃO

As regiões costeiras caracterizam-se por uma grande complexidade biológica e humana, pois são formadas por mais de um ecossistema, como estuários e manguezais, e uma diversidade de usos humano (DIEGUES e ROSMAN, 1998).

Em termos ecológicos essas regiões caracterizam-se pela importância em servir como grandes berçários naturais e áreas de refúgios de espécies de peixes, moluscos e crustáceos (KJERFVE e LACERDA, 1997). Além de proporcionar suporte de alimentação para a maioria das espécies costeiras na fase juvenil (BRASIL, 2007).

Dessa forma, estimulam a produção primária e são biologicamente mais produtivos que os rios e o oceano adjacente, favorecendo o crescimento de florestas de manguezais (MIRANDA et al., 2002; MENDES et al., 2011).

Em relação ao uso desses ecossistemas pelo homem, a zona costeira oferece um conjunto de fatores favoráveis para a atividade pesqueira (BENFIELD et al, 2005; KATHIRESAN e BINGHAM, 2001). Portanto em áreas onde há presença de grandes extensões de regiões estuarinas, que formam baías (Paranaguá, Paraná), sacos (Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul), canais ou reentrâncias (Pará, Maranhão) com presença de manguezais e marismas, ocorrem concentrações de comunidades humanas, que praticam a pesca de camarões, ostras, caranguejos e peixes (ISAAC et al., 2006). Com o desenvolvimento da ocupação em regiões estuarinas e, conseqüentemente, com construções de represas, barragens e canais, as condições das bacias de drenagem dos rios foram consideravelmente alteradas, modificando também as características naturais dos ecossistemas costeiros. Dessa forma, sendo o estuário um receptáculo de poluentes gerados pela atividade antrópica, estes são transportados juntamente com as substâncias naturais, podendo afetar grande variedade da biota marinha, além da degradação da qualidade da água, colocando em risco a saúde das populações que utilizam esses recursos naturais (MIRANDA et al., 2002; TURECK e OLIVEIRA, 2003), e a sustentabilidade das atividades humanas nas regiões costeiras, pois estes dependem de um meio marinho saudável (ISAAC et al., 2006).



Como forma de reduzir essa grande pressão sobre as populações naturais costeiras, nos últimos 50 anos a aquicultura mundial vem crescendo de forma acelerada. No início da década de 1950 registrou-se uma produção menor que um milhão de toneladas, e em 2006 esse número aumentou para 51,7 milhões de toneladas, aumentando para 47 % a taxa de produção pesqueira. Nesse mesmo ano, a China atingiu 90 % da produção de peixe provenientes da aquicultura. O setor vem apresentando uma taxa de crescimento médio anual de 8,7 % (FAO, 2009).

Além de ser impulsionada pelo mercado a aquicultura também vem recebendo ações de muitos governos, para o desenvolvimento da atividade (FAO, 2009). No Brasil o financiamento a essa atividade dispõe de programas e linhas de créditos governamentais, instituídos tanto pela MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura) quanto por outros ministérios (DIEGUES, 2006).

Entre as atividades da aquicultura a malacocultura, produção de ostras, mexilhões e vieiras, representaram 27%, 14,1 milhões de toneladas da produção mundial, ocupando o segundo lugar em importância (FAO, 2009).

Grande parte desses moluscos é encontrada em manguezais, contribuindo com a ecologia desse ecossistema. São fortemente influenciados por fatores físicos e químicos do ambiente, o que os tornam bons indicadores da qualidade do meio em que habitam (KATHIRESAN e BINGHAM, 2001).

Os moluscos bivalves se alimentam, por meio de filtração branquial, principalmente de plâncton e outras matérias orgânicas em suspensão na água, convertendo a produção primária e de detritos em proteína animal. São capazes de reter no manto todos os contaminantes biológicos e químicos presentes no ecossistema marinho (PEREIRA et al., 2006; MENEZES et al., 2002).

As taxas de acumulação de bactérias entéricas nos tecidos dos moluscos bivalves variam conforme uma complexa interação de alguns fatores ecofisiológicos como: velocidade da correnteza, diferenças entre espécies e temperatura (SOLIC et al., 1999).

Além de acumular possíveis contaminantes, há um agravante, pois esses organismos são comumente consumidos crus, facilitando a transmissão de

organismos patogênicos, fato que aumenta o risco de doenças de origem alimentar, que podem ser causadas por bactéria, vírus ou parasita (KOLM e ABSHER, 2008; PEREIRA et al., 2006). Algumas doenças estão relacionadas a agentes bacterianos presentes em dejetos humanos que são despejados em ambiente estuarino e marinho por meio dos esgotos (LIPP et al., 2001; RIPPEY, 1994; POMMEPUY et al., 2005; REES et al., 2010).

Dessa forma, para reduzir os riscos à saúde humana e perdas econômicas com o cultivo de moluscos é preciso manter a boa qualidade da água dos ambientes costeiros e a segurança alimentar dos organismos aquáticos (DIEGUES, 2006; GOURMELON et al., 2010).

Essa qualidade é avaliada de acordo com alguns parâmetros ou substâncias presentes na água, que caracterizam suas condições para diversos usos. Esses parâmetros são classificados em físicos, químicos e biológicos (TUCCI, 2005).

Entre os parâmetros físicos podemos destacar o pH, que influencia diretamente sobre a fisiologia das espécies aquáticas, por agir em vários balanços iônicos e a temperatura que desempenha importante papel no controle do meio aquático, pois condicionam a influência de várias outras variáveis físico-químicas e processos biológicos. Além disso, os organismos aquáticos possuem limitações térmicas, inferiores e superiores, para o crescimento e reprodução (CETESB, 2008; TUCCI, 2005).

Como parâmetro químico pode ser citado o oxigênio dissolvido, que em concentrações adequadas é de extrema importância no processo de autodepuração em sistemas aquáticos naturais, além de indicar a capacidade de um ecossistema aquático em manter ciclo vital dos organismos (CETESB, 2008).

Entre os indicadores microbiológicos, relacionados com a qualidade sanitária, o grupo coliforme é o mais importante, destacando-se dentro desse grupo os coliformes termotolerantes, especificamente a *Escherichia coli*, pois se apresenta em grande concentração nas fezes de animais homeotérmicos, além de se multiplicar com facilidade no ambiente externo (WHO, 2006; CETESB, 2003; COOKE, 1976).

No entanto, a avaliação feita por *E. coli* possui um fator limitante, pois os vírus entéricos e protozoários podem resistir à tratamentos de desinfecção da água, e sua ausência não significa que o ambiente esteja livre de patógenos (RIPPEY, 1994; WHO, 2006). Entretanto, pelo alto custo e complexidade em se realizar testes para patógenos específicos, em geral, avalia-se apenas o índice de contaminação por coliformes (WHO, 2006).

### **1.1 Aquicultura no Brasil e no Estado do Pará.**

A aquicultura no Brasil é representada pela piscicultura (cultivo de peixes), carcinicultura (cultivo de camarões), ranicultura (cultivo de rãs), e a malacocultura (cultivo de moluscos). Esse setor vem se desenvolvendo progressivamente desde a década de 1990. Em 2006 a produção nacional foi de 80.512 mil toneladas (IBAMA, 2008).

Novas atividades produtivas começam a se estruturar como, por exemplo, o cultivo de peixes de água doce em tanques-rede e de moluscos. O rápido crescimento da aquicultura brasileira ocorreu sob as mais diversas formas de desenvolvimento, desde sistemas de baixo custo e técnicas rudimentares, a grandes empreendimentos, com altos investimentos e tecnologia (OSTRENSKY et al., 2008).

Considerada como uma alternativa de renda para as comunidades litorâneas a maricultura nacional apresenta grandes perspectivas (TURECK e OLIVEIRA, 2003), principalmente no cultivo de moluscos, com produção de ostras (ostericultura) e mexilhões (mitilicultura). Podendo tornar-se principal fonte de renda dessas famílias, ou complementar a renda de outras atividades econômicas (BARROSO e MATTHEWS-CASCON, 2009; NISHIDA et al., 2004).

Em 2004 a região sul foi responsável por 95,3% da produção na malacocultura. O estado de Santa Catarina tem se destacado como líder nacional, onde a atividade já possui papel proeminente na economia local. Iniciou-se com o cultivo do mexilhão (*Perna perna*) e em seguida das ostras nativas *Crassostrea*

*rhizophorae*, e a japonesa *Crassostrea gigas* (BOSCARDIN, 2008; QUEIROZ et al., 2005).

No Estado do Maranhão a produção de molusco teve início em 1999. No Espírito Santo 14 municípios litorâneos produzem mexilhão. A atividade está se expandindo também no Rio de Janeiro e em São Paulo, onde algumas fazendas já produzem 100 toneladas de mexilhão por hectare. No Ceará em torno de 70 marisqueiros produzem ostras, e em Pernambuco o cultivo de ostras já obteve 7.500 dúzias, com previsão para 33.000 dúzias (DIEGUES, 2006).

O desenvolvimento da aquicultura brasileira vem apresentando como consequência a degradação dos recursos aquáticos, dos ecossistemas de mangue, introdução de espécies exóticas, além de conflitos com pescadores e outros usuários dos recursos aquáticos (COMMITTEE ON BEST PRACTICES FOR SHELLFISH MARICULTURE AND THE EFFECTS OF COMMERCIAL ACTIVITIES, 2010). Estes problemas ocorrem principalmente nas regiões Norte e Nordeste, onde os grupos de pressão da sociedade civil são mais frágeis. Na região Sul também há incidência de grande degradação, como é o caso de Santa Catarina (DIEGUES, 2006).

As técnicas de cultivo empregadas atualmente ainda são relativamente artesanais, empregando a mão-de-obra familiar (OSTRENSKY e BOEGER, 2008).

O método empregado para o cultivo e o local de cultivo influencia diretamente a intensidade do impacto causado em outras espécies aquáticas e no ecossistema (COMMITTEE ON BEST PRACTICES FOR SHELLFISH MARICULTURE AND THE EFFECTS OF COMMERCIAL ACTIVITIES, 2010). Em específico na malacocultura a extração de sementes a partir de estoques naturais também pode provocar sérios danos ambientais. Em alguns lugares esse método ainda é empregado, porém é crescente o uso de coletores artificiais de sementes (BORGHETTI e SILVA, 2008).

Por outro lado, estruturas de cultivos formam barreiras, que diminuem a velocidade das correntezas e o fluxo de água, influenciando no aumento da deposição e acúmulo de resíduos orgânicos na área de cultivo, alterando algumas

características da água como a turbidez, o que pode influenciar na diminuição da qualidade de água (LENOCH, 2004).

No que se refere à proteção dessas áreas, o Brasil conta com o apoio do Ministério do Meio Ambiente/IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), que através de dois programas, o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro e o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC), são responsáveis pela preservação do ambiente costeiro. Conta também com Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), com a criação de duas Resoluções, a Resolução N° 312 de 2002, que exige licenciamento ambiental, com apresentação de Estudos de Impacto Ambiental para fazendas maiores de 50 hectares e a Resolução N° 357 de 2005, que estabelece padrões de qualidade para águas doces, salobras e salinas, além da Agência Nacional de Águas (ANA) a quem compete a implementação da Política Nacional de Recursos Hídricos (BOEGER e BORGHETTI, 2008; DIEGUES, 2006).

No Brasil, diversos estudos estão sendo realizados em relação à qualidade dos moluscos e das águas em que são cultivados, entre eles podemos destacar: estudo de coliformes em água e ostras do complexo estuarino de Paranaguá (KOLM e ABSHER, 2008); a contaminação por coliformes da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti, Ceará (VIEIRA et al., 2008); no estuário do Rio Cocó, Ceará (SILVA et al., 2003), entre outros.

O litoral norte, que se estende do estado do Amapá até a região nordeste do estado do Pará, caracteriza-se por apresentar uma zona costeira bastante diversa, constituído por inúmeros sistemas estuarinos. A topografia baixa e o aporte de grandes volumes de água doce produzem processos oceanógrafos que influenciam na distribuição dos recursos vivos nesses ambientes (MENDES, 2005; TAVARES et al., 2005).

No nordeste paraense a coleta de moluscos e crustáceos era tradicionalmente colocada como um complemento à pesca, sendo o caranguejo (*Ucides cordatus*) o mais importante comercialmente (NASCIMENTO, 2006). No

entanto, atualmente essa atividade, que ocorre em área de manguezais, é a segunda maior fonte de renda, assumindo cada vez mais importância na economia. Além do caranguejo, são coletados também ostras, sarnambi e turu (FURTADO, 2006), resultando em mudanças no modo de vida dos pescadores nas últimas décadas, e ocasionando, também, grande pressão sobre os estoques (NASCIMENTO, 2006).

Por isto foram iniciados cultivos em seis municípios: Augusto Corrêa, Curuçá, Maracanã, Salinópolis, São Caetano de Odivelas e Viseu (LEE e SARPEDONTI, 2008).

Por outro lado, esse desenvolvimento vem ocorrendo de forma desordenada. A grande maioria atua na informalidade, com canais de comercialização pouco monitorados e sem o cumprimento da legislação ambiental (MCGRATH et al., 2008).

O sistema de cultivo utilizado no litoral paraense é o suspenso-fixo do tipo mesa que consiste em um conjunto de estacas formando uma mesa sobre a qual as ostras são acondicionadas em travesseiros e as sementes são extraídas com uso de coletores artificiais (Figuras 1 e 2). Para Gomes (2008), este sistema permite explorar as áreas com variação de maré, sendo vantajoso pelo baixo custo.



**Figura 1** Travesseros sobre as mesas de cultivo em Lauro Sodré, município de Curuá-Pará. Foto: Maria P.S.P Villena, 2010.



**Figura 2:** Coletor de semente feito de garrafa pet utilizado no cultivo de ostras em Perer  de Fátima, município de São Caetano de Odivelas-Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake.

Apesar da forte preocupação com a proteção ambiental por parte da sociedade, em geral, no litoral do nordeste paraense ainda não há soluções concretas para esse problema (FURTADO, 2006).

## **1.2 Importância da Qualidade Microbiológica das Ostras**

O cultivo de ostra sofre grande prejuízo com a poluição ambiental, uma vez que, em sua maioria, os cultivos localizam-se nas proximidades de áreas urbanas e muitos são afetados pela falta de saneamento de cidades litorâneas, nas quais muitas residências ainda possuem fossas ligadas diretamente à rede fluvial, o que pode comprometer a qualidade do produto final (CASTILHO et al., 2008).

Grande parte da ação antrópica também está associada com falta de fiscalização, resultando em descarga de esgoto não tratado diretamente no estuário. Com isso diversos microorganismos patogênicos podem ser lançados no ambiente aquático (WHO, 1998).

Dessa forma, o consumo desses organismos aquáticos contaminados pode levar ao aparecimento de doenças transmitidas por alimento (DTA), causados tanto por um agente infeccioso contaminante do alimento ingerido, como pela toxina por ele produzida no alimento (BRASIL, 2001). Mesmo com o aprimoramento de medidas preventivas para reduzir a contaminação desses organismos, diversos patógenos continuam sendo transmitidos pela ingestão desses alimentos (CASTILHO et al., 2008).

Segundo Pommepuy et al. (1996), as bactérias que estão relacionadas às DTAs, como a *Escherichia coli*, possuem a capacidade de se proliferarem mesmo depois de serem ingeridas pelas ostras, fato que justifica as altas concentrações bacterianas em moluscos, mesmo em casos em que as concentrações nas águas de cultivo encontram-se dentro dos padrões permitidos para o consumo destes bivalves.



Cerutti e Barbosa (1991) afirmam que a amostra de água fornece resultados no momento da coleta, enquanto as amostras de ostras indicam a integração do molusco às condições ambientais da água, no período que antecede a coleta. A seleção bacteriana em moluscos está relacionada a fatores como adaptação dos organismos ao ambiente marinho e a resistência à degradação enzimática, através da utilização do conteúdo estomacal como fonte de nutrientes.

As doenças causadas por bactérias patogênicas provenientes do consumo de moluscos podem ser divididas em dois grupos: bactérias presentes naturalmente no ecossistema aquático ou por bactérias presentes no ambiente pela contaminação de fezes humana ou de animais homeotérmicos (FELDHUSEN, 2000).

As bactérias originadas por contaminação fecal estão inseridas no grupo dos coliformes, ou enterobactérias, o qual é constituído por mais de 20 espécies, formados tanto por bactérias de origem gastrintestinal de humanos e outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Shigella* sp.), quanto por bactérias não entéricas, como espécies de *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp. e *Serratia* sp. (SILVA et al., 2007).

Presente em grande número na flora intestinal humana e animal, a *E. coli* geralmente não provoca doença (WHO, 2006). No entanto, algumas linhagens podem ser patogênicas, podendo resultar em algumas doenças como, por exemplo, a Síndrome Hemolítica Urêmica (FELDHUSEN, 2000). São reconhecidos cinco grupos de *E. coli* virulenta: *E. coli* enteroagregativas (EaggEC), *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), *E. coli* enteroinvasivas (EIEC), *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) e *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC) (JAY, 2005).

As bactérias do grupo coliformes totais são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 35 °C. O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais. No entanto, atualmente sabe-se que esse grupo inclui também membros de origem não fecal, como *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* e *Klebsiella pneumoniae*. Dessa forma, o termo coliformes fecais está sendo substituído por coliformes termotolerantes (SILVA, 2007).

O desenvolvimento e a patogenicidade de doenças transmitidas pelo consumo de alimentos contaminados ocorre por meio de alguns fatores como o

potencial de virulência do micro-organismo, o mecanismo de infecção e a suscetibilidade do hospedeiro (CASTILHO et al., 2008).

Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos usados no controle de doenças aumenta a pressão da seleção sobre os micro-organismos, elevando o nível de resistência bacteriana. As consequências são graves, pois as infecções provocadas por bactérias resistentes não respondem ao tratamento, aumentando o tempo de tratamento e os riscos de morte (WHO, Fact Sheet N° 194, 2010). Constituindo-se, portanto, em risco à saúde pública por promover a circulação, no ambiente hídrico em particular, de variedades bacterianas resistentes a diferentes tipos de antibióticos, entre as quais as bactérias entéricas (SANTO DOMINGO e EDGE, 2010).

Portanto, os corpos hídricos constituem-se, além de um difusor de organismos resistentes aos antibióticos na população humana, também como via e reservatório de genes de resistência nos ecossistemas naturais bacterianos, onde pode ocorrer a troca desses genes resistentes em bactérias não patogênicas (BAQUERO et al., 2008; CANEPARI e PRUZZO, 2008). Considerando isso, o estudo do perfil de resistência dos isolados de *E. coli* é relevante, pois pode apontar o nível de alteração antrópica no ambiente (BOON e CATTANACH, 1999).

Em relação à qualidade na comercialização dos moluscos em muitos países existem normas próprias baseadas em análises microbiológicas de água de cultivo e de “carne” desses organismos (MACHADO et al., 2001).

Segundo Rippey (1994) o Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos (EUA) estabeleceu diretrizes para o controle sanitário dos moluscos, fazendo as seguintes recomendações: os mariscos devem ser cultivados em áreas livres de qualquer suspeita de contaminação; após sua coleta os organismos devem ser manuseados de modo a protegê-los de contaminação por micro-organismos; estudos epidemiológicos devem ser feitos em áreas de consumo dos moluscos, para prevenção de futuras infecções.

No entanto a legislação brasileira ainda apresenta diversas lacunas no que diz respeito ao controle microbiológico de peixes, moluscos e crustáceos (CASTILHO et al., 2008). Como é o caso da ANVISA (Agência Nacional de

Vigilância Sanitária), que define os critérios e padrões microbiológicos para alimentos, através da Resolução RDC, N° 12 de 2 de janeiro de 2001, que estabelece valores limites para moluscos bivalves “in natura”, resfriados ou congelados, não consumidos crus (BRASIL, 2001). No entanto, grande parte das ostras é consumida crua, abertas no bafo ou levemente cozidas.

Em decorrência dessa deficiência institucional e legal referente à qualidade dos moluscos cultivados e coletados no Brasil foi publicado no Diário Oficial da União, em 19 de outubro de 2005, o Decreto N° 5.564, instituindo o Comitê Nacional de Controle Higiênico e Sanitário de Moluscos Bivalves, coordenado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), pelo Serviço de Inspeção do Pescado e Derivado do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SEPES/ DIPOA/ MAPA), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Departamento de Defesa Animal (DDA/MAPA). O objetivo é elaborar um Programa Nacional de Controle Higiênico e Sanitário de Moluscos Bivalves para orientar, recomendar e executar medidas de controle sanitário desses organismos em todas as etapas da cadeia produtiva, permitindo ao Brasil se beneficiar do mercado internacional como exportador (BOEGER e BORGHETTI, 2008; BRASIL, 2005; BRASIL, 2007).

Enquanto esses limites não são estabelecidos é possível fazer comparações com outras legislações, como o *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme- EUSQAP*, (RODGERS, 2001), também utilizado pelos autores Vieira et al. (2008) e Silva et al. (2003), para classificar a qualidade microbiológica das ostras. De acordo com esse programa os moluscos são classificados em três classes: A, B e C. Quanto ao grupo dos coliformes, considerados os principais indicadores de qualidade sanitária, na categoria A é permitido o valor de < 300 CTerm/100g; na categoria B 90% das amostras não pode exceder 6000 CTerm/100g e na categoria C não podem exceder 60.000 CTerm/100g.

As recomendações dos parâmetros de coliformes para as águas de cultivo de moluscos bivalves destinados ao consumo humano são estabelecidos pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA que por meio da Resolução N° 357/2005 estabelece que a média geométrica da densidade de coliformes

termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deve exceder 43 por 100 mililitros e o percentil de 90% não deve ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros (BRASIL, 2005).

Nesse contexto, o presente estudo avaliou a qualidade sanitária da água em áreas de cultivo dos municípios paraenses de Curuçá e São Caetano de Odivelas, e se atendem às recomendações do CONAMA (BRASIL, 2005), além de verificar se a qualidade sanitária das ostras produzidas está dentro dos padrões estabelecidos pelo *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme* – EUSQAP (RODGERS, 2001), e a suscetibilidade dos isolados de *Escherichia coli* obtidos em amostras de água e ostras.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar, nos municípios de Curuçá e São Caetano de Odivelas, estado do Pará, a qualidade das ostras *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) e da água em que estas são cultivadas face à contaminação microbiológica.

### 2.2 Específicos

Verificar, nos municípios de Curuçá e São Caetano de Odivelas, a qualidade da água de cultivo e das ostras, através da determinação da concentração de bactérias do grupo coliformes (totais e termotolerantes) e *Escherichia coli*.

Confirmar através da caracterização fenotípica a presença de *Escherichia coli*.

Identificar o perfil antimicrobiano de *Escherichia coli* isoladas das amostras de água e de ostras;

Correlacionar os dados microbiológicos com a variação das variáveis físico-químicas da água nas áreas de cultivo;

Verificar a possível diferença de concentração de coliformes totais e termotolerantes em relação à variação de maré.

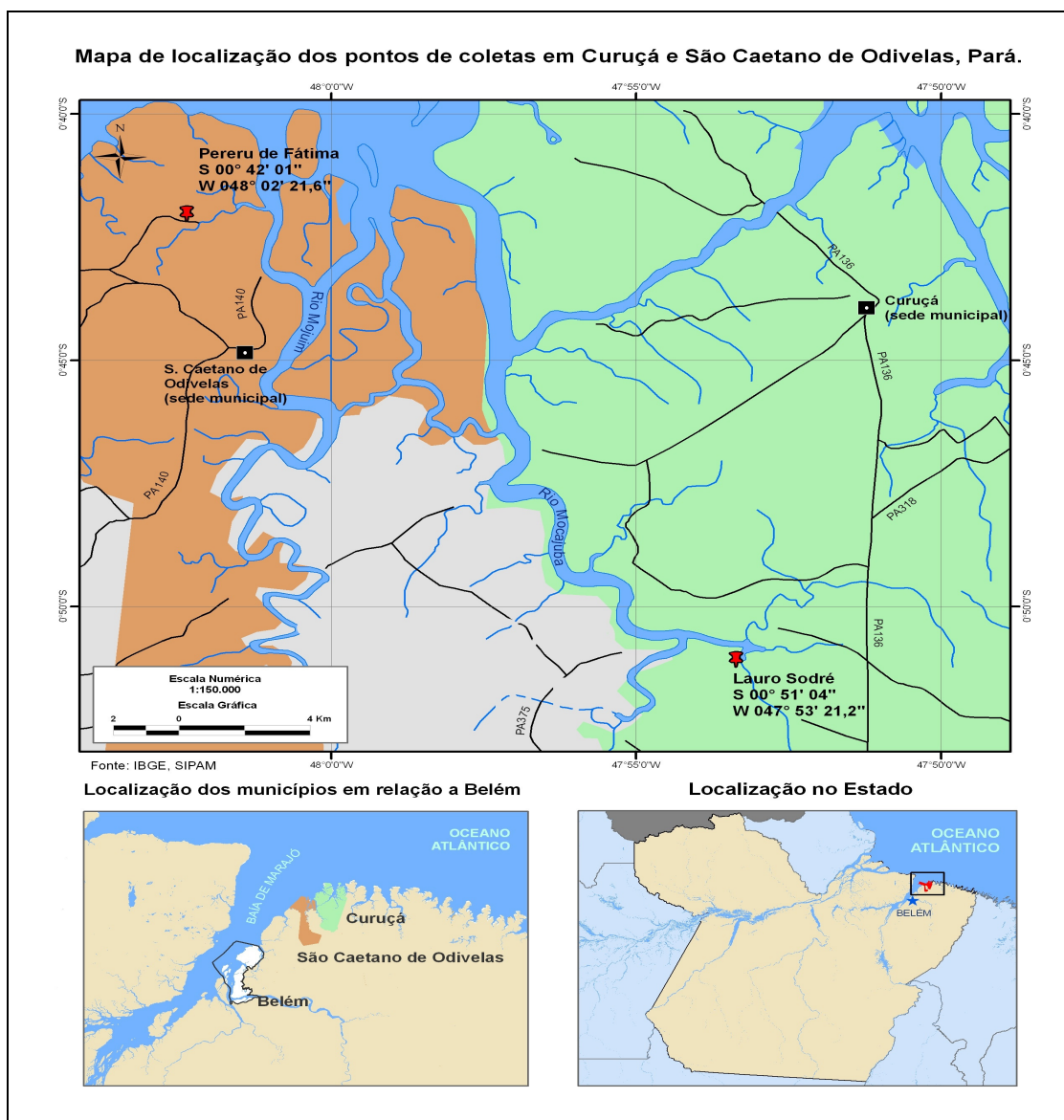
### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Áreas de Estudos**

O estudo foi realizado em duas comunidades, Lauro Sodré e Pererú de Fátima, localizadas respectivamente nos municípios paraenses de Curuçá e São Caetano de Odivelas, pertencentes à Mesorregião do Nordeste Paraense e à Microrregião do Salgado.

O Município de Curuçá está localizado nas coordenadas geográficas: 00°43'48" de Latitude Sul e 47°51'06" de Longitude oeste de Greenwich. Limitando-se ao norte com o Oceano Atlântico, ao sul com o município de Terra Alta, a leste com o município de Marapanim e a oeste com o município de São Caetano de Odivelas (PARÁ, 2008). (Figura 3).

O Município de São Caetano de Odivelas localiza-se nas coordenadas geográficas: 00°44'33" de latitude Sul e 48°01'03" de longitude a oeste de Greenwich. Limita-se a norte com o Oceano Atlântico, a leste com os municípios de Curuçá, São João da Ponta e Terra Alta, ao sul e a oeste com o município de Vigia de Nazaré (PARÁ, 2008). (Figura 3).



**Figura 3:** Mapa de localização das áreas de estudos na comunidade Lauro Sodré, Município de Curuçá e comunidade Pereru de Fátima, Município de São Caetano de Odivelas, Pará.

Curuçá é banhado pelo estuário do rio Mojuim, que se caracteriza por apresentar condições oceanográficas e meteorológicas propícias ao desenvolvimento dos manguezais, com variações de maré entre 4 e 8 m e precipitação anual superior a 2000 mm (SOUZA FILHO, 2005). O local faz parte da Reserva Extrativista Marinha Mãe Grande de Curuçá, que é considerada uma das mais importantes Unidades de Conservação (UC) da costa amazônica (FIGUEIREDO et al., 2009). Foi criada em 2002 com os objetivos de assegurar o uso

sustentável e a conservação dos recursos naturais renováveis, protegendo os meios de vida e a cultura da população extrativista local. A RESEX abrange uma área de aproximadamente 37,62 hectares (BRASIL, 2002). (Figura 4)



**Figura 4:** Área de cultivo em Lauro Sodré, Município de Curuá, Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake.

O Município de São Caetano de Odivelas   banhado pelo estuário dos rios Mocajuba e Mojuim, este último forma toda a bacia hidrográfica do município e após entrar no território de São Caetano, a sudeste, segue em dire o ao norte e deságua no Atlântico. Enquanto o rio Mocajuba banha as vilas de São João da Ponta e Boa Vista e serve também de limite natural com o município de Curuá (PARÁ, 2009). (Figura 5)

Nas proximidades das embocaduras dos rios, onde ocorre influência da salinidade do mar, há a presença de uma vasta vegeta o de mangue.





**Figura 5:** Área de cultivo em Pererú de Fátima, Município de São Caetano de Odivelas, Pará. Foto: Daniela M. Kiyatake.

Os dois municípios pertencem à costa de reentrâncias Pará/Maranhão, caracterizando-se por um clima quente, com temperaturas médias mensais acima de 25 °C. As marés na região possuem grande amplitude (> 4 metros), que geram fortes correntes de enchente e vazante, produzindo muito material em suspensão e gerando um aspecto de turbidez nas águas. A região caracteriza-se também pela presença de manguezais e é rica em moluscos e crustáceos (DIEGUES e ROSMAN, 1998).

## **3.2 Metodologia de Coleta**

### **3.2.1 Coleta de água e ostras para análises microbiológicas**

As coletas foram realizadas mensalmente entre maio de 2009 a junho de 2010. Em cada campanha coletou-se amostras de ostras e água da área de cultivo. Cada amostra de ostra foi de aproximadamente 15 indivíduos, coletados em apenas uma maré, em geral durante a vazante, que foram armazenados em um pote vedado e acondicionados em caixa isotérmica.

As amostras de água superficial, obtidas durante as marés de vazante e enchente, foram coletadas em vasilhames esterilizados com capacidade para 1000 mL, sendo preenchido até 2/3 de sua capacidade (Figura 06). Depois de vedados, os frascos foram acondicionados em caixa isotérmica, e transportados para exame laboratorial. Todos os procedimentos de coleta e conservação seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1999).



**Figura 6:** Coleta de água superficial. Foto: Paulo M. O. Lins

### **3.2.2 Parâmetros Físico-Químicos**

Os parâmetros temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, pH e sólidos totais dissolvidos (STD) da água foram determinados *in situ* com o auxílio de Multianalisador Multiparameter modelo HI 9828 – Hanna. Entretanto por problemas no funcionamento do multianalisador não foi possível realizar a coleta dos parâmetros físico-químicos no mês de agosto na comunidade de Lauro Sodré (Curuçá) e no mês de novembro em Pererú de Fátima (São Caetano de Odivelas).

### 3.2.3 Dados de Precipitação

Os dados de precipitação pluviométrica diária, entre junho de 2009 e maio de 2010 da rede de estação de Castanhal (PA), mais próxima dos locais de coleta, foram cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

### 3.3 Análise das Amostras

No laboratório foi realizada a lavagem das ostras com água potável, e sua abertura asséptica, dentro da câmara de fluxo laminar, retirando todo o conteúdo corpóreo e o líquido intervalvar (Figura 7).



**Figura 7:** Pré-tratamento das amostras de ostras: lavagem e abertura. Foto: Daniela. M. Kiyatake.

### 3.4 Análise Microbiológica das Amostras

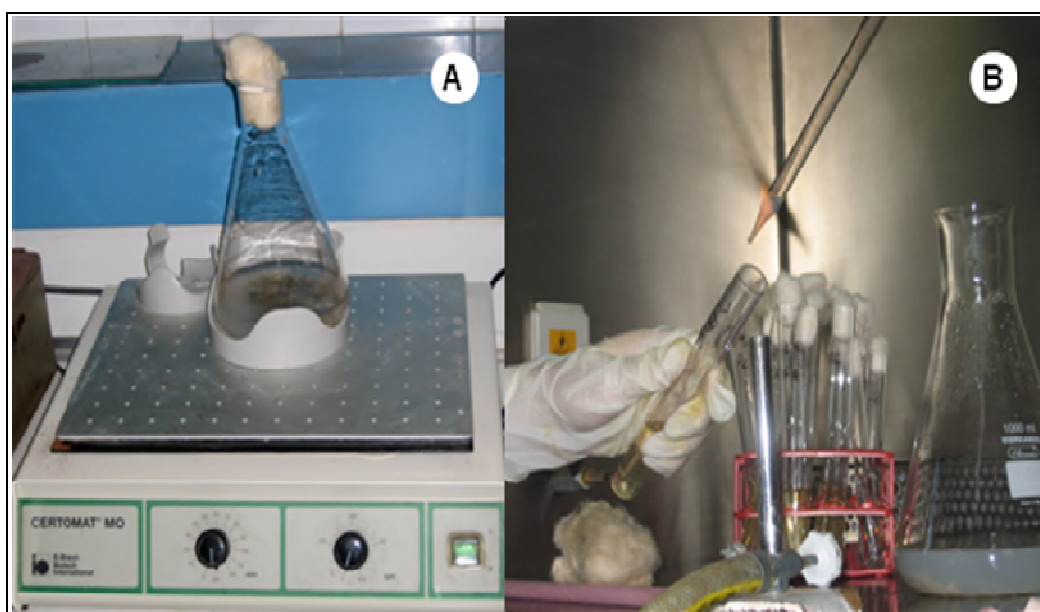
#### 3.4.1. Determinação da Concentração de Coliformes Através da Técnica dos Tubos Múltiplos.

A contagem de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* seguiu a Técnica de Fermentação através de Tubos Múltiplos, que inclui as seguintes etapas: teste presuntivo, teste confirmativo e confirmação bioquímica. Para as amostras de ostras

esse processo foi feito em triplicata e posteriormente calculou-se a média geométrica do número mais provável (NMP). A determinação do número mais provável das amostras de ostras e de água seguiram as recomendações de *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1999).

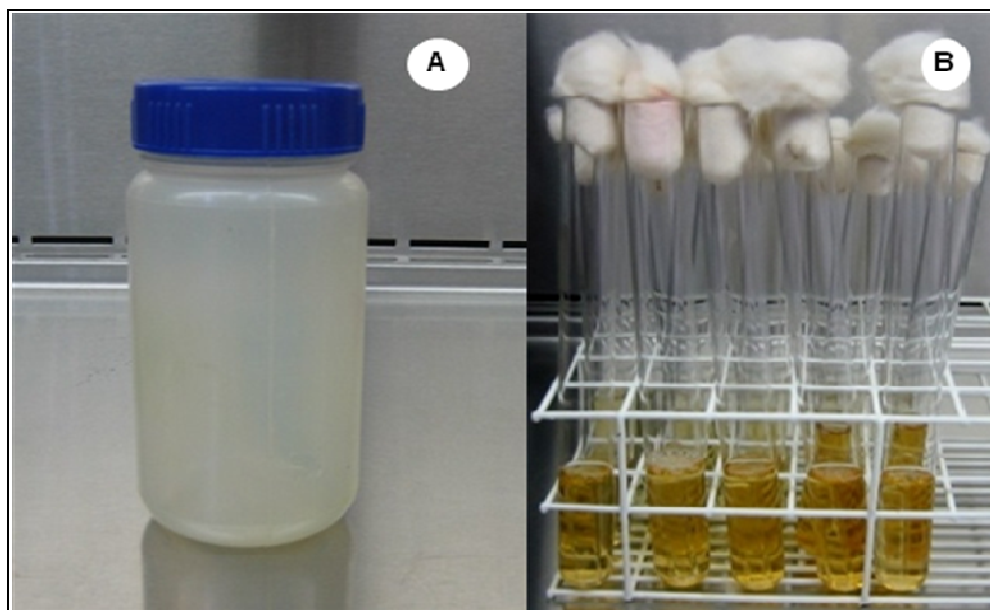
#### a) Teste Presuntivo para Coliformes

- Procedimento de Análise das Ostras: 25 g do conteúdo corpóreo e do líquido intervalvar foram pesados e, transferidos para um Erlenmeyer contendo 225 mL de água fosfatada tamponada (água de diluição), e homogeneizado por 10 minutos,. Em seguida, foram realizadas diluições sucessivas até a concentração  $10^{-3}$ . Na sequência cada uma das diluições das amostras foi inoculada em uma série de cinco tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), contendo tubos de Durham e incubados a  $35,0 \pm 0,5$  °C por 24-48 horas. Após esse período, os tubos, cujos meios de cultura, apresentaram turvação e produção de gás, a partir da fermentação da lactose, foram considerados suspeitos da presença de coliformes (Figura 8).



**Figura 8:** Homogeneização de solução contendo amostra de ostra (A) e inoculação da amostra em Caldo Lauril Sulfato Triptose (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.

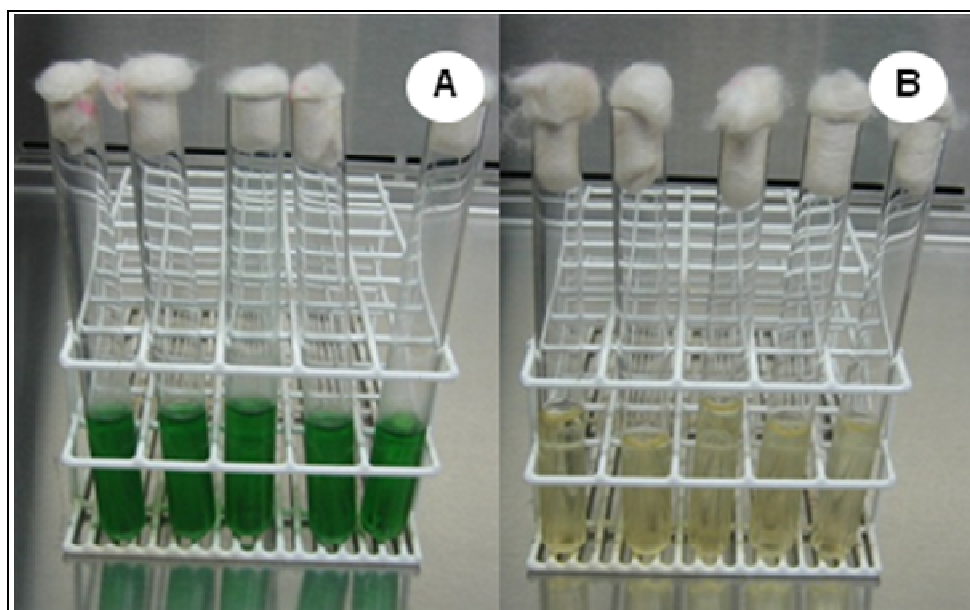
- Procedimento para Análise da Água: volumes decimais, entre  $10^{-1}$  e  $10^{-3}$  da amostra de água coletada foram inoculados em séries de 5 tubos cada uma contendo 10 mL de Caldo Lactosado de concentração simples e tubos de Durham, e incubados na estufa a 35,0 °C por 24-48 horas. Ao final desse período foram considerados suspeitos da presença de coliformes os tubos que apresentaram gás e turvação (Figura 9).



**Figura 9:** vasilhame utilizado para a coleta de água (A) e meio de cultura Caldo Lactosado (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.

#### b) Teste Confirmativo para Coliformes Totais e Termotolerantes.

Amostras de Ostras e Água: a partir dos tubos com turvação e gás inoculados com as amostras de água e ostras, foi transferida uma alçada para tubos contendo Caldo Lactose Verde Brilhante Bile (CLVBB) a 2% e Caldo *Escherichia coli* (EC), meios seletivos contendo lactose. O tubo em CLVBB 2% que apresentou crescimento com produção de gás, após 24-48h de incubação a 35 °C foi considerado confirmativo da presença de coliformes totais. O crescimento com produção de gás nos tubos de Caldo EC, após 24 horas de incubação a 44,5 °C em banho-maria foi considerado confirmativo da presença de coliformes termotolerantes (Figura 10).



**Figura 10:** Meios de cultura CLVBB (A) e Caldo EC (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.

c) Leitura e Interpretação (Concentração de Coliformes).

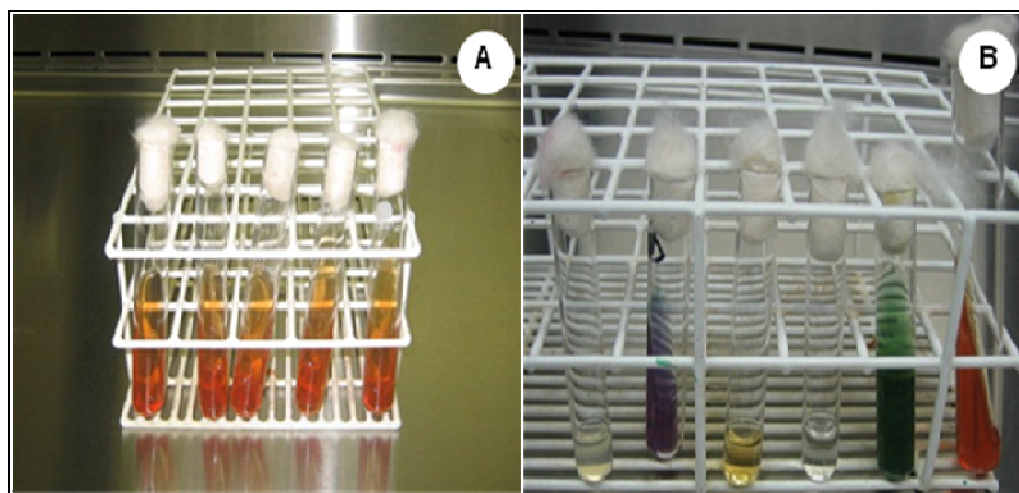
A combinação de tubos positivos e negativos na Técnica do Número Mais Provável (NMP) permite estimar, através do cálculo de probabilidade, a densidade do micro-organismo alvo na amostra. O NMP de coliformes em 100 mL de água coletada e massa de ostra foram calculados de acordo com a fórmula abaixo. O NMP correspondente ao código refere-se ao da tabela de Hoskins (APHA, 1999).

Valor do NMP correspondente ao código x 10/Maior volume inoculado  
selecionado para compor o código

d) Confirmação Bioquímica de *Escherichia Coli* (Teste do IMVIC).

Os tubos positivos em Caldo EC nas amostras de água e ostras foram estriados em Agar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) com objetivo de proporcionar o crescimento das colônias fermentadoras de lactose e incubadas a  $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por 24 horas. Em seguida, três a cinco colônias com aspecto verde metálico foram transferidas para tubos contendo o meio de triagem Agar Açúcar Triplo Ferro (TSI) e incubados a  $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por 24 horas. Os tubos que apresentaram reações compatíveis para *E. coli* (Ac/Acg) (meio de cultura em tom

amarelado com produção de gás), foram selecionados para as provas de identificação bioquímica, utilizando os testes de Indol, Vermelho de Metila, Voges Proskauer, Citrato de Simons, motilidade, Fenilalanina e Lisina de acordo com Manual Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI (BRASIL, 2003) (Figura 11).



**Figura 11:** Meio de cultura TSI (A) e testes de identificação bioquímica (B). Foto: Daniela M. Kiyatake.

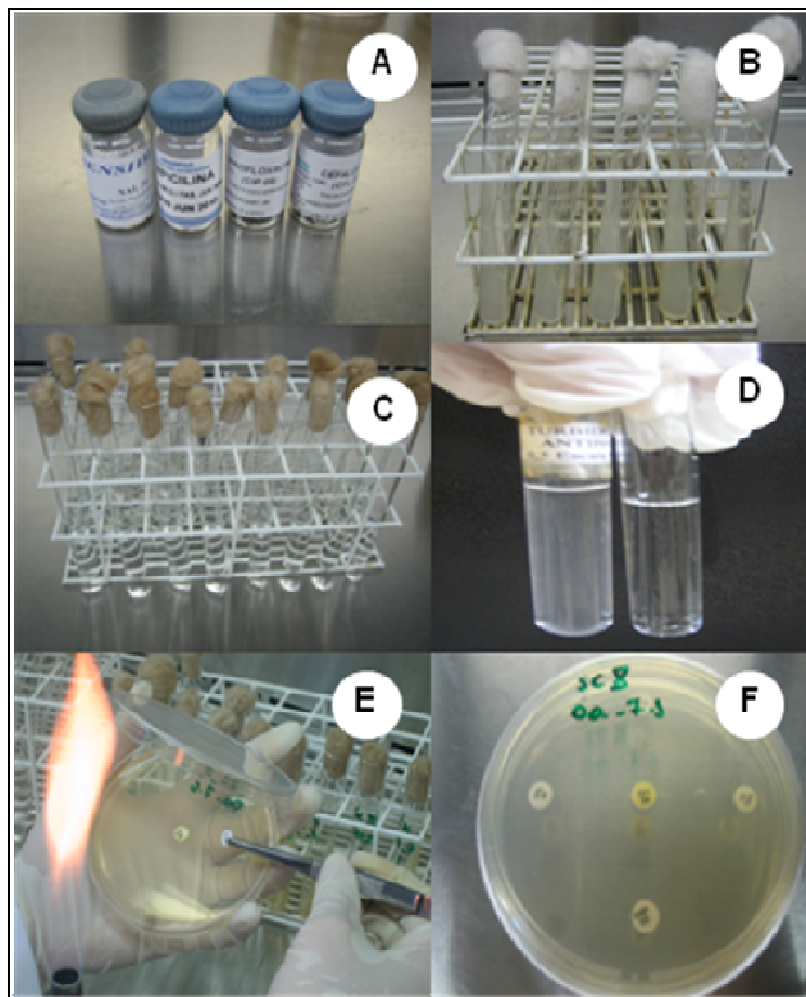
### 3.6.2 Teste de Sensibilidade pelo Método de Difusão em Disco (Método de Kirby-Bauer)

As cepas de *Escherichia coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos de acordo com o método de difusão em disco de Kirby-Bauer (BRASIL, 2003), sendo utilizados os agentes antimicrobianos nas seguintes concentrações: ciprofloxacina (5 mcg), ampicilina (10 mcg), tetraciclina (30 mcg), cefalotina (30 mcg), ácido nalidíxico (30 mcg).

A partir dos isolados de *E.coli* foi preparada uma suspensão em solução salina esterilizada a 0,85% até alcançar uma turbidez padrão correspondente a 0,5 da escala MacFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Com auxílio de um “swab” estéril, o inóculo foi espalhado uniformemente em placa de Petri contendo Agar Mueller-Hinton. Em seguida com auxílio de uma pinça estéril foram colocados discos impregnados com

os antibióticos escolhidos, sobre a superfície do meio, e incubados a  $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por 24 horas (Figura 12).

A leitura das placas foi feita através da medição, em milímetros, dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento das colônias. Os resultados foram comparados com os valores de referência, classificando as cepas em resistente, intermediário e sensível para cada antibiótico utilizado.



**Figura 12:** Discos embebidos com antibióticos (A), isolados de *E. coli* em Ágar TSA (B), água de diluição (C), escala McFarland (D), placas de petri com Ágar Mueller-Hinyon (E e F). Foto: Daniela M. Kiyatake.



### **3.6.3 Análise Estatística dos Dados**

O pressuposto de Normalidade foi realizado através do teste de Shapiro- Wilk para todos os dados físico-químicos e de coliformes. Para a interpretação da correlação entre concentrações de coliformes e parâmetros físico-químicos foi feito o teste de coeficiente de correlação de Spearman. Para verificar possível diferença de concentração de coliformes em relação à variação de maré aplicou-se o teste de Mann-whitney. Os teste foram feitos através do programa estatístico BioEstat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Parâmetros físico-químicos**

A contaminação por coliformes em corpos hídricos é decorrente do fluxo de mistura do ambiente, da acumulação bacteriana em sedimento e em moluscos. Além disso, muitos fatores como variação de maré, precipitação, temperatura e outros parâmetros físico-químicos também podem estar ligados à concentração de coliformes em ambientes aquáticos (EMILIANI, 2004; POMMEPUY et al, 2005).

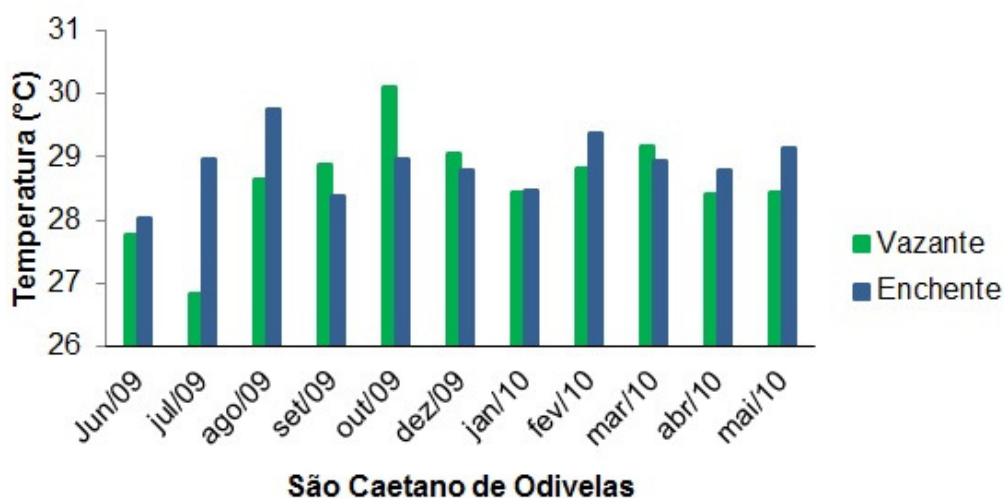
Dessa forma é importante a análise das variáveis ambientais para embasar as alterações no ciclo biológico dos moluscos, bem como dos micro-organismos presentes nos cultivos (RAMOS E CASTRO, 2004).

#### **4.1.1 Temperatura**

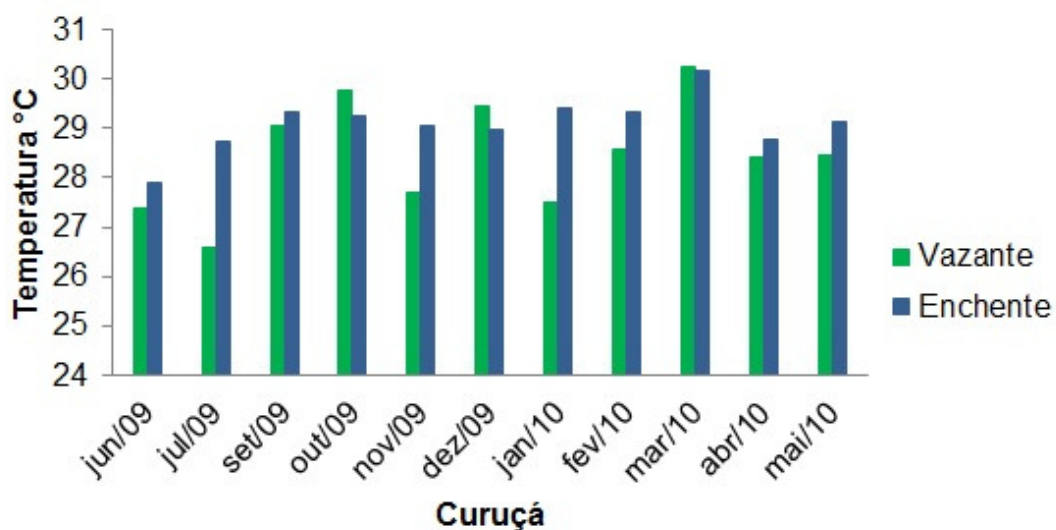
A temperatura é um dos mais importantes fatores responsáveis pelo equilíbrio das espécies aquáticas (SILVA et al., 2008). Podem atuar como fator limitante na sua sobrevivência, influenciando no crescimento e na reprodução (CETESB, 2008).

As variações térmicas em corpos hídricos são sazonais, diurnas e de estratificação vertical, que são influenciadas pela estação do ano, período do dia e profundidade (CETESB, 2008).

Em São Caetano de Odivelas a temperatura da água oscilou entre 26,83 °C a 30,11 °C, ambas na vazante (Figura 13). Em Curuçá a variação foi de 26,57 °C em a 30,25 °C, também durante a vazante (Figura 14).



**Figura 13:** Valores de temperatura obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em um cultivo de ostras localizado em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.



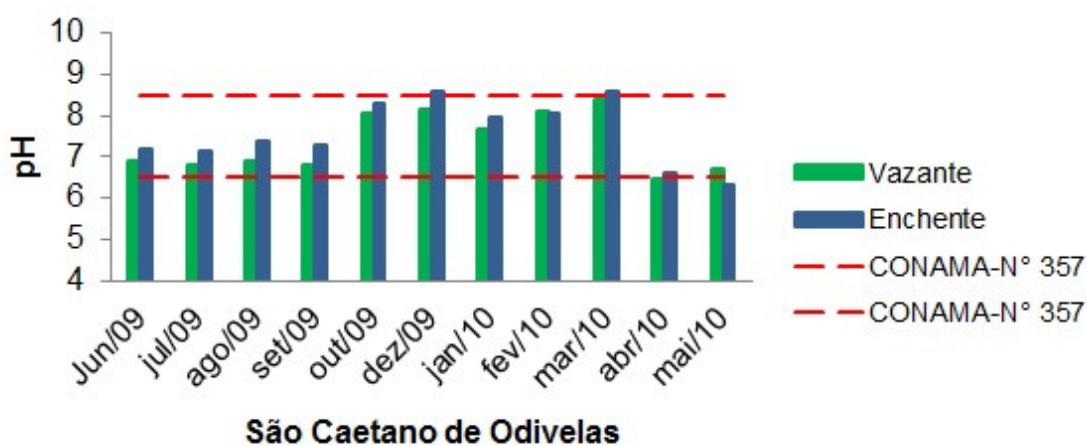
**Figura 14:** valores de temperatura obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em cultivo de ostras localizado em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

A temperatura observada nesse estudo apresentou pouca diferença entre as marés vazante e enchente, e está de acordo com o esperado para a região nordeste paraense, que se caracteriza por temperaturas elevadas, com média de 27°C (MARTORANO, 1993).

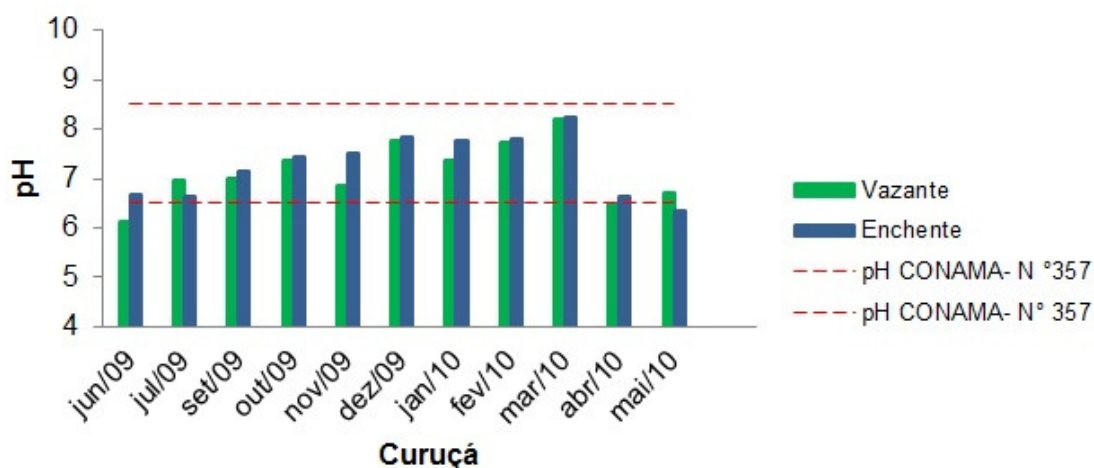
#### 4.1.2 pH

O pH tem efeito na fisiologia de diversas espécies e, portanto, afeta também os sistemas aquáticos. O intervalo favorável para a conservação dos organismos aquáticos está entre 6 e 9 (ESTEVES, 1998).

Os valores de pH em São Caetano de Odivelas oscilaram entre 6,34 a 8,61, os dois valores obtidos durante a maré enchente (Figura 15). Enquanto que em Curuçá a variação foi de 6,11 a 8,24, sendo que o maior valor ocorreu durante a maré enchente (Figura 16).



**Figura 15:** Valores de pH obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.



**Figura 16:** valores de pH obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

Para o parâmetro pH a Resolu o CONAMA N  357/2005 estabelece valores mínimos e máximos, entre 6,5 a 8,5. Os resultados obtidos no estuário de São Caetano indicam que em abril (6,48) e maio (6,34) de 2010 os valores ficaram um pouco abaixo do recomendado e em dezembro (8,61) de 2010 o resultado ficou acima. Enquanto que em Curuçá o mês de junho (6,11) e maio (6,34) apresentou valores abaixo do adequado. Entretanto, estão no intervalo favorável afirmado por Esteves (1998).

#### 4.1.3 Salinidade

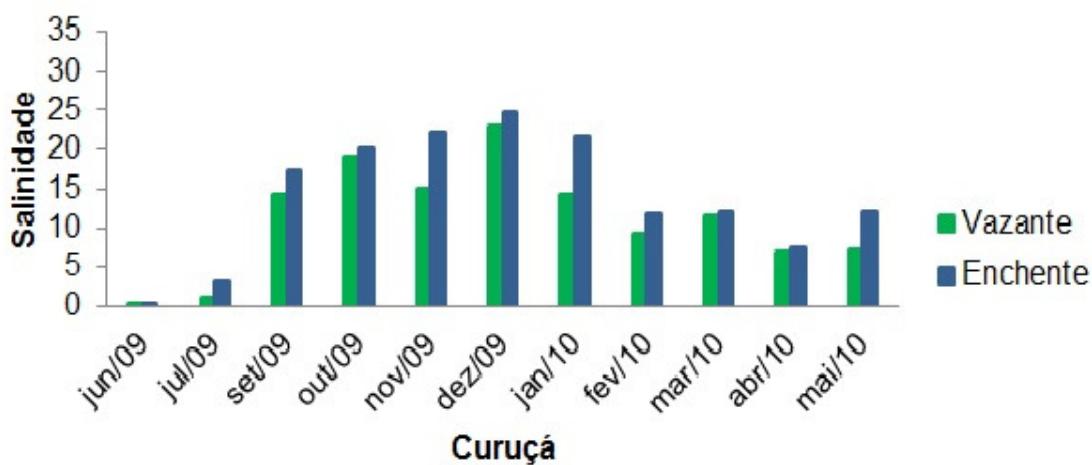
Em ambientes estuarinos as concentra es salinas podem variar de 0 a 35, são influenciadas pela maré, pelo vento e fluxo do rio. A  gua salina é mais densa que a água doce e tendem a fluir na parte mais funda do estuário, proporcionando uma varia o, relativamente, constante para os organismos fixados no fundo (SPEIGHT e HENDERSON, 2010).

Dessa forma, o menor valor (2,73) registrado em São Caetano de Odiveiras ocorreu em junho de 2009 e a maior (29,46) em dezembro de 2009, as duas durante a vazante (Figura 17). Em Curuçá a salinidade apresentou menor concentra o

(0,17) em junho de 2009 e maior (24,79) em dezembro de 2009, sendo que o maior valor ocorreu na enchente (Figura 18).



**Figura 17:** Valores de salinidade obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.



**Figura 18:** Valores de salinidade obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

Considerando que a concentração de salinidade pode variar de acordo com a variação de maré e volume de precipitação, observou-se que nas duas áreas de estudos apresentaram valores próximos, aumentando no período menos chuvoso, que corresponde aos meses de agosto a janeiro. Os testes estatísticos confirmaram

a relação inversa entre precipitação e salinidade nos dois locais, esse comportamento é característico de regiões estuarinas.

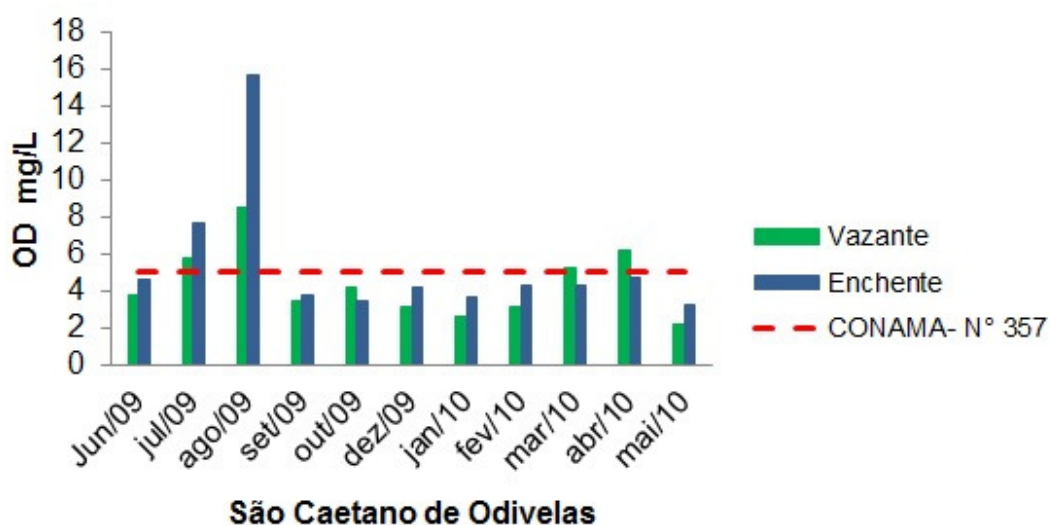
Em São Caetano de Odivelas o trabalho realizado em 2004 por Aviz et al. (2009) também apresentou variação temporal significativa na salinidade da água, apresentando relação inversa com variação pluviométrica.

Em Curuçá, outros estudos, como o de Giarrizzo e Krumme (2007) e Giarrizzo e Saint-Paul (2008), encontraram valores mais elevados entre 7,0 e 13,9 durante o período chuvoso e 27 a 39 no período seco. Os valores menores encontrados em Lauro Sodré podem ser explicados pelo fato de estar localizada a maior distância da foz, recebendo menor influência das águas oceânicas.

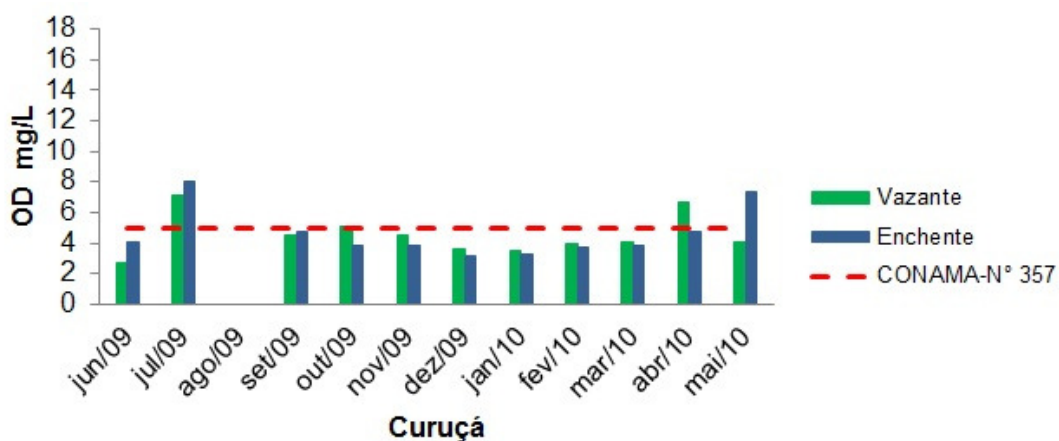
#### **4.1.4 Oxigênio Dissolvido (OD)**

Em ambientes estuarinos a concentração de oxigênio se constitui em uma das principais variáveis físicas que influenciam na determinação da diversidade biológica. A baixa disponibilidade desse parâmetro pode indicar alterações antrópicas no ecossistema (SPEIGHT e HENDERSON, 2010). Em baixas concentrações o oxigênio dissolvido pode provocar estresse, redução na alimentação e até a morte dos organismos aquáticos (RAMOS E CASTRO, 2004).

Em São Caetano de Odivelas o OD variou entre 2,22 mg/L a 15,69 mg/L, com o maior valor registrado durante a maré enchente (Figura 19). Em Curuçá as concentrações oscilaram entre 2,72 mg/L a 7,99 mg/L, este ocorreu durante a enchente (Figura 20).



**Figura 19:** valores de OD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.



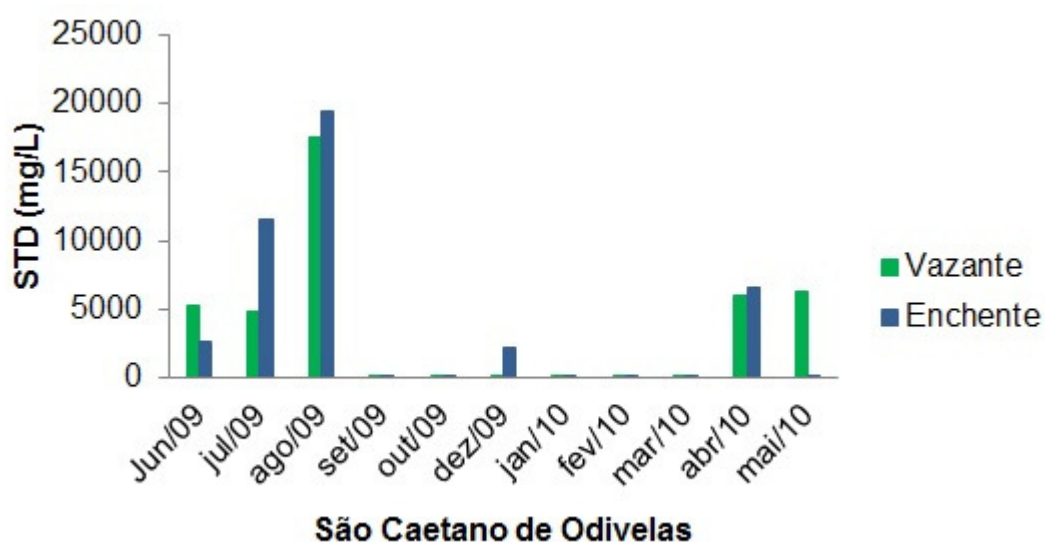
**Figura 20:** valores de OD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

A concentração adequada estabelecida pelo CONAMA é que seja superior a 5 mg/ L. No entanto, 72,7% dos valores de OD obtidos em São Caetano de Odivelas e 77% em Curuçá estão abaixo do permitido. Diferente dos resultados encontrados por Tureck et al. (2006) em um cultivo de ostras na baía da Babitonga, Santa Catarina, onde os valores ficaram entre 5 mg/l a 8 mg/L, considerados adequados.

De acordo com Brasil (2009) águas poluídas por esgotos apresentam baixa concentração de OD, pois são consumidos no processo de decomposição da matéria orgânica, afetando diretamente os organismos aquáticos.

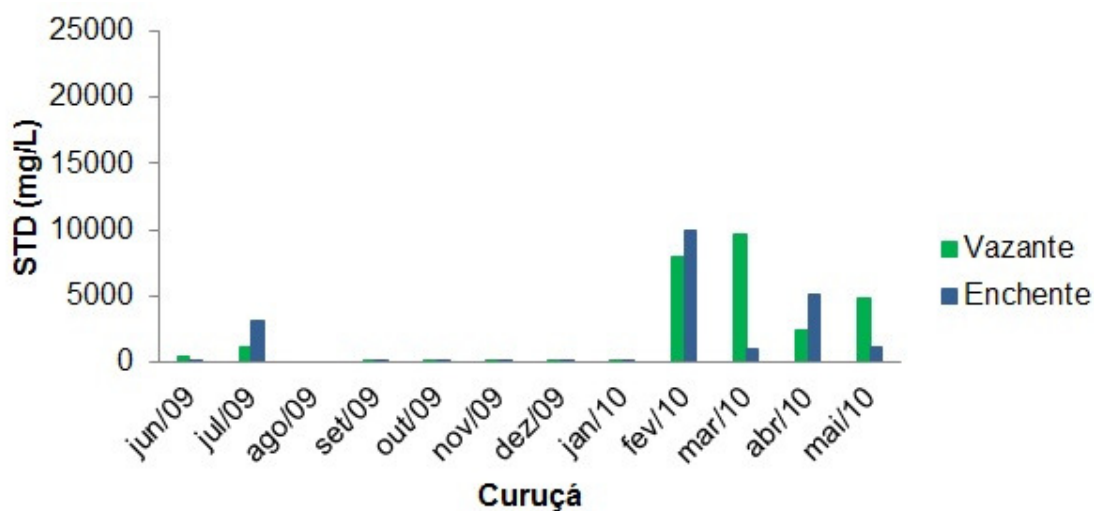
#### 4.1.5 Sólidos Totais Dissolvidos (STD)

As concentrações de STD, em São Caetano de Odivelas, variaram de 10,2 mg/L no mês de fevereiro de 2009 a 19490 mg/L em agosto de 2009 (Figura 21). Em Curuçá a variação foi de 11,82 mg/L em setembro de 2009 a 9973 mg/L durante a enchente no mês de fevereiro de 2010 (Figura 22).



**Figura 21:** valores de STD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.





**Figura 22:** Valores de STD obtidos entre junho de 2009 a maio de 2010, em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

As maiores concentrações de STD foram encontradas em São Caetano de Odivelas, com valor máximo de 19490 mg/L. Em comparação, Vasco et al. (2010) avaliaram dados de STD no Rio Vaza Barris, em 2008, e obtiveram concentrações menores que as encontradas nesse trabalho, com valores entre 741, 58 mg/L a 927,48 mg/L.

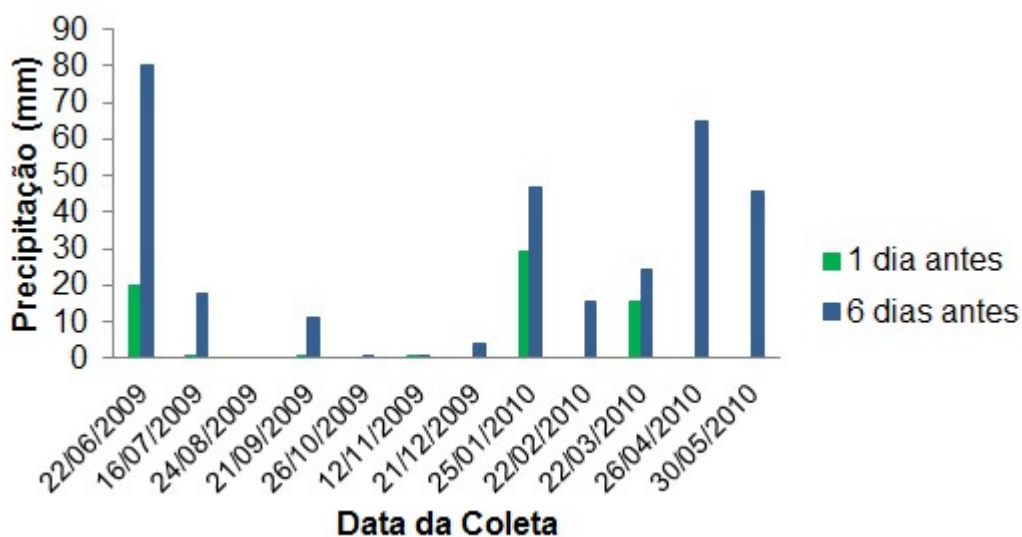
Os altos valores de concentrações observados em São Caetano de Odivelas ocorreram durante o período menos chuvoso. Segundo Mendes (2005) em períodos de estiagem, a influência da maré é maior que a descarga fluvial e, portanto, a água oceânica, rica em suspensão, alcança maiores extensões ao longo do estuário. Além disso, Miranda et al. (2002) afirmam que em alguns sistemas a influência da maré é maior na entrada do estuário, pois constitui uma região forçada pelas ondas de gravidade geradas na plataforma continental. Podendo justificar maiores concentrações de STD em São Caetano de Odivelas em relação à Curuçá.

Resultado inverso ocorreu em Curuçá, onde os STD apresentaram maiores concentrações no período chuvoso, onde o acúmulo de bactérias pelas ostras também foi maior. De acordo com Boehm et al. (2003) a sedimentação de micro-organismos de origem entérica e a ressuspensão de partículas do sedimento, provocadas pela variação de maré e pelo aumento do volume de água durante as chuvas, podem ser um fator importante no aumento da concentração bacteriana na

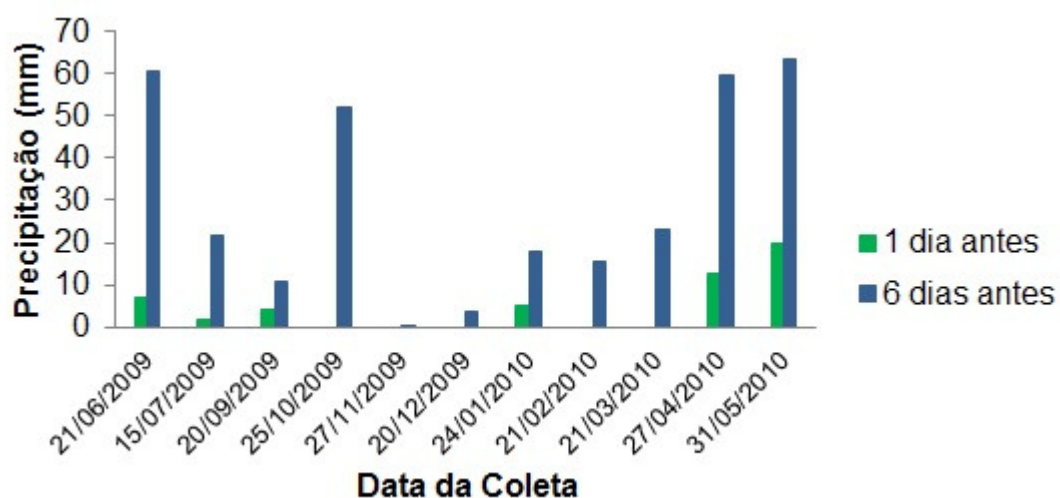
água e nos moluscos. Os STD em níveis elevados prejudicam a biota aquática, pois possuem a capacidade de reter bactérias no sedimento, causando a decomposição anaeróbia (CETESB, 2008).

#### 4.1.6 Precipitação

Conforme os dados de pluviometria os meses com maior precipitação ocorreram em junho de 2009 e abril de 2010, com média de 13,2 mm/dia e 12,9 mm/dia respectivamente. As figuras 23 e 24 mostram a precipitação ocorrida um dia antes da coleta e o volume acumulado durante os seis dias que antecederam as coletas.



**Figura 23:** Dados de precipitação obtidos 1 dia anterior a coleta e volume total de 6 dias anteriores a coleta em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.

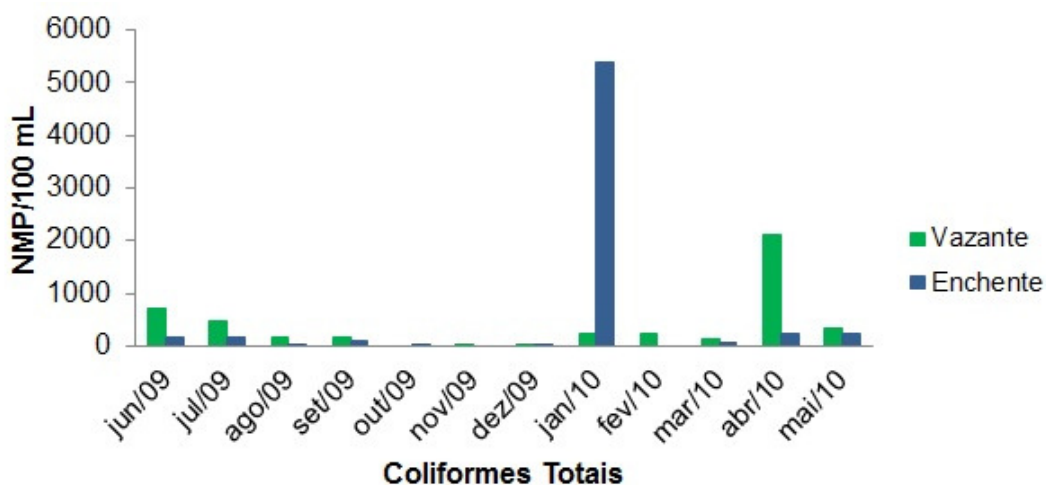


**Figura 24:** Dados de precipitação obtidos 1 dia anterior a coleta e volume total de 6 dias anteriores a coleta em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

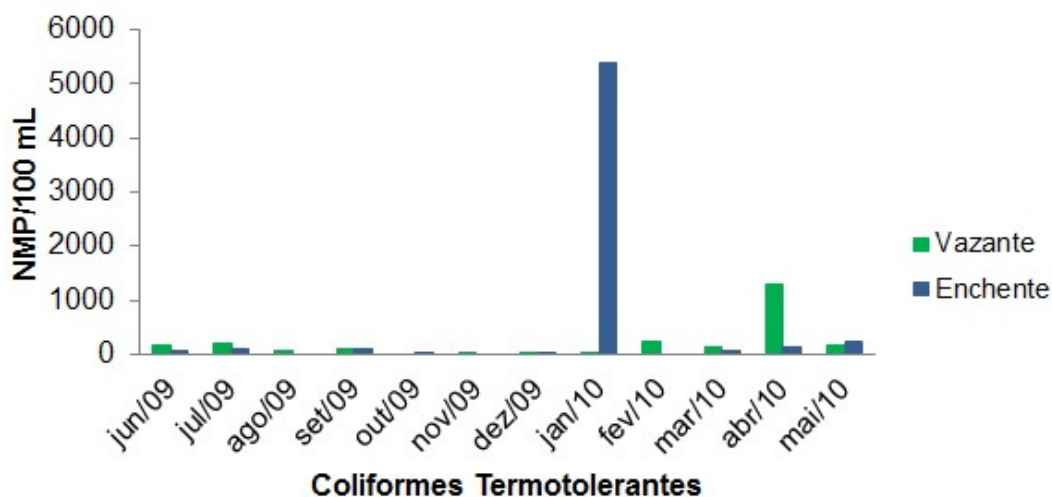
A variação temporal de precipitação, no nordeste paraense, compreende dois períodos, o período chuvoso, que ocorre, geralmente, nos meses de janeiro a junho e o período menos chuvoso nos meses de julho a dezembro (MORAES et al., 2005). A disponibilidade hídrica, também, é acentuada nos primeiros seis meses e escassa no restante do ano (PARÁ, 2009).

#### 4.2 Concentração de coliformes em água de cultivo.

No cultivo de São Caetano de Odivelas a água apresentou o menor valor de coliformes totais ( $< 3$  NMP/100 mL) em outubro de 2009 e o maior valor em janeiro de 2010 ( $5,4 \times 10^3$  NMP/100 mL) (Figura 25). Para coliformes termotolerantes a menor concentração ( $< 3$  NMP/100 mL) foi em outubro de 2009 e a maior ( $5,4 \times 10^3$  NMP/100 mL) em janeiro/2010 (Figura 26).

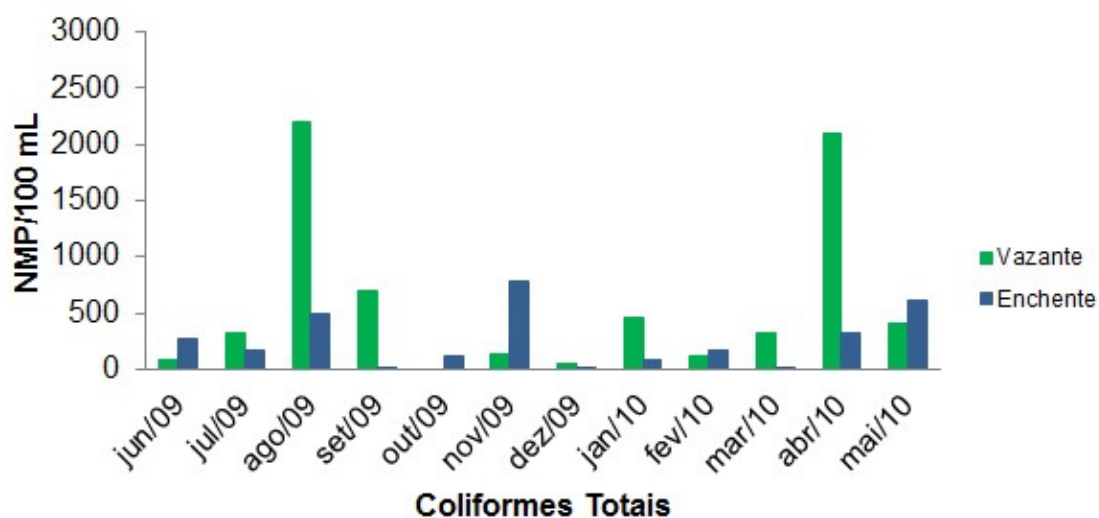


**Figura 25:** Concentração de coliformes totais de amostras de água, coletadas em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.

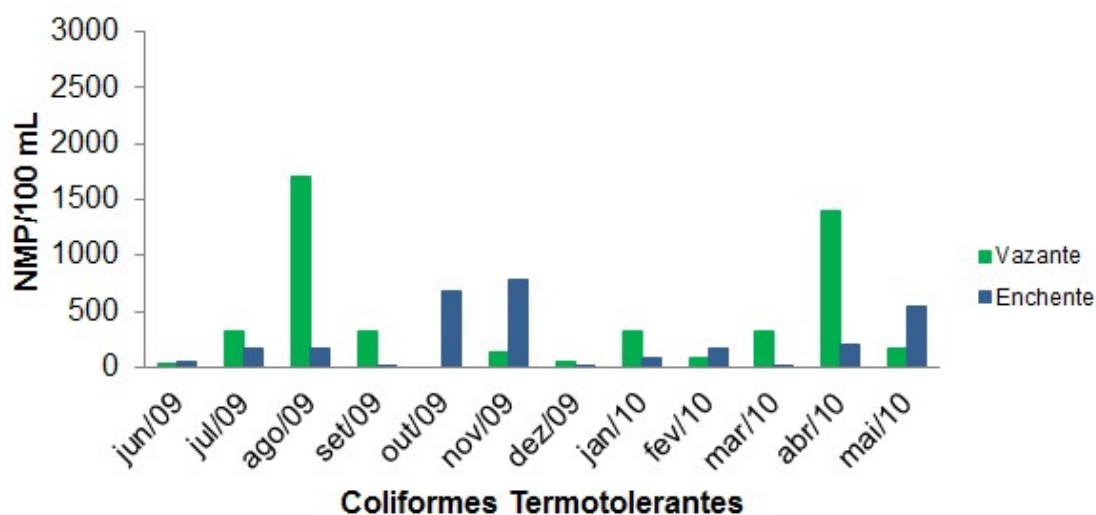


**Figura 26:** Concentração de coliformes termotolerantes de amostras de água coletadas em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.

Em Curuçá a análise da água de cultivo apresentou menor concentração de coliformes totais ( $< 3$  NMP/100 mL) em outubro de 2009 e o maior ( $2,2 \times 10^3$  NMP/100 mL) em agosto de 2009, ambas na vazante (Figura 27). Para coliformes termotolerantes a variação foi de  $< 3$  NMP/100 mL, em outubro de 2009 a  $1,7 \times 10^3$  NMP/100 mL, em agosto de 2009 (Figura 28).



**Figura 27:** Concentração de coliformes totais de amostras de água coletadas em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.



**Figura 28:** Concentração de coliformes termotolerantes de amostras de água coletadas em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

A maior concentração de coliformes termotolerantes foi encontrado em São Caetano de Odivelas, com  $5,4 \times 10^3$  NMP/100 mL. No Estuário do Rio Ceará, Fortaleza, também apresentou valores altos de C. termotolerantes, com concentrações de até  $4,8 \times 10^3$  NMP/100 mL (FARIAS et al., 2010).

A média geométrica dos resultados de coliformes termotolerantes das 24 amostras de água coletadas em São Caetano de Odivelas foi de 119 CT/100 mL e um percentual de 50% ficou acima de 88 CT/100 mL. Em Curuçá essa média foi de 163,21 NMP/100 mL, sendo que apenas 35,7% das amostras apresentaram valores abaixo de 88 NMP/100 mL.

Conforme a Resolução Nº 357/2005 do CONAMA para a água destinada ao cultivo de moluscos para a alimentação humana a média geométrica de um mínimo de 15 amostras não pode ultrapassar o valor de 43 NMP/100 mL e o percentil de 90% não deverá ultrapassar 88 NMP/100 mL. Dessa forma a média de 119 NMP/100 mL e 163 NMP/100 mL encontrada no cultivo de São Caetano de Odivelas e Curuçá, respectivamente estão muito acima do valor permitido.

Diferente do encontrado por Vieira et al. (2008) no estuário do Rio Pacoti, onde a média geométrica apresentou-se satisfatória, com um valor de 27 NMP/100 mL.

### **4.3 Resultados Estatísticos**

#### **4.3.1 Teste de Correlação de Spearman entre os Valores de Precipitação e os Parâmetros Físico-Químicos.**

O regime sazonal apresentou correlação com os seguintes parâmetros ambientais: salinidade, temperatura e pH.

Entre os resultados significativos apresentados em São Caetano de Odivelas estão: a precipitação acumulada durante seis dias anteriores à coleta, que apontou relação inversa com as taxas de salinidade obtidas durante as marés vazante ( $r_s = -0,76$ ) e enchente ( $r_s = -0,85$ ), e com a temperatura ( $r_s = -0,63$ ) obtida durante a vazante. (Tabela 1)

**Tabela 1:** Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em São Caetano de Odivelas: precipitação x parâmetros físico-químicos.

<b>Precipitação</b>	<b>Parâmetros Físico-químicos</b>	<b>Maré</b>	<b>Coefficiente de Spearman (rs)</b>
Volume pluviométrico durante os seis dias que antecederam a coleta	Salinidade	Vazante	- 0,76
	Salinidade	Enchente	- 0,85
	Temperatura	Vazante	- 0,63

Em Curuçá as correlações significativas ocorreram entre: o volume de precipitação obtidos no dia anterior à coleta com os valores de pH ( $rs = - 0,76$ ) e salinidade ( $rs = - 0,61$ ) coletados durante a maré vazante; o volume pluviométrico observado ao longo de seis dias antes da coleta com as concentrações de salinidade ( $rs = - 0,62$ ), obtidos durante a maré vazante; o volume de precipitação obtidos um dia antes da coleta com o pH ( $rs = - 0,77$ ) e a precipitação acumulada durante seis dias anteriores à coleta apresentou correlação com a salinidade ( $rs = - 0,61$ ). (Tabela 2)

**Tabela 2:** Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá: precipitação x parâmetros físico-químicos.

<b>Precipitação</b>	<b>Parâmetros Físico-químicos</b>	<b>Maré</b>	<b>Coefficiente de Spearman (rs)</b>
Dia anterior à coleta	pH	Vazante	- 0,76
	pH	Enchente	- 0,77
	Salinidade	Vazante	- 0,61
Volume pluviométrico ao longo de seis dias antes da coleta	Salinidade	Vazante	- 0,62
	Salinidade	Enchente	- 0,61

De acordo com Carvalho et al. (2000) o pH aproxima-se da alcalinidade em períodos chuvosos, pois com o aumento do volume da água ocorre maior diluição e diminuição da acidez, ou seja o aumento do pH.

Apenas em São Caetano de Odivelas foi verificado a correlação entre pluviosidade e pH. Apesar da correlação apresentada se mostrar inversa a afirmação de Carvalho et al. (2000) os valores de pH permaneceram próximos a alcalinidade, no intervalo entre 6,3 a 8,5. Relação inversa também foi encontrada por Ramos e Castro (2004), onde os menores valores de pH ocorreram no período chuvoso, apresentando pH no intervalo de 6,5 a 7,7.

#### **4.3.2 Teste de Correlação de Spearman entre Coliformes e Parâmetros Físico-Químicos.**

Em São Caetano de Odivelas os resultados obtidos durante a maré vazante apontaram relação entre coliformes totais e pH ( $r_s = -0,70$ ), temperatura ( $r_s = -0,91$ ), salinidade ( $r_s = -0,89$ ) e em relação a precipitação acumulada em seis dias anteriores à coleta ( $r_s = 0,77$ ). No entanto para coliformes termotolerantes observou-se a relação entre temperatura ( $r_s = -0,60$ ) e salinidade ( $r_s = -0,83$ ), durante a maré vazante. Para os valores obtidos durante a maré enchente os coliformes apresentaram relação apenas com a precipitação acumulada ao longo de seis dias antes à coleta, tanto para coliformes totais ( $r_s = 0,75$ ) quanto para termotolerantes ( $r_s = 0,67$ ). (Tabela 3)



**Tabela 3:** Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em São Caetano de Odivelas: coliformes x parâmetros físico-químicos.

<b>Coliformes</b>	<b>Parâmetro físico-químico</b>	<b>Maré</b>	<b>Coefficiente de Spearman (rs)</b>
C. Totais	pH	Vazante	- 0,70
	Temperatura	Vazante	0,91
	Salinidade	Vazante	- 0,89
	Precipitação acumulada em 6 dias anteriores à coleta	Vazante	0,77
C. Termotolerantes	Temperatura	Vazante	- 0,60
	Salinidade	Vazante	- 0,83
C. Totais	Precipitação acumulada em 6 dias anteriores à coleta	Enchente	0,75
C. Termotolerantes	Precipitação acumulada em 6 dias anteriores à coleta	Enchente	0,67

Em Curuçá os testes estatísticos de correlação de Spearman indicaram relação entre coliformes totais e precipitação ocorrida no dia anterior a coleta ( $rs=0,63$ ) e entre coliformes totais e pH ( $rs= - 0,61$ ), durante a enchente. (Tabela 4)

**Tabela 4:** Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá: coliformes x parâmetros físico-químicos.

<b>Coliformes</b>	<b>Parâmetro físico-químico</b>	<b>Maré</b>	<b>Coefficiente de Spearman (rs)</b>
C. Totais	Precipitação do dia anterior à coleta	Enchente	0, 63
	pH	Enchente	- 0,61

Considerando que a precipitação pode aumentar rapidamente o nível de contaminação microbiológica, alterando a qualidade da água (WHO, 2006), os resultados da correlação entre a concentração de coliformes e o índice de precipitação obtidos em São Caetano de Odivelas apontam a influência do volume pluviométrico acumulado durante os seis dias que antecederam a coleta sobre a presença de coliformes no local do cultivo.

Em Curuçá essa relação foi apontada entre coliformes totais e precipitação ocorrida no dia anterior a coleta.

Em São Caetano de Odivelas os dois maiores picos de concentrações de coliformes ocorreram nos meses de janeiro e abril de 2010, sendo que o primeiro coincidiu com um grande volume de precipitação registrada no dia anterior à coleta, e o segundo pode ter sido influenciado pela maré vazante através do transporte de dejetos contaminados provenientes das comunidades próximas.

Relação semelhante foi encontrado por Silva et al. (2009) onde observou que a qualidade das águas diminuiu em período chuvoso na costa da região metropolitana de Fortaleza, confirmando que a intensidade pluviométrica contribui para o processo de lixiviação. Outra consequência provocada pela chuva, de acordo com Pereira et al. (2001), é o aumento da vazão de água doce nos estuários, diminuindo a salinidade e favorecendo a sobrevivência das bactérias.

Dessa forma a salinidade se apresenta como um fator limitante da sobrevivência e multiplicação de micro-organismos, como por exemplo a *Escherichia coli* (VIEIRA et al., 2001).

Em relação a temperatura, verificou-se correlação com coliformes, totais e termotolerantes, em São Caetano de Odivelas. Sendo que para o primeiro a correlação foi positiva ( $r_s$  0,91) e negativa para os termotolerantes ( $r_s$  -0,60). Deve-se considerar, portanto, que a maior correlação foi positiva, indicando que estes micro-organismos se desenvolvem melhor em temperaturas mais elevadas. Assim como observado em estudo de Carvalho et al. (2000) que também apresentou correlação positiva com o crescimento dos coliformes.

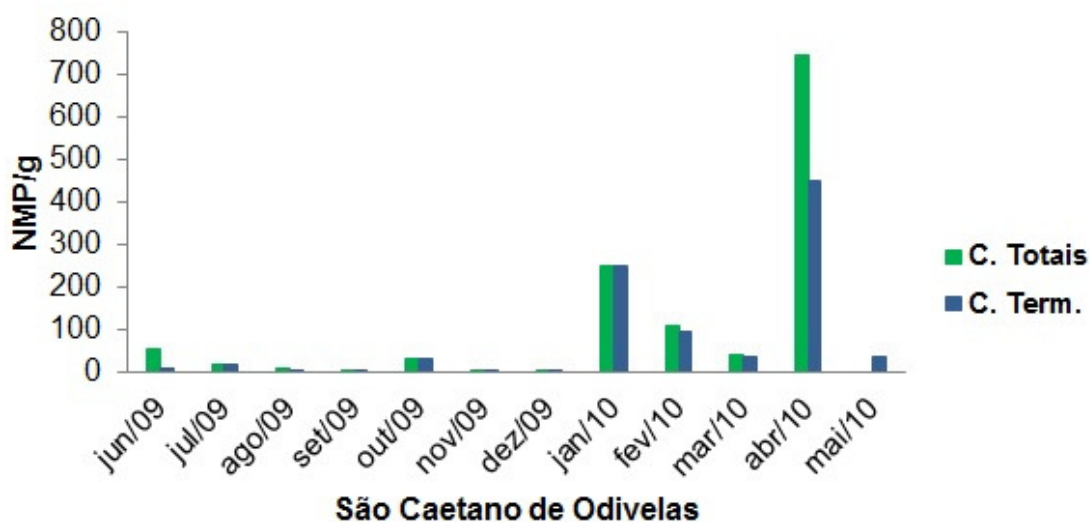
### **4.3.3 Teste de Mann-whitney**

Os resultados dos testes de Mann-whitney não apontaram variações significativas nas concentrações de coliformes, totais e termotolerantes, obtidas a partir das amostras de água em relação à variação de marés em São Caetano de Odivelas e Curuçá.

Embora as maiores concentrações de coliformes tenham sido observados, em grande parte, durante a maré vazante nas duas áreas de estudo a amostragem não foi suficiente para confirmar estatisticamente essas concentrações como dependente da variação de maré. No entanto essas oscilações podem ressuspender as bactérias presentes no sedimento, como mencionado anteriormente, sendo que a maré vazante pode contribuir efetivamente no aumento dos coliformes em áreas costeiras, pois aumentam a diluição com a água doce, diminuindo a salinidade (PORTNOY e ALLEN, 2006).

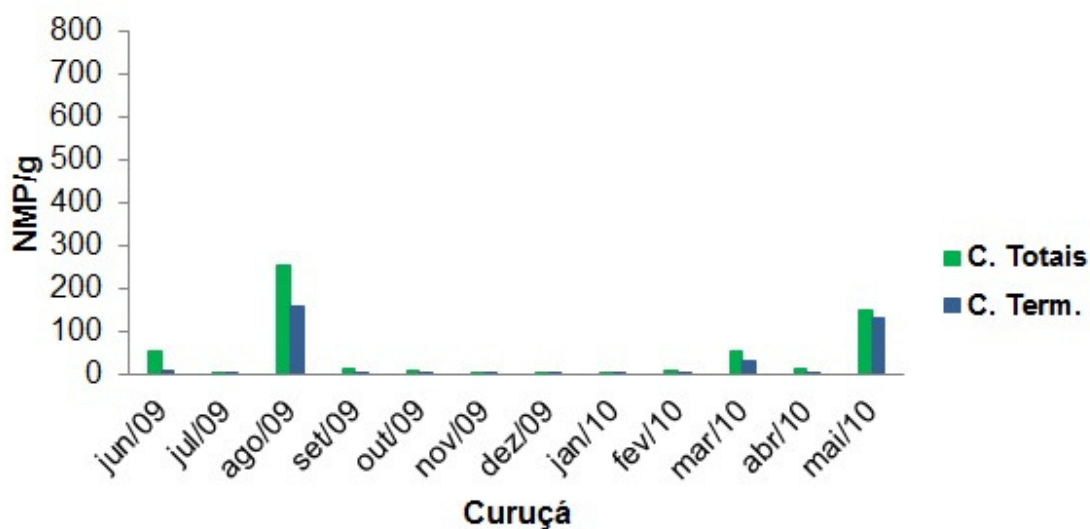
### **4.4 Concentração de Coliformes em Ostras de Cultivo.**

Em São Caetano de Odivelas a menor concentração ( $3,0 \times 10^0$  NMP/g) de coliformes totais nas ostras coletadas ocorreu em novembro e dezembro de 2009 e a maior ( $7,47 \times 10^2$  NMP/g) em abril de 2010. Para coliformes termotolerantes a menor concentração ( $< 3 \times 10^0$  NMP/g) ocorreu em dezembro de 2009 e a maior ( $4,48 \times 10^2$  NMP/g) em abril de 2010. (Figura 29)



**Figura 29:** Concentração de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.

Em Curuçá as ostras apresentaram concentrações de coliformes totais entre  $2 \times 10^0$  NMP/g em dezembro e janeiro de 2009 a  $2,55 \times 10^2$  NMP/g em agosto de 2009. Enquanto que para os coliformes termotolerantes as concentrações variaram entre  $2 \times 10^0$  NMP/g em dezembro e janeiro de 2009 a  $1,58 \times 10^2$  NMP/g em agosto de 2009 NMP/g. (Figura 30)



**Figura 30:** Concentração de coliformes totais e termotolerantes em amostras de ostras coletadas em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

Os padrões de qualidade microbiológicas referentes aos moluscos no Brasil é estabelecido pela Resolução N°12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001). No entanto, esses limites são estabelecidos apenas para o consumo de ostras não crua, sendo que grande parte das ostras, no nordeste paraense, são consumidas *in natura*.

Considerando o exposto, optou-se por comparar as condições sanitárias das ostras com uma legislação internacional, a *The European Union Shellfish Quality Assurance Programme* (EUSQAP), que classifica as ostras em três classes de acordo com o índice de contaminação microbiana: A, B e C. Para a classe A o limite para coliformes termotolerantes é de que seja menor que 300 NMP/100 g, para a classe B, determina que 90% das amostras não podem exceder a 6.000 NMP/100 g e para a classe C, os valores não podem exceder 60.000 NMP/100 g (RODGERS, 2001).

Considera-se que a classe A indica as ostras adequadas para o consumo, a classe B aponta que é necessário o processo de depuração e na classe C são as ostras impróprias para o consumo.

Dessa forma, as ostras analisadas em São Caetano de Odivelas foram classificadas da seguinte forma: duas amostras (16,6%) na classe A; sete (58,3 %) na classe B e 3 (25%) na classe C. Enquanto em Curuçá três amostras (25%) foram classificadas na classe A, sete (58%) na classe B e duas amostras (17%) na classe C. Portanto, nas duas áreas de estudos foram adquiridas, em menor número, amostras impróprias para consumo.

No estudo realizado em 2006 no estuário do rio Pacoti, Ceará, também foram identificadas ostras com concentrações de coliformes acima do permitido pela EUSQAP, onde nove amostras de ostras se enquadraram na classe A, cinco na classe B e uma na classe C (VIEIRA et al., 2008). Assim como em estudo realizado em um cultivo do complexo estuarino de Paranaguá onde somente as ostras coletadas em duas ilhas (Cobras e Rasa) das cinco analisadas apresentaram-se próprios para consumo (KOLM e ABSHER, 2008).

Apesar de, em determinados períodos, a quantidade de coliformes ter se apresentado em níveis não satisfatórios, algumas medidas podem ser aplicadas

como alternativa para o aumento da qualidade bacteriológica desses moluscos, como, por exemplo, a técnica de depuração ou purificação.

Essa técnica consiste em remover os contaminantes microbianos dos moluscos bivalves, colocando-os em tanques com água do mar limpa, onde ficarão por algumas horas filtrando essa água e eliminando os contaminantes (FAO, 2008). Alguns métodos de depuração são mais aprimorados e fazem uso de grandes estruturas e equipamentos tecnológicos para purificar a água.

#### 4.4.1 Resultados Estatísticos das Análises em Ostras.

Em Curuçá as concentrações de coliformes totais apresentaram relação inversa com a salinidade ( $r_s = -0,60$ ). Entre os coliformes termotolerantes também se observou relação com a salinidade ( $r_s = 0,75$ ), além dos STD ( $r_s = 0,67$ ). (Tabela 5)

Em São Caetano de Odivelas as concentrações de coliformes totais apresentaram correlação com a precipitação acumulada em 6 dias que antecederam a coleta ( $r_s = 0,75$ ) e com a salinidade ( $r_s = -0,63$ ). Enquanto as concentrações de coliformes termotolerantes apenas com a precipitação acumulada em 6 dias que antecederam a coleta ( $r_s = 0,60$ ). (Tabela 5)

**Tabela 5:** Resultados significativos do teste de Correlação de Spearman em Curuçá e São Caetano de Odivelas: coliformes presentes em ostras x parâmetros físico-químicos.

Local	Coliformes	Parâmetro físico-químico	Coefficiente de Spearman ( $r_s$ )
Curuçá	C. Totais	Salinidade	- 0,60
	C. Termotolerantes	Salinidade	- 0,75
	C. termotolerantes	STD	0,67
S.C. de Odivelas	C. Totais	Salinidade	- 0,63
	C. Totais	Precipitação acumulada em 6 dias anteriores à coleta	0,75
	C. Termotolerantes	precipitação acumulada em 6 dias anteriores à coleta	0,60

No cultivo de São Caetano de Odivelas as maiores concentrações de coliformes presentes nas amostras de ostras foram apresentadas durante o período chuvoso. De acordo com Rippey (1994) a sazonalidade do nível das águas favorece o crescimento das taxas de bioacumulação nesses organismos, aumentando os riscos de contaminação e, conseqüentemente, a incidência de doenças relacionadas ao consumo de moluscos.

#### **4.5 Comparação Entre Concentração de Coliformes Presentes em Água e Ostras.**

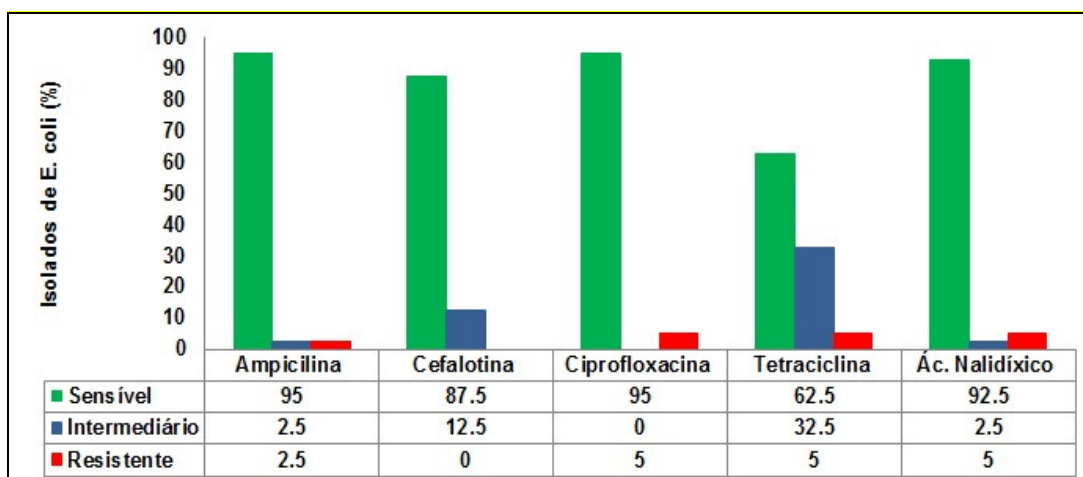
As ostras adquiridas nos dois locais de estudos apresentaram maior contaminação em relação a água de cultivo. Os trabalhos de Doré e Lee (1995) e Food and Drug Administration (2009) afirmam que valores elevados de contaminação microbiana são também encontrados na parte mole do molusco que podem acumular bactérias, vírus e substâncias químicas em quantidades maiores que a água do ambiente circundante. Ressaltando que esses fatores contribuem para a multiplicação de micro-organismos patogênicos, aumentando os riscos de contrair doenças de origem alimentar (PEREIRA et al., 2007).

Estudo realizado por Sonier et al. (2006) no estuário Richibucto, Canadá, durante o período de 2003/2004 também indicou que as concentrações de coliformes presentes na água foram menores do que encontradas nas ostras, ratificando a elevada capacidade de acumulação de bactérias pelas ostras.

#### **4.6 Perfil de suscetibilidade de *Escherichia coli* presentes em água e ostras de cultivo.**

Em São Caetano de Odivelas de um total de 40 isolados de *E. coli* obtidos a partir da água de cultivo, 5% se mostraram resistentes aos antibióticos ciprofloxacina, tetraciclina e ácido nalidíxico. Os antimicrobianos que apresentaram maior espectro de ação foram a ampicilina e ciprofloxacina, com 95% dos isolados

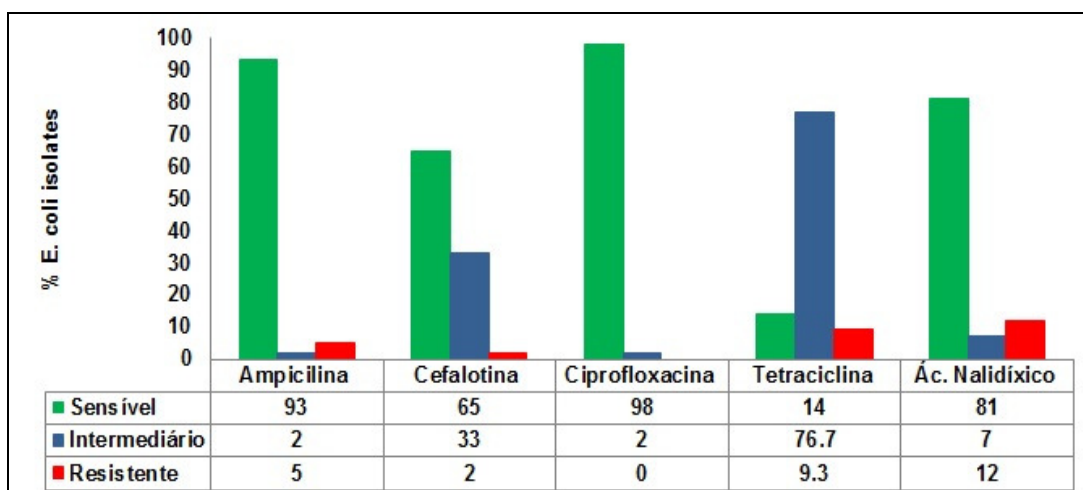
sensíveis, e o que apresentou menor efeito foi a tetraciclina com 62% dos isolados sensíveis (Figura 31).



**Figura 31:** Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados de *E. coli* presentes nas amostras de águas obtidas em Pererú de Fátima, São Caetano de Odíveas, Pará.

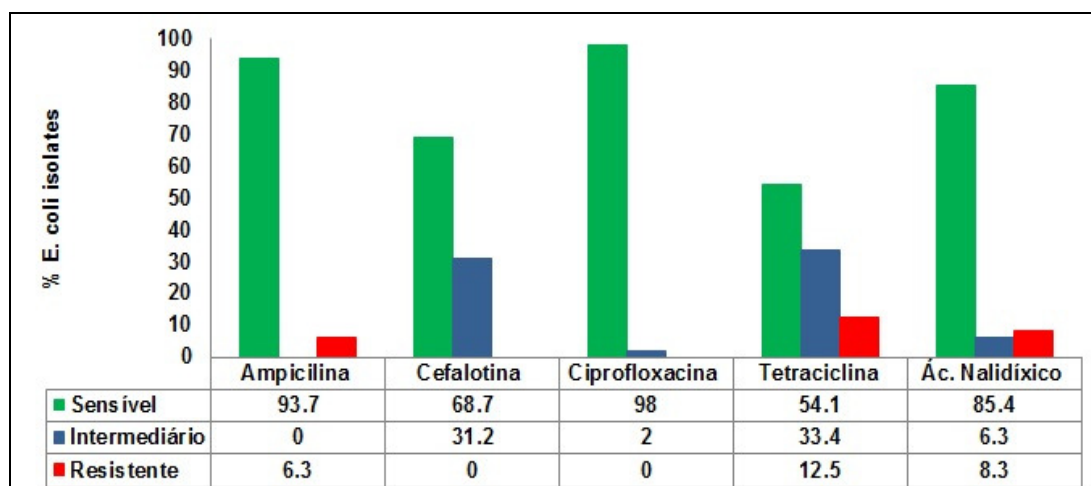
A partir das amostras de ostras foram isoladas 43 cepas de *E. coli*. Os antibióticos que apresentaram maior espectro de ação foram ácido ciprofloxacina, com 98% de cepas sensíveis, seguido de ampicilina, com 93% de cepas suscetíveis. Os antimicrobianos com menor espectro de ação foram o ácido nalidixico, com 12% de cepas resistentes, a tetraciclina, com 9,3% de cepas resistentes e apenas 14% sensíveis (Figura 32).





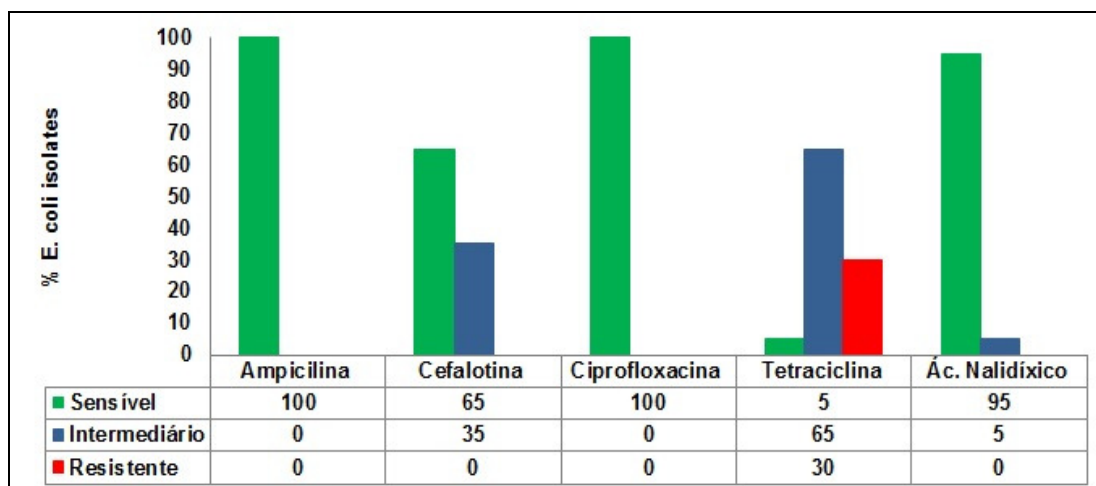
**Figura 32:** Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos de *E. coli* presentes nas amostras de ostras obtidas em Pererú de Fátima, São Caetano de Odivelas, Pará.

Em Curuçá entre os 48 isolados de *Escherichia coli* procedentes das amostras de água, observou-se o maior percentual de resistência frente ao antibiótico Tetraciclina (12,5%), seguido do Ácido Nalidíxico (8,3%) e Ampicilina (6,3%). No entanto, o antibiótico que mostrou ter melhor espectro de ação foi Ciprofloxacina, no qual 98 % dos isolados foram sensíveis, como indicado na figura 33.



**Figura 33:** Perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos de *E. coli* presentes nas água de cultivo em Lauro Sodrê, Curuçá, Pará.

Foram obtidos 20 isolados de *Escherichia coli* a partir de ostras do cultivo de Curuçá, que indicaram resistência apenas a tetraciclina, com um percentual de 30%. A ampicilina, ciprofloxacina e ácido nalidíxico mostraram maior efeito nos testes, os dois primeiros com 100% e o último com 95% de eficácia (Figura 35).



**Figura 34:** Perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos de isolados de *E. coli* presentes nas amostras de ostras obtidas em Lauro Sodré, Curuçá, Pará.

Os resultados indicaram que, nas duas áreas de estudos, o antimicrobiano com menor espectro de a o foi a tetraciclina e os que apresentaram maior eficácia foram a ampicilina, ciprofloxacina e ácido nalidíxico.

Resultado diferente foi encontrado por Barros et al. (2005) na praia do Futuro, Fortaleza-Ceará, onde testaram a sensibilidade antimicrobiana de 60 cepas de *E. coli*, isoladas de amostras de ostras, indicando que todas as amostras oriundas de um determinado ponto foram sensíveis a tetraciclina. Enquanto que Vieira et al. (2008) identificou, no estuário do Rio Pacoti, Ceará, linhagens provenientes das amostras de água com maior percentual de resistência aos antibióticos imipenem (80%) e a ampicilina (48%), e um percentual menor de resistência a tetraciclina (24%), ácido nalidíxico (16%) e ciprofloxacina (8%). As cepas de *E. coli* isoladas a partir das amostras de ostras indicaram um percentual de resistência de 100% ao imipenem, 25% a tetraciclina e nenhuma resistência a ampicilina, enquanto que para

o ácido nalidíxico e ciprofloxacina um percentual de 100% das amostras se mostraram sensíveis.

De acordo com Barros et al. (2005) ao determinar o perfil de suscetibilidade deve-se considerar a influência dos fatores ambientais, que podem apresentar, em momentos diferentes, outros perfis de sensibilidade que condicionam riscos à saúde dos consumidores em decorrência da circulação dos genes de resistência na área de cultivo.

Entre as principais reações genéticas que resultam no desenvolvimento da resistência aos antibióticos estão relacionados com as bactérias presentes na microbiota humana e animal, em instalações hospitalares, em locais com presença de resíduos sólidos e esgotos, especialmente em corpos hídricos, onde os organismos bacterianos podem se misturar e reagir geneticamente (BAQUERO et al., 2008).

## **5 CONCLUSÕES GERAIS**

A qualidade sanitária da água de cultivo coletadas nos municípios de Curuçá e São Caetano de Odivelas estiveram acima do recomendado pela Resolução N° 357/2005 do CONAMA durante o período de estudo. Assim como as amostras de ostras das duas localidades também apresentaram concentrações de coliformes acima do indicado pelo The European Union Shellfish Quality Assurance Programme (EUSQAP).

As maiores concentrações de coliformes ocorreram durante a vazante em Curuçá e durante a enchente em São Caetano de Odivelas. Levando em consideração a localidade desse dois municípios, pode-se inferir que a maré, durante a vazante, carrega os contaminantes das comunidades a montante das estruturas de cultivo. Enquanto que em São Caetano de Odivelas a maré enchente pode ter represado os contaminantes na área do cultivo.

As ostras se mostraram mais contaminadas durante os meses com maior precipitação, verificando-se, também, a influência dos STD no aumento de acumulação de coliformes por esses moluscos, indicando que quanto maior a taxa

de STD, a probabilidade das bactérias *Escherichia coli* se agregarem as partículas e serem filtradas pelas ostras são maiores.

Os resultados obtidos neste trabalho são importantes para avaliar as condições sanitárias apresentadas nas duas áreas de cultivos de ostras no período estudado. Nesse contexto, verifica-se a necessidade de medidas higiênicas e sanitárias nesses ambientes para que o processo de cultivo de ostras atenda aos padrões mínimos estabelecidos, visando o interesse do estado na expansão comercial da ostreicultura.

## 6 REFERÊNCIAS

APHA. American Public Health Association . **Standart Methods For The Examination Of Water And Wasterwater**. 19<sup>th</sup> Ed. 1999.

AVIZ, D.; MELLO, C.F.; SILVA, P.F. Macrofauna associada às galerias de *Neoteredo reynei* (Bartsch, 1920) (Mollusca: Bivalvia) em troncos de *Rhizophorae mangle* Linnaeus durante o período menos chuvoso, em manguezal de São Caetano de Odivelas, Pará (costa norte do Brasil). **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, Belém, v. 4, n. 1, p. 47-55, 2009.

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. . **Bioestat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. IDSM/MCT/CNPq. Pará. 2007.

BAQUERO, F.; MARTINEZ, J.L.; CANTÓN R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 260-265, 2008.

BARROS, L.M.O.; THEOPHILO, G.N.D.; COSTA, R.G.; RODRIGUES, D.P.; VIEIRA, R.H.S.F. Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciências Agrônômicas**, v.36, n.3, p. 285-289, 2005.

BARROSO, C.X.; MATTEWS-CASCON, H. Distribuição espacial e temporal da malacofauna no estuário do Rio Ceara, Ceará, Brasil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, n. 1, p. 79-86, 2009.

BOEHM, A.B. Model of microbial transport and inactivation in the surf zone and application to field measurements of total coliform in Northern Orange County, California. **Environ. Sci. Technol**, v. 37, n. 24, p. 5511-5517, 2003.

BOON, P.I.; CATTANACH, M. Antibiotic resistance of native and faecal bacteria isolated from rivers, reservoirs and sewage treatment facilities in Victoria, south-eastern Australia. **Letters in Applied Microbiology**, v. 28, p. 164-168, 1999.

BORGHETTI, J.R.; SILVA, U.A.T. Principais sistemas produtivos empregados comercialmente. In OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276p.

BOSCARDIN, N.R. A Produção aquícola brasileira. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276p.

BRASIL. Agência Nacional de Águas . **Indicadores de qualidade: Índice de Qualidade das Águas**. 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão**. v. 23, n.1, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC- Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Decreto de 13 de Dezembro de 2002. Cria a Reserva Extrativista Mãe Grande de Curuçá, no Município de Curuçá, no Estado do Pará e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de dezembro de 2002. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/DNN/2002/Dnn9774.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/DNN/2002/Dnn9774.htm)>. Acesso em 01 de maio de 2009.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, 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, 18 de março de 2005.

CANEPARI, P.; PRUZZO, C. Human pathogens in water: insights into their biology and detection. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 241-243, 2008.

CARVALHO, A.D.; SCHLITTER, F.H.M.; TORNISIELO, V.L. Relações da atividade agropecuária com parâmetros físico químicos da água. **Química Nova**, v. 23, n. 5, 2000.

CASTILHO, G.G.; PEREIRA, L.A.; PIE, M.R. Aquicultura, Segurança Alimentar, Sanidade e Meio Ambiente. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276p

CERUTTI, R.L.; BARBOSA, T.C.P. Flora bacteriana heterotrófica em ostras *Crassostrea rhizophorae* e águas da Baía Norte, ilha de Santa Catarina, Brasil. **Revista de Microbiologia**, v. 22, p 330-334, 1991.

CETESB- Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Relatório de Balneabilidade das Praias Paulistas**. São Paulo. 2003. 206p.

CETESB- Companhia de Tecnologia E Saneamento Ambiental. Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. In: **Qualidades das Águas Interiores do Estado de São Paulo**. 2008.

COMMITTEE ON BEST PRACTICES FOR SHELLFISH MARICULTURE AND THE EFFECTS OF COMMERCIAL ACTIVITIES IN: **Ecosystem concepts for sustainable bivalve mariculture**. PT. Reyes National Seashore. Califórnia. 2010. 190p.

COOKE, M.D. Antibiotic resistance among coliform and fecal coliform bacteria isolated from sewage, seawater, and marine shellfish. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, p.879-884, 1976.

DIEGUES, A. C. e P. C. ROSMAN. **Caracterização dos ativos ambientais em áreas selecionadas da zona costeira brasileira**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 1998.

DIEGUES, A.C. Para uma aquicultura sustentável do Brasil. **NUPAUB (Núcleo de Apoio à Pesquisa Sobre Populações Humanas e Áreas Úmidas Brasileiras-USP**, n. 3, 2006.

DORÉ, W.J.; LEE, D.N. Behavior of *Escherichia coli* and male-specific bacteriophage in environmentally contaminated bivalve mollusks before and after depuration. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 61, n. 8, p. 2830-2834, 1995.

EMILIANI, F. Effects of hydroclimatic anomalies on bacteriological quality of the Middle Paraná River (Santa Fe, Argentina). **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 36, p. 193-201, 2004.

ESTEVEZ, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. Interciência, Rio de Janeiro, 1998. 602 p.

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

FAO. World review of fisheries and aquaculture. In: FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**. Rome: editorial Group FAO, 2009.

FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne disease. **Microbes and Infection**, v.2, p. 1651-1660, 2000.

FIGUEIREDO, E.M.; FURTADO, L.G.; CASTRO, E.R. Trabalhadores da pesca e a Reserva Extrativista Marinha Mãe Grande de Curuçá: impactos socioambientais da rodovia PA-136. **Amazônia: Ci. & Desenv.**, Belém, v. 5, n.9, 2009.

FDA. Food and Drug Administration. **Cooperative Program Ensure Safe Shellfish**. FDA Consumer Health Information. 2009.

FURTADO, L.G.; NASCIMENTO, I.H DO; SANTANA, G.; MANESCHY, M.C.; Formas de utilização de manguezais no litoral do estado do Pará: casos de Marapanim e São Caetano de Odivelas. **Amazônia: Ci. & Desenv**, Belém, v. 1, n. 2, 2006.

GIARRIZZO, T.; KRUMME, U. Spatial differences and seasonal cyclicity in the intertidal fish fauna from four mangrove creeks in a salinity zone of the Curuçá estuary, north Brazil. **Bulletin of Marine Science**, v. 80, n. 3, 2007.

GIARRIZZO, T.; SAINT-PAUL, U. Ontogenetic and seasonal shifts in the diet of the pemecou sea catfish *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae), from a macrotidal mangrove creek in the Curuçá estuary, Northern Brazil. **Rev. Biol. Trop.**, v. 56, n.2, p. 861-873, 2008.

GOURMELON, M.; LAZURE, P.; HERVIO-HEATH, D.; LE SAUX, J.C.; CAPRAIS M.P.; LE GUYADER, F.S.; CATHERINE, M.; POMMEPUY, M. Microbial modelling in coastal environments and early warning systems: useful tools to limit shellfish microbial contamination. In: World Health Organization (WHO). **Safe Management of Shellfish and Harvest Waters**. Edited by REES, G.; POND, K.; KAY, D. BARTRAM, J.; SANTO DOMINGO, J. IWA Publishing, London, 2010.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis- **Estatística da pesca 2006: Brasil, grandes regiões e Unidades da Federação**. Publicado em 09 de outubro de 2008.

ISAAC, V. J.; MARTINS, A. S.; HAIMOVICI, M.; CASTELLO, J. P.; ANDRIGUETTO FILHO, J. M. Síntese do estado de conhecimento sobre a pesca marinha e estuarina do Brasil. In: ISAAC, V. J.; MARTINS, A. S.; HAIMOVICI, M.; ANDRIGUETTO FILHO, J. M. (orgs.). **A pesca marinha e estuarina do Brasil no início do século XXI: recursos tecnologias, aspectos socioeconômicos e institucionais**. Belém, Ed. UFPA, p. 181-188, 2006.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KATHIRESAN, K.; BINGHAM, B.L. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. **Advances in Marine Biology**, v. 40, p. 81-251, 2001.

KJERFVE, B.; LACERDA, L.D. Mangroves of Brazil. **Mangrove Ecosystems Technical Reports**, v. 2, p. 245-272, 1997.

KOLM, H.E.; ABSHER, T.M. Bacterial density and coliform organisms in waters and oysters of Paranaguá estuarine complex, Paraná, Brazil. **B.Inst.Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 49-59, 2008.

LEE, J.T.; SARPEDONTI, V. Diagnóstico, tendência, potencial e política pública para o desenvolvimento da aquicultura. In: **Diagnóstico da Pesca e da Aquicultura do Estado do Pará**. Belém: Secretaria de Estado de Pesca e Aquicultura, v 6, 2008, 109p.

LENOCH, R. Saúde pública e os moluscos marinhos cultivados. **Revista Gerenciamento Costeiro Integrado**, n.3, p. 15-17, 2004.

LIPP, E.K.; KURZ, R.; VINCENT, R.; RODRIGUEZ-PALACIOS, C.; FARRAH, S.R.; ROSE, J.B. The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in a subtropical estuary. **Estuaries**, v 24, n. 2, p. 266-276, 2001.



MACHADO, I.C. et al. Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*). 2. Análise da ostra (tecidos moles e líquido intra-valvar). **Ver. Hig. Alim.**, v. 15, n.83, p. 44-48, 2001.

MARTORANO, L.G. **Estudos climáticos do estado do Pará: classificação climática de Köppen e deficiência hídrica**. SUDAM/EMBRAPA/SNLCS. Belém, p. 1-53, 1993.

MCGRATH, D.G.; ALMEIDA, O.; VOGT, N.; PORTILHO, A. Diagnóstico, tendências potencial, estrutura institucional e políticas públicas para o desenvolvimento sustentável da pesca e aquicultura. In: **Diagnóstico da Pesca e da Aquicultura do Estado do Pará**. Belém: Secretaria de Estado de Pesca e Aquicultura, v. 7, 2008. 117p.

MENDES, A.C. Geomorfologia e Sedimentologia. In: FERNANDES, M.E.B. **Os Manguezais da costa Norte Brasileira**. Belém: Petrobrás/ Fundação Rio Bacanga, v.2, p. 13-32, 2005.

MENDES, A.C.; PROST, M.T.; CASTRO, E. **Ecosistemas amazônicos: dinâmicas, impactos e valorização dos recursos naturais**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2011. 436 p.

MIRANDA, B.L.; CASTRO, B.M.; KJERVE, B. **Princípios de Oceanografia Física de Estuários**. EDUSP, São Paulo, 2002.

MORAES, B.C. DE; COSTA, J. M.N.DA; COSTA, A. C. L. DA; COSTA, M. H. Variação espacial e temporal da precipitação no estado do Pará. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 2, p. 207-214, 2005.

NASCIMENTO, I. Tempo de fartura e tempo de famitura no litoral do Pará. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, Belém, v. 1, n. 2, p. 23-33, 2006.

NISHIDA, A.K.; NORDI, N.; ALVES, R.R.N. Abordagem Etnoecológica da coleta de moluscos no litoral Paraibano. **Tropical Oceanography**, Recife, v. 32, n. 1, p. 53-68, 2004.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A. Principais Problemas Enfrentados Atualmente pela Aquicultura. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**, Brasília, 2008. 276p.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.A.; CHAMMAS, M.A. Potencial para o desenvolvimento da aquicultura no Brasil. In: OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276p.

PARÁ. Secretaria de Estado de Planejamento, Orçamento e Finanças. **Estatística Municipal: São Caetano de Odivelas**, 2009.

PEREIRA, O.M.; MACHADO, I.C.; HENRIQUES, M.B.; YAMANAKA, N. Crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* semeada sobre tabuleiro em diferentes densidades na região estuarino-lagunar de Cananéia- SP (25° S, 48° W). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 163-174, 2001.

PEREIRA, M.A. ; NUNES, M.M. ; NUERNBEG, L. ; SCHULZ, D. ; BATISTA, C.R.V. Microbiological quality of oysters (*crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis – Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p. 159-163, 2006.

PEREIRA, S.C.; VIANA, C.M.; RODRIGUES, D.P. *Vibrios* patogênicos em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) servidas em restaurantes no Rio de Janeiro: um alerta para a saúde pública. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 300-303, 2007.

POMMEPUY, M.; HERVIO-HEATH, D.; CAPRAIS, M.P.; GOURMELON, M.; LE SAUX, J.C.; LE GUYADER, F. Fecal contamination in coastal areas: An engineering approach. In: **Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment**, p. 331-359, 2005.

PORTNOY, J.W.; ALLEN, J.R. Effects of tidal restrictions and potential benefits of tidal restoration on fecal coliform and shellfish-water quality. **Journal of Shellfish Research**, v. 25, n. 2, p. 609-617, 2006.

QUEIROZ, J.F.; LOURENÇO, J.N.P.; KITAMURA, P.C.; SCORVO FILHO, J.D.; CYRINO, J.E.P.; CASTAGNOLLI, N.; VALENTI W.C.; BERNARDINO, G. Aquaculture in Brazil: research priorities and potential for further international collaboration. **World Aquaculture**, p. 45-50., 2005.

RAMOS, R.S.; CASTRO, A.C.L. Monitoramento das variáveis físico-químicas no cultivo de *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca) (Guilding, 1928) no estuário de Paquetiua-Alcântera/MA, Brasil. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 17, p. 29-42, 2004.

RIPPEY, S.R. Infectious Diseases associated with molluscan shellfish consumption. **Clinical Microbiology Reviews**, p. 419-425, 1994.

REES, G.; BARTRAM, J.; KAY, D. Expert Consensus. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Safe management of shellfish and harvest waters**. Editado por: REES, K.; POND, K.; BARTRAM J.; SANTO DOMINGO, J.W. IWA Publishing, 2010.

RODGERS, C.J. **The NSW shellfish quality assurance program: an operational review**. Sidney: Safe Food Production NSW, 2001. 146p

SANTO DOMINGO, J.W.; Edge, T.A. Identificação of primary sources of faecal pollution. In:World Health Organization. **Safe Management of Shellfish and Harvest Waters**. Iwa Publishing, 2010.

SILVA, A.I.M.; VIEIRA, R.H.S.F.; MENEZES, F.G.R.; FONTENELES-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.

SILVA, N.Da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S. dos; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed., São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552 p.

SILVA, A.E.P.; ANGELIS, C.F.; MACHADO, L.A.T.; WAICHAMAN, A.V. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p.733-742, 2008.

SILVA, A.C.; PINHEIRO, L.S.; MAIA, L.P. Estudo hidrodinâmico, climático e bacteriológico associados às fontes pontuais de poluição ao longo do Litoral de Fortaleza. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 14, n. 2, p 83-90, 2009.

SOLIC, M. K., N.; JOZIC, S. AND CURAC, D. The rate of concentration of faecal coliforms in shellfish under different environmental conditions. **Environmental International**, v. 25, n. 8, p. 991-1000, 1999.

SONIER, R.; MAYRAND, E.; OULLETTE, M.; BOGHER, A.D.; MALLET, V. Spatial and temporal faecal coliform variations in surface water, sediments and cultivated oyster's meat, *Crassostrea virginica*, from Richibucto estuary, New Brunswick. **Can. Tech. Fish. Aquat. Sci.**, 2006. 28 p.

SOUZA FILHO, P.W.M.Costa de manguezais de macromaré da Amazônia: cenários morfológicos, mapeamento e quantificação de áreas usando dados de sensores remotos. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 23, n. 4, p. 427-435, 2005.

SPEIGHT, M.; HENDERSON, P. **Marine Ecology: concepts and applications**. Wiley-Blackwell. 2010. 256 p.

TAVARES, M.C.S.; JÚNIOR, I.F.; SOUZA, R.A.L.; BRITO, C.S.F. A pesca de curral no estado do Pará. **Bol. Téc. Cient.**, Belém: Cepnor, v. 5, n. 1, p. 115-139, 2005.

TUCCI, C.E.M. **Modelos Hidrológicos**.2ªed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.

TURECK, C. R.; OLIVEIRA, T. N. DE. Sustentabilidade Ambiental e Maricultura. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, Joinville, v. 4, n. 2, p. 22-26, 2003.

TURECK, C. R.; OLIVEIRA, T. M. N. DE; CREMER, M. J.; BASSFELD, J. C. Avaliação da concentração de metais pesados em tecido de ostras *Crassostrea gigas* (Molusca, Bivalve) cultivadas na Baía da Babitonga, litoral Norte de Santa Catarina. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 16, p. 53-62. 2006.

VASCO, A.N.; MELLO JÚNIOR, A.V.; SANTOS, A.C.A.da S.; RIBEIRO, D.O.; 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. 9, 2010.

VIEIRA, R.H.S.F.; SILVA, A. I. M.; SOUSA, O.V.; HOFER, E.; VIEIRA, G.H.F.; SAKER, S. A.; LIMA, E. A. Análise experimental sobre a viabilidade de *Escherichia coli* em água do mar. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v 34, p 43-48, 2001.

Vieira, R.H.S.F.; Atayde, M.A.; Carvalho, E.M.R. de; Carvalho, F.C.T. de; Fonteles-Filho, A.A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Braz. J. Vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

WHO. World Health Organization. **Guidelines for safe recreational waters- water environments**. WHO/EOS. Geneva. 1998.

WHO. World Health Organization. **Guidelines for Drinking-water Quality**, v. 1, 2006. 515 p.

WHO. World Health Organization. **Antimicrobial Resistance**. Fact Sheet N° 194. 2010. Disponível em:<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>> Acesso em: 20 dez 2010.