



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

MARIA ARIELE CUNHA RODRIGUES

ACOMPANHAMENTO DA DINÂMICA DE DEPURAÇÃO DE OSTRAS
(*Crassostrea rhizophorae*) E ÁGUA DE ESTUÁRIO: PERSPECTIVA NA
DIMINUIÇÃO DOS COLIFORMES TERMOTOLERANTES

FORTALEZA
2023

MARIA ARIELE CUNHA RODRIGUES

**ACOMPANHAMENTO DA DINÂMICA DE DEPURAÇÃO DE OSTRAS
(*Crassostrea rhizophorae*) E ÁGUA DE ESTUÁRIO: PERSPECTIVA NA
DIMINUIÇÃO DOS COLIFORMES TERMOTOLERANTES**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof^a. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

**FORTALEZA
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R614a Rodrigues, Maria Ariele Cunha.

Acompanhamento da dinâmica de depuração de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e água de estuário: perspectiva na diminuição dos coliformes termotolerantes / Maria Ariele Cunha Rodrigues. – 2023.
53 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

1. Moluscos. 2. Saúde. 3. *Escherichia coli*. I. Título.

CDD 639.2

MARIA ARIELE CUNHA RODRIGUES

**ACOMPANHAMENTO DA DINÂMICA DE DEPURAÇÃO DE OSTRAS
(*Crassostrea rhizophorae*) E ÁGUA DE ESTUÁRIO: PERSPECTIVA NA
DIMINUIÇÃO DOS COLIFORMES TERMOTOLERANTES**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes (Orientadora)
Departamento de Engenharia de Pesca-Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Ana Vládila da Silva Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Raimundo Nonato de Lima Conceição
Departamento de Engenharia de Pesca - Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Rita e Chagas, que com amor, dedicação, ensinamentos e apoio me proporcionaram chegar até aqui. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que está presente em todos os momentos da minha vida me dando saúde, compreensão e força para buscar meus objetivos.

Aos meus pais, Rita e Chagas, e minha irmã, Aline pelo apoio, carinho, compreensão e incentivo, apesar da distância se fizeram próximos pelas palavras de força, carinho, incentivo e fé em não desistir.

À minha tia Liduina, tio Joaquim, Suyane e Francisca, pelas palavras e conversas, apoio e incentivo nos melhores e piores momentos, nunca deixaram de me apoiar e incentivar no crescimento pessoal e profissional.

À Professora Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes pela oportunidade de orientação, pela sua contribuição não só com ideias valiosas, mas com palavras de apoio e incentivo no crescimento pessoal e profissional, agradeço a compreensão, atenção, disponibilidade e paciência.

À Dra. Fátima Cristiane Teles de Carvalho pela paciência em ensinar, atenção, carinho, amizade e compreensão, pela disponibilidade de ajuda e sempre falando para termos fé.

À Anna Brito pelo carinho, amizade paciência e pela valiosa ajuda nos gráficos e em tantas outras questões.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), pela receptividade e bons momentos de convivência, sempre mais recorrentes que os ruins.

Aos queridos e amigos Daniel Borges, Thereza Martins, Luana Lira, Igor Dantas, Fabíola Araújo, Matheus Samuel e Carlos Henrique, pela amizade, carinho, brincadeiras, pelo companheirismo em todos os momentos.

Aos amigos Maurílio Feijo, Samile Oliveira, Emylly Sousa e Lethicia Vieira, pela amizade e carinho, conversas e angústias compartilhadas na vida pessoal e científica.

Ao Programa de extensão Mangue Vivo por todas as experiências adquiridas e aos membros que ajudaram na realização não só nessa pesquisa, mas em outros trabalhos.

Ao Departamento de Engenharia de Pesca e todos os professores e funcionários, em especial aos funcionários Marcus Vinicius Guimarães, Matheus Maciel por sempre estarem prontos a ajudar.

A Pró-reitoria de extensão e ao programa de extensão Mangue Vivo pela oportunidade de bolsa e experiência durante minha jornada acadêmica.

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

MUITO OBRIGADA!

“A felicidade pode ser encontrada
mesmo nos momentos mais sombrios,
bastando apenas nos lembramos de
acender a luz”
(Alvo Dumbledore)

RESUMO

As ostras são moluscos bivalves filtradores, que se alimentam de partículas suspensas presentes na água, podendo agir como vetores de microrganismos patogênicos que podem afetar a saúde humana. Dessa forma, a depuração é uma prática muito usada que visa eliminar os agentes patogênicos de moluscos bivalves, fornecendo um produto com garantia sanitária ao consumidor. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica das ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e da água de cultivo no Estuário do Rio Cocó, no Estado do Ceará. Foram coletadas 170 ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae* ainda vivas e acondicionadas em um tanque com um processo de desinfecção com luz UV. Como resultados, foi possível averiguar a diminuição da carga bacteriana nos músculos e líquido intervalvar no decorrer dos dias. Inicialmente foram encontrados 26 NMP/g no músculo e 21 NMP/ml no líquido intervalvar e ao final as contagens foram < 1,8 NMP/g e < 1,8 NMP /ml, respectivamente. De 173 cepas isoladas, foram confirmadas 135 cepas como sendo da espécie *Escherichia coli*. Dessas, 122 cepas foram encaminhadas para a realização do antibiograma, sendo 27 oriundas do músculo das ostras, 60 do líquido intervalvar e 35 das amostras de água oriundas do estuário no momento da coleta das ostras. Sendo as cepas do músculo as que apresentaram o maior número de resistência, seguido das cepas oriundas do líquido intervalvar e das amostras de água. O sistema de depuração foi eficiente para a diminuição de microrganismos, porém a resistência encontrada, mesmo em pouca quantidade, requer cuidado, devido ao fato de que bactérias resistentes podem ser repassadas para os seres humanos.

Palavras-chave: moluscos, saúde, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Oysters are filter-feeding bivalve molluscs, which feed on suspended particles present in the water, and can act as vectors of pathogenic microorganisms that can affect human health. In this way, purification is a widely used practice that aims to eliminate pathogenic agents from bivalve molluscs, providing a product with a health guarantee to the consumer. Therefore, the present study aims to evaluate the microbiological quality of oysters (*Crassostrea rhizophorae*) and cultured water in the Cocó River Estuary, in the State of Ceará. 170 oysters of the *Crassostrea rhizophorae* species were collected while still alive and placed in a tank with a disinfection process using UV light. As a result, it was possible to reduce the bacterial load in the muscles and in the liquid interval over the course of two days. Initially, 26 MPN/g were found in the muscle and 21MPN/ml in the intervalvar fluid and at the end the counts were < 1.8 MPN/g and < 1.8 MPN/ml, respectively. Of 173 strains isolated, 135 strains were confirmed as being of the *Escherichia coli* species. Of these, 122 strains were sent for the antibiogram, 27 coming from the oyster muscle, 60 from the intervalvar liquid and 35 from water samples from the estuary at the time of oyster collection. The muscle strains were those that showed the highest number of resistance, followed by strains from the intervalvar liquid and water samples. The purification system was efficient in reducing microorganisms, however the resistance found, even in small quantities, requires care, due to the fact that resistant bacteria can be passed on to humans.

Keywords: molluscs, health, *Escherichia coli*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Ciclo reprodutivo da ostra do mangue da espécie <i>Crassostrea rhizophorae</i> .	18
Figura 2 –	Sistema de depuração usado na pesquisa.....	26
Figura 3 –	Fluxograma do processamento das amostras de água do estuário do Rio Cocó em Fortaleza -CE.....	30
Figura 4 –	Fluxograma do processamento das amostras de líquido intervalar das ostras do estuário do Rio Cocó em Fortaleza -CE.....	31
Figura 5 –	Fluxograma do processamento das amostras de músculo de ostras do estuário do Rio Cocó em Fortaleza- CE.....	32
Figura 6 –	Fluxograma da técnica do antibiograma realizadas com os isolados das amostras de água de estuário, líquido e músculo de ostras do estuário do Rio Cocó em Fortaleza -CE.....	34
Figura 7 –	Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas das amostras de água oriundas do Estuário do Rio Cocó, em Sabiaguaba, Fortaleza (Ceará).....	41
Figura 8 –	Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas das amostras de líquido intervalar oriundas do Estuário do Rio Cocó, em Sabiaguaba, Fortaleza (Ceará).....	42
Figura 9 –	Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas das amostras de músculo oriundas do Estuário do Rio Cocó, em Sabiaguaba, Fortaleza (Ceará).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios das variáveis ambientais (temperatura, pH e salinidade) obtidas das amostras da água coletadas no Rio Cocó em Fortaleza, Ceará.....	35
Tabela 2 – Resultado do Número Mais Provável (NMP) para as amostras de músculo e líquido intervalvar de ostras e água coletadas no Rio Cocó em Fortaleza, Ceará.....	37

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO BIBLIGRAFICA.....	16
2.1	Ecosistemas estuarinos.....	16
2.2	Cultivo de ostra.....	17
2.3	Microrganismos presentes em ostras	19
2.4	Sistema de depuração	21
2.5	Antibiograma.....	22
2.6	Resistência bacteriana.....	23
3	OBJETIVO.....	24
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1	Coleta das amostras	25
4.2	Determinação dos fatores de temperatura, salinidade e pH	25
4.3	Preparação das amostars	25
4.4	Sistema de depuração	26
4.5	Processamento das amostras	27
4.5.1	Água de estuário.....	27
4.5.2	Líquido intervalvar.....	27
4.5.3	Músculo.....	27
4.6	Análise microbiológica.....	27
4.6.1	Prova Presuntiva	27
4.6.2	Provas Confirmatorias.....	27
4.6.3	Quantificação e Isolamento de <i>Escherichia coli</i>	28
4.7	Classificação morfológica e bioquímica de <i>Escherichia coli</i>	28
4.7.1	Coloração de Gram.....	28
4.7.2	Provas bioquímicas.....	28
4.7.2.1	Produção de Indol.....	28
4.7.2.2	Voges-Proskauer (VP).....	29
4.7.2.3	Vermelho de Metila (VM).....	29
4.7.2.4	Citrato.....	29
4.8	Antibiograma.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
6	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1. Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor da América Latina, perdendo apenas para o Chile em número de moluscos bivalves, produzindo 95% das ostras, mexilhões e vieiras cultivadas (DUTRA, 2011). Essa atividade é reconhecida mundialmente com grande relevância gerando empregos, renda e alimentos, que ajudam a fixar tradições dos locais de origem (SANTOS; OLIVEIRA, 2017).

A cadeia produtiva de moluscos bivalves, teve destaque quando o Departamento de Pesca e Aquicultura do Maranhão- (DPA/ MA), junto com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) criaram o Projeto Plataforma do Agronegócio do Cultivo de Moluscos Bivalves, para o aprimoramento de profissionais capacitados na produção de moluscos (SOUZA, 2001). Esta atividade apresenta importância para os tempos atuais, uma vez que visa um importante potencial produtivo e econômico, se for comparado ao custo de produção, das atividades de piscicultura e carcinicultura, elevando assim, o desenvolvimento dessa atividade em alguns estados do País (ARRUDA, 2017)

No caso do Ceará, por se tratar de um Estado com uma grande área litorânea, o cultivo de moluscos bivalves se concentra em áreas de manguezais, onde esses ambientes são ricos em biodiversidade, tanto em flora como em fauna, abrigando assim, inúmeras espécies de bivalves, e transformando esse cultivo em uma atividade socioeconômica importante para famílias que vivem em torno desse ambiente (MAIA *et al.*, 2019). As espécies de bivalves que merecem destaque são: a ostra do mangue (*Crassostrea rhizophorae*), ostra preta (*Crassostrea gasar*), ostra-do-pacífico (*Crassostrea gigas*), como também o mexilhão (*Perna perna*) e vieira (*Nodipecten nodosus*) (GOMES *et al.*, 2019).

Os moluscos (ostras, mexilhões e vieiras) são animais invertebrados filtradores, com presença de conchas onde são constituídas por duas valvas (SIQUEIRA, 2021). Os bivalves são organismos que se alimentam a partir da remoção de substâncias presentes na água, por meio de filtração (ALMEIDA; SILVA; CARVALHO, 2020).

Esses animais além de serem apreciados na culinária Cearense, também são utilizados como bioindicadores, por acumular no seu trato digestivo substâncias químicas e microbiológicas presentes no ambiente (MENDES, 2018). É comum observamos sua

ingestão *in natura*, a qual não ocorre procedimento para atestar sua segurança e qualidade, podendo assim, acarretar uma concentração de agentes patogênicos, propiciando riscos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (MOISANI *et al.*, 2021).

As DTAs originam-se do consumo de alimentos contaminados por agentes etiológicos, principalmente microrganismos, os quais causam grandes problemas a saúde, no qual o consumo de ostras está associado a essa problemática (RIBEIRO *et al.*, 2018). Um dos principais critérios microbiológicos utilizados para análise dos bivalves, é a verificação da presença do grupo dos coliformes, principalmente os termotolerantes, com destaque para a espécie *Escherichia coli*, seguido por gêneros como *Salmonella* e *Vibrio*, presentes no ambiente (OLIVEIRA, 2018). Em decorrência dos riscos à saúde associado ao consumo de ostras, os patógenos uma vez presentes podem causar sintomas como febre, náuseas e infecções intestinais (EVANGELISTA-BARRETO *et al.*, 2014). Além disso, esses microrganismos vêm se destacando por sua resistência antimicrobiana, acarretando o comprometimento no tratamento desses sintomas (EVANGELISTA-BARRETO *et al.*, 2017).

Esta resistência antimicrobiana presente no ambiente, pode vir a acontecer pelo uso e descarte indiscriminado dos fármacos utilizados nos efluentes humanos e veterinários não tratados, que podem alcançar o estuário, podendo se acumular nos sedimentos, onde podem resistir por meses causando assim o surgimento de bactérias multirresistentes (GRISE *et al.*, 2020). A presença desses “super” microrganismos em zonas costeiras torna-se preocupante, pois esse ambiente além de apresentar uma biodiversidade alta, são locais utilizados na produção de ostras (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Para que a produtividade e comercialização de ostreicultura se desenvolva de forma adequada em zonas litorâneas, principalmente em áreas de manguezais é importante o monitoramento dos aspectos sanitários das áreas de cultivo e principalmente dos animais. Diante disso, verifica-se a necessidade de se estudar as ostras cultivadas no Rio Cocó.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Ecossistema estuarino

A classificação a nível dos ecossistemas tem amplas aplicações na investigação e gestão de recursos naturais, essa categorização em nacionais e regionais aplicam o quadro da Lista Vermelha de Ecossistemas (RLE) da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) para avaliar o risco e identificar ecossistemas vulneráveis com base num conjunto de critérios (VAN NIEKERK *et al.*, 2020). Com isso, o bioma de transição ou estuário, são ecossistemas em constante movimento que apresentam variações em sua forma, tamanho, fluxo de comunicação com o oceano e implementam habitats vitais para a biodiversidade (SCANES; SCANES; ROSS, 2020).

Esse biosistema aquático é localizado na interface entre os ambientes de água doce e marinho, caracteriza-se pela junção dulcícola dos rios com a água salgada do oceano, criando condições únicas e complexas, tornando-se importante fonte de recursos naturais (ARAÚJO JÚNIOR; PEREIRA, 2021). São considerados espaços de elevada qualidade, produtivos e ecologicamente responsáveis, que servem como refúgio e descanso para flora e fauna presentes nesse meio, se adaptando às condições e ritmos do ambiente (SALDANHA, 2020).

Encontrado nesse ambiente os manguezais localizados na interface entre os ambientes terrestre e marinho. Característicos de regiões tropicais e subtropicais, esses ecossistemas contêm diferentes tipos de vegetação e interagem com diversos animais que lá habitam (VALENÇA *et al.*, 2022). Abrigam uma vegetação excepcionalmente produtiva e capaz de sobreviver em ambientes altamente salinos (ODUM; BARRET, 2007). Além de apresentarem uma variedade de formas e extensões, abrangendo aproximadamente 14.000 mil km² desde Amapá a Santa Catarina, tornando o Brasil o segundo maior do mundo em áreas de manguezal (ALBUQUERQUE *et al.*, 2015).

É interessante salientar que os estuários também são ecossistemas de elevada importância por fornecerem alimento, e promoverem processos biogeoquímicos para outros ambientes através da sua ligação entre bacias hidrográficas e águas costeiras (BARLETTA *et al.*, 2010; COSTA; BARLETTA, 2016). Contudo, existe uma elevação na interferência antrópica, muitas vezes causada por atividades diversas como agricultura, desenvolvimento industrial e usos múltiplos da água, transportando uma disposição de

resíduos inadequada, como descarte de esgotos e controle de vazão (BARLETTA *et al.*, 2019), essa atividade antrópica está destruindo esse ambiente que vem atraindo atenção de pesquisadores (VIEIRA *et al.*, 2021).

2.2 Cultivo de ostras

A criação de moluscos bivalves, conhecida como malacocultura, é uma prática com amplos impactos sociais e econômicos, trazendo benefícios para diversos setores da sociedade, como produtores, consumidores e indústria (FERREIRA; NETO, 2007). Os moluscos bivalves são um dos principais tipos de mariscos que contribuem significativamente para a produção marinha e estuarina. Bivalves e gastrópodes representam 80% de todos os moluscos descritos, entre eles, ostras, vieiras, mexilhões e amêijoas representam 52%, 25%, 19% e 4% das espécies selvagens e cultivadas, respectivamente (ANJANA *et al.*, 2021).

A malacocultura começou a se desenvolver no estado de Santa Catarina e depois em outras regiões, como sudeste e nordeste desempenhando papéis como atividade de investigação ou de produção. A produção anual do Brasil é de cerca de 13 mil toneladas, a região Sul concentra mais de 90% da produção do país (MAUÉS, 2020).

O cultivo de moluscos vem se desenvolvendo com algumas espécies como, mexilhão *Perna perna*, ostra *Crassostrea gigas* que apesar de ser uma espécie exótica, tem se adaptado bem ao clima, o cultivo de ostras nativas como *Crassostrea rhizophorae*, *Crassostrea brasiliiana* e *Vierias Nodipecten nodosus* (ALBUQUERQUE, 2012).

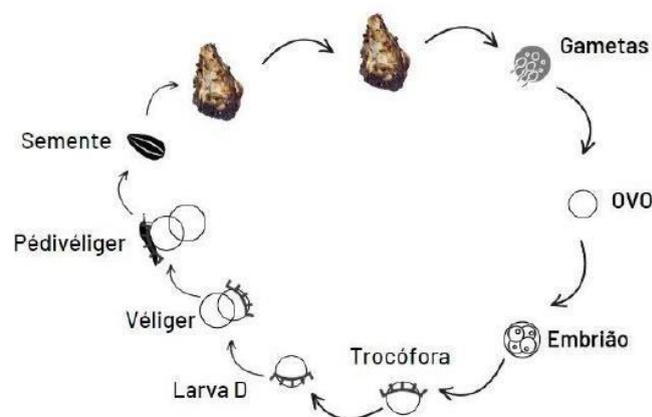
Crassostrea gasar, também conhecida como ostra do mangue, é a espécie mais cultivada ao longo da costa tropical do país, seu cultivo é realizado de forma artesanal, em pequena escala, sendo os estados: Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Alagoas, Rio Grande do Norte e Pará os que mais produzem essa espécie, entretanto, com relação *Crassostrea rhizophorae*, por outro lado, seu cultivo é realizado em menor quantidade, principalmente nos Estados do Ceará e Bahia, isso se deve, ao fato de que *Crassostrea gasar* atinge um tamanho maior do que a *Crassostrea rhizophorae*, o que torna seu cultivo mais difundido (SUPLICY *et al.*, 2022).

Crassostrea rhizophorae também conhecida como ostra branca, apresenta uma boa relação entre as condições do ambiente, como a temperatura e a salinidade, está

intrinsecamente ligada à reprodução, crescimento e distribuição das espécies, o ciclo de reprodução dessa espécie ocorre durante todo o ano, sendo o estímulo para a desova o impacto térmico, que resulta das variações de temperatura entre as estações e a quantidade de chuvas (SANTOS *et al.*, 2021).

Essas espécies são encontradas principalmente em manguezais, baías e áreas estuarinas, fixadas em rochas e substratos firmes (DUÉ *et al.*, 2010). Nos manguezais, geralmente habita as raízes do mangue vermelho (*Rhizophora mangle*), onde as ostras do gênero *Crassostrea* apresentam sua reprodução ovíparas e dioicas, podendo apresentar hermafroditismo sequencial sem dimorfismo assexuado com fertilização externa e subsequente desenvolvimento larval planctônico (ANTONIO *et al.*, 2021). Na figura 1, podemos observar o ciclo reprodutivo da *Crassostrea rhizophorae*.

Figura 1 – Ciclo reprodutivo da ostra do mangue da espécie *Crassostrea rhizophorae*



Fonte: Lima, 2015, com adaptações.

As ostras são animais filtradores, alimentando-se de fitoplâncton, bactérias, larvas de invertebrados e detritos suspensos na coluna de água, conseguem filtrar grandes quantidades de água, uma ostra de tamanho médio pode filtrar 30 L/h, esse método de alimentação permite que nutrientes sejam absorvidos (ALMEIDA, 2019). Por ser filtradores torna-se vetores de doenças humanas, o seu consumo representa um risco para a saúde pública (MENDES, 2018).

Em virtude disso, alguns parâmetros que regem a qualidade microbiológica da água de cultivo, devem ser avaliados periodicamente, a fim de verificar o grau de contaminação principalmente por matéria fecal, evitando riscos à saúde pública (SOUSA, 2021).

2.3 Microrganismos presentes em ostras

A qualidade da água dos rios, estuários, marinho e dos organismos utilizados como fontes de alimento é de extrema importância, uma vez que a ingestão de iguaria e/ou água contaminada com microrganismos patogênicos pode causar problemas aos consumidores, como gastroenterite (SOUSA *et al.*, 2023).

As áreas utilizadas no recolhimento ou cultivo de marisco para consumo humano estão localizadas em zonas estuarinas que podem ser afetadas por poluição antropogênica considerável (NASCIMENTO *et al.*, 2023). Esses poluentes incluem toxinas produzidas por algas, contaminantes inorgânicos e microrganismos, que são absorvidos e acumulados devido às atividades de filtração dos moluscos bivalves. Entre os moluscos, as ostras são um dos principais alimentos comercializados e estão frequentemente associadas a surtos de gastroenterite aguda em humanos, principalmente devido ao consumo *in natura* (BATTISTINI *et al.*, 2021).

Para o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB/ MPA/MAPA), as toxinas marítimas termoestáveis são caracterizadas como substâncias tóxicas, provenientes do plâncton que produz toxinas e são absorvidas pelos moluscos bivalves durante o processo de filtração (CARVALHO *et al.*, 2021).

Além dessas toxinas presentes na água existem microrganismos como bactérias, protozoários e vírus entéricos. Os vírus entéricos de origem humana são muito comuns em ambiente marinho, onde estão presentes em grande número e são eliminados por indivíduos infectados. Alguns sendo classificados como de risco prioritário pela Organização Mundial da Saúde/FAO (EL MOQRI *et al.*, 2020).

Outro grupo que merece destaque que afeta os moluscos são as bactérias do grupo coliformes de fonte fecal e outros microrganismos patogênicos como *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp, os moluscos bivalves são os principais responsáveis por representar um perigo maior à saúde pública, devido à sua

capacidade de filtragem e acumulação desses microrganismos (BRITO, 2023). Para garantir a segurança e evitar intoxicações alimentares, a qualidade dos mariscos deve ser controlada para proteger a saúde das pessoas e garantir um consumo adequado (HORTA *et al.*, 2019).

Os coliformes são microrganismos que pertencem ao grupo das enterobactérias e se desenvolvem no trato gastrointestinal de animais de sangue quente. Portanto, sua presença no ambiente e nos organismos em cultivo indica contaminação fecal. São patógenos amplamente utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água, quando se deseja identificar contaminação fecal recente ou condições sanitárias inadequadas (NUERNBERG *et al.*, 2021).

Os indicadores microbiológicos, como *Escherichia coli* e *Enterococos*, determinam a qualidade da água e estimam o potencial de risco de contrair doenças através do contato (LIMA, 2023).

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa, em forma de bastonete, anaeróbia facultativa que cresce em uma ampla faixa de temperatura, com uma temperatura ideal de crescimento de 37°C. A cepa do patógeno normalmente sobrevive em temperaturas de refrigeração, mas é ligeiramente reduzida após o armazenamento (GARCIA, 2021).

Embora *E. coli* seja em alguns casos considerada não patogênica, algumas estirpes são virulentas e podem causar uma vasta gama de infecções nos sistemas gastrointestinal e urinário de humanos e animais. Sua presença está associada à má qualidade da água e pode aumentar o risco de doenças gastrointestinais para as pessoas que utilizam este recurso (FRIAS *et al.*, 2020).

O tratamento de água vem como aliado, ajudando a remover poluentes para garantir que os padrões estabelecidos sejam cumpridos para a descarga permitida nos recursos hídricos, protegendo assim o ambiente e a saúde pública (VAZ, 2020).

2.4 Sistema de depuração

A depuração é um processo concebido para eliminar/reduzir a contaminação microbiana de moluscos bivalves para níveis aceitáveis, utilizando a capacidade de filtração destes animais, a fim de manter o produto saudável antes de ser enviado para consumo (JESUS, 2016).

A eficácia do processo de purificação é determinada pela diversidade e fisiologia dos moluscos, bem como pelas características da água do sistema (HERNÁNDEZ *et al.*, 2018). Os sistemas de depuração são apresentados de formas variadas, como: sistemas abertos (fluxo contínuo de água), intermitentes (água é substituída regularmente) ou fechados (recirculação de água) (BOBERMIN *et al.*, 2013).

Todos os tipos são eficazes, no entanto, o de fluxo contínuo é mais econômico, desde que, o sistema de depuração esteja próximo de uma fonte de água limpa. O processo intermitente, bem como o fluxo contínuo, também requer um abastecimento adequado de água, mas os intervalos entre as trocas de água não devem ser muito longos, pois tornarão o processo ineficiente. Os sistemas fechados de circulação de água são os mais utilizados e requerem uma fonte de água limpa, mas uma vez recolhida, esta água é reutilizada através do sistema para descontaminação (LIMA, 2019).

Independente do sistema utilizando é possível usar produtos químicos (cloro e/ou ozônio) ou físicos (irradiação ultravioleta) para desinfetar a água e remover microrganismos deteriorantes e patogênicos (HERNÁNDEZ *et al.*, 2018)

O uso de luz ultravioleta (UV) é uma técnica que tem sido associada à diminuição de doenças transmitidas por moluscos contaminados, sendo capaz de reduzir rapidamente e de forma eficiente a quantidade de bactérias em aproximadamente 48 horas após a aplicação da luz UV (CASTILLO, 2019). No sistema de circulação de água.

2.5 Antibióticos

A Organização Mundial da Saúde (OMS) emitiu um parecer que o Brasil consumiu 22 doses diárias de antibióticos por dia para cada 1.000 habitantes somente em 2016, destacando que entre os 65 países do mundo, o Brasil ocupa a 19ª posição em consumo de antibióticos, o maior entre os países da América (ROCHA; KLIGERMAN; OLIVEIRA, 2020).

Os antibióticos são produtos químicos derivados de microrganismos naturais que, em doses reduzidas, impedem o desenvolvimento de outras bactérias. No entanto, atualmente são classificados como antibióticos os compostos que possuam tal propriedade, ainda que obtidos por meios químicos ou modificados a partir de antibióticos naturais (DIOGO; RODRIGUES; ANTUNES, 2023).

Dentre os tipos, os antibióticos são a classe de medicamentos mais utilizada e prescrita, seja para uso hospitalar ou para autotratamento. Quando causam a morte de bactérias, podem ser considerados bactericidas, quando promovem a inibição do crescimento microbiano, podem ser apontados como bacteriostáticos (FERREIRA *et al.*, 2021).

Na atualidade, os antibióticos são classificados de acordo com a origem, composição química e mecanismo de ação como: penicilinas (penicilina e aminopicilina), cefalosporinas (cefalotina, ceftazidima), tetraciclina (Oxitetraciclina), sulfonamidas (Sulfonilamida), quinolonas (Ciprofloxacina) e aminoglicosídeos (Gentamicina) (COLOUNA *et al.*, 2023).

Em pesquisa realizada pelo Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2022), é evidenciado que a cada ano mais de 266 milhões de antibióticos são usados para tratar doenças infecciosas, isso é mais de 5 prescrições por ano para cada 6 indivíduos, onde estima-se que 30% das prescrições de antibióticos foram do ambiente hospitalar. Nessa mesma pesquisa foram abordados os antibióticos mais utilizados como: Amoxicilina, Doxiciclina, Cefalexina, Ciprofloxacina e Azitromicina (AMADOR, 2023).

2.6 Resistência bacteriana

A resistência bacteriana aos antibióticos é um dos problemas mais importantes na saúde pública, pois muitos microrganismos que antes eram sensíveis aos antibióticos, ao serem utilizados, passaram a não responder a esses mesmos medicamentos. Essa resistência se intensifica diariamente, onde os setores farmacêutico, biotecnológico e da saúde desempenham um papel crucial ao fornecer soluções para combater esse problema (ÁLVAREZ, 2020).

No Brasil os principais elementos que contribuem para a utilização inadequada de medicamentos são: a complexidade em distinguir clinicamente as particularidades da doença adquirida, a falsa convicção de que o uso exagerado de medicamentos previne doenças, a ausência de controle na comercialização de fármacos e a falta de informação acerca dos eventuais efeitos adversos associados ao uso inadequado dos medicamentos (TAVARES; OLIVEIRA, 2022).

As bactérias podem apresentar uma resistência intrínseca, ou seja, mecanismos naturais de resistência de um gênero ou espécie bacteriana, ou podem adquirir resistência, surgindo a partir de mutações em seus próprios genes ou pela obtenção de genes de resistência de outras bactérias (RIBEIRO; SANTOS; SOUSA, 2023).

A existência de bactérias resistentes em ambientes aquáticos é motivo de grande preocupação, uma vez que as bactérias com resistência a antibióticos conseguem sobreviver nesses ambientes com condições seletivas e se multiplicam, transferindo e disseminando fatores de resistência tanto dentro da mesma espécie quanto para espécies diferentes. Isso acaba aumentando o risco para a saúde humana e gerando um problema significativo para a saúde pública (CHAGAS, 2022).

Nesta situação, a água não só age como um meio de propagação de organismos resistentes a antibióticos entre as populações humana e animal, mas também como o caminho através do qual os genes que conferem resistência são introduzidos no ecossistema de bactérias nativas, modificando a microbiota do ambiente e, com isso, possibilitando o aparecimento de cepas com múltipla resistência (CASTRO; DE CASTRO; LIMA, 2022).

3. Objetivo

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica das ostras *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo no Estuário do Rio Cocó, no Estado do Ceará.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes;
- Verificar a eficiência do sistema de depuração utilizado
- Determina os fatores de temperatura, salinidade e pH;
- Identificar a presença de *Escherichia coli* no líquido intervalvar, músculo e água de cultivo;
- Verificar a presença de resistência antimicrobiana em cepas de *E. coli* encontradas em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) cultivadas Estuário do Rio Cocó, no Estado do Ceará.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

Foram realizadas duas coletas, a primeira no mês de julho de 2022, configurando o período de estio, e a segunda no mês de abril, período chuvoso de 2023, no estuário do Rio Cocó, nos limites da praia da Sabiaguaba, Fortaleza-Ceará (FIGURA 2). Foram analisados exemplares de ostras da espécie *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo desses indivíduos.

As ostras foram coletadas e acondicionadas ainda vivas em caixa térmica higienizada. A amostra de água do cultivo foram acondicionada em garrafa de vidro de cor âmbar estéreo com capacidade de 1 L, onde foram transportados para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.2 Determinação dos fatores de temperatura, salinidade e pH

No momento da coleta foi realizada a medição da temperatura das amostras de água com auxílio de um termômetro (INCOTERM). Em laboratório foi medida a salinidade através de um refratômetro da marca ATAGO S/MILL e o pH foi verificado com um potenciômetro da marca MARCONI – PA 200P.

4.3 Preparação das amostras

As ostras foram lavadas vigorosamente em água corrente com o auxílio de uma escova, após a higienização foram escolhidos 17 indivíduos e abertas assepticamente para separação do líquido intervalvar e músculo, para análise no tempo zero hora (ostras sem depurar). Os outros exemplares seguiram para o sistema de depuração no Departamento de Engenharia de Pesca, Campus do Pici, onde foram submetidas a quatro tempos de depuração: 24, 48, 72 e 96 horas, coletando-se, aleatoriamente, 17 ostras a cada tempo para as análises microbiológicas.

Na unidade de depuração, as ostras foram distribuídas de forma aleatórias em duas caixas plásticas vazadas, em seguida, colocadas no sistema de circulação de água. As análises ocorreram cinco dias consecutivos, contemplando um total de 170 animais analisados.

4.4 Sistema de depuração

O sistema de depuração foi composto por uma caixa d'água (0,58m x 1,22m x 0,95m) com capacidade de 500 L, por uma bomba submersa para a recirculação de água, uma luz ultravioleta de 95 w, filtro biológico com capacidade de 48 litros, composto por camadas distintas de brita tamanho zero e areia lavada.

O sistema de recirculação tinha capacidade máxima de operação de 540 L/H. No entanto, foram adotados apenas 30% dessa capacidade para que fosse mantida a taxa de circulação de 7 vezes ao dia o volume total do tanque. A água usada na depuração foi captada por meio de bombeamento diretamente do estuário e tratada com 3 ppm de cloro livre uma semana antes de entrar no sistema (FIGURA 2).

Figura 2- Sistema de depuração usado na pesquisa



Fonte: Autora (2023)

4.5 Processamento das amostras

4.5.1 Água de estuário

Foi coletado 1mL da água de estuário, em seguida, homogeneizado, em solução salina a 0,85% de NaCl, constituindo a diluição 10^{-1} . O procedimento foi repetido até a diluição 10^{-5} .

4.5.2 Líquido intervalvar

De cada amostra foram retirados 5mL de líquido intervalvar, diluída em 45mL de solução salina a 0,85% de NaCl e homogeneizada. Este homogenato constituiu a diluição 10^{-1} , a partir da qual foram feitas as diluições de 10^{-2} a 10^{-5} .

4.5.3 Músculo

De cada amostra foram pesados 10g do músculo, macerados e, em seguida, homogeneizados, em 90mL de solução salina a 0,85% de NaCl. Esse homogenato constituiu a diluição decimal seriada de 10^{-1} , a partir da qual foram preparadas as demais diluições de 10^{-2} a 10^{-5} .

4.6 Análises microbiológicas

4.6.1 Prova presuntiva

De cada diluição em solução salina, retirou-se uma alíquota de 1 mL para ser transferida a um tubo contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan invertidos. Este procedimento foi feito em cinco repetições para cada diluição. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas, considerando-se positivos para a prova presuntiva de coliformes totais aqueles que apresentaram turvação e produção de gás após esse período (VIEIRA, 2004).

4.6.2 Provas confirmatória

Dos tubos positivos, na prova presuntiva, transferiu-se uma alçada para tubos contendo 4 mL de Caldo EC com tubos de Durhan invertidos. Os tubos foram incubados

em banho-maria a 45°C por 48h. A positividade desta prova foi verificada através da turvação do meio e formação de gás nos tubos de Durham (VIEIRA, 2004).

4.6.3 Quantificação e isolamento *Escherichia coli*

De cada tubo positivo, retirou-se uma alíquota que foi estriada em placa de Petri contendo Ágar Eosina-Azul de Metileno (EMB), onde seguiram para incubação a 35°C por 24 horas. Em seguida, foram isoladas de 2 a 3 colônias, de cada diluição, com brilho verde metálico e/ou centro negro, características consideradas típicas de *E.coli*. Estas colônias foram inoculadas, separadamente, em tubos de Ágar Triptona Soja (TSA) (Difco), incubados a 35°C por 24 horas (VIEIRA, 2004).

4.7 Classificação morfológica e bioquímica de *Escherichia coli*

4.7.1 Coloração de Gram

Para a coloração de Gram foi necessário preparar lâminas a partir do crescimento da cultura pura em TSA e coradas segundo o método da coloração de Gram (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Após a coloração, foi observado sua característica morfotintorial em microscópio óptico, onde as características foram bastonetes Gram-negativo, seguindo para outros testes.

4.7.2 Provas bioquímicas

4.7.2.1 Produção de Indol (SIM)

Todas as cepas foram inoculadas com agulha em tubos contendo Ágar Sulfeto-Indol-Motilidade (SIM) e incubadas a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi observado motilidade, cepas que apresentaram crescimento e turvação do meio são consideradas móveis, e as que cresceram apenas no local da semeadura são imóveis. Após a observação, foi adicionado ao meio 2 a 3 gotas do reagente de Kovacs. A positividade do teste foi evidenciada pela formação de um halo rosa. O resultado negativo foi caracterizado pela formação de um halo amarelo (VIEIRA, 2004).

4.7.2.2 Teste de Voges-Proskauer (VP)

As cepas foram inoculadas em tubos contendo caldo *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) e incubadas a 35°C por 48 horas. Após o período de incubação, foram adicionados, para cada mililitro do meio, 0,6 mL do reativo Barrit I (α -naftol a 5%) e 0,2 mL do reativo Barrit II (KOH a 40%). Após agitação vigorosa, os tubos foram deixados em repouso por duas horas. A coloração vermelha na superfície do meio indicava positividade da prova (VIEIRA, 2004).

4.7.2.3 Teste de Vermelho de Metila (VM)

As cepas foram inoculadas em tubos contendo caldo *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) e incubadas a 35°C por 96 horas. Após esse período, foram adicionadas ao meio cinco gotas do reagente vermelho de metila. A mudança de coloração do meio para vermelho indicou a positividade do teste. Em caso negativo, a coloração do meio continuou (VIEIRA, 2004).

4.7.2.4 Teste de Citrato

Cada cepa foi inoculada em tubos contendo Ágar Citrato de Simmons com incubação a 35°C por 96 horas. A positividade do teste foi indicada pela mudança de coloração do meio de verde para azul (VIEIRA, 2004).

Figura 3- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra água de estuário para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada.

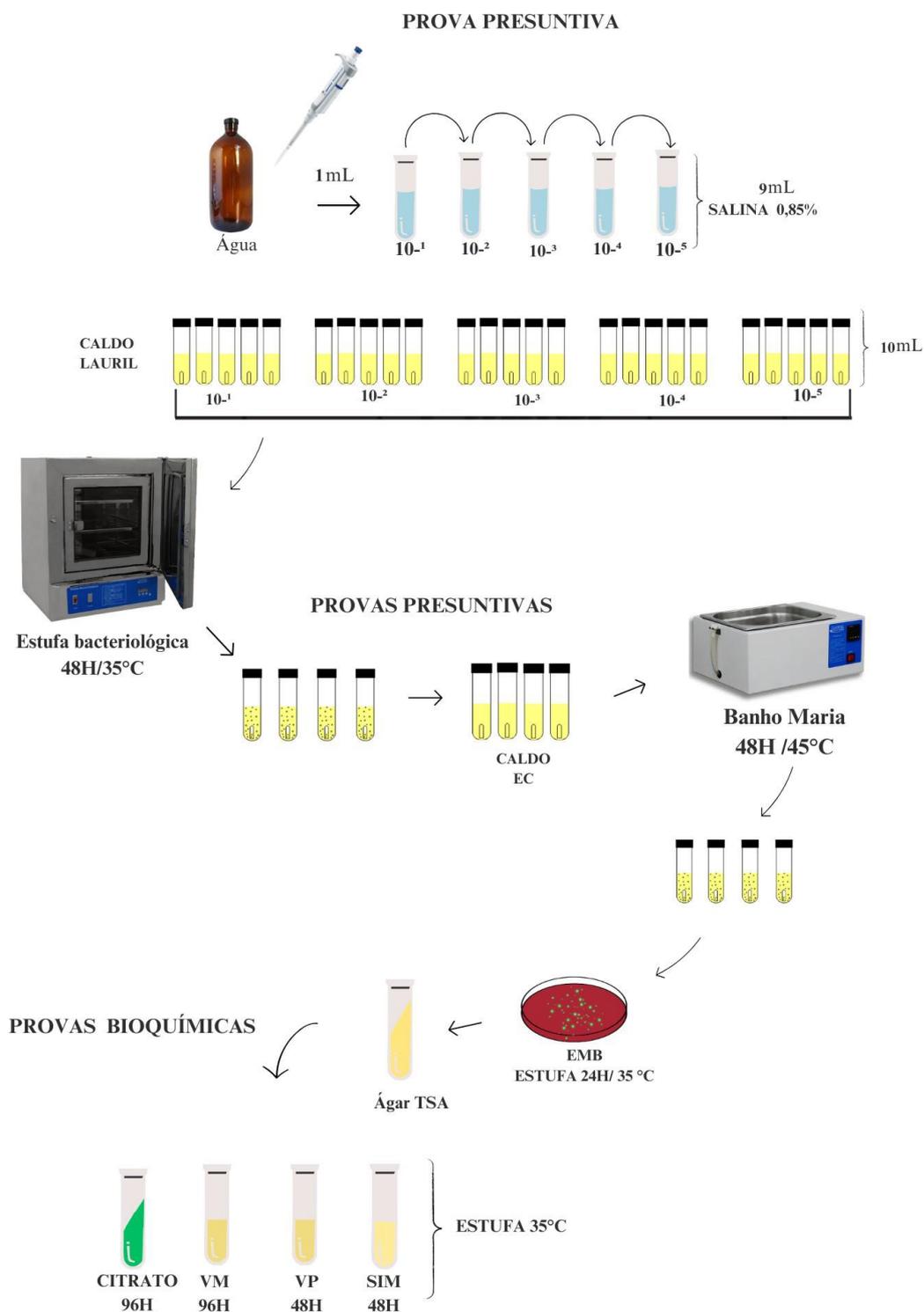


Figura 4- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra líquido intervalvar para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada.

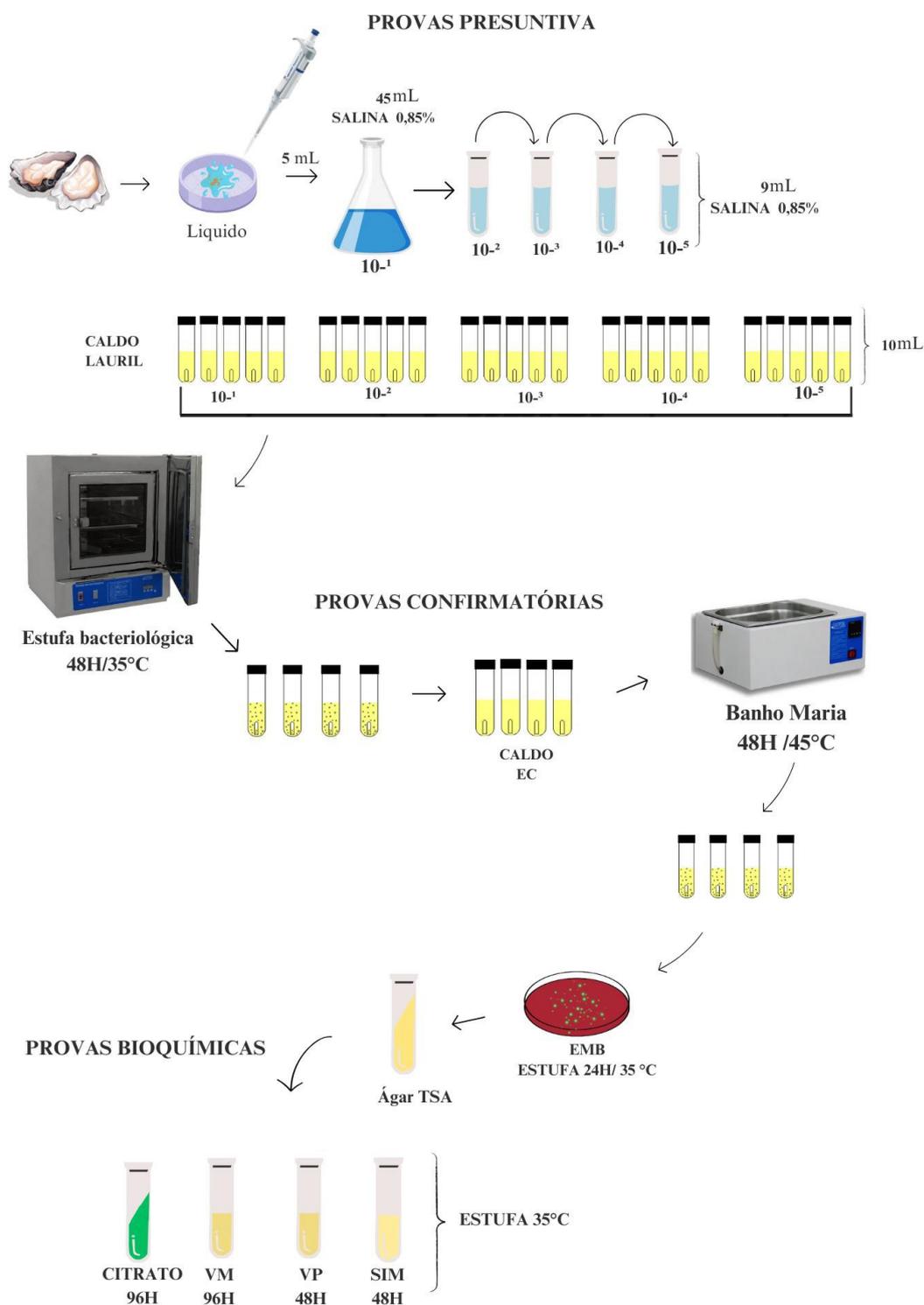
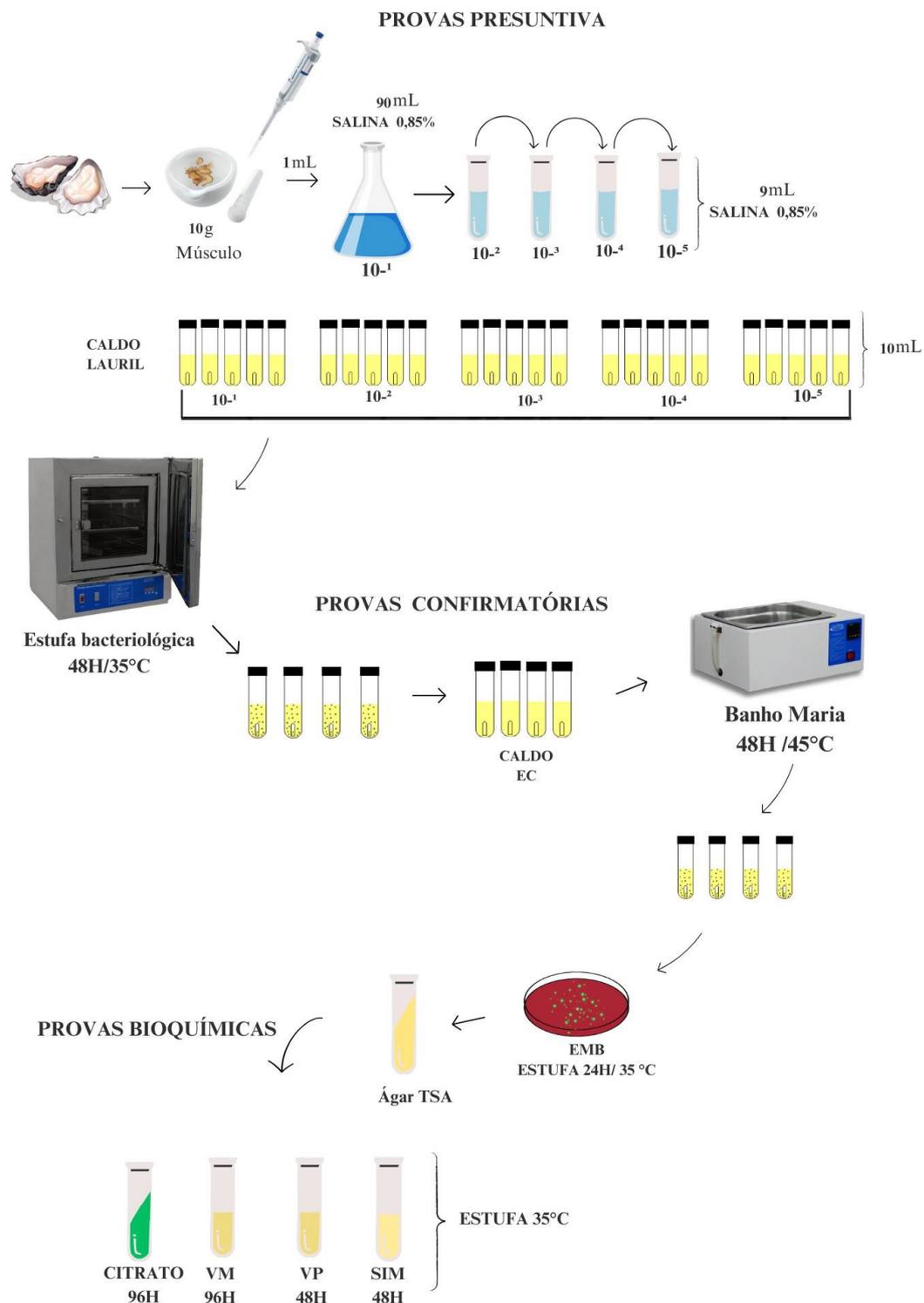


Figura 5- Fluxograma dos procedimentos realizados na amostra músculo para contagem de NMP, identificação e ensaios bioquímicos, realizados em bancada.



4.8 Antibiograma

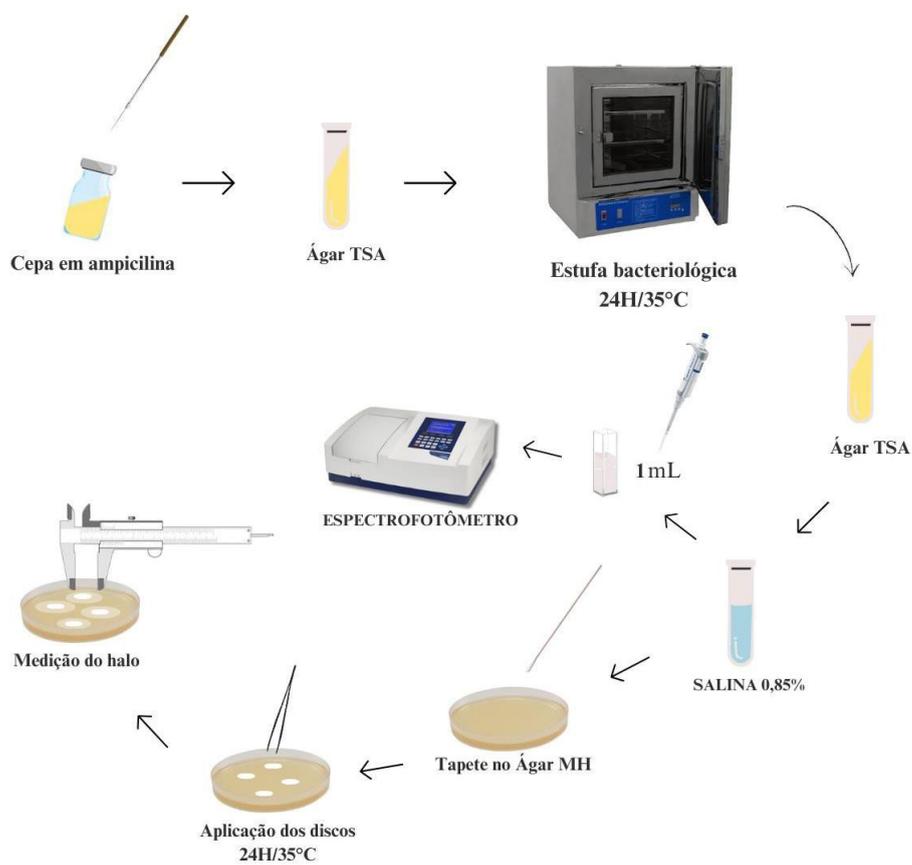
Avaliação dos antimicrobianos foi estipulada a partir da técnica de difusão em disco (SEJAS *et al.*, 2003, BAUER; KIRBY; SHERRIN, 1966) para as cepas confirmadas como *Escherichia coli*. Primeiramente, as cepas foram cultivadas em Ágar Triptona Soja (TSA) e incubadas a 35°C por 24h. O ajuste da concentração bacteriana, foi diluída em solução salina a 0,85% e comparadas com o padrão de turbidez de McFarland 0,5. A comparação foi feita a partir da observação em espectrofotômetro (Micronal B542). A turbidez comparável à solução padrão é equivalente a uma suspensão de aproximadamente 10^8 células ml^{-1} .

Em seguida, os inóculos previamente adequados foram semeados com *swab* sobre superfície do meio Ágar Muller-Hinton (Difco) recomendado pelo CLSI (2015), em placas para posterior aplicação dos discos de antimicrobianos das marcas LB, BBL e CECON. Os discos de antimicrobianos foram mantidos sob refrigeração na temperatura de aproximadamente 2°C a 8°C e utilizados dentro do prazo de validade. Antes de serem testados, foram deixados à temperatura ambiente por aproximadamente duas horas.

Para cada cepa foram testados oito antibióticos divididos em quatro de uso clínico pertencentes às classes Quinolonas (Ciprofloxacina - CIP 5 μg), Cefalosporinas (Ceftazidima - CAZ 30 μg), Fluoroquinolonas (Norfloxacina NOR - 10 μg) e Aminoglicosídeos (Amicacina AMI - 30 μg). Os quatro de uso veterinário são pertencentes às classes Quinolonas (Ácido Nalidíxico NAL - 30 μg), Nitrofuranos (Nitrofurantoína NIT - 100 μg), Aminoglicosídeos (Gentamicina GEN - 10 μg) e Fluoroquinolonas (Enrofloxacina EN - 10 μg).

O inóculo inicial foi padronizado por espectrometria (espectrofotômetro da marca Micronal modelo B542) com a leitura no comprimento de onda de 625 nm e inoculado sobre o Ágar Mueller – Hinton, sobre o qual foram inseridos os discos de antibióticos, posteriormente, incubados à temperatura de 37°C /18 a 24h. Decorrido este tempo, procedeu-se a medição dos halos de inibição com o uso de paquímetro. Os resultados foram comparados com os da tabela fornecida pelo laboratório fabricante dos discos. O comportamento de cada cepa foi classificado como sensível, intermediário ou resistente, de acordo com recomendações de cada fabricante, com relação ao tamanho do halo de inibição.

Figura 6- Fluxograma do procedimentos de antibiograma



Fonte: Autora (2023)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação dos fatores de temperatura, salinidade e pH

Foram realizadas duas coletas nas quais os parâmetros de pH e temperatura variaram de 25° C a 30° C; pH de 7,4 e 7,1 respectivamente. A salinidade da água variou de 32 ppm a 36 ppm durante as medições com o refratômetro, assim como mostra na Tabela 1.

Tabela 1- Valores médios das variáveis ambientais (temperatura, pH e salinidade) obtidas das amostras da água coletadas no Rio Cocó em Fortaleza, Ceará.

Dias de Análises	Parâmetros	Coleta 1 (26/07/22)	Coleta 2 (17/04/23)
1	Data - Horário Temperatura Salinidade pH	26/07 – 16:39 25°C 10 ppm 7,4	17/04 – 12:30 30°C 5 ppm 7,1
2	Data - Horário Salinidade	27/07 – 09:05 35 ppm	18/04 – 12:15 35 ppm
3	Data - Horário Salinidade	28/07 – 09:09 33 ppm	19/04 – 12:40 36 ppm
4	Data - Horário Salinidade	29/07 – 08:00 33 ppm	20/04 – 12:20 36 ppm
5	Data - Horário Salinidade	01/08 – 08:40 35 ppm	21/04 – 12:15 36 ppm

Fonte: Autora (2023).

Os valores de salinidade e pH não apresentaram grandes variações no decorrer da depuração, devido ao fato de não ter ocorrido renovações na água dos tanques. Nas duas coletas, a temperatura do ambiente não influenciou no experimento. Mesmo sendo verificado que em julho de 2022, ocorreu a maior média de temperatura do país desde 1961 e durante o período chuvoso ocorreram as maiores médias de chuva em Fortaleza (INMET, 2023).

Durante o período de 2012 a 2016, os níveis de salinidade foram mensurados como hipersalinos, apresentando valores superiores aos do mar. Essa ocorrência pode ser atribuída à evaporação da água, à diminuição do fluxo de água doce proveniente do

continente e à baixa intensidade das marés. Por outro lado, nos anos de 2019 e 2020, a influência das chuvas acima da média histórica afetou a salinidade dos estuários (CARLOS, 2022).

Essas oscilações de salinidade em ambientes estuarinos implicam em um custo energético para os organismos, já que requerem adaptações fisiológicas mais abrangentes como resposta às variações na osmorregulação (FERREIRA, 2022). Estudo realizado por (LIMA, 2023) mostrou que no período chuvoso as ostras não se desenvolvem por conta da baixa salinidade, já no período seco seu desenvolvimento é maior, com salinidade ideal de 35 ppm.

Segundo Silva *et al.* (2022) os estuários apresentam uma classificação quanto à salinidade em (ppm) como: oligohalinos (entre 0,5 e 5,0), mesohalinos (entre 5 e 18), polihalino (entre 18 e 30) e eurialinos (entre 30 e 40) e hiperhalinos (superior a 40).

A temperatura da água e a precipitação são fatores capazes de influenciar positivamente a sobrevivência de bactéria como *E. coli* no músculo das ostras e nas águas estuarinas (JEAMSRIPONG; ATWILL, 2019).

5.2 Número Mais Provável – NMP

Inicialmente, quando as amostras foram retiradas do ambiente, ocorreram as análises da qualidade da água e das ostras. As amostras de água apresentaram os valores de 330 NMP/ml no período de estiagem e de 1700 NMP/ml no período chuvoso. É importante ressaltar que no período da coleta a quadra chuvosa no Ceará apresentou uma precipitação média de 182,3mm (FUCEME,2023). Os valores referentes aos resultados do Número Mais Provável dos coliformes termotolerantes das amostras analisadas das águas, músculo e líquido intervalvar das ostras encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2- Resultado do Número Mais Provável (NMP/ mL) para as amostras de músculo e líquido intervalvar de ostras e água coletadas no Rio Cocó em Fortaleza, Ceará.

COLETAS	AMOSTRAS	1° Dia	2° Dia	3° Dia	4° Dia	5° Dia
1°	Água	330	-	-	-	-
	Líquido	26	< 1,8	< 1,8	< 1,8	< 1,8
	Músculo	21	< 1,8	< 1,8	< 1,8	< 1,8
2°	Água	1700	-	-	-	-
	Líquido	210	23	4,5	2	< 1,8
	Músculo	280	< 1,8	< 1,8	< 1,8	< 1,8

(-) para amostra de água só foi realizada o NMP no primeiro dia de coleta

Fonte: Autora (2023)

De acordo com Resolução CONAMA n° 357 de 17 de março de 2005, para o cultivo de moluscos bivalves destinados a alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Estando assim os valores encontrados acima do permitido. Porém, vale ressaltar que só foi realizada uma análise da água para os dois períodos de amostragem no primeiro dia de coleta dos moluscos (BRASIL, 2005).

A qualidade da água é um fator impactante na qualidade microbiológica do molusco por ser um animal filtrador, pois acumula em seu tecido muscular diversas substâncias que podem acarretar uma possível intoxicação alimentar quando não há cuidados com a depuração desses animais. De acordo com Doi *et al.* (2015) existe correlação entre a densidade de coliformes termotolerantes o tecido muscular das ostras e a água, o que comprova que a qualidade microbiológica da ostra vem como um reflexo do ambiente em que ela se encontra.

A partir do segundo dia de amostragem foi observado um decaimento da contagem dos microrganismos nas amostras do líquido intervalvar e no músculo das ostras analisadas (Tabela 2 acima). Estando de acordo com a Instrução Normativa n° 12, de 2 de janeiro de 2001, que estabelece os padrões microbiológicos para pratos prontos para o

consumo (alimentos prontos de cozinha e similares), ítem b) produtos à base de carnes, pescado e similares crus (BRASIL, 2001).

Os moluscos bivalves são considerados organismos filtradores, podendo acumular microrganismos, como bactérias e vírus patogênicos a humanos, principalmente se seu cultivo ocorrer em ambientes poluídos por esgoto, ocasionando risco à saúde pública caso sejam consumidos crus ou levemente cozidos (SOUZA *et al.*, 2022).

Com intuito de restringir o risco de doenças humanas, alguns países implementaram controles na produção comercial e na coleta de moluscos bivalves. Basicamente, o controle é realizado através do monitoramento desses organismos indicadores de contaminação fecal, as análises são efetuadas nos moluscos e nas águas de seu cultivo, dependendo do que é encontrado são indicados tratamentos como depuração, retransmissão (é a transferência dos moluscos bivalves de áreas poluídas para áreas com água do mar natural limpa por um tempo, dependendo do nível de contaminação) ou tratamento térmico (SOUZA *et al.*, 2018).

O Brasil promulgou em 2012 o Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves – (PNCMB) implementado em 8 de maio de 2012, prescreve o controle de *E. coli* em carne de marisco, para tratamentos pós-colheita para moluscos provenientes de zonas de produção com níveis moderados de contaminação (BRASIL, 2012; SOUZA *et al.*, 2022). Nesse documento existe a indicação de que as amostras que apresentem elevados níveis de *E. coli* sejam encaminhados para sistemas de depuração para redução da carga bacteriana e só depois seja comercializada.

Para que a depuração seja considerada eficiente, o controle da qualidade da água é uma variável relevante, pois essa filtração da água é um processo natural dos moluscos. No sistema de depuração apresentado não houve renovação de água, portanto toda a água do sistema foi a mesma do início ao fim, e foi retirada do ambiente no qual as ostras estavam anteriormente (FORCELINI, 2009).

Farias *et al.* (2010) e Ramos *et al.* (2010) observaram que há um número elevado nos valores de NMP encontrado em amostragens ocorridas no período da estação chuvosa, esse aumento pode ocorrer devido ao escoamento da chuva no estuário ou podendo ser derrame de esgoto clandestino.

Walker *et al.* (2018) relataram que em processos de depuração, existe um diferencial na eliminação de diferentes tipos de bactérias em relação ao tempo de

de puração. *E. coli* foi a primeira a ser eliminada em relação a outros patógenos como *Salmonella* spp. e *Vibrio* spp. indicando que caso o procedimento fosse estendido para mais dias, a possibilidade de eliminação de patógenos seria ainda mais eficiente.

5.3 Quantificação e isolamento *Escherichia coli*

A família *Enterobacteriaceae* é conhecida por apresentar morfologia de bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos, fermentadores de glicose, oxidase negativa, catalase positiva e a maioria dos representantes dessa família possuem motilidade. Foram isoladas 173 cepas (55 das amostras de água, 65 do líquido intervalvar e 53 do músculo das ostras), dessas, 135 cepas seguiram para a etapa de identificação bioquímica, apresentando 32 cepas pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, 122 cepas pertencente a espécie *Escherichia coli* e 1 *Citrobacter*.

Em trabalho realizado por Jeamsripong e Atwill (2019), isolaram 144 cepas de ostras e 96 da água do estuário, confirmando a presença de *Escherichia coli* em 93,06% das cepas do músculo da ostra e 78,13% da amostra de água do estuário.

A família *Enterobacteriaceae* engloba várias bactérias frequentemente encontradas no ambiente, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. Devido ao fato de membros dessa família serem causadores de doenças em seres humanos, desempenham um papel especialmente importante no contexto de contaminação ambiental (TILAHUN *et al.*, 2021).

Outro ponto importante é o fato de que a espécie *Escherichia coli* é considerada um dos patógenos de maior importância quando se deseja constatar contaminação por esgotos (PEREIRA *et al.*, 2019). Estando presente no intestino de animais de sangue quente e desempenhado uma função no trato gastrointestinal que assegura e mantém a microbiota, um papel ativo na proteção da barreira intestinal (BALDELLI *et al.*, 2021).

Em pesquisa realizada por COSTA (2009), com relação à frequência de bactérias isoladas em moluscos, verificou-se a presença de *Staphylococcus* spp. seguidos por bacilos Gram-negativos não fermentadores de lactose, *Streptococcus* β -hemolítico, *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Proteus* spp.

Apesar de ter sido verificada a presença de uma cepa de *Citrobacter*, Alfaro (2023) identificou 10 cepas pertencentes às espécies do grupo dos coliformes fecais:

Enterobacter cloacae, *Escherichia coli*, *Shigella lexneri*, *Klebsiella varicola*, *Enterobacter hormaechei*, além de membros do gênero *Citrobacter*.

A presença de diversas famílias em amostras de bivalves é importante, devido ao fato desses organismos serem filtradores. Uma pesquisa analisando duzentos e vinte e duas cepas bacterianas de moluscos bivalves verificaram membros das famílias: Aeromonadaceae, Bacillaceae, Comamonadaceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Micrococcaceae, Moraxellaceae, Morganellaceae, Pseudomonadaceae, Shewanellaceae, Staphylococcaceae, Streptococcaceae, Vibrionaceae e Yersiniaceae, essa elevada diversidade é um grave problema, uma vez que esses organismos (moluscos bivalves) são consumidos crus e isso pode vir a acarretar risco à saúde pública (SALGUEIRO *et al.*, 2021).

5.4 Detecção de susceptibilidade a antimicrobianos

Foram encaminhadas para o teste de susceptibilidade a antimicrobianos um total de 113 cepas, sendo 23 das amostras de água, 56 do líquido intervalvar e 34 cepas do músculo das ostras, oriundas do estuário do Rio Cocó, em Sabiaguaba (FIGURA 7, 8 e 9, respectivamente).

Na Figura 7 é mostrado o percentual de susceptibilidade /resistência das cepas de *Escherichia coli* isoladas das amostras de água oriunda do Rio Cocó. O percentual de resistência observado foi a ácido nalidíxico – NAL 2 cepas (9 %) e enrofloxacin -ENO 1 cepa (4%), o percentual de intermediário foi a ácido nalidíxico – NAL 4 cepas (17%), ceftazidina- CAZ 1 cepa (4%), ciprofloxacina – CIP 1 cepa (4 %) e enrofloxacin -ENO 1 cepa (4 %). As demais cepas foram sensíveis aos fármacos testados.

Figura 7. Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* isoladas das amostras de água oriundas do Estuário do Rio Cocó em Sabiaguaba Fortaleza (Ceará).



GEN - Gentamicina; NOR - Norfloxacin; AMI - Amicacina; CAZ – Ceftazidina; CIP – Ciprofloxacina, NAL- Ácido Nalidíxico; ENO – Enrofloxacin; F/N- Nitrofurantoina.

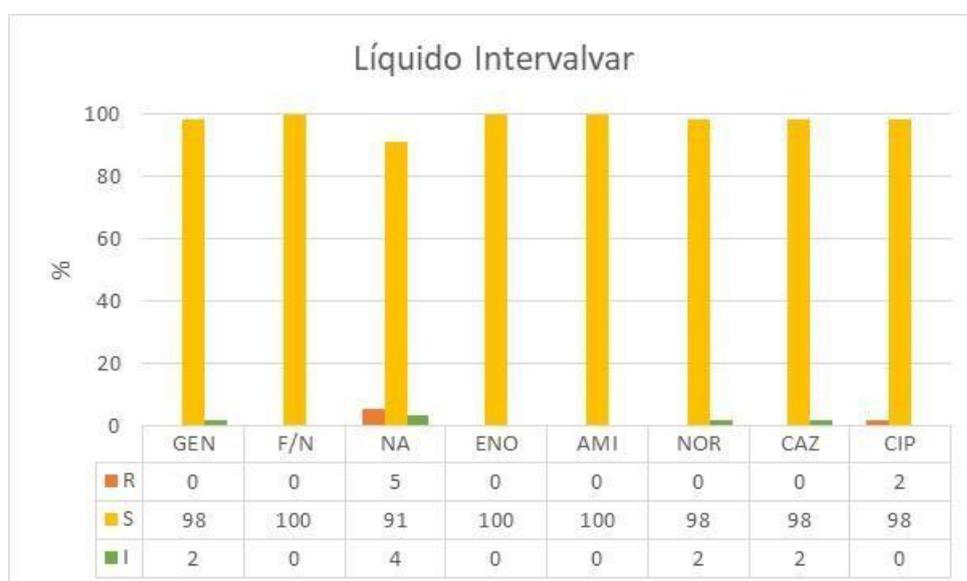
R% = Resistente, I% = Intermediário, S% = Sensível.

Fonte: Autora (2023)

Na Figura 8 é mostrado o percentual de susceptibilidade /resistência das 56 cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras do líquido intervalvar das ostras retiradas do sistema de depuração. O percentual de resistência observado: ácido nalidíxico – NAL (5 %) e ciprofloxacina – CIP (2%), o percentual de intermediário foi ácido nalidíxico – NAL (4%) norfloxacin -NOR (2 %), ceftazidina- CAZ (2%) e gentamicina - GEN (2 %). As demais cepas foram sensíveis aos fármacos testados.

Estudo realizado por Jeamsripong *et al.* (2023), verificaram que cepas de *E. coli* oriundas de ostras apresentavam resistência a Gentamicina (4,4%) e Ciprofloxacina (4,8%), para as cepas oriundas da água de estuário foram resistentes a Gentamicina (5,7%), Ciprofloxacina (5,0%) e Ceftazidina (3,1%), valores aproximados com a presente pesquisa.

Figura 8. Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* isoladas do líquido intervalvar das ostras do sistema de depuração oriundas do Estuário do Rio Cocó em Sabiaguaba Fortaleza (Ceará).



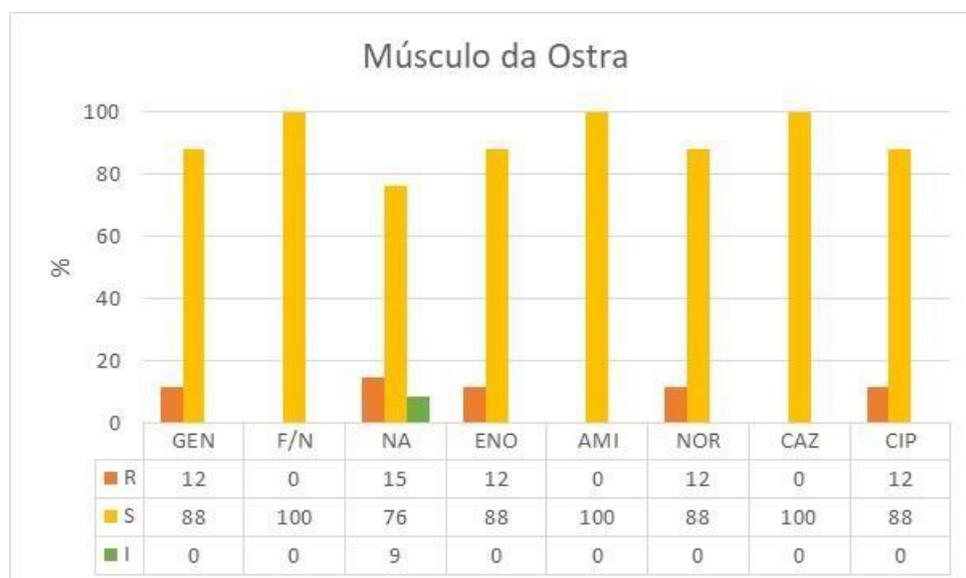
GEN - Gentamicina; NOR - Norfloxacin; AMI - Amicacina; CAZ – Ceftazidina; CIP – Ciprofloxacina, NAL- Ácido Nalidíxico; ENO – Enrofloxacin; F/N- Nitrofurantoina.

R% = Resistente, I% = Intermediário, S% = Sensível.

Fonte: Autora (2023)

Na Figura 9 é mostrado o percentual de susceptibilidade /resistência das 34 cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de músculo das ostras retiradas do sistema de depuração. O percentual de resistência observado foi a ácido nalidíxico – NAL (15%) gentamicina - GEN (12%), norfloxacin -NOR (12%), ciprofloxacina – CIP (12%), e enrofloxacin -ENO (12%), somente cepas apresentaram perfil intermediário a ácido nalidíxico – NAL (9%). As demais cepas foram sensíveis aos fármacos testados.

Figura 9. Percentual de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* isoladas do músculo das ostras do sistema de depuração oriundas do Estuário do Rio Cocó em Sabiaguaba Fortaleza (Ceará).



GEN - Gentamicina; NOR - Norfloxacin; AMI - Amicacina; CAZ – Ceftazidina; CIP – Ciprofloxacina, NAL- Ácido Nalidíxico; ENO – Enrofloxacin; F/N- Nitrofurantoina.
R% = Resistente, I% = Intermediário, S% = Sensível.

Fonte: Autora (2023)

Das amostras analisadas, o músculo foi o que apresentou o maior número de cepas resistentes, seguido das cepas oriundas do líquido intervalvar e das amostras de água. O fármaco que foi detectado em todos os extratos analisados foi o ácido nalidíxico também em maior quantidade nas cepas oriundas do músculo, seguido das cepas da água e líquido intervalvar. Porém, em trabalho realizado em amostras de bivalves foi verificada uma redução na susceptibilidade aos fármacos amoxicilina, cloranfenicol, colistina, cefotaxima e ácido nalidíxico (SALGUEIRO *et al.*, 2021).

Essa baixa resistência ao ácido nalidíxico também foi observada ao analisar amostras de ostras oriundas do Brasil e Estados Unidos da América, onde se detectou maiores resistências a cefalotina, seguida por nitrofurantoina, ampicilina, tetraciclina, sulfazotrim e por último ácido nalidíxico (MIOTTO *et al.*, 2019).

A resistência antimicrobiana é um grave problema de saúde pública em todo o mundo, por estar associada ao uso indiscriminado e inadequado de antibióticos por seres humanos, fábricas e produtores, além da falta de higiene, saneamento, prevenção e controle ineficientes de infecções em ambientes de saúde serem consideradas pontos

importantes no surgimento e distribuição de bactérias resistentes (PORMOHAMMAD, NASIRI e AZIMI, 2019).

Os moluscos bivalves servem como bioindicadores úteis e práticos de contaminação fecal ambiental, são capazes de acumular nutrientes, produtos químicos, como antibióticos, e vários microrganismos (GREVSKOTT *et al.*, 2017)

Assim, foi verificado que cepas de *Escherichia coli* usada no monitoramento de ambientes contaminados por poluição fecal e bactérias resistentes a antimicrobianos, principalmente devido algumas espécies serem capazes de espalhar e/ou transferir seus genes de resistência para mesmas espécies ou espécies de gêneros diferentes que apresentem afinidade (NYIRABAHIZI *et al.*, 2020).

Em trabalho realizado por Jeamsripong *et al.* (2023) ao analisarem isolados de *E. coli* obtidas de amostras de ostras (n = 250) e de água estuarina (n = 159) em Phang Nga, verificaram que 94% das estirpes foram resistentes a pelo menos um antibiótico utilizado.

Por consequência, o ambiente estuarino pode ser considerado uma área de particular preocupação devido à alta diversidade e abundância de bactérias resistentes, podendo representar uma ameaça significativa à saúde pública (ZHAO *et al.*, 2020).

6. CONCLUSÃO

O sistema de depuração se mostrou viável tanto nos aspectos econômicos como microbiológicos. Durante o processo depurativo não houve mortalidade das ostras, mostrando sua viabilidade. Em contrapartida, a presença de microrganismos resistentes a antimicrobianos requer cuidado, uma vez que sua presença, pode vir a indicar o uso indiscriminado desses fármacos, que no futuro poderá vir a causar danos à saúde pública.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. *et al.* A proteção dos ecossistemas de manguezal pela legislação ambiental brasileira. **GEOgraphia**, v.17 - Nº33, 2015.

ALBUQUERQUE, M. C. P. *et al.* **Novas opções de cultivo de moluscos bivalves marinhos no Brasil: Pteria hirundo (Linnaeus, 1758) e Cyrtopleura costata (Linnaeus, 1758)**. Tese (doutorado)- Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2010. 218p, 2012.

ALFARO, N.A.V. **Coliformes fecales en Anadara tuberculosa comercializada en los centros de acopio de la región Tumbes**. TESIS Para optar el título profesional de Ingeniera Industrial Pesquera. Universidad Nacional De Tumbes Facultad De Ingeniería Pesquera Y Ciencias Del Mar Escuela Profesional De Ingeniería Industrial Pesquera, 49 p. 2023.

ALMEIDA, L.P; SILVA, V.V; CARVALHO, G.D. Percepção de marisqueiros e maricultores sobre a existência de toxinas em moluscos bivalves. **I CoBICET**, p. 1 - 4, 2020.

ALMEIDA, J. A. P. **Ostras, um fruto de Setúbal. Valorização gastronómica e cultura alimentar do Sado**. Dissertação de Mestrado. Dissertação no âmbito do Mestrado em Alimentação: Fontes, Cultura e Sociedade orientada pela Professora Doutora Paula Barata Dias e apresentada à Faculdade de Letras da Universidade de Coimbra. 82 p., 2019.

ANTONIO, Í. *et al.* Reproductive cycle of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) cultured in a macrotidal high-salinity zone on the Amazon mangrove coast of Brazil. **Acta Amazonica**, v. 51, p. 113-121, 2021.

ÁLVAREZ, C. A.V. **Resistência antimicrobiana a β -lactâmicos, Colistina e Quinolonas em enterobactérias e *Vibrio spp.* isoladas de *Ruditapes decussatus* e *Ruditapes philippinarum***. Trabalho de Projeto para obtenção do Grau de Mestre em Biotecnologia dos Recursos Marinhos, 97 p. 2020.

AMADOR, S. A. S. **Os 10 antibióticos mais usados**. Muy salud. 11 de janeiro, 2023. Disponível em: <https://muysalud.com/pt/medicamentos-pt/antibioticos-mais-usados/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

ANJANA, S. *et al.* Avaliação do desempenho do sistema de depuração vertical com recirculação assistida por ultravioleta na redução microbiana, de metais pesados e na composição do molusco preto (*Villorita cyprinoides*). **Lwt**, v. 110628, 2021.

ARAÚJO JÚNIOR, J. C. M.; PEREIRA, R. Evolução da contaminação por metais pesados em sedimentos em área estuarina do rio Capibaribe: uma revisão. **Revista de Geografia** (Recife), v. 38, n. 1, 2021.

ARRUDA, M. C. F. **Avaliação dos indicadores da política de pesca do programa zona franca verde: perspectivas econômicas e ambientais**. 83p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

BALDELLI, V. *et al.* The role of Enterobacteriaceae in gut microbiota dysbiosis in inflammatory bowel diseases. **Microorganisms**, v. 9, n. 4, p. 697, 2021.

BARLETTA, M., LIMA, A.R.A., COSTA, M.F. Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in south American estuaries. **Sci. Total Environ.** v. 651, p. 1199–1218, 2019.

BARLETTA, M., JAUREGUIZAR, A.J., BAIGUN, C., FONTOURA, N.F., AGOSTINHO, A.A., ALMEIDA- VAL, V.M.F., VAL, A.L., TORRES, R.A., JIMENES-SEGURA, L.F., GIARRIZZO, T., FABR'E, N.N., BATISTA, V.S., LASSO, C., TAPHORN, D.C., COSTA, M.F., CHAVES, P.T., VIEIRA, J.P., CORREA, M.F.M. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. **J. Fish Biol.** v.76, p. 2118–2176, 2010.

BATTISTINI, R. *et al.* Ocorrência e persistência de vírus entéricos, arsênico e biotoxinas em ostras do Pacífico cultivadas num local de produção italiano. **Boletim de Poluição Marinha**, v. 162, p. 111843, 2021.

BAUER, A. W.; KIRBY, M. M.; SHERRIN, J. D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. **Am. J. Pathol., Bethesda**, v.45, p.493-496, 1966.

BOBERMIN, D. M. *et al.* **Avaliação de sistema compacto para depuração de ostras (*Crassostrea gigas*) contaminadas com *Escherichia coli***. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Florianópolis, 78p. 2013.

BRASIL, 2012. INSTRUÇÃO NORMATIVA INTERMINISTERIAL N 7, DE 8 DE MAIO DE 2012. Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB). **Ministério da Pesca e Aquicultura, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília**.

BRASIL, 2005. **RESOLUÇÃO CONAMA N° 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005*** (RETIFICADA -AO FINAL). [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfcd_a_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf>

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução - RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001.

BRITO, D. Risco à qualidade do pescado da costa amazônica maranhense. *Revista Saúde e Meio Ambiente- UFMS- Campus Três Lagoas. RESMA-UFMS.*, v. 15 n. 2, 2023.

CARLOS, N. M. **Influência da seca prolongada na variação espacial, densidade e biomassa de tainhas (*Mugil spp.*) em estuários do semiárido brasileiro.** 32 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

CARVALHO, G. *et al.* Aspectos relevantes sobre as intoxicações pelo consumo de pescado. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Espírito Santo*, v. 4, p. 118, 2021.

CASTILLO, E. L. V. **Eficiencia del sistema depurador con tratamiento luz UV para *E. coli* en *Tagelus dombeii* navajuela"-Bahía de Sechura.** Universidad Nacional De Piura Facultad De Ciencias Escuela Profesional De Ciencias Biologicas, 94 p. 2019.

CASTRO, Í. R. R; DE CASTRO, L. R; LIMA, A. C. S. Bactérias resistentes a antibióticos em ambiente aquático: efeito na produção animal. *Ciência Animal*, v. 32, n. 1, p. 84-99, 2022.

CDC, 2022. *Centers For Disease Control And Prevention*. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/>> - Acessado em 26 de agosto de 2023, 14h

CHAGAS, V. A. **Avaliação de resistência bacteriana em cepas ambientais com interesse biotecnológico.** Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências Campus do Litoral Paulista UNESP, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas. 21 p., 2022.

COLOUNA, A. A. T. *et al.* O USO INDISCRIMINADO DE ANTIBIÓTICOS NA RESISTÊNCIA BACTERIANA INFANTIL. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, v. 9, n. 9, p. 3686-3695, 2023.

COSTA, M.F., BARLETTA, M. Special challenges in the conservation of fishes and aquatic environments of South America. *J. Fish Biol.* v. 89, p. 4–11, 2016.

COSTA, F. C. **Prevalência e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de microrganismos isolados em urocultura no período de janeiro a dezembro de 2007, em hospital municipal de Ibitaré/MG.** Monografia apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia, do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do título de Especialista em Microbiologia Aplicada às Ciências da Saúde. 80 p. 2009.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility.** Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved

Standard Tenth Edition. CLSI document M07A10 (ISBN 2162-2914). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2015. 240 p.

DIOGO, B. S; RODRIGUES, S; ANTUNES, S. C. Antibióticos. **Revista de Ciência Elementar**, v. 11, n. 1, 2023.

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

DUÉ, A. *et al.* Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil. **Bioikos**, v. 24, n. 2, 2010.

DUTRA, A. R. A. *et al.* A contribuição da ergonomia para a mecanização da produção catarinense de ostras. **Proceedings ICIEOM-ABEPRO**, p. 1-13, 2011.

EL MOQRI, N. *et al.* **Análise por PCR do vírus da hepatite A e detecção de *E. coli* em ostras da lagoa Oualidia e sua correlação.** Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *et al.* Presença de enteropatógenos resistentes a antimicrobianos em ostras e sururus da Baía do Iguape, Maragogipe (Bahia). **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 12, n. 1, p. 25-34, 2014.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *et al.* Veiculação de enterobactérias resistentes aos antimicrobianos em frutos do mar. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 10, n. 2, p. 01-15, 2017.

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

FERREIRA, C. G. R. **Padrões de precipitação e desmatamento e sua relação com a salinidade dos estuários. 30f.** Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Bacharelado Interdisciplinar de Ciência e Tecnologia do Mar) - Instituto do Mar, Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2022

FERREIRA, E. M. S. *et al.* Os riscos que o uso indiscriminado de antibióticos pode ocasionar em crianças: uma revisão bibliográfica. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 2, n. 11, p. e211901-e211901, 2021.

FERREIRA, J. F.; NETO, M. O. Cultivo de moluscos em Santa Catarina. BARROSO, GF; POERSCH, LHS; CAVALLI, RO **Sistemas de cultivo aquícolas na zona costeira**

do Brasil: recursos, tecnologias, aspectos ambientais e sócioeconômicos. Rio de Janeiro: UFRJ, p. 87-96, 2007.

FORCELINI, H. C. D. -L. **Depuração de ostras de cultivo da Baía de Guaratuba – Paraná, Brasil.** Disponível em: <educapes.capes.gov.br>, 29 de junho de 2009.

FRIAS, D. F. R. *et al.* Variação espaço-temporal da concentração de *Escherichia coli* em águas superficiais e a saúde pública. **Revista Nacional de Gerenciamento de Cidades**, v. 8, n. 60, p. 77-86, 2020.

FUCEME. **Quadra chuvosa no Ceará termina dentro da média.** Disponível em: <<http://www.funceme.br/?p=11740#:~:text=As%20precipita%C3%A7%C3%B5es%20da%20Quadra%20Chuvosa>>. Acesso em: 1 set. 2023.

GARCIA, J. C. R. **Toxinfecções Alimentares de origem bacteriana – uma revisão.** Dissertação em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de ciências e tecnologia universidade de Lisboa. (Novembro2020) p. 77 2021.

GREVSKOTT DH, SVANEVIK CS, SUNDE M, WESTER AL, LUNESTAD BT. Marine bivalve mollusks as possible indicators of multidrug-resistant *Escherichia coli* and other species of the *Enterobacteriaceae* family. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 24, 2017.

GRISE, N. M. F. *et al.* Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* em ostras de dois estuários do Baixo Sul, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 1330013313, 2020.

GOMES, C. H. A. M. *et al.* **Crescimento e reprodução de duas espécies de ostras do gênero *Crassostrea* no litoral catarinense.** 2019. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

HORTA, I. F. R *et al.* Efeitos das toxinas presentes em moluscos, contaminação alimentar do homem. In: **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar.** 2019.

HERNÁNDEZ, K. L. *et al.* Improved microbial safety of direct ozone-depurated shellstock Eastern oysters (*Crassostrea virginica*) by superchilled storage. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

INMET - **Instituto Nacional de Meteorologia** -. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/noticias/julho-de-2023-foi-o-mais-quente-no-brasil-desde-1961>>. Acesso em: 31 ago. 2023.

JEAMSRIPONG S, KULDEE M, THAOTUMPITAK V, CHUANCHUEN R. Antimicrobial resistance, Extended-Spectrum β -Lactamase production and virulence

genes in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from estuarine environment. **PLoS ONE**, v. 18, n. 4, p 0283359, 2023.

JEAMSRIPONG, S., ATWILL, E. R. Modelling of Indicator *Escherichia coli* Contamination in Sentinel Oysters and Estuarine Water. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 16, p. 1971, 2019.

JESUS, L. C. A. **Implementação da Norma NP EN ISO 22000: 2005 em centros de depuração de bivalves: Estudo de caso**. Relatório do Trabalho Final para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia dos Alimentos, Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve. 168p. 2016.

LIMA, R. A. **Influência da pluviosidade na balneabilidade das praias da Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro**. Dissertação (Programa de pós-graduação em gestão e Regulação de Recursos Hídricos (PROF_ÁGUA) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 65p. 2023.

LIMA, A. C. S. **Acompanhamento da depuração de ostras nativas (*Crassostrea gasar*) e (*Crassostrea rhizophorae*) na Estação Depuradora de Moluscos Bivalves (ostras), Coruripe–AL**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado Engenharia de Pesca) - Universidade Federal de Alagoas. 2019.

LIMA, M. N. B. **Biologia Reprodutiva e Crescimento da Ostra-do- Manguê *Crassostrea gasar* Adanson (1757) (MOLLUSCA: BIVALVIA) cultivada em manguezais da Costa Amazônica (Curuçá e São Caetano de Odivelas)**. 2015. Tese (Doutorado) – Curso de Ecologia Aquática e Pesca, Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

MAIA, R. C. *et al.* Impactos ambientais em manguezais no Ceará: causas e consequências. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 5, p. 69-77, 2019.

MAUÉS, A. A. *et al.* **Ostra de Florianópolis: vantagens e desafios para obtenção de uma indicação geográfica**. Trabalho de Conclusão do Programa de PósGraduação em Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia para a Inovação do Centro Sócio Econômico da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia para a Inovação. 89 p. 2020.

MENDES, D. C. S. **Sanidade do ambiente e da ostra *Crassostrea gasar*: cultivada no município de primeira cruz, maranhão, Brasil: Aspectos Microbiológicos, parasitológicos e de fauna associada**. 2018. Dissertação (Mestrado em Recursos Aquáticos e Pesca) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, São Luiz, 2018.

MIOTTO, M., OSSAI, S. A., MEREDITH, J. E., BARRETTA, C., KIST, A., PRUDENCIO, E. S., VIEIRA, C. R. W., PARVEEN, S. Genotypic and phenotypic

characterization of *Escherichia coli* isolated from mollusks in Brazil and the United States. **Microbiology Open**, v. 8, n 738, p. 1-14, 2019.

MOISANI, M. M. *et al.* Caracterização química e microbiológica de moluscos bivalves coletados, cultivados e comercializados na costa do estado do Rio de Janeiro. **Arquivo de Ciências do Mar**, p. 122 - 134, 2021.

NASCIMENTO, M. M. *et al.* Estudo de compostos poliaromáticos não convencionais e mercúrio na baía de todos os santos, brasil: avanços recentes e contribuição para melhor compreensão do ambiente marinho. **Química Nova**, v. 46, p. 668-682, 2023.

NUERNBERG, S. S. *et al.* Análise microbiológica em ostras (bivalvia, ostreidae) de ambiente natural em Laguna, Santa Catarina, Brasil. **Science And Animal Health**, v. 9, n. 3, p. 200-215, 2021.

NYIRABAHIZI E, TYSON GH, DESSAI U, ZHAO S, KABERA C, CRAREY E, *ET AL.* Evaluation of *Escherichia coli* as an indicator for antimicrobial resistance in *Salmonella* recovered from the same food or animal ceca samples. **Food Control**. V. 115:107280, 2020.

ODUM, E. P.; BARRET, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. São Paulo: Cengage Learning, 2007. 612p.

OLIVEIRA, V.G.P. Segurança sanitária dos moluscos bivalves vivos produzidos em zonas estuarinas portuguesas e respetivo controlo oficial 2018. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal, 2018.

OLIVEIRA, A. M. S. *et al.* Occurrence, antibiotic-resistance and virulence of *E. coli* strains isolated from mangrove oysters (*Crassostrea gasar*) farmed in estuaries of Amazonia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 157, p. 111302, 2020.

PEREIRA, M. O. *et al.* Perfil de resistência da *Escherichia coli*, isoladas de água e ostras, aos betalactâmicos. **Higiene alimentar**, p. 2544-2548, 2019.

PORMOHAMMAD, A., NASIRI, M. J., AZIMI, T. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. **Infection and Drug Resistance**, v.12, p. 1181–1197, 2019.

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

RIBEIRO, E. C. R.; SANTOS, M. O.; SOUSA, G. C. Super bactéria: Os principais mecanismos e medicamentos de resistência bacteriana. **REVISTA DA FAESF**, v. 6, n. 3, 2023.

RIBEIRO, D. F.S. *et al.* **Processamento de ostras (Crassostrearhizophorae) produzidas na Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, Bahia.** 2018. Dissertação de Mestrado – Microbiologia Agraria, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2018.

ROCHA, A. C. L.; KLIGERMAN, D. C.; OLIVEIRA, J. L. M. Panorama da pesquisa sobre tratamento e reuso de efluentes da indústria de antibióticos. **Saúde em Debate**, v. 43, p. 165-180, 2020.

SALDANHA, D. S. **Avaliação dos serviços ecossistêmicos prestados pelas áreas úmidas costeiras da zona estuarina no rio Piranhas-Açu (RN/NE-Brasil).** 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SALGUEIRO, V.; REIS, L.; FERREIRA, E.; BOTELHO, M.J.; MANAGEIRO, V.; CANIÇA, M. Assessing the Bacterial Community Composition of Bivalve Mollusks Collected in Aquaculture Farms and Respective Susceptibility to Antibiotics. **Antibiotics**, v.10, p.1135, 2021.

SANTOS, D. R. *et al.* **Conhecimento ecológico local dos catadores e catadoras de ostras (crassostea) em uma área de proteção ambiental: Implicações para a gestão.** Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação) Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 94f, 2021.

SANTOS, M. E. M.; DE OLIVEIRA M. E. M. Potencialidades e impactos ambientais dos resíduos oriundos da malacocultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n. 03, p. 147-152, 2017.

SCANES, E; SCANES, P. R; ROSS, P. M. Climate change rapidly warms and acidifies Australian estuaries. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1803, 2020.

SEJAS, L. M. *et al.* Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, 2003.

SILVA, E. S. *et al.* Correlação entre salinidade, temperatura e pH na área de influência do Porto da Cidade do Rio de Janeiro (Brasil) entre 2016 a 2018. **Revista Sustinere**, v. 10, n. 1, p. 218-237, 2022.

SIQUEIRA, N. L. C. **Incorporação do pó de conchas de ostra provenientes do processo de ostreicultura na produção de argamassa para revestimento.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SOUSA, C. B. *et al.* Qualidade microbiológica de ostras e de águas em manguezais de macromaré da costa amazônica (ilha de São Luís, MA), Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 28, p. e20220051, 2023.

SOUZA, A. Panorama da malacocultura Brasileira. **Panorama da aquicultura**. 64^o edição. Abr de 2001. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/panorama-da-malacoculturabrasileira/>. Acesso em 15 mar. 2022.

SOUZA, R. V., MORESCO, V., MIOTTO, M., SOUZA, D. S. M., CAMPOS, C., SUPPLICY, F. M. Depuration and heat treatment to reduce pathogen levels in bivalve molluscs produced in Santa Catarina State, Brazil. **Agropecuária Catarinense, Florianópolis**, v.35, n.2, p.78-82, 2022.

SOUSA, C. B. **Qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.) e de águas coletadas em cultivos e em bancos naturais da ilha de São Luís, MA**. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2021.

SOUZA, R. V., CAMPOS, C., GARBOSSA, L. H. P., VIANNA, L. F. N., VANZ, A., RUPP, G. S., SEIFFERT, W. A critical analysis of the international legal framework regulating the microbiological classification of bivalve shellfish production areas. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, p. 1025–1033, 2018.

SUPPLICY, F.M. *et al.* **Manual do cultivo de ostras**. Florianópolis: Epagri, 256p, 2022.

TAVARES, K. C.; OLIVEIRA, E. G. A. Estudo de utilização de antibióticos nas unidades básicas do município de Moreilândia-PE. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 20, n. 1, p. 82-94, 2022.

TILAHUN, M. *et al.* Infecção emergente por Enterobacteriaceae resistente a carbapenêmicos, sua epidemiologia e novas opções de tratamento: **uma revisão. Infecção e resistência a medicamentos**, p. 4363-4374, 2021.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. Microbiologia. 12^o edição, Porto Alegre: artimed, p. 65-66, 2017.

VALENÇA, C. A. *et al.* Chromatographic Profiles of Ethyl Acetate Extracts Produced by *Bacillus* sp. Collected from the Mangroves in the Brazilian Northeast. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 33, p. 1375-1385, 2022.

VAN NIEKERK, L. *et al.* An Estuary Ecosystem Classification that encompasses biogeography and a high diversity of types in support of protection and management. **African Journal of Aquatic Science**, v. 45, n. 1-2, p. 199-216, 2020.

VAZ, T. E. E. **Caracterização e tratamento de biossólidos da depuração de efluentes urbanos para aplicações agronômicas**. 2020. Dissertação de Mestrado.

VIEIRA, K. S., BAPTISTA NETO, J. A., CRAPEZ, M. A. C., GAYLARDE, C., PIERRI,

B. S., SALDANA-SERRANO, M., BAINY, A. C. D., NOGUEIRA, D. J., FONSECA, E. M. Occurrence of microplastics and heavy metals accumulation in native oysters *Crassostrea Gasar* in the Paranaguá estuarine system, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 166, n. 112225, p. 1- 10, 2021.

VIEIRA, R.H.S.F. *et al.* **Microbiologia, Higiene e Qualidade do Pescado- Teoria e prática**. Edição 1. São Paulo: Varela, 2004.

WALKER, D. I. *et al.* *Escherichia coli* testing and enumeration in live bivalve shellfish - Present methods and future directions. **Food Microbiology**, v. 73, p. 29-38, ago. 2018.

ZHAO Z, ZHANG K, WU N, LI W, XU W, ZHANG Y, *et al.* Estuarine sediments are key hotspots of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes: A high-throughput analysis in Haihe Estuary in China. **Environment International**. v. 135, p.105385, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105385>.