

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE MOLUSCOS BIVALVES COLETADOS, CULTIVADOS E COMERCIALIZADOS NA COSTA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Chemical and microbiological characterization of bivalve mollusks collected, cultivated and marketed at the State of Rio de Janeiro coast

Lua Newman¹, Ana Célia Barbosa², Anely Machado de Oliveira Leite¹, Michael Douglas Peçanha de Souza³, Mauricio Mussi Molisani¹

¹ Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade (Nupem), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

² Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

³ Universidade Federal do Rio de Janeiro, campus Macaé (UFRJ)

RESUMO

Ostras e mexilhões são comumente coletados, cultivados e comercializados para consumo humano, embora o hábito alimentar filtrador possa concentrar contaminantes químicos e microrganismos, principalmente em ambientes costeiros localizados em centros urbanos. Este estudo avaliou sazonalmente os teores de metais, coliformes totais e *E. coli* em moluscos bivalves coletados e cultivados em regiões de estuário e sob influência do mar aberto no estado do Rio de Janeiro, além de organismos comercializados em supermercados do município do Rio de Janeiro, gerando conhecimento sobre a importância da localização dos organismos coletados ou cultivados e sobre a qualidade dos bivalves comercializados. As ostras coletadas no estuário, principalmente no período de estiagem, foram mais susceptíveis à contaminação por *E. coli* do que os organismos coletados e cultivados sob influência do mar aberto. Em relação aos metais, pôde-se observar que as concentrações não tiveram importantes variações temporais e espaciais nos ambientes amostrados, à exceção dos maiores valores de metais terrígenos em ostras do estuário. Já os mexilhões comercializados tiveram importante variação temporal, com maiores valores na estação de chuvas, além de considerável variação espacial entre os locais de comercialização, com algumas amostras tendo valores superiores (Zn) e similares (Pb) aos valores de referência da legislação.

Palavras-chave: metais, bactérias, *Escherichia coli*, ostra, mexilhão, contaminação.

Recebido em: 28/03/2019

Aprovado em: 01/12/2020

Publicado online em: 20/05/2021

ABSTRACT

Oyster and mussel are commonly collected, cultivated and marketed for human consumption, although the filter feeder habits may concentrate chemicals and microorganisms, mainly in urban coastal environments. This study seasonally monitored metals, total coliform and E. coli in bivalve mollusks collected, cultivated in estuarine and open sea regions of the State of Rio de Janeiro, and in organisms commercialized in supermarkets from the municipality of Rio de Janeiro, providing knowledge about the importance of location where organisms are collected or cultivate, and about the commercialized bivalve quality. Oysters collected in the estuary, mainly in the dry season were more susceptible to E. coli contamination than organisms collected and cultivated in open sea areas. Considering the metal distribution, oyster concentrations did not present important temporal and spatial variations among the coastal environments, excepted for the higher values of terrigenous metals in the estuarine oyster. For metal concentrations in the commercialized mussels in the Rio de Janeiro markets, values had large temporal variation, with higher values in the rainy season and considerable mussel metal variation among different supermarkets, with some samples presented higher (Zn) or similar (Pb) values compared to the legislation reference values.

Keywords: *metals, bacteria, Escherichia coli, oyster, mussel, contamination.*

INTRODUÇÃO

Os moluscos bivalves marinhos, como as ostras *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) e os mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758), são comumente coletados ou cultivados visando à comercialização para consumo humano, sendo a malacocultura uma importante atividade econômica em várias regiões do Brasil (Resgalla Jr.; Weber & Conceição, 2008; FAO, 2015). Os moluscos se alimentam, por filtração, de algas microscópicas e do material particulado em suspensão na água dos ambientes onde estão naturalmente presentes ou cultivados. Devido a essa característica, podem concentrar contaminantes químicos e microbiológicos presentes na água, comprometendo o consumo (Souza & Petcov, 2013).

Ao longo do tempo, os ambientes costeiros, onde ocorrem a retirada e o cultivo dos moluscos, vêm apresentando expressivas modificações por causa da urbanização, industrialização e navegação, entre outros fatores, que resultam no despejo de uma diversidade de efluentes que podem modificar o *habitat* e, conseqüentemente, comprometer a qualidade química desse recurso biológico (Mustafa & Shapawi, 2015). Da mesma forma, devido à capacidade de concentrar certos agentes patogênicos (bactérias, vírus e alguns parasitas) presentes na coluna d'água, o consumo de moluscos bivalves crus ou malcozidos, retirados de águas contaminadas, potencializa o risco de ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). O consumo de ostras cruas já foi associado a surtos de febre tifoide e paratifoide, norovírus, hepatite A, entre outros (Anon, 2017; Walker *et al.*, 2018). Sendo assim, a análise das fontes e dos tipos de contaminação fecal, bem como um monitoramento microbiológico com uso de microrganismos indicadores, fornece uma avaliação do risco de ocorrência de prováveis patógenos alimentares (Anon, 2017). Todo esse cenário sobre a contaminação das águas costeiras afetando a qualidade do bivalve também está associado às características dos ambientes costeiros, onde se escolhe coletar ou criar os

moluscos. Por exemplo, os estuários são reconhecidamente locais onde a ocupação humana pode afetar a qualidade dos organismos, em oposição a locais mais afastados da costa que recebem menor carga de poluentes, e há maior diluição e menor tempo de residência das águas marinhas (Silva *et al.*, 2003; Amaral *et al.*, 2005).

Desse modo, a escolha do local de coleta e cultivo dos bivalves, bem como a comercialização para consumo humano devem ser avaliadas em qualquer região costeira densamente urbanizada ou em vias de crescimento socioeconômico, que pode apresentar a qualidade das águas depreciada, comprometendo a atividade econômica da malacocultura. Como exemplo, podemos citar o estado do Rio de Janeiro, que abriga uma das maiores cidades costeiras do mundo, o município do Rio de Janeiro, com mais de seis milhões de habitantes, além de outras regiões, como a Região dos Lagos, que vem apresentando, nas últimas décadas, importantes transformações devido ao crescimento populacional e às atividades econômicas impulsionadas pelo turismo e pelas atividades de exploração de petróleo na Bacia de Campos. Como efeito do crescimento socioeconômico da região, vários estudos apontam a degradação de ambientes costeiros em razão da contaminação microbiológica e química (Molisani *et al.*, 2004; Lins-de-Barros, 2017; Barroso & Molisani, 2019; Staggemeier *et al.*, 2017), que podem comprometer a coleta, a criação, a comercialização e o consumo humano de moluscos bivalves. Por outro lado, o estado do Rio de Janeiro teve a produção de bivalves aumentada de 75 para 79 toneladas entre 2015 e 2016 (IBGE, 2016), embora dados sobre o consumo *per capita* sejam escassos (Suplicy, 2015). Da mesma forma, a região costeira do estado tem 64.800 hectares de áreas favoráveis para implantação de parques aquícolas para criação de bivalves, embora em muitas dessas áreas o cenário de degradação pela poluição urbana já tenha sido descrito (Diegues, 2006). Desse modo, este estudo visa avaliar os teores de metais e a qualidade microbiológica de ostras e mexilhões coletados, cultivados e comercializados em diferentes locais do estado do Rio de Janeiro, gerando informações que contribuam para a escolha de locais para coleta e cultivo, bem como a qualidade do recurso biológico comercializado para a população.

MATERIAL E MÉTODOS

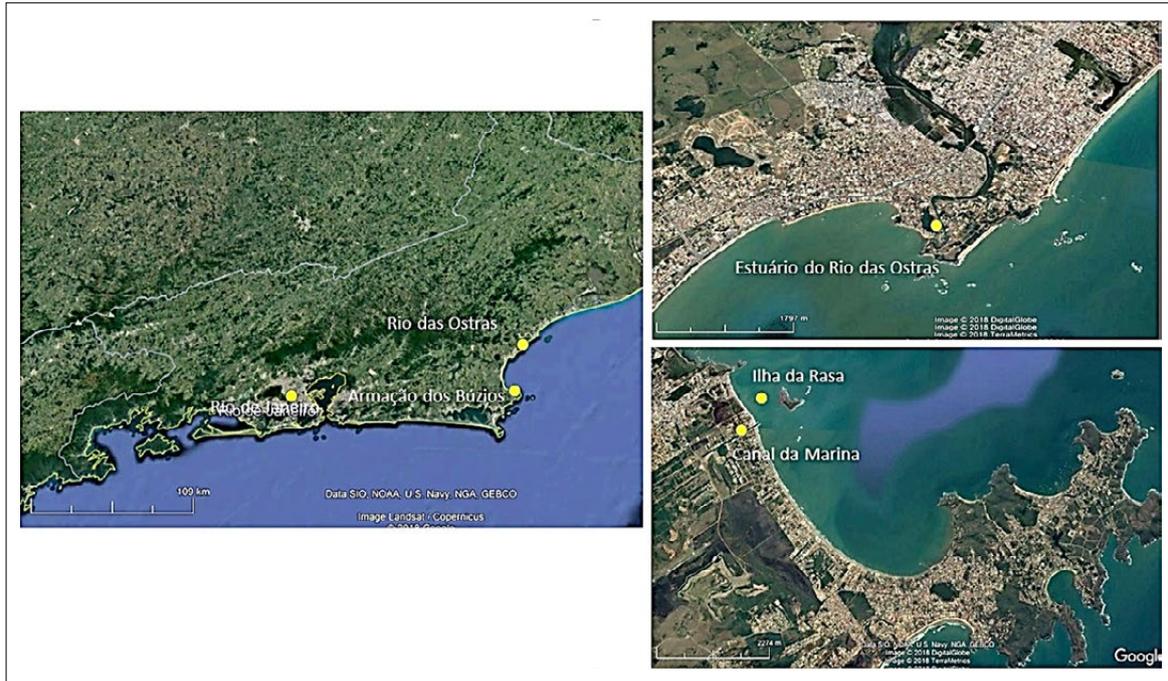
Coleta e preparo das amostras

Foram monitorados microrganismos indicadores do grupo coliformes e *Escherichia coli*, além da concentração de metais em ostras da espécie *Crassostrea brasiliana* coletadas no estuário do Rio das Ostras (município de Rio das Ostras), no Canal da Marina e em uma fazenda de aquicultura no mar próximo à Ilha da Rasa, ambos no município de Armação dos Búzios, na Região dos Lagos. Uma outra análise visou avaliar a concentração de metais em mexilhões *Perna perna* comercializados em supermercados do município do Rio de Janeiro (Figura 1).

As ostras que são retiradas para comercialização foram amostradas em um costão rochoso no estuário do Rio das Ostras (22°31'53''S/41°56'09''O), localizado na zona urbana do município de Rio das Ostras, e em um costão rochoso localizado no Canal da Marina (22°44'09''S / 41°57'79''O), no município de Armação dos Búzios (Figura 1). Da mesma forma, foram coletadas ostras em uma fazenda de criação na Ilha da Rasa, também no município de Armação dos Búzios (22°44'30''S/41°56'16''O). As amostragens ocorreram entre maio de 2015 e junho de 2016, totalizando 10 eventos. Em cada local, em torno de 10 indivíduos foram coletados, embalados em saco plástico estéril e armazenado em gelo e trans-

portados até o Laboratório Integrado de Microbiologia e Bioprocessos para análises microbiológicas, localizado no Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade, da Universidade Federal do Rio de Janeiro em Macaé.

Figura 1 – Locais no estado do Rio de Janeiro onde foi analisada a qualidade das ostras coletadas/retiradas (estuário do Rio das Ostras e Canal da Marina) e cultivadas (Ilha da Rasa) e dos mexilhões comercializados em supermercados no município do Rio de Janeiro



Em outra análise, amostras de mexilhões foram adquiridas em supermercados do município do Rio de Janeiro, nos bairros de Copacabana, Madureira, Padre Miguel, Bangu, Barra de Guaratiba, Pedra de Guaratiba, Campo Grande e Sepetiba. No momento da compra foi questionada a origem dos mexilhões, porém não foi fornecida a procedência dos alimentos, embora houvesse a afirmação de que foram adquiridos no estado do Rio de Janeiro. As compras foram realizadas em fevereiro e agosto de 2016, com o intuito de avaliar a sazonalidade das concentrações de metais nos mexilhões nos períodos de chuva e estiagem, respectivamente.

Tanto para as ostras como para os mexilhões, as amostras foram selecionadas visando reduzir a variação de tamanho, observando uma faixa entre 4,5 cm e 8,0 cm dos organismos coletados. No laboratório, as ostras e os mexilhões foram lavados em água corrente, abertas em fluxo laminar com auxílio de uma espátula estéril e o tecido mole retirado.

Análises microbiológicas

Para cada local e evento de coleta, cerca de 100 g do material interno composto de líquido intravalvar e tecido mole das ostras foram coletados e uma porção representativa de 25 g desse material foi homogeneizada com 225 mL de solução salina a 0,85%, obtendo-se a diluição 10^{-1} . Após a realização das diluições decimais seriadas, uma alíquota de 1,0 mL das respectivas diluições foi inoculada em placas Petrifilm® EC (3M), incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas para contagem de coliformes totais e *E. coli*.

Análises de metais

Da mesma forma, para cada local e evento de coleta, os indivíduos de ostras e de mexilhões foram liofilizados e macerados formando amostras compostas de cada espécie visando às análises de metais (Al, Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd). Uma alíquota de 1,0 g de cada amostra composta da biomassa dos moluscos liofilizada foi digerida por 5,0 mL de HNO₃ “overnight”, em temperatura ambiente. No dia seguinte foi adicionado 2,0 mL de peróxido de hidrogênio e a solução aquecida em bloco digestor (30 minutos a 40 °C; 30 minutos a 70 °C; 30 minutos a 100 °C, sendo mantida até a evaporação do ácido). O extrato foi retomado e aferido com 25 mL de HNO₃ 0,5 N. As concentrações de metais, expressas em peso seco, foram obtidas por leitura em espectrofotômetro de absorção atômica Modelo AAnalyst 400 PerkinElmer. As análises foram realizadas em triplicata, com variação de < 10% entre as réplicas, além de branco analítico e padrão de referência (Mussel Tissue SRM 2976 NIST). A recuperação do padrão de referência indicou exatidões de: Al: 101%, Fe: 81%, Mn: 112%, Cu: 87%, Zn: 87%, Pb: 110%, Cd: 97%. Os limites de detecção do método analítico foram calculados por meio do desvio padrão de leituras de amostras em branco, apresentando os seguintes valores (µg/L): Al: 0,3; Fe: 0,2; Mn: 0,08; Cu: 0,1; Zn: 0,02; Pb: 0,3; Cd: 0,02. As concentrações de metais nas ostras foram analisadas avaliando a normalidade dos dados pelo teste Kolmogorov-Smirnov. As diferenças espaciais das concentrações de metais nas ostras e as diferenças entre as concentrações nos períodos de chuva e estiagem nas ostras e nos mexilhões foram avaliadas pelo teste Anova one-way seguido do post teste Bonferrone. As diferenças foram consideradas expressivas, com nível de significância de 95%. Todos os testes foram realizados no programa GraphPad Prism Software Package, version 5.0.

RESULTADOS

Análises microbiológicas

A Tabela I apresenta os valores médios de contagens e a frequência de ocorrência de colônias de coliformes totais e *E. coli* nas amostras de ostras coletadas e cultivadas na Região dos Lagos. De acordo com os resultados, as ostras coletadas no estuário do Rio das Ostras apresentaram os maiores valores de colônias de bactérias quando comparadas com as ostras coletadas e cultivadas na região de Búzios, que tiveram as menores contagens. Sazonalmente, as ostras coletadas na Região dos Lagos apresentaram maior frequência de ocorrência por coliformes totais no período chuvoso (67%) em relação ao período de estiagem, com uma maior contribuição das ostras provenientes de Rio das Ostras. No entanto, para contagens de *E. coli*, o maior percentual de ocorrência foi no período de estiagem, com 24%. Destes, cerca de 19% das amostras de ostras foram oriundas do estuário de Rio das Ostras.

No município de Armação dos Búzios, amostras contaminadas com *E. coli* foram detectadas em ambos os locais de coleta no período de chuva, com média correspondente a 8,3 e 3,3 UFC/g na área de coleta e cultivo, respectivamente. Em Rio das Ostras não houve detecção do microrganismo no período chuvoso, enquanto no período de estiagem os valores médios da contagem foi de 1,7 e de 1,4 UFC/g (4,8% ocorrência) para região de retirada de moluscos em Búzios (Tabela II).

Tabela I – Média das contagens e frequência de ocorrência (FO) de células viáveis de coliformes totais e *E. coli* em amostras de ostras amostradas entre 2015 e 2016, durante o período chuvoso e seco, de áreas de coleta e cultivo no estado do Rio de Janeiro

	Período de chuva				Período de seca			
	Coliformes totais (UFC/g)		<i>E. coli</i> (UFC/g)		Coliformes totais		<i>E. coli</i>	
	FO	Média (UFC/g)	FO	Média (UFC/g)	FO	Média (UFC/g)	FO	Média (UFC/g)
Rio das Ostras (coleta)	33%	3,1 x 10 ²	0	0	33%	1,2 x 10 ²	19%	1,7
Búzios - canal (coleta)	22%	1,2 x 10 ²	11%	8,3	19%	4,4 x 10 ¹	4,8%	1,4
Búzios - ilha (cultivo)	11%	3,2 x 10 ¹	11%	3,3	4,8%	5,7	0	0

Tabela II – Contagens das células viáveis de *E. coli* (UFC/100g) de amostra de ostras retiradas e cultivadas na região de Rio das Ostras e de Armação de Búzios

Amostragem	<i>E. coli</i> (UFC/100g)		
	Rio das Ostras (área de coleta)	Búzios (área de coleta)	Búzios (área de cultivo)
1	4,0 x 10 ³	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
2	1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
3	6,0 x 10 ³	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
4	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
5	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
6	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
7	1,0 x 10 ³	2,5 x 10 ³	1,0 x 10 ³
8	< 1,0 x 10	1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10
9	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10
10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10

Análise de metais

A Figura 2 mostra as concentrações de metais nas ostras coletadas na foz do Rio das Ostras e no Canal da Marina em Búzios e na área de cultivo na Ilha da Rasa em Búzios. A variação temporal das concentrações indicou para todas as áreas valores estatisticamente similares ($p > 0,05$), à exceção de maiores valores de Fe na estação de seca e maiores concentrações de Cu na estação chuvosa nas ostras coletadas no costão rochoso na área de coleta em Búzios ($p < 0,05$). Quando analisada a variação espacial das concentrações comparando as três áreas amostradas, pôde-se observar similaridade das concentrações dos metais ($p > 0,05$), à exceção das concentrações de Al e Fe, que foram maiores nas ostras do estuário do Rio das Ostras.

Nos mexilhões comercializados pelos supermercados no município do Rio de Janeiro foi observada uma ampla variação das concentrações de metais ($\mu\text{g/g}$): Al: 10 – 483; Fe: 10 – 768; Mn: 0,20 – 75; Zn: 0,58 – 139; Cu: 0,10 – 12; Pb: 0,7 – 1,5; Cd: < LD – 0,60 (Tabela III). Essa variabilidade está relacionada, em parte, à variação sazonal das concentrações que tiveram, estatisticamente, maiores valores na estação de chuvas em relação aos mexilhões comprados no período de estiagem ($p < 0,05$). Também podem-se observar variações das concentrações de metais nos mexilhões (coeficiente de variação de 51% para Cd, 64% para Mn, 66% para Al, 68% para Cu, 73% para Fe, 83% para Zn) comprados em diferentes supermercados dos bairros do município, embora não tenha sido fornecido o local de procedência dos organismos.

Figura 2 – Variação sazonal das concentrações de metais em ostras coletadas e cultivadas na região de Armação de Búzios e Rio das Ostras

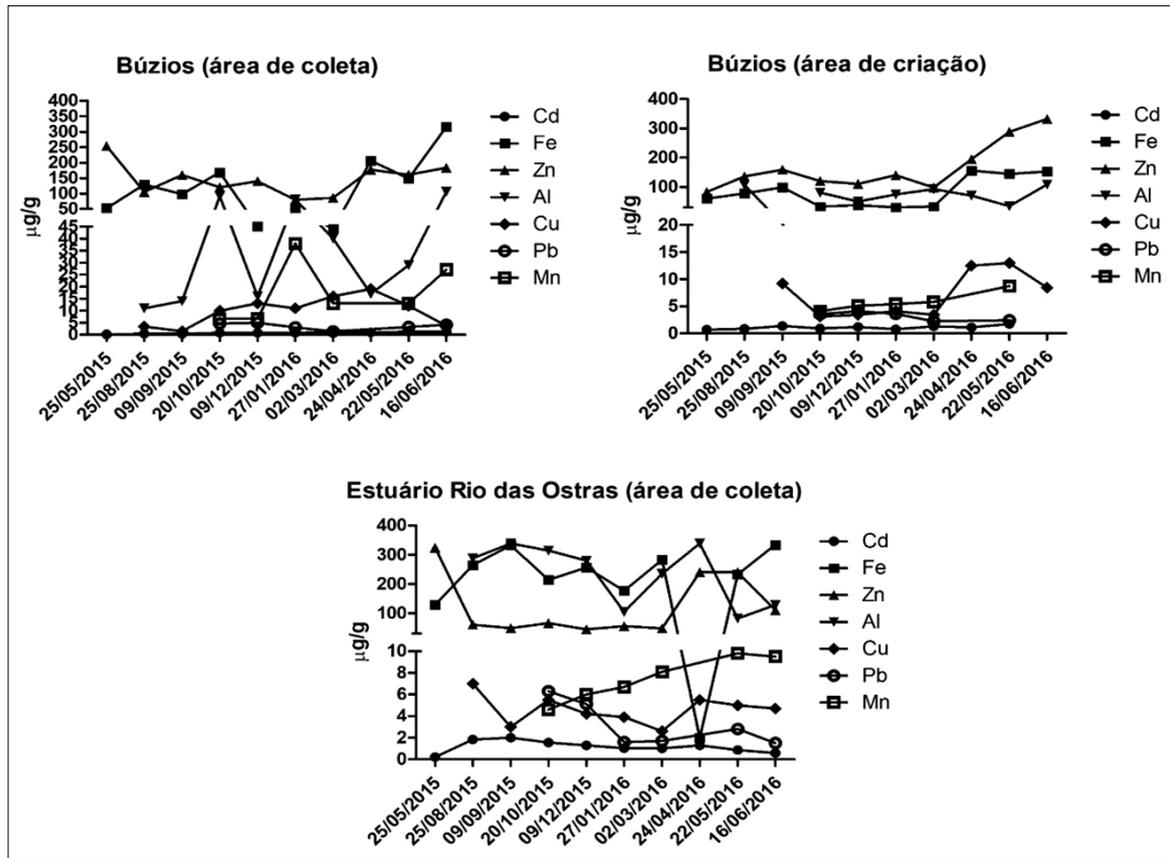


Tabela III – Concentrações de metais em mexilhões comercializados em supermercados de bairros no município do Rio de Janeiro e valores médios (desvio padrão) para os períodos de chuva e estiagem (valores em $\mu\text{g/g}$, LD valores abaixo do limite de detecção, - concentrações não analisadas)

	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
PERÍODO/CHUVA	193	768	46	10	5,5	1,3	0,42
Padre Miguel	92	141	43	103	7,6	LD	0,51
Bangu	179	705	75	139	12	1,5	0,64
Barra de Guaratiba	80	326	30	119	15	1,5	0,52
Sepetiba	-	118	52	21	2,4	0,70	0,46
Pedra de Guaratiba	483	363	32	22	4,5	LD	0,46
Campo Grande	332	210	26	104	9,5	LD	0,69
Copacabana	200	167	45	125	5,9	LD	0,46
	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
Madureira	193	768	46	10	5,5	1,3	0,48
MÉDIA (DP)	223(141)	349(254)	43(15)	80(53)	7,8(4,1)	1,2(0,4)	0,5(0,1)
PERÍODO/SECA							
Padre Miguel	33	41	0,48	0,58	0,75	-	LD
Bangu	41	50	2,77	0,64	LD	-	LD
Barra de Guaratiba	55	59	2,39	0,88	0,44	-	LD
Sepetiba	35	62	2,60	0,77	1,09	-	LD
Pedra de Guaratiba	55	13	0,33	1,84	0,41	-	LD
Campo Grande	10	10	0,20	-	0,39	-	LD
MÉDIA (DP)	38(16)	39(22)	1,5(1,2)	0,9(0,5)	0,5(0,3)	-	LD
Brasil/Anvisa	-	-	-	50	30	1,5	2,0

DISCUSSÃO

As concentrações de metais nas ostras coletadas e cultivadas na Região do Lagos e nos mexilhões comercializados nos supermercados no município do Rio de Janeiro foram comparadas com os limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (Brasil, 1998, 2013). Segundo essa comparação, as ostras coletadas e criadas tiveram valores superiores para Zn e Pb quando comparados aos valores da legislação. Já os mexilhões comprados em alguns supermercados no município do Rio de Janeiro, no período de chuvas, tiveram valores de Zn superiores e de Pb similares aos estabelecidos pela resolução da Anvisa, indicando a possibilidade de risco de acordo com a quantidade e a frequência de consumo desses mexilhões pela população (Tabela III).

Ferreira *et al.* (2013) realizaram uma revisão sobre a contaminação de metais em moluscos bivalves na costa brasileira, e os resultados indicaram que o estado do Rio de Janeiro possui regiões críticas em relação à contaminação ambiental e de organismos, como ostras e mexilhões. Entre essas áreas, foram citadas a Baía de Sepetiba e a Baía de Guanabara, ambas no município do Rio de Janeiro, que apresentaram enriquecimentos de Cd e Zn, sendo essas localidades possíveis fornecedores de bivalves para comercialização no município. Na Região dos Lagos, municípios como Cabo Frio e Arraial do Cabo aparentemente não apresentam importantes fontes de emissões de metais nem cenário de contaminação, embora também apresentem enriquecimentos dos elementos inorgânicos em moluscos. Outras regiões do estado apresentaram ausência de contaminação por metais em mexilhão *Perna perna*, como na região de Macaé no norte fluminense (Carvalho *et al.*, 2001). Entretanto, estudos recentes indicam que esses organismos podem estar susceptíveis a outros contaminantes, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), principalmente em regiões onde há intensa navegação e urbanização, como o estuário do Rio Macaé (Santiago *et al.*, 2016).

A análise espacial e temporal das concentrações de metais nas ostras e nos mexilhões indicou questões importantes sobre a coleta, o cultivo e a comercialização de moluscos bivalves no estado do Rio de Janeiro. Na Região dos Lagos, a variação espacial indicou similaridade das concentrações de metais, à exceção do Al e Fe nos organismos do estuário do Rio das Ostras. O estudo de Godiva *et al.* (2010) mostrou que sedimentos oriundos da bacia do Rio Macaé, que é o maior rio da região, são transportados pela costa, ao longo de um percurso de 44 km, passando por Rio das Ostras e atingindo a região de Búzios, onde recifes de corais, e possivelmente os moluscos, sejam influenciados pela deposição de sedimentos, indicando uma condição homogênea nessa região costeira, influenciada pelos aportes continentais e dispersos pela deriva litorânea.

Já os maiores valores de Al e Fe nas ostras coletadas no estuário do Rio das Ostras podem estar associados ao transporte fluvial de solos e minerais continentais ricos em aluminossilicatos e óxidos de ferro oriundos do Rio das Ostras, que são depositados no estuário, visto que esse ambiente costeiro tem uma capacidade de retenção acentuada de materiais fluviais e marinhos (Barroso & Molisani, 2019). A porção continental dessa região possui enriquecimentos geológicos de Al e Fe, bem como valores de Pb acima dos limites naturais regionais (Molisani *et al.*, 2015), o que pode explicar os enriquecimentos observados nas ostras. Em relação à variabilidade temporal, não foram observadas diferenças significativas entre as estações de chuva e seca para as ostras nos locais amostrados na Região dos Lagos.

Em relação às concentrações de metais nos mexilhões comercializados no Rio de Janeiro, foi observado que, embora não se saiba a origem dos organismos, os valores indicaram uma considerável variabilidade das concentrações, dependendo do supermercado que comercializa o mexilhão e, obviamente, do local de coleta ou cultivo. Como descrito em Ferreira *et al.* (2013), apesar de o município do Rio de Janeiro ter áreas contaminadas por metais, ainda há locais onde não se observam enriquecimentos de metais em moluscos bivalves. Por outro lado, foi constatada importante variação sazonal das concentrações de metais nos mexilhões comercializados no Rio de Janeiro, com maiores valores no período de chuvas, distribuição essa similar à observada para esses organismos criados na Baía de Guanabara (Vasques, 2018). Considerando que o município do Rio de Janeiro tem uma geomorfologia na qual predominam os maciços cristalinos, e poucos solos expostos em função da urbanização, além de possuir uma rede hidrográfica composta por pequenos riachos, pode-se supor que o aporte continental da zona costeira é reduzido no inverno. No entanto, no verão, por ação dos eventos intensos de chuva, há a intensificação de *runoff* urbano para a costa, explicando as maiores concentrações de metais nos organismos nesse período. Desse modo, os resultados sugerem que o consumo de moluscos bivalves seja evitado no período de chuvas, se esses organismos forem oriundos do município do Rio de Janeiro.

A sazonalidade também foi observada para *E. coli* nas ostras coletadas no estuário do Rio das Ostras, que teve maior presença do patógeno no período de estiagem e praticamente ausência no período de chuvas. Esse fato decorre do efeito de diluição do esgoto, que é lançado *in natura* no estuário, pela chuva e pelo aumento do fluxo fluvial, mas que é ausente no período de estiagem, aumentando a presença das bactérias nas águas estuarinas e a incorporação pelas ostras. Desse modo, a retirada desses moluscos no período de estiagem, visando à comercialização, deve ser evitada ou realizada sob condição de purificação ou cozimento adequado desses organismos antes do consumo. No período de chuvas (verão), quando há maior demanda de consumo e se intensifica o turismo, que é uma vocação regional, não houve detecção de *E. coli* nas amostras coletadas em Rio das Ostras, enquanto na região de Búzios foi detectado *E. coli* em 22% das ostras analisadas. O *E. coli* está presente nas fezes, não sendo constituinte natural do ambiente e sua presença é utilizada como um indicador de contaminação de origem fecal em alimentos e água, sugerindo que bactérias patogênicas também podem estar presentes nas amostras avaliadas (Jackson & Ogburn, 1999; Brasil, 2012).

Comparando as duas áreas de Búzios avaliadas, a região de retirada de moluscos próxima ao Canal da Marina apresentou maior ocorrência de coliformes totais e *E. coli*, quando comparada à região de cultivo. Rio das Ostras foi o local que apresentou o maior percentual de ostras contaminadas com coliformes totais, seguido pela área de retirada e cultivo em Búzios, em ambos os períodos. Ribeiro *et al.* (2016) também relataram uma maior contaminação de ostras por coliformes totais no período chuvoso e de *E. coli* no período de estiagem e sugeriram que o aumento de *E. coli* no período chuvoso poderia estar relacionado com níveis mais baixos de salinidade da água. Ainda de acordo com Ribeiro *et al.* (2016), durante a estação chuvosa há o incremento do suprimento de água dos rios, aumentando a liberação de matéria orgânica nos estuários, podendo explicar o motivo do aumento de coliformes durante esse período e indicando a possível presença de patógenos entéricos. Também sugeriram que a proximidade dos pontos de coleta a ambientes urbanos favorece a introdução desses microrganismos, por meio de deságue do esgoto doméstico, por exemplo, nos locais de coleta.

A presença de patógenos em moluscos bivalves é um problema no estado do Rio de Janeiro, visto que outras áreas apresentam cenário de contaminação microbiológica de moluscos bivalves, como mexilhões *Perna perna* cultivados. Como exemplo, podemos citar o estudo de Santos *et al.* (2018), que avaliou a presença de protozoário da espécie *Cryptosporidium* spp. em mexilhões cultivados em uma área de malacocultura em Angra do Reis (sul fluminense), enquanto Pereira *et al.* (2007) detectaram a presença de *Vibrio parahaemolyticus*, também em mexilhões coletados em Niterói, comprometendo assim a comercialização e o consumo humano do alimento.

A legislação vigente sobre padrões microbiológicos em alimentos no Brasil (Brasil, 2001) não contempla os padrões para moluscos bivalves consumidos crus. Em 2012 (Brasil, 2012), foi instituído o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), que estabelece as normas de retirada, trânsito, processamento e transporte de moluscos bivalves destinados ao consumo humano. Tal programa tem como finalidade estabelecer os requisitos mínimos necessários para a garantia da inocuidade e qualidade dos moluscos bivalves, bem como monitorar e fiscalizar o atendimento desses requisitos. Sendo assim, as amostras analisadas neste estudo foram classificadas de acordo com os requisitos desse programa, que define os critérios para retirada dos moluscos dos ambientes avaliados, em função das contagens de *E. coli* em 100 g da parte comestível dos moluscos bivalves, classificando-os em três classes distintas: retirada liberada, retirada liberada sob condição e retirada suspensa.

Na primeira classe, onde a retirada de moluscos bivalves é liberada, as amostras não podem exceder 230 *E. coli*/100 g; na segunda classe de retirada liberada sob condição, as amostras devem ser ≤ 4.600 *E. coli*/100 g; e na classe cuja retirada desses animais é suspensa, são para as amostras com contagens que ultrapassam 46.000 *E. coli*/100 g (Brasil, 2012). Baseando-se nesses critérios, ao longo do monitoramento realizado neste estudo, as três regiões estudadas enquadraram-se na segunda classe, em que é preconizado um tratamento de depuração ou tratamento térmico que permita eliminar microrganismos patogênicos ou remoção de vísceras e gônadas, conforme a espécie processada e o tipo de produto obtido.

A maior parte das amostras positivas foi proveniente do estuário de Rio das Ostras, no período de estiagem. Isso serve de alerta para autoridades sanitárias com relação à necessidade de atualização da legislação brasileira sobre os padrões microbiológicos, além de uma fiscalização mais rigorosa, uma vez que a retirada desses animais do seu *habitat* natural e o seu consumo imediato *in natura*, sem nenhum tratamento prévio, são práticas frequentes nos locais de investigação deste estudo. Segundo o PNCMB (Brasil, 2012), os moluscos vivos retirados de áreas de cultivo ou bancos naturais para consumo humano devem ser destinados ao consumo após procedimentos de inspeção em estabelecimentos processadores, mesmo quando se objetiva fazer a venda dos moluscos vivos.

A taxa de absorção e remoção de bactérias indicadoras como *E. coli* por moluscos bivalves difere da de alguns patógenos virais, e, portanto, somente os resultados de contagens de *E. coli* não garantem a indicação do risco geral da contaminação por patógenos nesses alimentos (Baker *et al.*, 2010; Anon, 2017). O processo de depuração reduz eficientemente a contaminação bacteriana das ostras, no entanto não se mostra efetivo para contaminantes virais. Vários estudos têm demonstrado altos níveis de norovírus associados a ostras vendidas comercialmente em todo mundo, incluindo Itália, EUA e Geórgia, principalmente no inverno (Baker *et al.*, 2010). Porém, existem algumas dificuldades para intro-

dução da pesquisa desses patógenos nos programas de monitoramento, como a complexidade das metodologias empregadas, além do alto custo para implementação como rotina de diagnóstico (Baker *et al.*, 2010; Hassard *et al.*, 2017).

Por fim, este estudo indicou a depreciação da qualidade de moluscos bivalves em relação a aspectos químicos e microbiológicos em diferentes locais do estado do Rio de Janeiro, onde ocorrem a coleta, a criação e a comercialização de ostras e mexilhões, podendo comprometer essa atividade econômica. O conhecimento sobre aspectos sazonais é fundamental, uma vez que os resultados demonstraram que, no município do Rio de Janeiro, o consumo no período de chuvas deve ser evitado, devido à maior concentração de metais, enquanto na Região dos Lagos, em especial em regiões estuarinas urbanas, o consumo deve ser evitado no período de estiagem, devido à maior presença de indicadores de segurança microbiológica como *E. coli*. Programas de monitoramento e controle desses moluscos bivalves também devem ser implementados de forma efetiva nessas regiões como uma maneira de prevenção de riscos à saúde do consumidor, a fim de garantir o fornecimento de alimentos seguros para a população.

Agradecimentos - À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), pelo financiamento do estudo (Projeto E-26/010.001977/2014); a Lua Newman (ex-bolsista PET - Temática Água do Ministério da Educação) e Michael D. P. Souza (ex-bolsista Pibic/CNPq).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral, M.C.; Rebelo, M.F.; Torres, J.P.; Pfeiffer, W.C. Bioaccumulation and depuration of Zn and Cd in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding, 1828) transplanted to and from a contaminated tropical coastal lagoon. *Mar. Environ. Res.*, n. 59, p. 277-285, 2005.

Anon. *Microbiological monitoring of bivalve mollusc harvesting areas - Guide to Good Practice: Technical Application*. Issue 6, 2017. Disponível em: www.eurlcef.org.

Baker, K.; Morris, J.; McCarthy, N.; Saldana, L.; Lowther, J.; Collinson, A. & Young, M. An outbreak of norovirus infection linked to oyster consumption at a UK restaurant. *J. Public Health*, v. 33, n. 2, p. 205-211, 2010.

Barroso, G.C. & Molisani, M.M. Pequenos estuários alimentados por pequenas bacias hidrográficas: estudo de caso dos estuários dos rios Macaé e das Ostras (RJ), in Ferreira, M.I.P.; Barreto, G.S.; Silva, J.A.F.; Lugol Jr., J. & Barros, M.P.F. (eds.), *Engenharia e Ciências Ambientais: contribuições à gestão ecossistêmica no estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro: Essentia, 2019.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Aprova o Regulamento Técnico e Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 24 set. 1998.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC nº42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 30 ago. 2013.

Carvalho, C.E.V.; Cavalcante, M.P.O.; Gomes, M.P.; Faria, V.V. & Rezende, C.E. Distribuição de metais pesados em mexilhões (*Perna perna* L.) da Ilha de Santana, Macaé, SE, Brasil. *Ecotox. Environ. Res.*, v. 4, n. 6, p. 1-5, 2001.

Diegues, A.C. *Para uma aquicultura sustentável do Brasil*. São Paulo: Editora Núcleo de Apoio à Pesquisa sobre Populações Humanas e Áreas Úmidas Brasileiras – USP, n. 3, 26 p., 2006.

FAO. Brazil - National Aquaculture Sector Overview. 2015. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_brazil/en.

Ferreira, M.S.; Mársico, E.T.; Junior, C.A.C.; Júnior, A.D.; Mano, S.B. & Clemente, S.C. Contaminação por metais traço em mexilhões *Perna perna* da costa brasileira. *Ciênc. Rural*, v. 43, n. 6, p. 1012-1020, 2013.

Godiva, D.; Evagelista, H.; Kampel, M.; Licino, M.V. & Munita, C. Combined use of aerogammaspectrometry and geochemistry to access sediment sources in a shallow coral site at Armação dos Búzios, Brazil. *Estuar. Coast. Shelf Sci*, v. 87, p. 526-534, 2010.

Hassard, F.; Andrews, A.; Jones, D.; Parson, L.; Jones, V.; Cox, B.; Daldorph, P.; Brett, H.; McDonald, J. & Mallham, S. Physicochemical factors influence the abundance and culturability of human enteric pathogens and fecal indicator organisms in estuarine water and sediment. *Front. Microbiol.*, v. 8, p. 1-18, 2017.

IBGE. *Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA*. 2016. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>.

Jackson, K. & Ogburn, D. *Review of Depuration and its Role in Shellfish Quality Assurance*, NSW Fisheries Final Report Series, n. 13. FRDC Project n° 96/355, 1999.

Lins-de-Barros, F.M. Integrated coastal vulnerability assessment: a methodology for coastal cities management integrating socioeconomic, physical and environmental dimensions: case study of Região dos Lagos, Rio de Janeiro, Brazil. *Ocean Coast. Manage.*, v. 149, p. 1-11, 2017.

Molisani, M.M.; Marins, R.V.; Machado, W.V.; Paraquetti H.M.; Bidone, E.D. & Lacerda, L.D. Environmental changes in Sepetiba Bay, SE, Brazil. *Reg. Environ. Change*, v. 4, p. 17-27, 2004.

Molisani, M.M.; Noronha Jr., F.R.; Schultz, M.S.; Rezende, C.E.; Almeida, M.G. & Silveira, C.S. Mismatch between sediment metal distribution and pollution source gradient: a case study of a small-size drainage basin (Southeastern Brazil). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 94, p. 770-776, 2015.

Mustafa, S. & Shapawi, R. *Aquaculture ecosystems: adaptability and sustainability*. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2015. 372 p.

Pereira, C.S.; Possas, C.A.; Viana, C.M. & Rodrigues, D.P. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (*Perna perna*) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 40, n. 1, p. 56-59, 2007.

Resgalla Jr., R.C.; Weber, L.I. & Conceição, M.B. *O mexilhão Perna Perna (L.): biologia, ecologia e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. 323 p.

Ribeiro, E.B.; Bastos, L.S.; Galeno, L.S.; Mendes, R.S.; Garino Jr., F.; Carvalho-Neta, R.N.F.; Costa, F.N. Integrated assessment of biomarker responses and microbiological analysis of oysters from São Luís Island, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 113, p. 182-186, 2016.

- Santiago, I.; Molisani, M.M.; Nudi, A.H.; Scofield, A.L.; Wagener, A.L. & Limaverde Filho, A. Hydrocarbons and trace metals in mussels in the Macaé coast: preliminary assessment for a coastal zone under influence of offshore oil field exploration in southeastern Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, v. 103, p. 349-353, 2016.
- Santos, A.L.; Oliveira L.T.F. de; Souza, A.L.A.; Hauser-Davis, R. & Simone, S.G. de. *Cryptosporidium* spp. contamination in *Perna perna* mussels destined for human consumption in Southeastern Rio de Janeiro, Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, n. 100, p. 240-244, 2018.
- Silva, A.I.; Vieira, R.H.S.F.; Menezes, F.G.; Fonteles-Filho, A.A.; Torres, R.C. & Sant'Anna, E. Bacteria of fecal origin in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*) in the Cocó river estuary, Ceará State, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, n. 34, p. 126-130, 2003.
- Souza, R.V. & Petcov, H.F.D. *Comércio legal de moluscos bivalves*. Florianópolis, SC: Epagri, 2013, 58 p. (Epagri - Boletim Didático, n. 95).
- Staggemeier, R.; Heck, T.; Demoliner, M.; Ritzel, R.; Röhnelt, N.; Girardi, V.; Venker, C. & Spilk, F. Enteric viruses and adenovirus diversity in waters from 2016 Olympic venues. *Sci. Total Environ.*, n. 586, p. 304-312, 2017.
- Suplicy, F.M. *Plano Estratégico para o Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense (2015-2020)*, in Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagric e Federação das Empresas de Aquicultura de Santa Catarina – FEAq, 2015. 68 p.
- Vasques, R.O. *Bivalve cultivation experiments as tools for trace elements monitoring in coastal systems*. Tese doutorado, Programa de Pós-Graduação em Geoquímica, Universidade Federal Fluminense, 95 p., Niterói, 2018.
- Walker, D.I.; Younger, A.; Stockley, L. & Baker-Austin, C. *Escherichia coli* testing and enumeration in live bivalve shellfish – Present methods and future directions. *Food Microbiol.*, v. 73, p. 29-38, 2018.